

**UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

DISSERTAÇÃO

**MODULAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDEA E DAS IODOTIRONINAS
DESIODASES TIPO 1 E 2 EM RATAS PRENHAS SUBMETIDAS À
RESTRIÇÃO DE SONO E AVALIAÇÃO DA SUA PROLE**

NATÁLIA SANTOS DA CRUZ

2014



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

**MODULAÇÃO DA FUNÇÃO TIREOIDEA E DAS IODOTIRONINAS
DESIODASES TIPO 1 E 2 EM RATAS PRENHAS SUBMETIDAS À
RESTRICÇÃO DE SONO E AVALIAÇÃO DA SUA PROLE**

NATÁLIA SANTOS DA CRUZ

Sob orientação da Professora
Michelle Porto Marassi

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Fisiológicas do curso Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Seropédica, RJ
Maio de 2014

616.44

C957m

T

Cruz, Natália Santos da, 1986-

Modulação da função tireoidea e das iodotironinas desiodases tipo 1 e 2 em ratas prenhas submetidas à restrição de sono e avaliação da sua prole / Natália Santos da Cruz. - 2014.

98 f.: il.

Orientador: Michelle Porto Marassi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Bibliografia: f.73-98.

1. Glândula tireoide - Teses. 2. Hormônios tireoidianos - Teses. 3. Rato como animal de laboratório - Teses. 4. Iodotironinas desiodases - Teses. I. Marassi, Michelle Porto, 1981- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/_____

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

NATÁLIA SANTOS DA CRUZ

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 28/03/2014



Assinatura

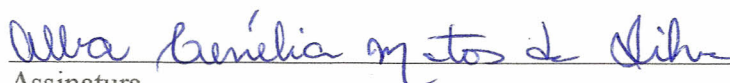
Dr^a Michelle Porto Marassi. UFRRJ.

(Orientadora)



Assinatura

Dr^a Andrea Claudia Freitas Ferreira. UFRJ.



Assinatura

Dr^a Alba Cenélia Matos da Silva. UFRRJ.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Deus da minha vida, que me guardou, me deu sabedoria, calma, perseverança, determinação e acima de tudo, forças para chegar até aqui, por que não foi fácil, as lutas foram muitas, mas Ele me capacitou e eu venci!

Aos meus pais, que sempre oraram por mim, me apoiaram, estavam sempre de braços e ouvidos abertos para ouvir minhas reclamações, para me ajudar e me acalmar nos momentos de desespero.

À minha família por todo apoio, palavra de conforto e carinho.

Aos meus amados amigos, especialmente Izabella, Annelise, Sabrina e Luíz Felipe, que sempre me apoiaram, ofereceram o ombro e o ouvido, sempre torceram e me incentivaram. À minha querida amiga de vida e de trabalho, Cristine (Tine), que estava sempre ao meu lado pra ajudar e me ouvir, dando apoio, me incentivando, acreditando na minha capacidade, pelas conversas e desabafos. Amigos, vocês foram fundamentais na minha jornada.

Aos meus amigos pós-graduandos Nayana, Rodrigo e Iracema pelo companheirismo, apoio e ajuda nos momentos de laboratório e fora dele também.

À equipe de estagiários: Beatriz, Magnum, Michelle, Gisele, Jéssica, Mylena, Layla, Viviane, Jéssica, Juliana, Leila e tantos outros que me ajudaram, e que eu ajudei um pouquinho a cuidar.

À banca, Alba e Andrea, muito obrigada por aceitarem o convite e dar ótimas sugestões para a melhora da minha dissertação.

À minha orientadora Michelle Porto Marassi, pela oportunidade que me deu de trabalhar com algo que eu me apaixonei, pela liberdade de poder escolher meu projeto, por toda atenção e tempo gasto comigo desde os tempos de graduação.

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas, professores, especialmente ao mestre Luíz, mestre Emerson, e a professora Alba, alunos e colegas de laboratório, funcionários, técnicos, especialmente seu “Juca”, e também dona Lenir, por todo o carinho e cuidado.

À SBFis, por ter idealizado o Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

À UFRRJ, que foi uma casa durante a graduação e o mestrado.

RESUMO

CRUZ, Natália Santos. **Modulação da função tireoideia e das iodotironias desiodases tipo 1 e 2 em ratas prenhas submetidas à restrição de sono e avaliação de sua prole.** 2014. 97p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Instituto de Biologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

O sono é considerado essencial para a vida e para manutenção da homeostase. Durante a gestação ocorre uma série de mudanças, inclusive nos padrões de sono com diminuição da quantidade de sono no terceiro trimestre. Já está comprovado que a privação de sono desencadeia estresse oxidativo em vários órgãos e a indução de estresse oxidativo durante a gravidez pode conduzir a malformações congênitas, morte fetal, alterações hormonais e diminuição do ganho de peso corporal na mãe e no filhote, entretanto, não há na literatura trabalhos que avaliem os efeitos da restrição de sono sobre a função tireoideia durante a gestação. Por isso, objetivamos estudar o efeito da restrição de sono sobre a função tireoideia e metabolismo extratireoide das iodotironinas em ratas prenhas submetidas à restrição de sono, além de avaliar os mesmos parâmetros na sua prole. Fêmeas virgens (200-250g), em proestro, foram colocadas com machos. A presença de espermatozoides no esfregaço vaginal definiu o 1º dia gestacional e as fêmeas foram divididas em controle (C, n=15) e restrita de sono (RS, n=22). Para a restrição de sono utilizamos a metodologia das Plataformas Múltiplas Modificada, iniciando a restrição no 14º dia gestacional e finalizando no 20º, quando metade das ratas (C=7 e RS=11) foram eutanasiadas e as restantes pariram normalmente (C=8 e RS=11), permanecendo com os filhotes até o desmame, quando foram eutanasiadas juntamente com parte dos filhotes machos (C=4 e RS=8) e fêmeas (C=6 e RS=7), as filhotes fêmeas (C=4 e RS=13) restantes sofreram eutanásia com 60 dias de vida. O peso corporal foi acompanhado durante a gestação. Tireoide, adrenal e hipófise foram pesadas para análise do peso absoluto e relativo. T4 ($\mu\text{g/dL}$), T3(ng/dL) e corticosterona (ng/ml) séricos foram analisados por RIA. A atividade Desiodase tipo 2 (D2, expressa em fmoles T4/min.mg.ptn) foi avaliada na hipófise, tecido adiposo marrom (TAM), hipotálamo e hipocampo. A atividade Desiodase tipo 1 (D1, expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn) foi avaliada no fígado, rim, tireoide e hipófise. Na estatística foi utilizado o teste T-Student ($p<0,05$). Aprovação do comitê de ética da UFRRJ N° 23083.000361/2013-10. Nas ratas prenhas RS, observamos aumento do peso absoluto da adrenal, diminuição dos níveis de T4 e aumento da atividade D2 no TAM no 20º dia gestacional. Nas ratas RS no desmame dos filhotes, além do T4 sérico baixo, encontramos aumento do peso relativo da adrenal e da atividade D1 no rim, e diminuição da atividade D1 na hipófise e fígado. Na prole de ratas RS durante a gestação, encontramos aumento do peso relativo da tireoide, dos níveis de T4 e corticosterona nos filhotes machos de 21 dias, e aumento da atividade D2 hipotalâmica nas fêmeas de 60 dias. Em conclusão, a restrição de sono por 6 dias em ratas prenhas afeta sua função tireoideia, diminuindo o T4 sérico, já os níveis de T3 são mantidos provavelmente pela modulação da desiodação periférica (elevada atividade D2 no TAM), além disso, a restrição de sono durante a gestação altera também o *status* tireoideo da prole, que apresenta elevação na concentração de T4 sérico associado à níveis de T3 e atividade D1 normais.

Palavras chaves: restrição de sono, gestação, hormônios tireoidianos, e desiodases tipo 1 e 2.

ABSTRACT

CRUZ, Natália Santos. **Modulation of thyroid function and iodothyronines type 1 and 2 deiodinases in pregnant rats sleep restricted and evaluation of her offspring.** 2014. 97p. Dissertation (Master Science in Physiology Science), Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

Sleep is considered essential for life and maintaining homeostasis. During pregnancy occur a number of changes, including sleep patterns with decreased amount of sleep in the third trimester. It is already proven that sleep deprivation triggers oxidative stress in different organs and the induction of oxidative stress during pregnancy can lead to congenital malformations, fetal death, hormonal changes, decreased body weight gain in mother and offspring, however, no studies in the literature evaluating the effects of sleep restriction on thyroid function during pregnancy. Therefore we aimed to study the effect of sleep restriction on thyroid function and metabolism of iodothyronines extrathyroid in pregnant rats submitted to sleep restriction, in addition to evaluating the same parameters in their offspring. Virgin females (200-250g), in proestrus, were placed with males. The presence of spermatozoa in vaginal smear defined gestational day 1 and females were divided into control (C, n=15) and sleep restricted (SR, n=22). To sleep restriction used the Modified Multiple Platform Methodology starting the restriction on the 14th gestational day and ending on the 20th, when half of the rats (C=7 and SR=11) were euthanized and the remaining calved normally (C=8 and SR=11), with remaining until weaning puppies when they were euthanized along with part of the male pups (C=4 and SR=8) and female (C=6 and SR=7), the female pups (C=4 and SR=13) remaining were euthanized at 60 days of life. Body weight was followed during pregnancy. Thyroid, adrenal and pituitary were weighed for analysis of the absolute and relative weight. T4 ($\mu\text{g/dL}$), T3 (ng/dL) and corticosterone (ng/ml) serum were analyzed by RIA. The deiodinase type 2 activity (D2, expressed in $\text{fmol T}_4/\text{min.mg.ptn}$) was evaluated in the pituitary, brown adipose tissue (BAT), hypothalamus and hippocampus. The deiodinase type 1 activity (D1, expressed as $\text{pmol rT}_3/\text{min.mg.ptn}$) was evaluated in the liver, kidney, thyroid and pituitary. In the statistical test T-Student ($p < 0,05$) was used. Approval of the ethics committee of UFRRJ N^o 23083.000361/2013-10. In pregnant SR rats, there was an increase in absolute adrenal weight, decreased levels of T4 and increased D2 activity in TAM on the 20th gestational day. In SR rats in weaning puppies, in addition to low serum T4, we found increased relative weight of adrenal and kidney D1 activity, and decreased activity D1 in pituitary and liver. In the offspring of SR during pregnancy, we found increased relative weight of the thyroid, T4 levels and corticosterone in male pups 21 days, and increased hypothalamic D2 activity in females 60 days. In conclusion, sleep restriction for 6 days in a pregnant rats affects thyroid function, decreasing serum T4, T3 levels now are probably maintained by the modulation of peripheral deiodination (D2 activity in high TAM), in addition, the restriction of sleep during pregnancy also alters the thyroid status of the offspring, which shows elevation in serum T4 concentration associated with normal levels of T3 and D1 activity.

Key words: sleep restriction, gestation, thyroid hormones, and type 1 and 2 deiodinase.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Padrões eletroencefalográfico (EEG) e eletrooculográfico (EOG), eletrodo no núcleo geniculato lateral (LGN) e padrão eletromiográfico (EMG) nos diferentes estágios: vigília, sono não-REM e sono REM (adaptado de Rechtschaffen e Siegel, 2000). Kandel, *Principes of Neural Science*, 4ª edição.18
- Figura 2:** Fases do ciclo vigília-sono em diferentes idades. Tempo de latência de sono; WASO=tempo gasto acordado após o início do sono; sono REM; sono NREM, estágio 1 e 2; SWS=sono de ondas lentas, estágios 3 e 4, em diferentes fases da vida. (Adaptado de Carskadon & Rechtschaffen, 2005).19
- Figura 3:** Padrões do eletrooculograma (EOG), eletromiograma (EMG) e eletroencefalograma (EEG) nos estágios do sono NREM humano. (Adaptado de Rechtschaffen & Kales 1968). Kandel, *Principes of Neural Science*, 4ª edição.21
- Figura 4:** Ilustração esquemática de um tireócito. AC, adenil-ciclase; D1, desidase tipo 1; D2, desidase tipo 2; DAG, diacilglicerol; DEHAL1, iodotirosina desalogenase 1; MIT, monoiodotirosina; DIT, diiodotirosina; DUOX, dual oxidase 2 e 2A; IP₃, inositol trifosfato; NADP⁺; NADPH; NIS, co-transportador Na⁺/I⁻ (*Natrium Iodide Symporter*); PDS, pendrina (SLC26A4); PLC, fosfolipase C; T3, triiodotironina; T4, tiroxina; Tg; TPO, enzima tireoperoxidase; TSHR, receptor TSH. (Modificada de Willians *Textbook of endocrinology*, 12ª edição).24
- Figura 5:** Representação esquemática da cascata de desiodação das iodotironinas. Vias de ativação ou inativação das iodotironinas pelas enzimas desidases tipo 1 (D1), tipo 2 (D2) e tipo 3 (D3). (Adaptado de Leonard & Visser, 1986 e Bianco *et al.*, 2002).26
- Figura 6:** Perfil temporal do hormônio do crescimento (GH) (A), cortisol (B), TSH (C) e prolactina (PRL) (D) de 8 homens adultos jovens durante o sono noturno, 28 horas de privação de sono e 8 horas de sono diurno (Alvarenga, 2008).32
- Figura 7:** Foto do tanque para restrição de sono pela Metodologia de Plataformas Múltiplas Modificada utilizada no presente estudo.40
- Figura 8:** Esquema representativo do protocolo experimental de restrição de sono em ratas prenhas com as 3 fases experimentais realizadas neste estudo.42
- Figura 9:** Peso corporal das ratas controle (C, n=7) e restritas de sono (RS, n=11) no 1º, 14º e 20º dia gestacional.46
- Figura 10:** Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em mg nos grupos de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional (adrenal: C=84,79 ± 4,296, n=7 e RS=99,64 ± 4,644, n=11; hipófise: C=10,13 ± 0,4379, n=7 e RS=10,17 ± 0,4650, n=10; tireoide: C=12,53 ± 1,054, n=7 e RS=11,75 ± 0,8601, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.46

Figura 11: Peso relativo da adrenal em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide em µg/g de peso corporal nos grupos de ratas controle (C) e restrita de sono (RS), no 20º dia gestacional, (adrenal: C=0,3756 ± 0,01057, n=7 e RS=0,3510 ± 0,01274, n=11; hipófise: C=33,38 ± 1,356, n=7 e RS=33,46 ± 2,338, n=11; tireoide: C=41,15 ± 3,099, n=7 e RS=39,25 ± 4,106, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.47

Figura 12: Níveis séricos de T4 em µg/dL e T3 em ng/dL nas ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional (T4: C=3,649 ± 0,5040, n=7 e RS=2,555 ± 0,1621, n=11; T3: C=70,51 ± 6,157, n=7 e RS=59,66 ± 4,886, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.48

Figura 13: Níveis séricos de corticosterona em ng/ml nas ratas controle (C: 228,4 ± 28,78, n=5 e restritas de sono (RS: 151,8 ± 22,06, n=9), no 20º dia gestacional. Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.49

Figura 14: Atividade desidase tipo 1 no fígado, rim e tireoide de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional, expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=63,89 ± 5,418, n=7 e RS = 78,14 ± 6,499, n=11; rim: C=71,11 ± 3,911, n=6 e RS=78,20 ± 5,318, n=10; tireoide: C=125,3 ± 6,864, n=7 e RS 109,1 ± 9,449, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.50

Figura 15: Atividade desidase tipo 2 no TAM, hipófise, hipocampo e hipotálamo de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional, expressa em fmoles T4/min.mg.ptn (TAM: C=0,3414 ± 0,06408, n=7 e RS=0,6450 ± 0,1619, n=10; hipófise: C=0,7817 ± 0,1265, n=6 e RS=0,7045 ± 0,09792, n=11; hipocampo: C=0,4786 ± 0,07265, n=7 e RS=0,3958 ± 0,03872, n=12; hipotálamo: C=0,8500 ± 0,1404, n=6 e RS=0,9227 ± 0,1329, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.52

Figura 16: Peso corporal de ratas controle (C, n=8) e restritas de sono (RS, n=11) no 1º, 14º, 20º dia gestacional e no dia do desmame dos filhotes.53

Figura 17: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide expresso em mg em ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (adrenal: C=82,44 ± 3,523, n=8 e RS=88,56 ± 6,534, n=9; hipófise: C=11,04 ± 0,3950, n=8 e RS=10,56 ± 0,3516, n=10; tireoide: C=13,03 ± 0,6662, n=8 e RS 12,22 ± 0,8011, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.53

Figura 18: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide em µg/g de peso corporal em ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (adrenal: C=0,3017 ± 0,008310, n=8 e RS=0,3355 ± 0,02142, n=9; hipófise: C=40,55 ± 1,506, n=8 e RS=40,68 ± 1,446, n=10; tireoide: C=48,01 ± 2,959, n=8 e RS=47,07 ± 3,516, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.* P<0,05.54

Figura 19: Níveis séricos de T4, expresso em µg/dL e T3, expresso ng/dL em mães contole (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (T4: C=4,186 ± 0,4688, n=5 e RS=2,540 ± 0,3944, n=4; T3: C=58,96 ± 8,438, n=5 e RS=41,21 ± 2,744, n=4). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.* P<0,05.55

Figura 20: Níveis séricos de corticosterona de mães controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressos em ng/ml (C=193,7 ± 17,41, n=4 e RS=202,4 ± 22,32, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.56

Figura 21: Atividade desidase tipo 1 no fígado, rim, tireoide e hipófise de ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=41,89 ± 18,98, n=8 e RS= 26,58 ± 7,255, n=10; rim: C=52,32 ± 6,008, n=8 e RS=77,13 ± 15,56, n=9; tireoide: C=112,1 ± 13,30, n=8 e RS=96,96 ± 11,06, n=9; hipófise: C=2,692 ± 0,7712, n=5 e RS=2,117 ± 0,2129, n=6). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P<0,05.57

Figura 22: Atividade desidase tipo 2 no tecido adiposo marrom (TAM) e hipocampo de ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressa em fmoles T4/min.mg.ptn (TAM: C=0,4600 ± 0,06819, n=4 e RS=0,2333 ± 0,04842, n=3; Hipocampo: C=0,2325 ± 0,02136, n=4 e RS=0,2833 ± 0,09770, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.58

Figura 23: Peso corporal de filhotes machos com 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=35,63 ± 2,442, n=8 e RS=27,44 ± 1,420, n=16). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. **P < 0,05.59

Figura 24: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes machos de 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg (adrenal: C=12,90 ± 2,135, n=7 e RS=10,88 ± 0,7075, n=12; hipófise: C=1,800 ± 0,1832, n=8 e RS=1,388 ± 0,1080, n=16); tireoide: C=2,917 ± 0,1249, n=6 e RS=3,271 ± 0,2378, n=14). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P < 0,05.60

Figura 25: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressas em µg/g de peso corporal nos filhotes machos de 21 dias de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,3675 ± 0,05825, n=7 e RS=0,4085 ± 0,02960, n=14; hipófise: C=46,99 ± 4,768, n=7 e RS=50,30 ± 2,535, n=16; tireoide: C=81,00 ± 9,562, n=7 e RS=115,9 ± 7,040, n=15). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. ** P<0,01.60

Figura 26: Níveis séricos de T4 expresso em µg/dL, e níveis séricos de T3 expressos em ng/dL, da prole do sexo masculino com 21 dias de vida de ratas controle (C) e restritas de sono (RS) (T4: C=4,120 ± 0,2911, n=4 e RS=7,183 ± 0,8570, n=3; T3: C=100,2 ± 3,295, n=4 e RS=97,81 ± 11,12, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P<0,05.62

Figura 27: Níveis séricos de corticosterona expresso em ng/ml, em filhotes machos com 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (C=155,9 ± 3,175, n=3 e RS=198,6 ± 52,25, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. **P < 0,01.63

Figura 28: Atividade desidase tipo 1 no fígado, rim e tireoide, expressa em pmoles rT3/min.mg de ptn, em filhotes machos com 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (fígado: C=104,3 ± 12,40, n=6 e RS=90,42 ± 5,310, n=15; rim: C=76,44 ± 10,84, n=7 e RS=72,31 ± 6,426, n=20; tireoide: C=100,3 ± 17,85, n=4 e RS=103,7 ± 4,618, n=9). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.64

Figura 29: Peso corporal de filhotes fêmeas com 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=31,93 ± 1,572, n=15 e RS=31,92 ± 1,508, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.65

Figura 30: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide dos filhotes fêmeas com 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg. (adrenal: C=11,59 ± 0,9682, n=15 e RS=11,52 ± 0,8896, n=13; hipófise: C=2,008 ± 0,1323, n=12 e RS=1,769 ± 0,1200, n=13; tireoide C=3,846 ± 0,2385, n=13 e RS=4,585 ± 0,2689, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.65

Figura 31: Peso relativo da adrenal, expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressos em µg/g de peso corporal em filhotes fêmeas de 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,3840 ± 0,01963, n=14 e RS=0,3570 ± 0,01582, n=13; hipófise: C=59,47 ± 6,874, n=13 e RS=57,11 ± 4,531, n=13; tireoide: C=127,5 ± 8,024, n=14 e RS=148,0 ± 11,42, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.66

Figura 32: Atividade desidase tipo 1 (D1) em filhotes fêmeas com 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=90,01 ± 6,648, n=14 e RS=107,9 ± 8,615, n=13; rim: C=67,13 ± 5,501, n=15 e RS=74,52 ± 3,728, n=12; tireoide: C=75,69 ± 12,29, n=7 e RS=83,98 ± 11,89, n=7). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.67

Figura 33: Peso corporal de filhotes fêmeas com 60 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=147,5 ± 5,107, n=4 e RS=138,3 ± 3,381, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.68

Figura 34: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes fêmeas com 60 dias de vida das mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg (adrenal: C=40,03 ± 3,427, n=4 e RS=39,14 ± 1,158, n=11; hipófise: C=6,100 ± 0,5523, n=4 e RS=5,433 ± 0,1835, n=12; tireoide: C=8,075 ± 0,7941, n=4 e RS=7,708 ± 0,3403, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.68

Figura 35: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressas em µg/g de peso corporal na prole de 60 dias do sexo feminino de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,2703 ± 0,01604, n=4 e RS=0,2856 ± 0,005923, n=12; hipófise: C=41,24 ± 3,036, n=4 e RS=41,38 ± 1,261, n=12; tireoide: C=54,56 ± 4,359, n=4 e RS=55,67 ± 1,849, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.69

Figura 36: Atividade desidase tipo 1 (D1) em filhotes fêmeas de 60 dias de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=83,12 ± 2,997, n=4 e RS=68,45 ± 5,808, n=12; rim: C=88,07 ± 13,03, n=4 e RS=92,01 ± 6,158, n=13; tireoide: C=152,3 ± 9,553, n=4 e RS=146,8 ± 5,473, n=13. Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.70

Figura 37: Atividade desidase tipo 2 (D2) em filhotes fêmeas com 60 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em fmoles T4/min.mg.ptn (hipocampo: C=0,2950 ± 0,03841, n=4 e RS=0,3062 ± 0,02197, n=13; hipotálamo: C=1,127 ± 0,3703, n=3 e RS=0,3967 ± 0,07513, n=9). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P<0,05.71

LISTA DE ABREVIACÕES

EEG	Registro eletroencefalográfico
EMG	Registro eletromiográfico
EOG	Registro eletrooculográfico
REM	Sono de movimentos oculares rápidos (<i>do inglês rapid eye movement</i>)
NREM	Sono não-REM
RS	Restrição de sono
HTs	Hormônios tireoidianos
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide
TR	Receptor do hormônio tireoidiano
NIS	Co-transportador Na ⁺ /I ⁻ (<i>do inglês Natrium Iodide Symporter</i>)
MIT	Monoiodotirosina
DIT	Diiiodotirosina
TPO	Enzima tireoperoxidase
D1 e D2	Iodotironina desidases tipo 1 e tipo 2
D1 KO	Knockout para D2
D2 KO	Knockout para D1
PTU	Propiltiouracil
TAM	Tecido adiposo marrom

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Ciclo Vigília-Sono	18
2.1.1 Vigília	20
2.1.2 Sono	20
2.1.3 Sono não-REM	20
2.1.4 Sono REM	21
2.1.5 Sono e Regulação Hormonal	21
2.2 Hormônios Tireoidianos	23
2.2.1 Iodação, Síntese e Secreção dos Hormônios Tireoidianos	24
2.2.2 Iodotironina Desiodase Tipo 1 (D1)	27
2.2.3 Iodotironina Desiodase Tipo2 (D2)	28
2.3 Privação de Sono e o Sistema Endócrino	30
2.4 Sistema Endócrino na Gestação	33
2.5 Sono e Gestação	35
2.6 Restrição de Sono, Hormônios Tireoidianos e Gestação	36
3 OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Animais	39
4.2 Citologia Vaginal	39
4.3 Acasalamentos dos Animais	39
4.4 Metodologia das Plataformas Múltiplas Modificada	39
4.5 Protocolo de Restrição de Sono em Ratas Prenhas	40
4.5.1 Primeira Fase	41
4.5.2 Segunda Fase	41
4.5.3 Terceira Fase	41
4.6 Dosagens Séricas de T4 e T3	42
4.7 Dosagem Sérica de Corticosterona	42
4.8 Atividade das Desiodases Tipo 1 (D1) e Tipo 2 (D2)	42
4.8.1 Processamento dos Tecidos	43
4.8.2 Purificação do rT3-¹²⁵I ou T4-¹²⁵I	43

4.8.3 Ensaio de Atividade da D1 ou D2	43
4.9 Análise Estatística	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Mães no 20º dia Gestacional	45
5.1.1 Peso Corporal	45
5.1.2 Peso Absoluto dos Tecidos	46
5.1.3 Peso Relativo dos Tecidos	47
5.1.4 Dosagens Hormonais	47
5.1.5 Desiodase Tipo 1 (D1)	50
5.1.6 Desiodase Tipo 2 (D2)	50
5.2 Mães no Desmame dos Filhotes	52
5.2.1 Peso Corporal	52
5.2.2 Peso Absoluto dos Tecidos	53
5.2.3 Peso Relativo dos Tecidos	54
5.2.4 Dosagens Hormonais	54
5.2.5 Desiodase Tipo 1 (D1)	56
5.2.6 Desiodase Tipo 2 (D2)	57
5.3 Filhotes Machos com 21 Dias de vida	58
5.3.1 Peso Corporal dos Filhotes Machos com 21 Dias	58
5.3.2 Peso Absoluto dos Tecidos	59
5.3.3 Peso Relativo dos Tecidos	60
5.3.4 Dosagens Hormonais	61
5.3.5 Desiodase Tipo 1 (D1)	63
5.4 Filhotes Fêmeas com 21 Dias de Vida	64
5.4.1 Peso Corporal de Filhotes Fêmeas com 21 Dias	64
5.4.2 Peso Absoluto dos Tecidos	65
5.4.3 Peso Relativo dos Tecidos	65
5.4.4 Desiodase Tipo 1 (D1)	66
5.5 Filhotes Fêmeas com 60 Dias de Vida	67
5.5.1 Peso Corporal de Filhotes Fêmeas com 60 Dias	67
5.5.2 Peso Absoluto dos Tecidos	68
5.5.3 Peso Relativo dos Tecidos	68
5.5.4 Desiodase Tipo 1 (D1)	69
5.5.5 Desiodase Tipo 2 (D2)	70

6 CONCLUSÃO	72
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1 INTRODUÇÃO

O sono é considerado essencial para a vida e para a manutenção da saúde. É durante o sono que muitos hormônios são sintetizados e liberados. Os mecanismos endócrinos e ambientais responsáveis pelo ciclo vigília-sono em humanos e roedores já são bem definidos.

O ciclo vigília-sono é dividido em três fases: vigília, sono não-REM (NREM) e sono REM, que se diferem por padrões eletroencefalográficos, eletromiográfico e oculográfico. A vigília e o sono REM são caracterizados pelo aumento da frequência e diminuição da amplitude das ondas corticais, enquanto o sono NREM é caracterizado pela diminuição da frequência e aumento da amplitude das ondas. O sono REM apesar de possuir padrões eletroencefalográficos muito semelhantes ao da vigília, entretanto é acompanhado de atonia muscular e de movimentos voluntários do globo ocular, por estes motivos foi denominado como sono paradoxal.

Embora a função do sono ainda não tenha sido completamente elucidada, a regulação homeostática e os seus diversos processos fisiológicos e efeitos patológicos que resultam da sua privação ou restrição têm sido bem documentadas em seres humanos. Há evidências de que a privação de sono desencadeia processos oxidativos em vários órgãos, e já foi demonstrado que a indução de estresse oxidativo durante a gravidez pode conduzir a malformações congênitas ou mesmo morte fetal. Mesmo em situações normais, a gravidez envolve várias mudanças físicas e fisiológicas que alteram os padrões de sono na gravidez. Diversos estudos afirmam que a quantidade de sono aumenta no primeiro trimestre e diminui no terceiro trimestre gestacional.

A glândula tireoide é responsável pela síntese e secreção de T4, e em menor quantidade de T3, que exercem um papel importante no metabolismo, desenvolvimento e crescimento normais. O TRH sintetizado pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, age nas células tireotróficas da hipófise, estimulando a produção de TSH, que por sua vez age na glândula tireoide regulando a síntese e secreção dos hormônios tireoidianos, os quais regulam negativamente a secreção de TRH e TSH, mecanismo conhecido como *feedback negativo*. Diferentemente do T4, que é gerado exclusivamente pela tireoide, a maior parte do T3 sérico é produzido pela desiodação periférica do T4 pelas enzimas iodotironinas desiodases. Estas enzimas podem inativar os hormônios tireoidianos, formando rT3 e T2, ou ativar formando T3, molécula conhecida por exercer atividade biológica.

Poucos trabalhos avaliam as alterações hormonais em ratas prenhas restritas de sono. Foi observado, diminuição de progesterona, em camundongos fêmeas privadas de sono na primeira semana gestacional pelo método de plataformas, e aumento de corticosterona pelo método de manuseio suave e plataformas. A secreção noturna de prolactina mostrou-se reduzida frente à fragmentação do sono. Considerando a importância destes hormônios para manutenção da gestação e na relação mãe-filhote, a restrição/privação de sono durante a gravidez pode alterar estes parâmetros, comprometendo a continuidade da gestação.

Alguns trabalhos com privação de sono mostraram alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, e apesar de já existir a comprovação que a diminuição dos níveis de T4 causa danos neurológicos irreversíveis para a prole, não há nenhum trabalho na literatura que avalie o efeito da restrição de sono na função tireoidiana durante a gestação e as possíveis consequências sobre a prole. Portanto, estudar como a restrição de sono REM afeta adversamente a mãe e a prole se faz extremamente necessário.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ciclo Vigília-Sono

Com o advento do registro eletroencefalográfico por BERGER em 1929 e a descrição de distintos padrões eletroencefalográficos presentes durante o sono por DAVIS *et al.* (1937), abriu-se um novo campo para promover o avanço das pesquisas sobre o sono.

Em 1953, ASERINSKY & KLEITMAN descreveram a fase de sono dessincronizada, mas somente em 1957, KLEITMAN & DEMENT denominaram o sono REM (do inglês *rapid eye movement*) sono de movimentos oculares rápidos e sua correlação com os sonhos foi um grande passo para a compreensão da fisiologia do sono (ASERINSKY & KLEITMAN, 1953). JOUVENT & MICHEL em 1959, o denominaram como sono paradoxal, pois possui padrão eletroencefalográfico análogo ao da vigília, porém associado à acentuada diminuição do tônus muscular. O restante do sono foi designado como não-REM (NREM).

O período de sono é marcado pela alternância de ciclos de sono NREM e REM. A duração média do primeiro ciclo de sono é 70-100 minutos, os ciclos seguintes são mais duradouros levando cerca de 90-120 minutos (CARSKADON & DEMENT, 2005), repetindo-se de 4 à 5 vezes por noite. O sono NREM predomina durante o primeiro terço da noite, enquanto o sono REM predomina durante o último terço (RECHTSCHAFFEN & KALES, 1968; TUREKE, 1999). A função da alternância entre estes dois tipos de sono ainda não é compreendida, entretanto o ciclismo irregular e/ou ausência de fases estão associados com perturbações do sono (ZEPELIN *et al.*, 2005).

Em humanos e roedores o ciclo é marcado por diferentes padrões eletroencefalográficos (EEG), eletrooculográfico (EOG) e eletromiográfico (EMG) como mostra a Figura 1.



Figura 1: Padrões eletroencefalográfico (EEG), eletromiográfico (EMG) e eletrooculográfico (EOG) nos diferentes estágios: vigília, sono NREM e sono REM (adaptado de RECHTSCHAFFEN & SIEGEL, 2000). Kandel, *Principes of Neural Science*, 4ª edição.

Processos circadianos homeostáticos são conhecidos por regular o ciclo vigília-sono (BORBÉLY, 1982 e 1998; EDGAR *et al.*, 1993; GILLETTE & ABBOTT, 2005). Em mamíferos, o componente circadiano é gerado pelo núcleo supra-quiasmático do hipotálamo (CARPENTER, 1976; KLEIN *et al.*, 1991; EDGAR *et al.*, 1993; WEAVER, 1998). Os ritmos circadianos vão indicar para o organismo o ciclo claro/escuro e vão determinar os episódios de início e término de sono. No entanto, os ritmos circadianos persistem mesmo sem estímulo ambiental e o sono ocorre mesmo em animais em que os ritmos circadianos foram eliminados (BERGMANN, 1987). O componente homeostático mantém o equilíbrio do meio interno sendo regulado pelo 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; ENDO *et al.*, 1997; OCAMPO-GARCE *et al.*, 2002).

A temperatura corporal de um indivíduo é maior durante o dia do que à noite. À noite, há um declínio gradual da temperatura corporal, diminuição da produção de calor e aumento da perda de calor, todos os quais promovem início e a manutenção do sono, bem como a atividade do EEG no sono de ondas lentas. Por outro lado, existe um aumento gradual da temperatura corpórea algumas horas antes do acordar. O cérebro envia sinais para outras partes do corpo que aumentam a produção de calor, a fim de interromper o sono e promover o acordar (SZYMUSIAK, 2005).

A arquitetura do sono muda continuamente com a idade (Figura 2). Recém-nascidos dormem cerca de 18 h por dia, no entanto, os episódios de sono duram apenas 2,5-4 h (ADAIR & BAUCHNER, 1993; ROFFWARG *et al.*, 1966). Os ritmos circadianos começam a surgir aos 2 meses. Até os 6 meses há predomínio das fases 3 e 4 de sono NREM e o sono REM atinge cerca de 40% do total do tempo de sono (ANDERS *et al.*, 1995; CURZIDASCALOVA & CHALLAMEL, 2000; GAUDREAU *et al.*, 2001; MINDEL & OWENS, 2003), à medida que a criança fica mais velha a quantidade de sono diminui. Na adolescência o período de vigília é máximo e o sono de ondas lentas diminui (CARSKADON *et al.*, 1980), no entanto o tempo gasto no estágio 2 aumenta (CARSKADON *et al.*, 1982) e a quantidade de REM é constante (CARSKADON *et al.*, 1982 e 1983). Em adultos jovens o sono já está consolidado, e o sono de ondas lentas constitui de 20-25 % do tempo total de sono, declinando a uma taxa de 2 % por década (DIJK *et al.*, 1989; ASTROME & TROJABORG, 1992; LANDOLT *et al.*, 1996; ANCOLI-ISRAEL, 2005), variando entre 5-10 % em idosos (LAVIE, 1996; ANCOLI-ISRAEL *et al.*, 1997; CARVALHAES-NETO *et al.*, 2003). Idosos dormem 36 % menos do que crianças com 5 anos de idade, e apesar da capacidade de dormir tornar-se mais difícil, a necessidade de sono não diminui com a idade (ANCOLI-ISRAEL, 2005).

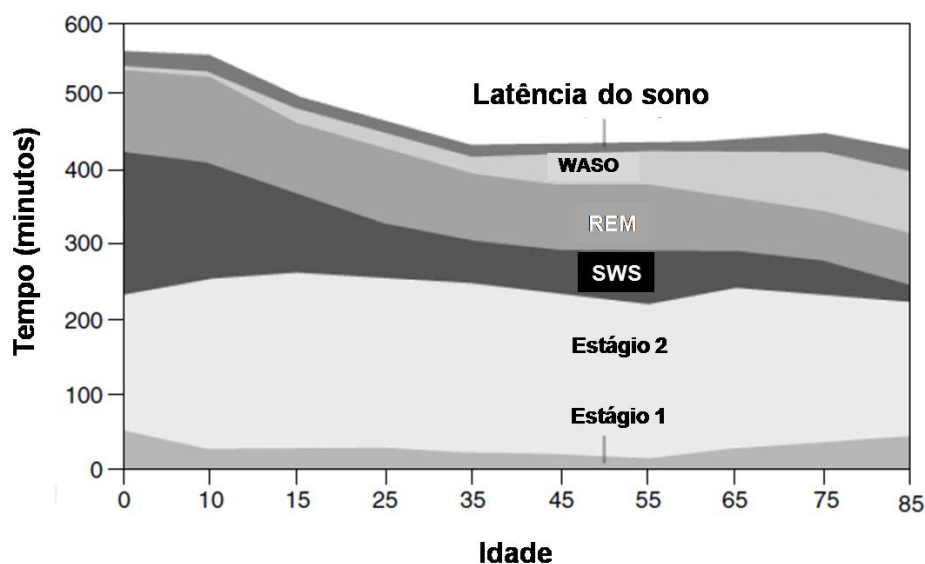


Figura 2: Fases do ciclo vigília-sono em diferentes idades. Tempo de latência de sono; WASO=tempo gasto acordado após o início do sono; sono REM; sono NREM, estágio 1 e 2; SWS=sono de ondas lentas, estágios 3 e 4, em diferentes fases da vida. (Adaptado de CARSKADON & RECHTSCHAFFEN, 2005).

2.1.1 Vigília

A vigília apresenta padrão dessincronizado de alta frequência (>25 Hz) e baixa amplitude (<50 μ V), variando de 14-30 Hz sendo denominadas como ondas beta. Provavelmente refletem diferentes momentos do processo cognitivo, motor e de percepção (Fuller *et al.*, 2006). Em seres humanos, o período de vigília é iniciado na fase clara enquanto que em roedores este período ocorre durante a fase escura (TIMO-LARIA *et al.*, 1970; ANDERSEN *et al.*, 2001).

2.1.2 Sono

Segundo KLEITMAN (1963), o sono é considerado um processo ativo, ligado funcionalmente à vigília, com a qual constitui o ciclo vigília-sono. Em animais e seres humanos, a função exatado sono não é totalmente conhecida, entretanto estudos mostram ser essencial para a manutenção da homeostase e do metabolismo, reparo tecidual e consolidação da memória (FULLER *et al.*, 2006; MARKOV & GOLDMAN, 2006).

2.1.3 Sono não-REM

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

Durante o sono NREM ocorre aumento da amplitude das ondas, o que se reflete no aumento de disparo cortical, e diminuição da frequência (STERIADE *et al.*, 2003). Em humanos e em ratos (TIMO-LARIA *et al.*, 1970), é dividido em quatro estágios (Figura 3):

Estágio 1: Representa a transição entre a vigília e o sono. A consciência do ambiente externo desaparece gradualmente, e o EEG desacelera e as ondas oscilam entre 10-25 Hz. Em ratos, esta fase é substituída por um ritmo irregular de frequência mais baixa.

Estágio 2: Ocorre perda completa de consciência. É marcado por surtos dos “fusos de sono” (12-14 Hz) e ondas bifásicas de alta voltagem chamadas de complexo K.

Estágio 3 e 4: O sono é considerado profundo, sono de ondas lentas (SWA) ou reparador. Ocorre o aparecimento das ondas delta, variando entre 0,5-2 Hz. Há aumento da potência, da amplitude e da incidência das ondas delta no EEG.

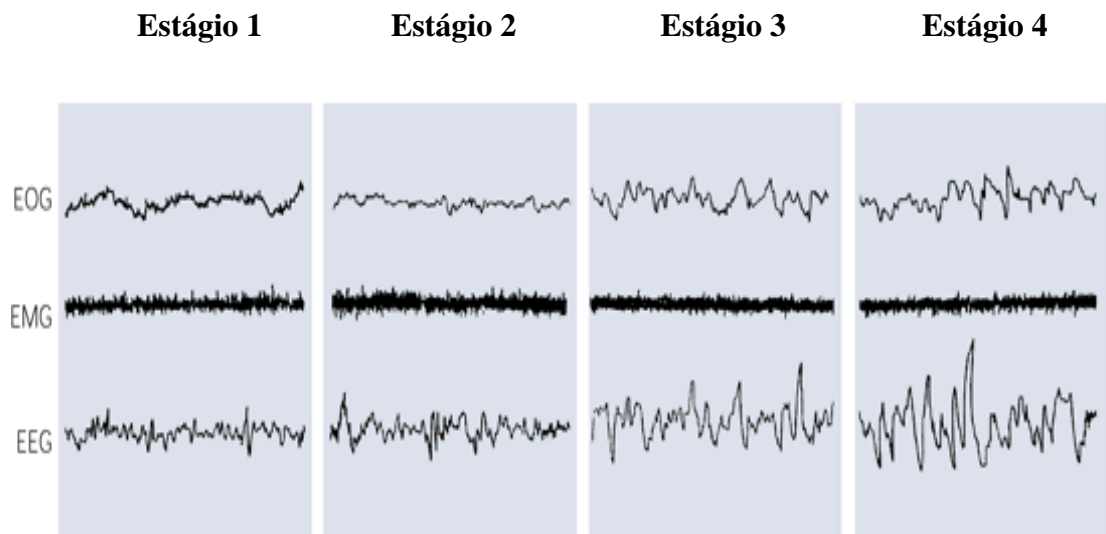


Figura 3: Padrões do eletrooculograma (EOG), eletromiograma (EMG) e eletroencefalograma (EEG) nos estágios do sono não-REM humano. (Adaptado de RECHTSCHAFFEN & KALES, 1968). Kandel, *Principes of Neural Science*, 4ª edição.

2.1.4 Sono REM

O padrão de ondas Theta no EEG varia entre 8-5 Hz. É marcado pela alta frequência (>40 Hz) e baixa amplitude (<50 μ V) das ondas corticais, assemelhando-se ao padrão dessincronizado do estágio 1 do sono NREM e da vigília, em seres humanos e alguns animais (TIMO-LARIA *et al.*, 1970; BERGMANN *et al.*, 1989; ANDERSEN *et al.*, 2001). Apesar disto, a perda de consciência ambiental, que caracteriza o sono NREM também está presente no sono REM (VANDERWOLF, 2000).

Durante o sono REM há aumento da atividade neural e da taxa metabólica, e diminuição da temperatura corporal (STERIADE & CARLEY, 1990). O EOG reflete movimentos rápidos dos olhos e o EMG, reflete atonia muscular esquelética, apenas os músculos extraocular (os que controlam o movimento dos olhos), do ouvido médio e os respiratórios não são afetados (DE GERIHARO & FERRARA, 2000; FULLER *et al.*, 2006).

Nesta fase muitos hormônios são sintetizados e liberados ou inibidos, sendo, portanto essencial para a manutenção da homeostase (STEIGER, 2003), conseqüentemente a sua privação/restricção está associada com alteração da taxa metabólica e da função endócrina, podendo ter conseqüências fisiopatológicas a longo prazo (SPIEGEL *et al.*, 1999).

2.1.5 Sono e Regulação Hormonal

O sono é uma fase da vida de todos os vertebrados considerada fundamental para manutenção da saúde (AURELL & ELMQVIST, 1985; VON TREUER *et al.*, 1996; CURETON-LANE & FONTAINE, 1997), suporte à vida (KLEITMAN, 1963; RECHTSCHAFFEN *et al.*, 1983; Everson *et al.*, 1989), e manutenção da homeostase, sendo associado à maior secreção de hormônios anabólicos e à menor secreção dos catabólicos (BORN & FEHM, 2000). Os mecanismos endócrinos e ambientais responsáveis pelo ciclo vigília-sono em humanos e roedores já são bem definidos (ALVARENGA *et al.*, 2008).

Já está claro que os hormônios sexuais influenciam o sono e o ciclo circadiano e que, o sono por sua vez, afeta a secreção episódica de gonadotrofinas (HALL *et al.*, 2005). Evidências sugerem que mudanças no sono estão associadas com o ciclo menstrual (LEE *et*

al., 1990; ISHIZUKA *et al.*, 1994; DRIVER *et al.*, 1996; BAKER *et al.*, 1999; ANDERSEN *et al.*, 2008) e estral (KLEINLOGEL, 1975; SCHWIERIN *et al.*, 1998). De fato, problemas para dormir (LINDBERG *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2008; ARBER *et al.*, 2009) e insônia (OHAYON, 2002; PIRES *et al.*, 2007) são relatados com maior frequência em mulheres que em homens. Mulheres apresentam o dobro de fusos do sono (GAILLARD & BLOIS, 1981) e o tempo gasto no sono de ondas lentas é maior (REYNOLDS & SHIPLEY, 1985), enquanto que, os homens gastam mais tempo de sono no estágio 2 do sono NREM (BIXLER *et al.*, 1984).

A progesterona e seus metabólitos quando administrados em altas doses apresentam efeito sedativo tanto em humanos (SELYE, 1941 e 1942; MERRYMAN *et al.*, 1954; BITRAN *et al.*, 1993; SMITH *et al.*, 1999), quanto em animais (GANDOLFO *et al.*, 1994; LANCEL *et al.*, 1996), diminuindo a vigília, aumentando o sono não-REM e reduzindo a quantidade de REM (FRIESS *et al.*, 1997).

O sono REM é dramaticamente diminuído no proestro, período em que ocorre concentração máxima de β -estradiol (COLVIN *et al.*, 1968; YAMAOKA, 1978; KLEINLOGEL, 1983; FANG & FISHBEIN, 1996), entretanto esse efeito ocorre no período escuro (FANG & FISHBEIN, 1996), indicando que os efeitos do estrogênio dependem, em algum grau, dos ritmos circadianos e/ou ultradianos. Além disso, os episódios de sono REM aumentam em ratas ovariectomizadas, e são suprimidos com a exposição subsequente ao estradiol (COLVIN *et al.*, 1969; BRANCHEY *et al.*, 1971; MATSUSHIMA, 1990; MATSUSHIMA & TAKEICHI, 1990). Ao contrário do que ocorre em ratas, em mulheres, o estrogênio aumenta o tempo gasto no sono REM (THOMPSON & OSSWALD, 1977; SCHIFF *et al.*, 1979). O mecanismo pelo qual o estrogênio influencia seletivamente o sono REM não é totalmente compreendido. Os mecanismos genômicos e não genômicos têm sido investigados.

EVANS *et al.* (1971) e LEJEUNE *et al.* (1987) demonstraram que as concentrações de testosterona são baixas durante o início do sono, em homens e apresentam níveis máximos nas primeiras horas da manhã. Em camundongos machos, a exposição pré-natal ao estresse materno altera a liberação de testosterona, resultando em aumento do sono REM (FISHBEIN & BRIGHT, 1987). A testosterona diminui o sono REM em camundongos fêmeas recém-nascidas, e camundongos machos com mutação no receptor androgênico, exibem padrão de sono semelhante aos de fêmeas normais (YANG & FISHBEIN, 1995). Em adultos, esse efeito da testosterona é muito reduzido, indicando que pode haver um período crítico no desenvolvimento do cérebro em que os andrógenos têm a sua influência sobre o sono.

Na segunda metade da noite onde há um predomínio do estágio 2 do sono NREM e do sono REM, há um discreto aumento dos níveis de cortisol e ACTH, até atingir o pico nas primeiras horas da manhã (FRIESS *et al.*, 1995; SALGADO-DELGADO *et al.*, 2008). Essas alterações também são demonstradas em roedores, porém as concentrações de corticosterona se encontram aumentadas no início do período escuro, na qual predomina a atividade desses animais (SHADAB *et al.*, 2008).

Em humanos, os níveis de TSH são baixos durante o dia, com menores valores encontrados no meio da tarde (BRABANT *et al.*, 1990). No início da noite, a secreção pulsátil de TSH aumenta rapidamente até atingir o pico no início do sono (PARKER *et al.*, 1987; ALLAN & CZEISLER, 1994; VAN CAUTER *et al.*, 2011), tendo a maior parte dos pulsos ocorrendo entre 2-4 h da manhã (BRABANT *et al.*, 1990;). Existe uma correlação inversa entre o TSH e o sono, havendo diminuição dos pulsos de TSH quando ocorre aumento da duração do sono (PARKER *et al.*, 1976 e 1987). Em ratos em oposição ao que ocorre em humanos, as concentrações de TSH são maiores durante o dia, e mínimas no início do período escuro (FUKUDA *et al.*, 1975; JORDAN *et al.*, 1980). Em ratos, os hormônios tireoidianos (HTs) possuem um ritmo de secreção semelhante ao do TSH, com o pico de T3

ocorrendo 1,5 h após o pico de TSH e o de T4 2,2 h após o pico (JORDAN *et al.*, 1980). Em humanos, o pico dos HTs ocorrem no final da noite (PARKER & DUNBAR, 2005).

A ocitocina parece ter a função dupla de sono, pelo menos em animais. Em condições sem estresse, a ocitocina basal pode promover o sono, enquanto que sob estresse, a ocitocina pode aumentar a vigília (LANCEL *et al.*, 2003).

Em seres humanos, o hormônio do crescimento (GH) e a prolactina são expressos durante o sono de ondas lentas (SWS, sono NREM) e os picos geralmente ocorrem 90 minutos após o início do sono (TAKAHASHI *et al.*, 1967 e 1968; PARKER *et al.*, 1969; SASSIN *et al.*, 1969; VAN CAUTER *et al.*, 1992; VAN CAUTER & COPINSCHI, 1998). Assim como em humanos, em roedores, o GHRH é o principal fator modulador da secreção de GH durante o sono (OBÁL *et al.*, 1991). Diferentemente do que ocorre em humanos, os trabalhos em roedores quanto à secreção de GH são conflitantes. Kimura & Kawakami (1981) relacionam a secreção de GH ao SWS, enquanto que Willoughby (1976) não fizeram esta correlação. Também foi observado que a prolactina promove o sono em animais de laboratório (OBÁL *et al.*, 1997; ZHANG *et al.*, 2001) e aumenta o sono REM (STEIGER, 2003). A administração de GHRH, promove o sono em homens jovens (KERKHOFES *et al.*, 1993; MARSHALL *et al.*, 1999; PERRAS *et al.*, 1999) e em animais de laboratório (EHLERS *et al.*, 1986; OBÁL *et al.*, 1988).

2.2 Hormônios Tireoidianos

Em 1915, Kendall isolou a molécula de 3, 5, 3', 5'-Tetraiodo-L-tironina (T4) a partir de extratos de tireoide. Quase 40 anos mais tarde, Gross & Pitt-Rivers (1954) sintetizaram a 3', 3, 5-tri-iodo-L-tironina (T3), demonstrando sua presença no plasma humano. Além de T4 e T3, a glândula tireoide secreta uma pequena porcentagem de T3 reverso (rT3).

A síntese e secreção dos hormônios tireoidianos (HTs) é regulada por um sistema de *feedback* negativo que envolve o eixo hipotálamo, hipófise e tireoide (HHT) (OLSON & KOENIG, 1997). O hormônio liberador de tireotrofina (TRH) é um tripeptídeo sintetizado pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, que age nas células tireotróficas hipofisárias que secretam o hormônio estimulador da tireoide (TSH). O TSH é uma glicoproteína composta de uma subunidade β e uma α , que também é compartilhada com hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e gonadotrofina coriônica humana (hCG). O TSH é o principal regulador da síntese e secreção dos HTs, além disso, ele tem papel fundamental no crescimento e desenvolvimento da tireoide, estimulando a expressão de genes como o do co-transportador Na^+/I^- (NIS), tireoglobulina (Tg), tireoperoxidase (TPO), e promove a síntese dos HTs (DUMONT *et al.*, 1992). Por sua vez, os níveis de T4 e T3 inibem a síntese de TRH e TSH.

A ligação de T3 a receptores (TR) foi observada em quase todos os tecidos (OPPENHEIMER *et al.*, 1974). Em adição a esta expressão variável de isoformas TR em vários tecidos, o papel dos HTs pode variar em diferentes tecidos (HODIN *et al.*, 1990; STRAIT *et al.*, 1990; FALCONE *et al.*, 1992). Em virtude destas características, os HTs desempenham papel fundamental no metabolismo (proteínas, carboidratos, lipídeos), diferenciação, proliferação, crescimento e termogênese (OPPENHEIMER *et al.*, 1987 e 1995; WERNER, 1991; YEN, 2001; BIANCO *et al.*, 2002). Transtornos da glândula tireoide estão entre as doenças endócrinas mais comuns.

2.2.1 Iodação, Síntese e Secreção dos Hormônios Tireoidianos

A síntese dos HTs depende de várias etapas: Síntese de tireoglobulina (Tg), seu transporte e exocitose para a luz folicular; transporte do iodeto pela membrana basal através do co-transportador Na^+/I^- (*Natrium Iodide Symporter*, NIS); oxidação do iodeto; iodação dos resíduos tirosil da Tg e acoplamento das iodotirosinas (monoiodotirosina, MIT e diiodotirosina, DIT). O acoplamento de uma molécula de MIT com uma de DIT forma T3 ou rT3, enquanto o acoplamento de duas moléculas de DIT forma T4 (DAI *et al.*, 1996; SMANIK *et al.*, 1996; LARSEN *et al.*, 1998). A Tg iodada contendo MIT, DIT, T4 e T3, é armazenada sob a forma de colóide dentro do lúmen de células foliculares da tireoide. A oxidação e a reação do iodeto com a tireoglobulina secretada são mediadas pela enzima tireoperoxidase (TPO) (Figura 4).

A secreção dos HTs requer a endocitose da Tg iodada (contendo MIT, DIT, T3 e T4) armazenada na superfície apical da célula folicular tireoidiana (TAUROG, 1996). A Tg endocitada é incorporada a fagolisossomas, sofre digestão proteolítica, e libera os iodoaminoácidos. MIT e DIT são rapidamente desiodados, possibilitando a reutilização do iodeto e da tirosina, enquanto T4 e T3 são liberados na circulação através da superfície basal. Pode, ainda, ocorrer desiodação intratireoidiana de T4 a T3 pelas enzimas iodotironinas desiodases (DUMONT & VASSART, 1995; LARSEN *et al.*, 2002) (Figura 4). A maior parte dos HTs é liberado sob a forma de T4, entretanto somente uma pequena parte apresenta-se na forma ativa livre com a capacidade de entrar na célula alvo e gerar resposta biológica, o restante apresenta-se ligado a proteínas plasmáticas como: globulina ligadora de tiroxina (thyroxine-binding globulin, TBG), albumina e pré-albumina.

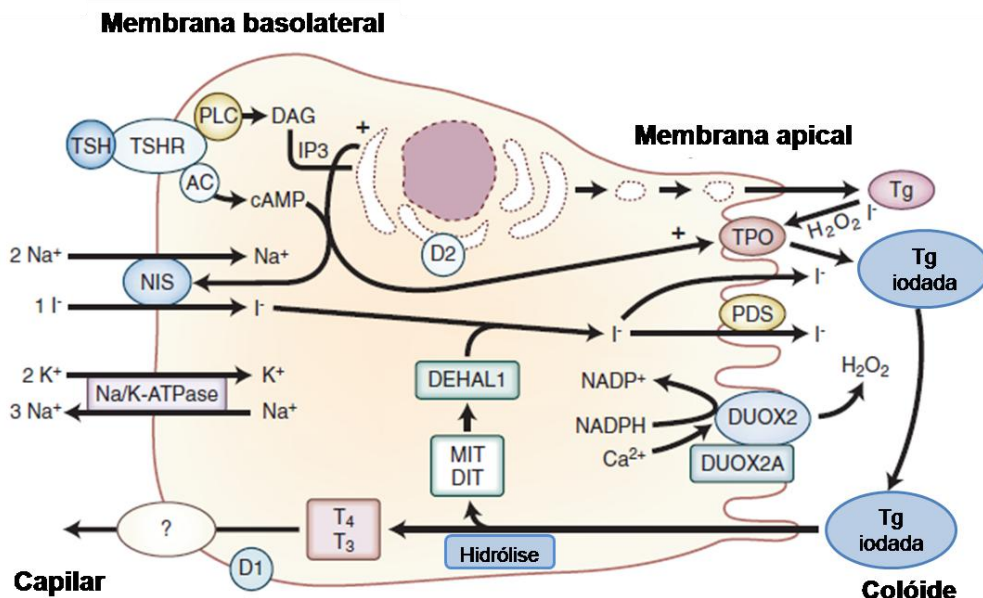


Figura 4: Ilustração esquemática de um tireócito. AC, adenil-ciclase; D1, desiodase tipo1; D2, desiodase tipo 2; DAG, diacilglicerol; DEHAL1, iodotirosina desalogenase 1; MIT, monoiodotirosina; DIT, diiodotirosina; DUOX, dual oxidase 2 e 2A; IP₃, inositol trifosfato; NADP⁺; NADPH; NIS, co-transportador Na^+/I^- (*Natrium Iodide Symporter*); PDS, pendrina (SLC26A4); PLC, fosfolipase C; T3, triiodotironina; T4, tiroxina; Tg; TPO, enzima tireoperoxidase; TSHR, receptor TSH. Modificado de Willians Textbook of endocrinology, 12^a edição.

Diferentemente do T4 que é gerado exclusivamente pela tireoide, a maior parte do T3 sérico é produzido pela desiodação periférica do T4 circulante (GERMAIN & GALTON, 1997). Embora a concentração de T4 livre seja 4x maior que a do T3, a afinidade dos receptores TR ao T3 é 15x maior que a do T4 (LIN *et al.*, 1990), assim o T4 funciona como um pró-hormônio, que deve ser metabolizado à T3 para apresentar efeito biológico (BIANCO & KIM, 2006). Isto ficou claro na década de 70, ao detectarem a presença de T3 no plasma de pacientes tireoidectomizados que recebiam reposição de T4, comprovando a existência de um processo periférico de desiodação (T4→T3) (GERMAIN & GALTON, 1997). Esta desiodação é catalisada pelas enzimas iodotironinas desiodases, presentes em todos os vertebrados (LARSON *et al.*, 1985), podendo ativar T4 ou inativar os HTs. Este processo de ativação ou inativação, catalisado por estas enzimas, indicam que a desiodação é um componente intrínseco da homeostase dos hormônios tireoidianos (BIANCO *et al.*, 2002).

A desiodação do T4 é caracterizada pela retirada do átomo de iodo do anel externo (fenólico) ou interno (tiro-sílico). Por causa da rotação do anel fenólico nas moléculas de iodotironina, as monodesiodações nas posições 3' ou 5' do anel fenólico são equivalentes, sua desiodação gera T3 sendo conhecida como via bioativadora (BRAVERMAN *et al.*, 1970; KÖHRLE, 2000). Enquanto que a monodesiodação nas posições 3 ou 5 do anel tiro-sílico, é conhecida como via inativadora, pois origina rT3 e 3,3' T2 a partir de T4 e T3, respectivamente (KÖHRLE *et al.*, 1999; BIANCO *et al.*, 2002) (Figura 5).

As desiodases apresentam um aminoácido raro, a selenocisteína (Sec), codificado pelo códon UGA, que tem um átomo de Selênio no lugar do de Enxofre, sendo essencial para a atividade catalítica da enzima (BERRY *et al.*, 1991; KÖHRLE, 1999; ST. GERMAIN, 2001). Três tipos de iodotironinas desiodases estruturalmente semelhantes foram identificadas: tipo 1 (D1), tipo 2 (D2) e tipo 3 (D3) (BIANCO *et al.*, 2002; KÖHRLE, 2007; GEREBEN *et al.*, 2008). A D2 é dirigida quase exclusivamente para conversão de T4 para T3 (uma reação de ativação), a D3 inativa T4 e T3, convertendo-os em metabólitos inativos (rT3 e T2) (ROSENBERG, 1991), enquanto a D1 é capaz de catalisar ativação e inativação (ROSENBERG, 1991; TOYODA *et al.*, 1997) (Figura 5).

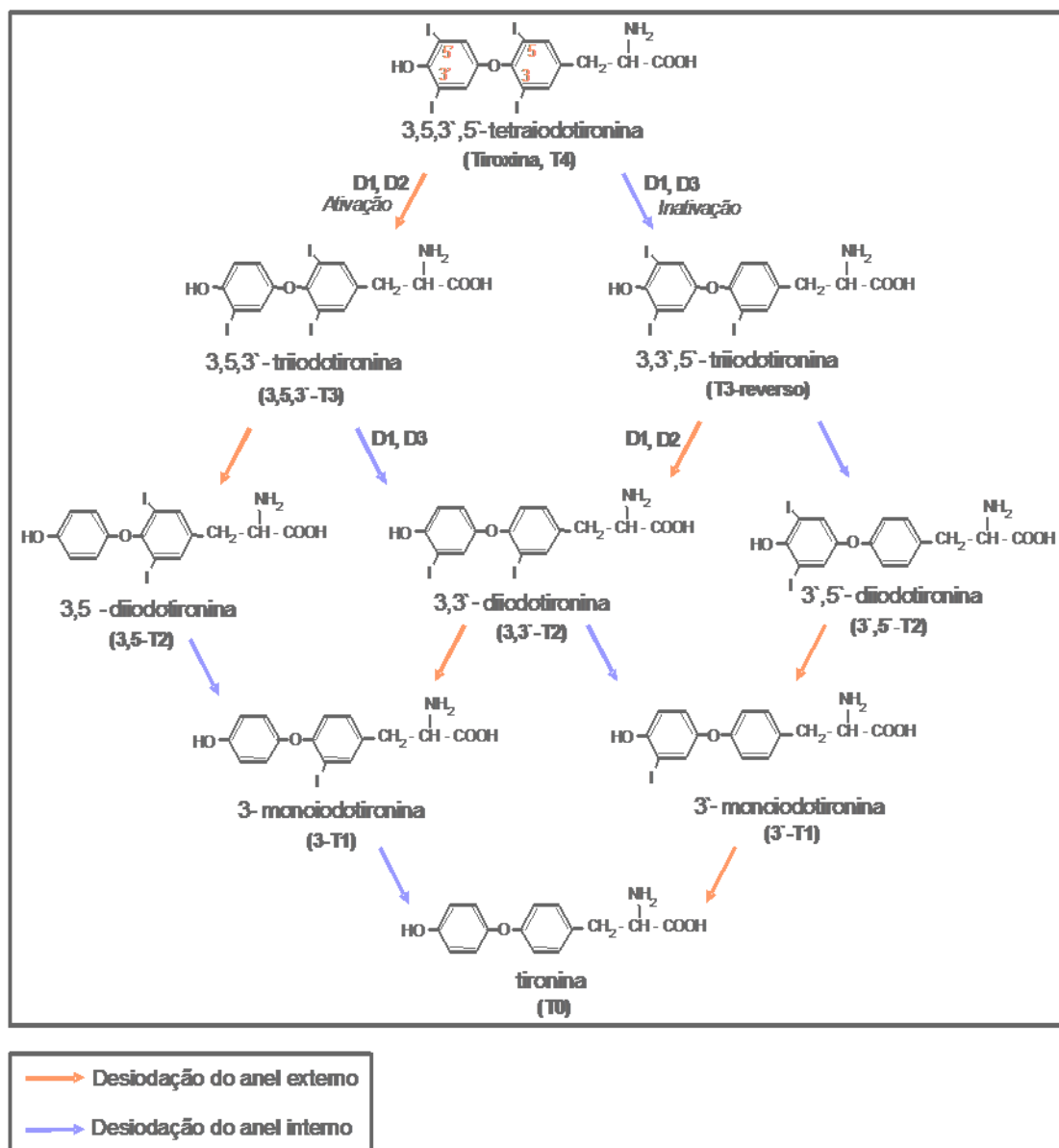


Figura 5: Representação esquemática da cascata de desiodação das iodotironinas. Vias de ativação ou inativação das iodotironinas pelas enzimas desiodases tipo 1 (D1), tipo 2 (D2) e tipo 3 (D3). Adaptado de LEONARD & VISSER, 1986 e BIANCO *et al.*, 2002.

Estudos demonstram que a D1e a D2 contribui de forma significativa para a produção normal de T3 nas células e a nível plasmático em ratos e humanos (CHANOINE *et al.*, 1993; ENGLER & BURGER, 1984; SCHNEIDER *et al.*, 2006), resultando em ações variadas nos diferentes tecidos. Em estudos *in vivo* e *in vitro*, assim como medidas diretas das taxas de secreção tireoidiana de T4 e T3, têm levado a estimativas de que no estado eutireoideo, dois terços da produção de T3 em seres humanos, e metade em roedores resulta de processos de 5'-desiodação extratireoidiana (TEGLER *et al.*, 1982; ENGLER & BURGER, 1984; CHANOINE *et al.*, 1993; MAIA *et al.*, 2005).

2.2.2 Iodotironina Desiodase tipo 1 (D1)

A proteína D1 de rato foi a primeira a ser reconhecida e sequenciada. A sequência completa de cDNA foi determinada em rato, camundongo, cachorro, galinha, tilápia e humanos (BERRY *et al.*, 1991; TOYODA *et al.*, 1994; MANDEL *et al.*, 1992; MAIA *et al.*, 1995; VANDER GEYTEN *et al.*, 1997). Estudos com inibidores da síntese de proteínas indicaram que a meia-vida de D1 em células intactas ou transitoriamente transfectadas é superior a 12 h (ST. GERMAIN, 1988; GEREBEN *et al.*, 2000). A inativação e posterior degradação de D1 é reforçada por substratos, tais como o ácido iopanoico e rT3 (ST. GERMAIN, 1988). Uma característica importante de D1 é que ela é sensível à inibição por PTU (OPPENHEIMER *et al.*, 1972; LAURBERG, 1978; SCHNEIDER *et al.*, 2006).

A D1 é expressa em diversos tecidos na maioria dos vertebrados, com exceção aos anfíbios (GALTON, 1988; St. GERMAIN & GALTON, 1997). Em ratos, é expressa no fígado, rim, sistema nervoso central (SNC), hipófise, tireoide, intestino e placenta (BIANCO *et al.*, 2002). Nos seres humanos, a D1 está presente no fígado, rim, tireoide, hipófise (ISHII *et al.*, 1982; HOFFMANN & BERRY, 2005). A D1 é a principal desiodase no fígado, rim e intestino em todas as fases da vida do rato (KÖHRLE, 1994). A atividade D1 é baixa em todos os tecidos fetais, mas começa a aumentar logo após o nascimento no intestino, fígado, rim, encéfalo, cerebelo e gônadas. Entretanto, a D1 é mais elevada na pele do rato recém-nascido do que com duas semanas de idade, ou no rato adulto, em que é praticamente indetectável (BATES *et al.*, 1999).

A enzima D1 é a única entre as desiodases com capacidade de ativar (5') ou inativar (5), sendo influenciada pelo pH (LEONARD & VISSER, 1986) e pelo grau de sulfatação da iodotironina (OTTEN *et al.*, 1983; MOL & VISSER, 1985). Embora ela seja capaz de gerar T3 a partir do T4 e a maior parte da D1 presente no fígado permite a conversão de T4 à T3, ela tem preferência na produção de rT3 e por iodotironinas sulfatadas como o T4S, T3S, rT3S (LEONARD & VISSER, 1986; TOYODA *et al.*, 1997; BIANCO *et al.*, 2002).

Estudos mostram que a provável localização da D1 seja na membrana plasmática (LEONARD & ROSENBERG, 1978; FEKKES *et al.*, 1979; KÖHRLE *et al.*, 1990; LEONARD *et al.*, 2000), o que favorece acesso imediato do T4 circulante para desiodação pela enzima, facilitando a passagem de T3 para o plasma (BIANCO *et al.*, 2002).

A D1 é modulada positivamente pelos HTs. O excesso dos HTs induzem aumento significativo da transcrição do gene *Dio 1* em ratos, camundongos e humanos (BERRY *et al.*, 1990 e 1991; KÖHRLE, 1999). Estudos em camundongos *knockout* indicaram que o receptor TR β é o principal responsável pela estimulação da D1 para formação de T3 (AMMA *et al.*, 2001). Sinergicamente o TSH estimula a atividade D1 na tireoide (ERICKSON *et al.*, 1982; LEONARD & VISSER, 1986; KÖHRLE, 1999).

Em humanos normais, a D1 responde por 10-20% do T3 plasmático, de origem tireoidiana, em consequência da hidrólise de tireoglobulina (IZUMI *et al.*, 1977) e de desiodiodação intratireoidiana (LAURBERG, 1984; SALVATORE *et al.*, 1996) em indivíduos com ingestão de iodo adequada, enquanto que em indivíduos com doença tireoidiana, responde por 50% (LAURBERG *et al.*, 2007; ITO *et al.*, 2011). No hipotireoidismo primário, há estimulação da glândula tireoide pelo TSH, resultando num aumento da atividade D1 na tireoide, que pode servir para aumentar a conversão de T4 a T3 (BEECH *et al.*, 1995).

Durante o jejum em seres humanos, foi demonstrado um dos primeiros indícios de que o metabolismo periférico dos HTs em seres humanos seria modulado por eventos fisiológicos ou fisiopatológicos. Na deficiência nutricional (jejum), ocorre diminuição de 50% ou mais nos níveis séricos de T3, aumento do rT3, sem mudança no T4 total ou no livre (CHAN *et al.*, 2003 e 2005), pela ação de D1 e D2 e a redução da depuração de rT3 pela D1.

É amplamente aceito que a maior parte da geração de T3 a partir de T4 pela D1 ocorrem no fígado e rim, e tem como destino principal o plasma (CHANOINE *et al.*, 1993; CHOPRA, 1996). No entanto, este papel para a D1 foi recentemente contestado com o relato de que o nível plasmático de T3 é mantido em camundongos com deficiência de D1 (BERRY *et al.*, 1993; STRECKFUSS *et al.*, 2005; SCHNEIDER *et al.*, 2006), e estimativas feitas em ratos (NGUYEN *et al.*, 1998) e humanos (MAIA *et al.*, 2005) sugerem fortemente que uma fração significativa do T3 plasmático é gerado pela D2.

O papel da D1, com a sua ampla especificidade de substrato e a capacidade de realizar desiodação 5' e 5, é difícil de ser definida. Na verdade, com completa deficiência desta enzima (D1 KO), embora ocorra alteração nos padrões metabólicos e de excreção dos HTs, não resulta em qualquer morbidade comprovada ou anormalidades na função de algum órgão (SCHNEIDER *et al.*, 2006), pois apesar do T4 elevado, o T3 e o TSH séricos são normais. Ao que tudo indica, a D1 em tecidos extra-tireoide, funciona como uma enzima captadora dos compostos inativos e outro derivados dos HTs (RUTGERS *et al.*, 1989; GNIDEHOU *et al.*, 2004), “limpando” esses compostos da circulação eliminando-os pela urina e bile (SCHNEIDER *et al.*, 2006), e quando necessário, reciclando o iodo do organismo. Esta hipótese é consistente com as propriedades desta enzima (MORENO *et al.*, 1994). Substratos com exceção ao T4 são utilizados preferencialmente pela D1 para ativação (5'd), e na ausência de D1, o iodeto é perdido nas fezes sob a forma de compostos iodados (SCHNEIDER *et al.*, 2006).

O grau com que a atividade D1 contribui para a taxa de secreção de T3 pela tireoide permanece incerto. Em estados de hipertireoidismo, e talvez, na deficiência de iodo, onde a atividade da D1 tireoidiana é marcadamente aumentada, uma fração significativa do T3 secretado parece ser gerado por meio deste processo enzimático (LAURBERG *et al.*, 2007). No entanto, em culturas de células tireoidianas de rato estimuladas por TSH, o PTU não prejudica a secreção de T3 (KUBOTA *et al.*, 1984) de acordo com o achado de que a deficiência de D1 não compromete a secreção tireoidiana de T3.

2.2.3 Iodotironina Desiodase tipo 2 (D2)

A D2 é uma selenodesiodase obrigatória do anel externo (5'), que catalisa a conversão de T4 a T3, e rT3 a T2 (OBREGÓN *et al.*, 1979; VAN DOORN & ROELFSEMA, 1983). Ela é a principal responsável pela maior parte do T3 circulante proveniente da conversão do T4 (CRANTZ & LARSEN, 1980; CRANTZ *et al.*, 1982). Tem preferência para o T4 como substrato, é insensível à inibição por PTU, e tem meia-vida de aproximadamente 45 minutos (BAQUI *et al.*, 2003).

Em humanos, a atividade D2 foi identificada na tireoide, no cérebro fetal e de adulto, músculo esquelético, osso, pele, na artéria coronária, no coração, na medula espinal, e na placenta, além de RNAm no rim e pâncreas, fornecendo uma fonte plausível de T3 extratireoideo (BARTHA *et al.*, 2000; CROTEAU *et al.*, 1996; MURAKAMI *et al.*, 2001; IMAI *et al.*, 2001); TANAKA *et al.*, 1986; CROTEAU *et al.*, 1996; SALVATORE *et al.*, 1996; BIANCO *et al.*, 2002). Em roedores, a atividade D2 é expressa predominantemente na hipófise, cérebro e tecido adiposo marrom (TAM) (CHERON *et al.*, 1979; SILVA & LARSEN, 1983; LEONARD *et al.*, 1988). A atividade D2 também está presente em osso, gônadas, glândula pineal e timo de rato, glândula mamária de camundongo e útero de rata grávida (MOLINERO *et al.*, 1995; GERMAIN & GALTON, 1997; KAMIYA *et al.*, 1999; SONG *et al.*, 2000; MIZUMA *et al.*, 2001; GALTON *et al.*, 2001; BIANCO *et al.*, 2002).

As diferenças específicas da expressão D2 entre as espécies indicam que esta enzima tem as funções espécies específicas. A D2 é a única 5' desiodase no sistema nervoso central (SNC) de humanos adultos, ao contrário do que ocorre no rato (CAMPOS-BARROS *et al.*,

1996). Em contraste, fígado de rato e de humanos, não expressam RNAm para D2. A tireoide humana apresenta grande expressão de RNAm para D2, diferentemente do que ocorre em ratos, a expressão de RNAm para D2 na tireoide é muito baixa e a atividade indetectável (BORGES *et al.*, 1990; SALVATORE *et al.*, 1996), entretanto em linhagem FRTL-5 de células tireoidianas de rato foi detectado a presença de atividade e RNAm para D2 (CROTEAU *et al.*, 1996; SALVATORE *et al.*, 1996; GEREBEN *et al.*, 2001).

A D2 é conhecida por ser particularmente importante no cérebro, produzindo mais de 75% do T3 nuclear no córtex cerebral de rato (CRANTZ & LARSEN, 1980; CRANTZ *et al.*, 1982; SILVA & MATHEWS, 1984). Em humanos, a presença de atividade de D2 em músculo esquelético mostrou-se uma fonte significativa de T3 gerado para o plasma, tendo em vista a sua grande distribuição (SALVATORE *et al.*, 1996). Altos níveis de RNAm e atividade de D2 foram encontrados na cóclea de camundongos 8 dias após o nascimento, sugerindo que a geração local de T3 tem papel importante para o desenvolvimento coclear (CAMPO-BARROS *et al.*, 2000), e RNAm para D2 foi detectado nos astrócitos de rato recém-nascido (GUADANO-FERRAZ *et al.*, 1997).

O status tireoidiano regula a atividade D2 negativamente, tanto a nível pós-transcricional, quanto pós-traducional (SILVA & LARSEN, 1982; ST. GERMAIN, 1985 e 1988; BIANCO & KIM, 2006). Embora o(s) mecanismo(s) de regulação não tenham sido completamente definidos, na deficiência de iodo e no hipotireoidismo, a atividade D2 é marcadamente *up*-regulada (VAN DOOM *et al.*, 1982 e 1983; ESCOBAR-MORREALE *et al.*, 1997; PEETERS *et al.*, 2001), tendo sido demonstrada pelo aumento da desidodação de T4 no córtex e da expressão de RNAm no encéfalo de ratos com hipotireoidismo (LEONARD *et al.*, 1981; BURMEISTER *et al.*, 1997; TU *et al.*, 1997; CROTEAU *et al.*, 1996; GEREBEN *et al.*, 1999). Enquanto que no hipertireoidismo ela é *down*-regulada (LEONARD *et al.*, 1981; VAN DOOM *et al.*, 1984; CROTEAU *et al.*, 1996; BURMEISTER *et al.*, 1997). O aumento da atividade ocorre em resposta a uma diminuição da concentração sérica de T4, antes da concentração de T3 cair. Se a diminuição do T4 no plasma for muito grande para ser compensada pelo aumento da atividade D2, o *feedback* negativo do eixo HHT é recrutado, e há um aumento de TRH e TSH para estimular a tireoide (SILVA & LARSEN, 1986; LECHAN & KAKUCSKA, 1992; PERELLO *et al.*, 2006).

A porção NH₂ terminal da D2 permanece no lúmen do retículo endoplasmático, enquanto que a porção COOH terminal é citossólica (BAQUI *et al.*, 2000). Esta localização favorece a entrada de T3 no núcleo (GEREBEN *et al.*, 2008) e a sua ligação ao seu receptor (BAQUI *et al.*, 2000; BIANCO *et al.*, 2002). Assim a D2 tem o objetivo principal de fornecer T3 para o compartimento nuclear partir do T4 intracelular (SANDERS *et al.*, 1997; NGUYEN *et al.*, 1998; MAIA *et al.*, 2005). Isso faz com que a D2 tenha um papel importante na regulação do eixo HHT, onde há aumento da sua atividade em resposta a uma diminuição das concentrações de T4 circulante (por exemplo, na deficiência de iodo e na doença auto-imune da tireoide), muito antes de ocorrer diminuição dos níveis séricos de T3.

As desidases, particularmente a D2, é amplamente expressa durante o desenvolvimento de várias espécies. Ela é importante em grande parte, se não exclusivamente, para manter os níveis de HTs na circulação e a nível tecidual durante este período (DE ESCOBAR *et al.*, 2000; GALTON, 2005). Anomalias graves na aprendizagem, memória e locomoção são observadas no hipotireodismo (ANTHONY *et al.*, 1993) ou em animais que sofreram interrupção da ação dos HTs (VENERO *et al.*, 2005).

Em mamíferos, ela desempenha um papel crítico no desenvolvimento de tecidos. O animal D2 KO desde o momento da concepção, apresenta leve deficiência de D2 e não manifesta nenhuma anormalidade neurológica grave, fato que não é observado quando os roedores sofrem de hipotireoidismo durante o período de desenvolvimento (GALTON *et al.*, 2007). Isto aparentemente é um paradoxo, dado que o teor de T3 em ratos D2 KO com 15 dias

de nascidos é reduzido pela metade, sugerindo que o papel da D2 no desenvolvimento do cérebro é particularmente importante nos estados de insuficiência da tireoide (SILVA & MATTHEWS, 1984).

A importância da regulação local dos níveis de HTs pelas desidases não se limita ao período de desenvolvimento. Camundongos D2KO adultos, apresentam níveis elevados de T4, TSH e T3 normais, sugerindo que existe resistência ao *feedback* de T4 à nível hipotálamo-hipófise (SCHNEIDER *et al.*, 2001). Esta tese foi confirmada quando ao administrar T4 houve supressão do TSH, fato que não ocorreu em camundongos mutantes (SCHNEIDER *et al.*, 2001).

Tem sido demonstrado que a D2 é fundamental como fonte de T3 no tecido adiposo marrom (TAM) para facilitar a termogênese mediante a exposição ao frio (BIANCO & SILVA, 1987; CARVALHO *et al.*, 1991). Em roedores, a exposição ao frio aumenta o RNAm e a atividade de D2 no TAM (SILVA & LARSEN, 1983). Antagonistas α e β adrenérgicos bloqueiam este efeito (SILVA & LARSEN, 1983; SALVATORE *et al.*, 1998). A inativação do gene *Dio 2* em D2 KO resulta em permanente defeito na termogênese, comprometendo a termorregulação e a habilidade de dissipar o excesso de calor da dieta (JESUS *et al.*, 2001). A D2 é detectável em meados da gestação e desempenha um papel importante no fornecimento de T3 para o desenvolvimento do tecido cerebral, regulando a termogênese no TAM e a secreção de TSH hipofisário no período neonatal (BURROW *et al.*, 1994).

Estudos em células hepáticas e musculares de humanos demonstraram que a D2 presente nas células musculares é muito mais eficiente do que a D1 presente no fígado para produzir T3 a partir de T4 livre (MAIA *et al.*, 2005). Isso já era esperado, em vista da maior eficácia da D2 para produção de T3 e Km menor que da D1. É pouco provável que a D2 no músculo esquelético contribua significativamente para a produção de T3 periférica em seres humanos, embora a D2 presente na tireoide, osso ou cérebro poderia fazê-lo (BIANCO *et al.*, 2002).

2.3 Privação de Sono e o Sistema Endócrino

A necessidade diária de sono do homem moderno tem sido alvo de muitos estudos. No cenário atual, o período de sono tem sido reduzido devido a fatores como vida social, questões econômicas, luz artificial, trabalhos em turnos e distúrbios do sono (ALVARENGA *et al.*, 2008; ANDERSEN *et al.*, 2009). A perda de sono resultante do aumento da pressão no trabalho e do estresse psicossocial apresenta muitas repercussões ainda desconhecidas para a saúde e o bem-estar, e tornou-se um grave problema em nossa sociedade (BONNET & ARAND, 1995; MEERLO *et al.*, 2002). Em relação às mulheres, isso pode ser agravado em razão da dupla jornada de trabalho (ANDERSEN *et al.*, 2008).

Já está comprovado em humanos que distúrbios de sono que se estendem por muito tempo prejudicam a capacidade cognitiva (HORNE, 1988; PILCHER & HUFFCUTT, 1996), está associado com a exacerbação em processos de doenças, incluindo as cardiovasculares (SCHWARTZ *et al.*, 1999; AYAS *et al.*, 2003; GANGWISCH *et al.*, 2006) e psiquiátricas (FORD & KAMEROW, 1989; CHANG *et al.*, 1997; KOREN *et al.*, 2002), torna o organismo mais suscetível à patógenos (KRUEGER & MAJDE, 1990; KRUEGER & KARNOVSKY, 1995) e pode encurtar o tempo de vida (KRIPKE *et al.*, 1979; MILLER & BARTUS, 1982; KRIPKE *et al.*, 2002; HUBLIN *et al.*, 2007). Embora a função do sono ainda não tenha sido completamente elucidada, evidências sugerem que em humanos e roedores, a privação de sono, total ou parcial, produz um desequilíbrio hormonal em favor dos hormônios catabólicos, suprimindo ou inibindo a liberação dos hormônios anabólicos (BERGMANN *et al.*, 1989;

EVERSON *et al.*, 1989; EVERSON & WEHR, 1993; EVERSON & REED, 1995; EVERSON & NOWAK, 2002).

O primeiro estudo de privação seletiva de sono em seres humanos foi feito por DEMENT em 1960, e consistia em acordar indivíduos em cada início de episódio de sono REM por cinco noites consecutivas. Ao final desse período, os indivíduos reclamavam de irritabilidade, ansiedade e dificuldades de concentração. O desconforto foi revertido com uma noite de sono, durante a qual se observou um rebote de 50% de REM (DEMENT 1960; DEMENT & FISHER, 1963). A importância do sono paradoxal (sono REM) para um organismo pode ser observada, mais claramente, quando ocorre normalização de alguns parâmetros endócrinos após um período de “sono intenso” por um período relativamente curto após a privação de sono (período rebote) (TUFIK *et al.*, 2009).

Em animais, existem algumas metodologias de privação/restricção seletivas de sono. JOUVENT e colaboradores (1964) desenvolveram um método de privação de sono REM em gatos, conhecido como “técnica do vaso de flores”, que se baseia na atonia muscular, presente nesta fase. Consiste na colocação de um animal sobre uma plataforma estreita imersa em água. Com a ocorrência da atonia muscular, o animal cai na água e acorda. Pouco tempo depois este método foi adaptado para ratos (COHEN & DEMENT, 1964). Outra técnica é a da plataforma giratória (BERGMANN *et al.*, 1989), onde o rato fica acoplado a um sistema de registro, quando o animal entra em sono REM, o disco é rodado automaticamente, forçando o rato a andar para não ser levado para a água. Evidências demonstram que essas técnicas são estressantes, pois além dos despertares frequentes, o animal fica isolado e sem mobilidade. Para atenuar os efeitos destas variáveis interferentes foi desenvolvido o método de plataformas múltiplas. Neste modelo, um rato é colocado dentro de um tanque grande com água, onde é permitido mover-se livremente através de plataformas distribuídas pelo tanque (VAN HULZEN & COENEN, 1981). Este método foi adicionalmente modificado numa tentativa de eliminar o isolamento social do animal, descrito nas técnicas anteriores (NUNES & TUFIK, 1994). Este modelo foi denominado plataformas múltiplas modificado, tendo como característica a colocação de vários animais no tanque com número de plataformas excedente ao número de ratos.

A Figura 6 ilustra o perfil dos hormônios analisados durante o sono noturno, por um período de privação de sono de 28 h e a recuperação no dia subsequente (8 h de sono diurno) em voluntários jovens e saudáveis (VAN CAUTER *et al.*, 1991; VAN CAUTER & SPIEGEL, 1991).

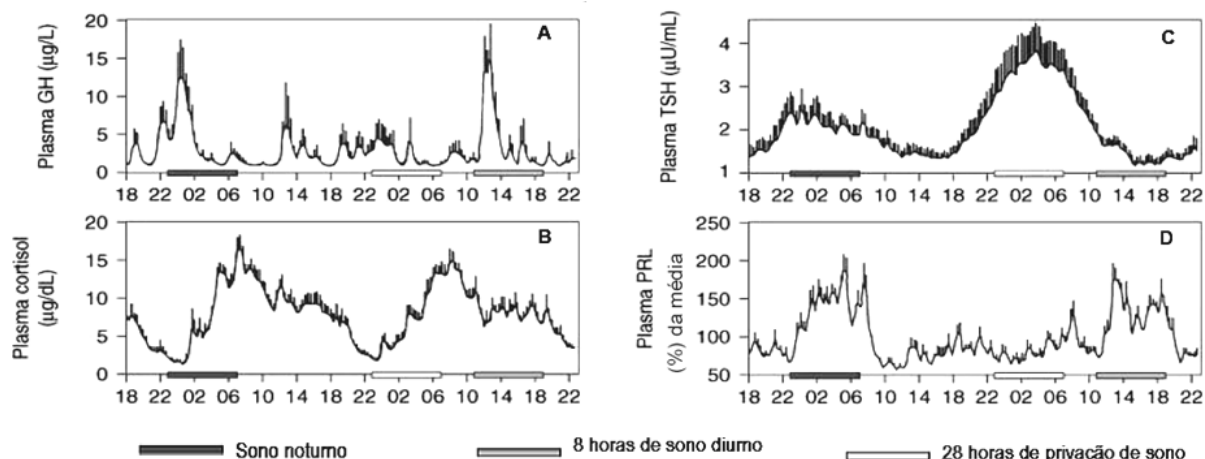


Figura 6: Perfil temporal do hormônio do crescimento (GH) (A), cortisol (B), TSH (C) e prolactina (PRL) (D) de 8 homens adultos jovens durante o sono noturno, 28 horas de privação de sono e 8 horas de sono diurno (ALVARENGA, 2008).

A privação de sono é considerada um fator de estresse em seres humanos e em ratos. Vários estudos demonstraram ativação dos sistemas clássicos de estresse e elevação de adrenalina e cortisol (corticosterona em ratos) (KNUTSON, 2007; MEERLO, 2008), embora não haja um consenso sobre o assunto (RECHTSCHAFFEN & BERGMANN, 2002). Os modelos animais de privação do sono indicam que não só a perda de sono, mas também o método utilizado para induzir a privação de sono levam ao estresse, resultando no aumento da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), com aumento das concentrações de corticosterona, do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), e hipertrofia da glândula adrenal (BORBELY, 1983; COENEN & VAN, 1985; BROCK *et al.*, 1994; TUFIK, 1998; SUCHECKI *et al.*, 1998; SUCHECKI & TUFIK, 2000b; SUCHECKI *et al.*, 2002; ANDERSEN *et al.*, 2003, 2004a e 2005a; ANDERSEN & TUFIK, 2005c; ZAGER *et al.*, 2007).

Os hormônios gonadais também sofrem influência da privação de sono paradoxal (ANDERSEN *et al.*, 2003, 2004a, 2005b, 2006a e 2007). ANDERSEN *et al.*, 2004a, demonstraram que a privação de sono paradoxal por 96 h pelo método da plataforma múltipla modificada, em ratos machos, resulta num aumento significativo de progesterona, diminuição de testosterona e estrona, e um período de sono rebote de 24 horas foi capaz de normalizar os níveis de progesterona. Em fêmeas, ANTUNES *et al.* (2006) observaram no grupo submetido à privação na fase de diestro do ciclo estral, baixos níveis de estradiol e estrógeno, e altos níveis de progesterona.

A liberação de GH está intimamente relacionada ao sono de ondas lentas (VAN CAUTER *et al.*, 1992; VAN CAUTER & COPINSCHI, 1998), de tal modo que, sempre que o sono é interrompido, mesmo por despertares espontâneos, ocorre supressão da liberação de GH noturno (TAKAHASHI *et al.*, 1967; PARKER *et al.*, 1969; SASSIN *et al.*, 1969; VAN CAUTER *et al.*, 1992). Essa inibição é observada mesmo após a administração de hormônio liberador de GH (GHRH) (SPATH-SCHWALBE *et al.*, 1995). Na restrição aguda de sono, ocorre aumento da liberação de GH no início do sono, já na restrição crônica de sono, o pico de liberação GH ocorre antes do início do período de sono e a porcentagem de liberação de GH é menor do que indivíduos não privados (SPIEGEL *et al.*, 2000), indicando um mecanismo de adaptação na restrição crônica de sono. Em ratos, EVERSON & REED (2004) observaram diminuição de GH em machos submetidos à privação de sono (71% do sono REM) por uma ou duas semanas pela metodologia da plataforma giratória. Estudos

demonstram que um curto período de privação de 6-8 h pode reduzir os níveis de GHRH no hipotálamo (GARDI *et al.*, 1999).

Em humanos, pequenos períodos de privação e fragmentação de sono são responsáveis por níveis noturnos de prolactina mais baixos do que indivíduos com sono normal (VON TREUER *et al.*, 1996; VAN CAUTER *et al.*, 1997 e 2005). Apesar disto, o pico de prolactina ocorre durante o sono, mesmo que o sono seja retardado (VAN CAUTER & SPIEGEL, 1997). Em ratos, um período longo de duas semanas de privação de sono total ou parcial pelo método da plataforma giratória foi responsável por uma dramática diminuição dos níveis de prolactina e IGF-1 (EVERSON & CROWLEY, 2004).

Em humanos, foi observada ligeira redução de leptina em indivíduos que sofreram privação aguda de sono (MULLINGTON *et al.*, 2003; SPIEGEL *et al.*, 2004), restrição de sono (SPIEGEL *et al.*, 2003), e em pacientes com narcolepsia, que apresentam arquitetura do sono anormal (KOK *et al.*, 2002; SCHULD *et al.*, 2000). Em ratos machos, EVERSON & CROWLEY (2004), utilizando a metodologia do disco giratório e privação de sono REM por 5 dias, observaram diminuição de leptina e aumento de ghrelina.

2.4 Sistema Endócrino na Gestação

Logo após a implantação do embrião no endométrio, uma série de adaptações ocorrem na mãe a fim de proteger o feto em desenvolvimento, assegurar a gestação e um parto bem sucedido. A adeno hipófise aumenta cerca de 36 %, principalmente devido ao aumento no tamanho e número de lactotrofos. Paralelamente ao aumento dos lactotrofos, os níveis elevados de estrogênio aumentam a síntese e secreção de prolactina. O número de somatotrofos e gonadotrofos são reduzidas, e não há mudanças nos corticotrofos ou tireotrofos (FOYOUZI *et al.*, 2004). Enquanto que a neuro hipófise diminui de tamanho (ELSTER *et al.*, 1991).

No início da gestação, as mudanças hormonais são mediadas pelo corpo lúteo (ACHACHE & REVEL, 2006) e pelo hCG produzido pelo trofoblasto (BRAUNSTEIN *et al.*, 1973). Após a formação da placenta, que em humanos e em ratos é do tipo hemocorial, esta passa a produzir hormônios como estriol, estrogênio e progesterona, além de possibilitar a passagem de hormônios menores que 700d (FISHER, 2006) da mãe para o feto.

Altos níveis de estrogênio e progesterona são essenciais para manutenção da gestação e aumentam progressivamente durante este período (LEHTOVIRTA & RANTA, 1981). O aumento dos níveis de progesterona eleva os níveis de proteínas de ligação de corticosteróide (CBG), diminuindo ao longo da gestação os níveis de cortisol/corticosterona (LOHRENZ *et al.*, 1967; WETTERBUERG *et al.*, 1979; SANTIAGO *et al.*, 2001; BRUNTON *et al.*, 2005). A placenta é permeável a hormônios esteróides, incluindo cortisol. Ao longo da segunda metade da gestação, o cortisol é metabolizado a cortisona (metabólito inativo) nos tecidos fetais e na placenta. (PEPE & ALBRECHT, 1995; MESIANO & JAFFE, 2004). Ao final da gestação e com o desenvolvimento do feto, a proporção de cortisol a cortisona em tecidos fetais e no plasma aumenta, e a conversão de cortisol em cortisona dentro da placenta e tecidos fetais diminuiu. O cortisol tem uma ação maturacional importante em vários tecidos fetais no final da gestação, além de aumentar a produção de T3 pela atividade da D1 hepática fetal, a síntese de surfactante no pulmão e aumento da sensibilidade do TAM à noradrenalina (LIGGINS, 1990; WALLACE, 1995).

Parece haver uma desconexão entre o CRH e o ACTH durante a gravidez, pois o CRH aumenta exponencialmente no final da gestação (LAATIKAINEN *et al.*, 1987; CAMPBELL *et al.*, 1987; GOLAND *et al.*, 1988), enquanto o ACTH têm aumento mais gradual (LINDSAY & NIEMAN, 2005). Em humanos, a maior parte do CRH é de origem placentária e do cordão umbilical, caso que não ocorre em roedores (SHIBASAKI *et al.*, 1982; GOLAND *et al.*, 1988). Evidências sugerem que o CRH placentário seja biologicamente ativo e poderia

estimular os eixos HHA na mãe e do feto. A secreção de CRH por células do trofoblasto seria estimulada pelos altos níveis de glicocorticóides (cortisol) no soro materno, sugerindo que exista um *feedback* positivo entre os eixos HHA da mãe e do feto (ROBINSON *et al.*, 1988; JONES *et al.*, 1989).

Em roedores, mecanismos para suprimir a resposta ao stress do eixo HHA surge por volta dos dias embrionários 10-15, sendo mantida até o período de lactação (NAKAMURA *et al.*, 1997; NEUMANN *et al.*, 1998 e 2003; BRUNTON *et al.*, 2005). Mesmo no momento do parto, quando há aumento de ACTH e corticosterona (NEUMANN *et al.*, 1998; DOUGLAS *et al.*, 2003), o eixo HHA é inibido (WIGGE *et al.*, 1993; DOUGLAS *et al.*, 2003). Esta adaptação age para amortecer o impacto do estresse, reduzindo a exposição fetal ao excesso de glicocorticóides, minimizando-se assim o risco de programação adversa nos filhotes (WELBERG & SECKL, 2001). Pode-se observar diminuição da expressão de RNAm de CRH e AVP no núcleo paraventricular (PVN), concomitante com diminuição de CRF na eminência mediana (DA COSTA *et al.*, 1996; JOHNSTONE *et al.*, 2000; MA *et al.*, 2005).

As concentrações de IGF-1 são elevadas durante a gestação (ZIMKELLER, 2000), e isto provavelmente faz com que os níveis de GH não sofram grandes alterações (FOYOUZI *et al.*, 2004). Os níveis de ocitocina aumentam progressivamente em paralelo com o estradiol e a progesterona, aumentando ao nível máximo com a dilatação da cérvix e distensão da vagina no momento do parto (LEAKE *et al.*, 1981).

A glândula tireoide aumenta cerca de 18 % durante a gestação (GLINOER, 1997). Esse aumento é associado ao alargamento dos folículos, da quantidade de colóide e do volume de sangue. Este alargamento ocorre em resposta ao hCG que age nos tireotrofos. Devido a subunidade β ser compartilhada pelo hCG e TSH, o hCG liga-se ao receptor do TSH, ativando-o (GLINOER *et al.*, 1994; SOLDIN *et al.*, 2004). O aumento das concentrações de estrogênio que induzem o aumento da síntese hepática de TBG, aumentando do cisanalhamento de TBG e diminuindo a taxa de depuração plasmática (LUM *et al.*, 1984; GLINOER, 1990; 1994; ROBBINS, 2000; SCHUSSLER, 2000; ALEXANDER *et al.*, 2004; SOLDIN *et al.*, 2004). O resultado é o aumento da TBG, com os níveis de T3 e T4 mantendo-se adequados para as necessidades metabólicas da mãe e para o desenvolvimento fetal (GLINOER, 1997). A concentração de TSH no primeiro trimestre é menor que no segundo e terceiro trimestre (GLINOER, 1997). Os níveis de TSH plasmático aumentam progressivamente durante a última metade da gestação (BURROW *et al.*, 1994). Apesar disto, as concentrações de TRH são normais (BURROW *et al.*, 1994; FOYOUZI *et al.*, 2004; BROWN *et al.*, 2005).

Os HTs e seus derivados oriundos da passagem transplacentária, foram detectados em embriões de ratos e humanos, antes do início da secreção fetal de HT, que no rato, acontece nos dias embrionários 15-17 e em humanos da 12^a-20^a semanas gestacionais (OBREGON *et al.*, 1984; DE ESCOBAR *et al.*, 1985, 1988 e 2004). Em ratos, mesmo após a formação da tireoide, 15% a 20% de T4 nos tecidos fetais é de origem materna (Morreale De Escobar, 1990). Vários estudos (RUIZ DE ONA *et al.*, 1988; DE ESCOBAR *et al.*, 1989 e 1990) mostraram que apesar de baixos níveis de HT no plasma de ratas tireoidectomizadas, os níveis de T4 e T3 eram normais a partir dos dias gestacionais 17-22 no cérebro e no plasma de fetos com funcionamento normal da tireoide.

A maior parte dos HTs no compartimento fetal são inativados para análogos sulfatados e desidrados pela D1 e D3 até o período perinatal (BURROW *et al.*, 1994; KERRY *et al.*, 2001). Esta neutralização mantém os níveis de T3 reduzidos até as últimas semanas de gestação, facilitando o crescimento fetal e o *timing* para maturação de tecidos (período específico para ocorrer maturação tecidual). Apesar da limitada transferência placentária materno-fetal de T4 e a produção predominante de metabólitos inativos, níveis significativos de T4 livre estão presentes nos fluidos fetais, provenientes de transferência placentária do

início da gestação, de produção da tireoide fetal, e de desiodação periférica no cérebro e TAM pela D2 fetal na gestação tardia, o que tem um papel crítico no desenvolvimento fetal (RUIZ DE ONA *et al.*, 1988; BURROW *et al.*, 1994; DE ESCOBAR *et al.*, 2004; BROWN *et al.*, 2005).

2.5 Sono e Gestação

A importância da qualidade do sono e o impacto negativo dos distúrbios do sono na gravidez são reconhecidos tanto por pacientes quanto por médicos. Desde a concepção até o momento do parto, a gravidez e sono têm uma íntima relação, e até mesmo a posição da mãe durante o sono influencia o local de implantação do óvulo no útero (MAGANN *et al.*, 2002).

Durante a gravidez, dois terços das mulheres consideram seu sono anormal (PIEN & SCHWAB, 2004; LEE, 2006). Há um aumento do estágio I (NREM), redução do sono de ondas lentas (estágios 3 e 4 do sono NREM) e do sono REM (KARACAN *et al.*, 1968; HERTZ *et al.*, 1992; DRIVER & SHAPIRO, 1992; BRUNNER *et al.*, 1994; LEE *et al.*, 2000; PIEN *et al.*, 2004). Essas alterações, já ocorrem no primeiro trimestre gestacional, quando há aumento da quantidade total de sono (HERTZ *et al.*, 1992; ELEK *et al.*, 1997; LEE & GAY, 2004). Em contraste, o terceiro trimestre é caracterizado por diminuição do tempo de sono (LEE *et al.*, 1992; HEDMAN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2000; LEE & GAY, 2004). Tais mudanças parecem ser influenciadas pelo aumento acentuado nos níveis de hormônios reprodutivos (progesterona e estrogênio) que ocorrem no período gestacional de humanos e animais (SPEROFF *et al.*, 1989; DRIVER, 1992; NISHINA *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 2004; PARRY *et al.*, 2006). O estrogênio diminui o sono REM (BRANCHEY *et al.*, 1971; FANG & FISHBEIN, 1996) e a progesterona aumenta o NREM (FRIESS *et al.*, 1997). Além disso, a fragmentação do sono pode aumentar a concentração de cortisol no plasma (FOLLENIUS *et al.*, 1992; MEERLO *et al.*, 2008).

Mesmo uma gestação normal envolve várias mudanças comportamentais, físicas e fisiológicas que têm impacto na duração e nos padrões do sono. Fatores como idade materna (WORTH *et al.*, 2002), paridade (WATERS *et al.*, 1996; OGA *et al.*, 1995), ritmo circadiano alterado (LABYAK *et al.*, 2002), ganho de peso, contrações uterinas, movimentos fetais, aumento da frequência urinária (BARATTE-BEEBE *et al.*, 1999), câibras nas pernas, azia (SUZUKI *et al.*, 1994; WORTH *et al.*, 2002), incapacidade de assumir posições durante o sono, e a expectativa do parto potencializando a ansiedade (ROCHA, 1991), podem também influenciar o sono durante a gravidez. Além disso, a gestação pode afetar um distúrbio do sono pré-existente (SCHWEIGER, 1972; FEINSILVER & HERTZ, 1992, ELEK *et al.*, 1997; SUGIHARA & KOBAYASHI, 1998; LE BOM *et al.*, 2001; HEDMAN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 1992, 2000 e 2004; SANTIAGO *et al.*, 2001; EDWARDS *et al.*, 2002; PIEN *et al.*, 2005; FACCO *et al.*, 2010) e aumentar a ocorrência de novos distúrbios do sono como a síndrome das pernas inquietas (SBROCCA, 1962; GOODMAN *et al.*, 1988; LEE *et al.*, 2001; MANCONI *et al.*, 2004), insônia (SUZUKI *et al.*, 1994), ronco (REDLINE *et al.*, 1994; LOUBE *et al.*, 1996), apnéia do sono (AMBROGETTI *et al.*, 1991; SAHOTA *et al.*, 2003) e sonolência excessiva (MINDELL & JACOBSON, 2000).

Há cada vez mais discussão sobre os riscos e consequências relacionadas com a perda do sono durante a gestação. Cada vez mais as mulheres vêm se destacando como força de trabalho, isso sem reduzir a maioria de suas responsabilidades em casa. Conseqüentemente as necessidades de sono são muitas vezes empurradas para o fundo da lista de prioridades e quaisquer prejuízos decorrentes da má qualidade ou duração sono podem afetar adversamente seu modo de vida (WILLIAMS *et al.*, 2002). O sono materno é importante para o bem-estar fetal, porque o fluxo sanguíneo útero-placentário e a secreção de vários hormônios, especialmente o GH, tem seu pico durante o sono (BLYTON *et al.*, 2002).

2.6 Restrição de Sono, Hormônios Tireoidianos e Gestação

Alterações no ambiente materno durante a gestação podem afetar o desenvolvimento embrionário e fetal, tornando o indivíduo predisposto a desenvolver doença cardiovascular, hipertensão, resistência à insulina e diabetes na vida adulta (OZANNE & HALES, 2002; HOLT, 2002; DODIC *et al.*, 2002; BARKER, 2002 e 2004). Esta teoria é conhecida como programação perinatal ou hipótese de Barker (BARKER *et al.*, 1989; ADAMO *et al.*, 1989; ABE *et al.*, 2008) e tem sido demonstrada tanto em estudos epidemiológicos quanto em estudos experimentais (ANDERSEN *et al.*, 2004; BARROS *et al.*, 2006).

Já foi demonstrado que a privação de sono como um estímulo de estresse durante a gravidez pode causar alterações na mãe, no ambiente fetal (CHANG *et al.*, 2010) e também promove mudanças na resposta emocional, comportamento sexual e alterações bioquímicas na prole na idade adulta (SUCHECKI & PALERMO, 1990; VELAZQUEZ-MOCTEZUMA *et al.*, 1992; CALEGARE, 2010). Apesar da função exata do sono não ter sido completamente elucidada, os efeitos patológicos que resultam da sua privação ou restrição têm sido descritos em seres humanos (PENEV *et al.*, 2007; IRWIN *et al.*, 2008) e animais (BERGMANN *et al.*, 1989; D'ALMEIDA *et al.*, 1998; FRANK *et al.*, 1998; KUSHIDA, 2001). Há evidências de que a privação de sono desencadeia processos oxidativo em vários órgãos (D'ALMEIDA *et al.*, 1997 e 1998; CIRELLI *et al.*, 2004; GOPALAKRISHNAN *et al.*, 2004; EVERSON *et al.*, 2005), e a indução de estresse oxidativo durante a gravidez pode conduzir a malformações congênitas ou mesmo morte fetal (WELLS *et al.*, 2009).

Durante a restrição de sono muitos neurônios e funções endócrinas são alterados e uma das alterações mais marcantes ocorre no eixo HHT. Em humanos, vários estudos (PARKER *et al.*, 1987; BRABANT *et al.*, 1990; KUHS *et al.*, 1996) relataram que na privação de sono aguda, ocorre um aumento da atividade do eixo HHT com aumento notável do TSH, resultando em aumento dos hormônios liberados pela glândula tireoide. Em outro estudo, a restrição de 4 h de sono por noite por seis dias causou aumento de T4 e redução nos níveis de TSH (SPIEGEL *et al.*, 1999), mas diversos trabalhos demonstraram justamente o oposto.

BERGMANN *et al.* (1989) demonstraram que após a privação crônica de sono paradoxal em ratos utilizando a metodologia da plataforma giratória, as concentrações de T4 e T3 reduzem progressivamente, mas os níveis de T4 mostram uma queda ainda mais acentuada (até mesmo indetectável) que os de T3 (BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON & REED, 1995; EVERSON *et al.*, 2002; EVERSON & NOWAK, 2002). Isto se deve provavelmente a produção local de T3 no TAM pela enzima iodotironina desiodase tipo 2 (SILVA & LARSEN, 1986; SILVA *et al.*, 1984; BALZANNO *et al.*, 1990) e a quantidade de hormônio não ligada à TBG, entretanto as concentrações de TSH, potente estimulador do eixo HHT, não acompanhou a diminuição de T4, mantendo-se à níveis basais. Após a administração de TRH foi observado um aumento do TSH a fim de restabelecer os valores de T4 e T3 (REFETOFF, 1989; EVERSON & REED, 1995). A explicação para o declínio das concentrações de T4, mais a inadequada liberação de TSH no plasma durante a privação de sono ainda é desconhecida, mas indica uma alteração em um mecanismo central de regulação hormonal durante a privação de sono, sugerindo um hipotireoidismo central (REFETOFF, 1989; SAMUELS & RIDGWAY, 1992), o que explicaria o fato de que a administração de T4 em ratos privados do sono não seria suficiente para suprimir a atividade da desiodase tipo 2 no TAM (BALZANNO *et al.*, 1990), além disto os níveis de rT3 não estavam aumentados de forma que indicasse a inativação do T4 (EVERSON & REED, 1995), e ao analisar o núcleo paraventricular (PVN) de animais experimentais foi observado uma triplicação da transcrição dos níveis de TRH, mas isto não foi suficiente para aumentar os valores de TSH (EVERSON & NOWAK, 2002).

A função normal da tireoide materna durante a gravidez é crítica para o desenvolvimento fetal, pois ao longo da gestação altos níveis de T4 são requisitados (MANDEL *et al.*, 1990; GLINOER, 1997). Em humanos e roedores, os hormônios tireoidianos maternos são importantes para o neurodesenvolvimento normal da prole (DE ESCOBAR, 1989; LAVADO-AUTRIC, 2003; AUSÓ, 2003 e 2004; DE ESCOBAR *et al.*, 2000, 2002, 2003 e 2004) e sua ausência durante o desenvolvimento leva a danos cerebrais irreversíveis (EAVRS, 1960; TSUJIMURA *et al.*, 1971; FORD & CRAMER, 1977; DE ESCOBAR *et al.*, 1983; STEIN *et al.*, 1991; BERNAL E NUNEZ, 1995; DE ESCOBAR *et al.*, 1997). Como dito anteriormente, a privação de sono como um estímulo de estresse na gravidez pode causar alterações na mãe, no ambiente fetal (CHANG *et al.*, 2010), e pode promover alterações comportamentais, bioquímicas e psicossomáticas na prole na idade adulta (SUCHECKI & PALERMO, 1990; VELAZQUEZ-MOCTEZUMA *et al.*, 1992; CALEGARE, 2010), entretanto o impacto da perda de sono sobre a função tireoidiana da mãe, desenvolvimento e função tireoidiana da prole, ainda é obscuro, não existindo na literatura nenhum trabalho que faça este tipo de análise.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Neste trabalho nosso objetivo foi estudar a função tireoidiana e o metabolismo extratireoidiano das iodotironinas em ratas prenhas submetidas à restrição de sono, bem como avaliar estes mesmos parâmetros em sua prole.

3.2 Objetivos específicos

Estudar a função tireoidiana e o metabolismo extratireoidiano das iodotironinas desidases em ratas prenhas, controles e restritas de sono por 20 h diárias, durante 6 dias, no 20º dia gestacional e no momento do desmame (21º dia de vida dos filhotes), além de estudarmos estes mesmos parâmetros na prole, macho e fêmea, com 21 dias de idade e na prole fêmeas, com 60 dias de idade, para isso avaliamos:

- Peso corporal no 1º, 14º e 20º dia gestacional nas ratas prenhas eutanasiadas no 20º dia gestacional;
- Peso corporal no 1º, 14º e 20º dia gestacional nas ratas eutanasiadas no 21º dia de vida dos filhotes;
- Peso corporal dos filhotes machos e fêmeas aos 21 dias de vida e dos filhotes fêmeas aos 60 dias de vida;
- Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide nas mães e filhotes;
- Peso relativo da adrenal, hipófise e tireoide nas mães e filhotes;
- As concentrações séricas de corticosterona;
- As concentrações séricas totais de T3 e T4;
- A atividade da desidase tipo 1 no fígado, rim, tireoide e hipófise, e tipo 2;
- A atividade da desidase tipo 2 no TAM, hipófise, hipotálamo e hipocampo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) sob número de processo 23083.000361/2013-13, e atende aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e está de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal estando de acordo com a resolução 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

4.1 Animais

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar com aproximadamente 3 meses de idade, machos pesando entre 300-350 g (n=20) e fêmeas pesando entre 200-250 g (n=38), cedidos gentilmente pelo biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ localizado no Prédio de Química da mesma universidade. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, em uma sala com temperatura controlada (22° a 25° C), ciclo claro/escuro de 12 h (luzes acesas às 7 h e apagadas às 19 h), com comida e água *ad libitum*.

4.2 Citologia Vaginal

Para determinar a regularidade dos ciclos estrais, as ratas foram submetidas à citologia vaginal duas semanas antes de iniciar os procedimentos experimentais. A coleta da secreção vaginal foi realizada com uma ponteira de plástico contendo soro fisiológico (NaCl 0,9 %) e para a coleta, a ponteira foi inserida na vagina das fêmeas, não profundamente, e o fluido coletado foi colocado na lâmina para a posterior visualização no microscópio óptico. A determinação do ciclo é 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 *et al.*, 2002).

4.3 Acasalamento dos Animais

Na fase de proestro do ciclo estral, os machos foram colocados nas caixas junto às fêmeas virgens por volta das 17 h e com elas permaneceram durante toda a noite. Pela manhã do dia seguinte foi feito o esfregaço vaginal e observação da presença ou não de tampão vaginal (*plug* vaginal) e espermatozóides. O primeiro dia de gestação foi designado quando o tampão vaginal foi observado na vulva da rata e/ou quando no esfregaço vaginal foi observada a presença de espermatozóides. A partir daí então as fêmeas prenhas foram divididas em 2 grupos: Controle (C, n=15) e submetidas à restrição de sono (RS, n=22).

4.4 Metodologia das Plataformas Múltiplas Modificada

Para executar o protocolo de restrição de sono (RS) nós utilizamos a técnica de Plataformas Múltiplas Modificada (NUNES & TUFIK, 1994). Foram utilizados tanques de 63 × 49 × 32 cm³ e plataformas feitas com cano de PVC e concreto, com aproximadamente 6,5 cm de diâmetro. Foram distribuídas 8 plataformas circulares pelo tanque, que foi preenchido com água até 1 cm abaixo do final de cada plataforma, permitindo a livre movimentação dos animais saltando de uma plataforma para outra. Em cada tanque foram colocados no máximo 5 animais. Dois dias antes de começar os procedimentos experimentais, os animais passaram por um período de adaptação, que consistiu em ficar no tanque por um período de 1 h (por

dia) para que acostumassem com o novo ambiente e quedas desnecessárias das plataformas fossem minimizadas durante o experimento. Ração e garrafas de água foram fornecidas livremente sobre uma grade situada no topo do tanque (Figura 7). A água no tanque foi trocada diariamente durante todo o período restrição de sono (6 dias).

O Protocolo utilizado para restrição de sono (RS) é baseado na atonia muscular que ocorre no sono REM (JOUVENT *et al.*, 1964) e procede da seguinte forma: quando os animais atingem a fase de sono paradoxal (sono REM), ocorre atonia muscular esquelética, perda do equilíbrio postural, os ratos caem ou encostam na água, e são acordados. A metodologia das plataformas múltiplas modificada foi escolhida, pois minimiza outras variáveis de estresse como, isolamento social e restrição de movimento encontrada em outras metodologias de restrição de sono (NUNES & TUFIK, 1994).



Figura 7: Foto do tanque para restrição de sono pela Metodologia de Plataformas Múltiplas Modificada utilizada no presente estudo.

4.5 Protocolo de Restrição de Sono nas Ratas Prenhas

Associada à Metodologia das Plataformas Múltiplas Modificada, será utilizado também um protocolo de restrição de sono proposto por THOMAL *et al.* (2010), onde ratas prenhas entram no tanque de privação às 14 h do 14º dia de gestação (1º dia experimental), no dia seguinte às 10 h as ratas voltam para as caixas contendo maravalha, sendo então autorizadas a dormir livremente por 4 h. Este intervalo de tempo foi escolhido, porque é quando o sono REM alcança sua maior expressão (MACHADO *et al.*, 2005). Às 14 h, os animais retornam para os tanques de privação. Este procedimento foi repetido até o 20º dia de gestação, quando às 10 h a restrição de sono foi finalizada. Os animais do grupo controle (C) permaneceram em suas caixas (até 4 animais por caixa) na mesma sala onde ocorreu a restrição de sono. Ambos os grupos tiveram livre acesso a comida e água durante todo o procedimento experimental. Os animais foram mantidos em sala com temperatura controlada ($21 \pm 3^\circ \text{C}$), e ciclo claro/escuro

de 12:12, com as luzes acesas às 7 h e apagadas às 19 h, até o 14º dia gestacional, quando foram transferidas para a sala de restrição de sono, sob as mesmas condições. O peso das ratas prenhas foi acompanhado durante a gestação. O protocolo experimental foi dividido em três fases:

4.5.1 Primeira Fase

No 20º dia gestacional, quando a restrição de sono é finalizada, metade das ratas prenhas do grupo controle (C, n=7) e restritas de sono (RS, n=11) foram eutanasiadas, o sangue foi coletado, centrifugado e o soro obtido estocado a -20º C para análise de T4, T3 e corticosterona pela técnica de Radioimunoensaio (RIA). Hipófise, tireoide e adrenal foram excisadas e pesadas para avaliação do peso absoluto e relativo. Após a pesagem, a adrenal foi dispensada. Tireoide, hipófise, fígado e rim foram armazenados a -70º C para posterior análise da atividade iodotironinadesiodase tipo1 (D1). Tecido adiposo marrom (TAM), hipófise, hipotálamo e hipocampo foram armazenados a -70º C para análise da atividade iodotironina desiodase tipo 2 (D2) (Figura 8).

4.5.2 Segunda Fase

As outras ratas dos grupos controle (C, n = 8) e restritas de sono (RS, n = 11) ficaram nas caixas individuais com maravalha para parto natural. Aos 21 dias os filhotes foram desmamados e separados em machos e fêmeas (sexagem). A sexagem foi feita com base na distância ano-genital, que no macho é bem maior do que na fêmea, além da visualização da bolsa escrotal. Parte dos filhotes machos e fêmeas foram eutanasiados aos 21 dias juntamente com suas mães. Não mais do que dois filhotes da mesma ninhada foram atribuídos a cada grupo experimental para evitar que resultados iguais causados por filhotes provenientes da mesma matriz experimental (mãe) sejam duplicados, ou seja, o “efeito da ninhada” (BECKER & KOWALL, 1977). O sangue das mães e dos filhotes foi coletado, centrifugado e o soro obtido estocado a -20º C para análise de T4, T3 e corticosterona pela técnica de RIA. No caso dos filhotes de 21 dias, foi feito *pool* com o sangue de dois filhotes para a obtenção da quantidade suficiente de soro para realização das dosagens hormonais. Hipófise, tireoide e adrenal foram excisadas e pesadas para avaliação do peso absoluto e relativo. Após a pesagem, a adrenal foi dispensada. Tireoide, hipófise, fígado e rim foram armazenados a -70º C para posterior análise da atividade D1. TAM, hipófise, hipotálamo e hipocampo foram armazenados a -70º C para análise da atividade D2 (Figura 8).

4.5.3 Terceira Fase

Os filhotes fêmeas restantes ficaram nas caixas até completarem 60 dias de vida, quando foram eutanasiados. Como descrito na segunda fase, não mais do que dois filhotes da mesma ninhada foram atribuídos a cada grupo experimental para evitar o “efeito da ninhada” (BECKER & KOWALL, 1977). Sangue foi coletado, centrifugado e o soro obtido estocado a -20º C para análise de T4, T3 e corticosterona pela técnica de RIA. Hipófise, tireoide e adrenal também foram excisadas e pesadas para avaliação do peso absoluto e relativo, após a pesagem a adrenal foi descartada. Tireoide, hipófise, fígado e rim foram armazenados a -70º C para posterior análise da atividade D1. TAM, hipófise, hipotálamo e hipocampo foram armazenados a -70º C para análise da atividade D2 (Figura 8).

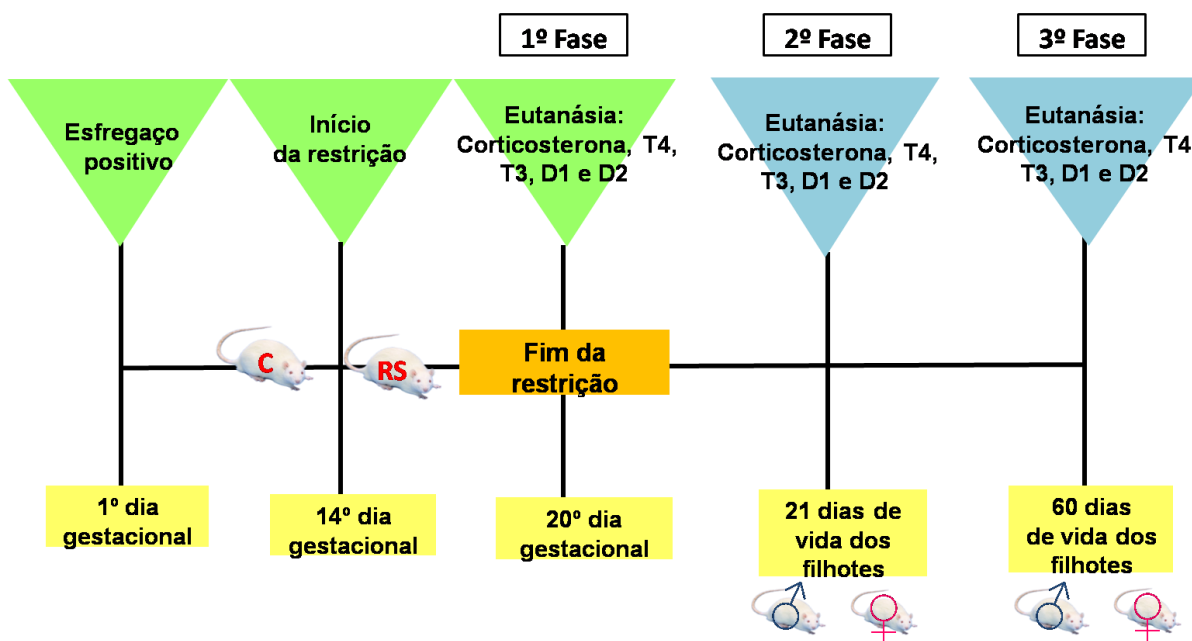


Figura 8: Esquema representativo do protocolo experimental de restrição de sono em ratas prenhas com as 3 fases experimentais realizadas neste estudo.

4.6 Dosagens Séricas de T3 e T4

As concentrações séricas de T3 e T4 foram determinadas com Kits comerciais para RIA de T3 (*MP Biomedicals* [^{125}I] T₃ *solid phase RIA with monoclonal antibody, New York-USA*) e T4 (*MP Biomedicals* [^{125}I] T₄ *solid phase RIA with monoclonal antibody, New York-USA*) totais, contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno, e T3 e T4 radiomarcados (^{125}I). Os demais procedimentos seguiram as recomendações do fornecedor. Os resultados foram expressos em ng/dl para o T3 e em µg/dl para o T4. As amostras foram dosadas em duplicata e a detecção da radioatividade foi determinada em cintilador de fase sólida, Wizard (2470-0020 Wallac Wizard^{TM 2} *automatic gammacounter*).

4.7 Dosagem Sérica de Corticosterona

Os níveis séricos de corticosterona foram determinados com Kits comerciais para radioimunoensaio (RIE) com Kit específico (*Corticosterone. MP Biomedicals, LLC 13485*) totais, contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno, radiomarcados (^{125}I). Os demais procedimentos seguiram as recomendações do fornecedor. Os resultados foram expressos em ng/mL. As amostras foram dosadas em duplicata e a detecção da radioatividade foi determinada em cintilador de fase sólida, Wizard (2470-0020 Wallac Wizard^{TM 2} *automatic gamma counter*).

4.8 Atividade das 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).

4.8.1 Processamento dos tecidos

Para as mães e filhotes de 60 dias, amostras de fígado, rim e tecido adiposo marrom (TAM) foram pesadas em balança digital analítica (25 ou 40 mg do tecido/ml de tampão), e assim como as glândulas tireoide e hipófise, hipotálamo 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).

No caso dos filhotes com 21 dias de vidas, primeiro foi testado as quantidades de proteínas presentes nos homogenatos com diferentes volumes de tampão sucrose. Para fígado, rim, TAM, hipocampo e hipotálamo foram utilizados as mesmas quantidades de tecido/ml de tampão que nas mães e filhotes de 60 dias. Para a tireoide, foram utilizadas duas glândulas em 500 µl de tampão sucrose e para hipófise, foram utilizadas quatro glândulas por 250 µl de tampão sucrose.

Os tecidos foram homogeneizados em *potter* de vidro imerso em gelo. Os homogenatos foram armazenados a -70° 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.

4.8.2 Purificação do rT3-¹²⁵I ou T4-¹²⁵I

Antes da determinação da atividade D1 ou D2 em um determinado tecido, o traçador radioativo foi purificado em virtude do decaimento radioativo e das desiodações espontâneas das iodotironinas marcadas, mesmo na ausência da enzima. Para a purificação, foi utilizada uma coluna descartável de 2 cm de SephadexTM LH-20 (*GE Healthcare Bio-sciences AB*) (2 ml de H₂O/g de gel seco) para se obter somente o rT3 ([¹²⁵I]rT₃) ou o T4 ([¹²⁵I]T₄) radioativo (*Perkin Elmer Life Sciences, Inc., Boston, MA*). Uma alíquota de 70 µl da iodotironina marcada foi diluída em 12 ml de H₂O MilliQ e aplicada à coluna, seguindo de lavagem com 6 ml de H₂O MilliQ. O rT3 ou T4 marcado foram eluídos nove vezes com 500 µl de etanol 70 %. O eluato de etanol 70 % contendo a iodotironina foi colhido em nove tubos de vidro, de onde foram retirados 3µl para contagem da radiação gama. Os tubos com mais de 3.000 cpm/3µl foram reunidos e guardados a 4°C em castelo de chumbo, ao abrigo da luz na geladeira, até o dia seguinte, quando foi realizado o ensaio.

4.8.3 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 para D1 ou 360 µl para D2;
- 2) Ditiotreitól (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 de fígado e rim, 30µg de proteína de tireoide e 150 µg de proteína de hipófise; D2: volume calculado para conter 50 µg de proteína de TAM, 15µg de proteína de hipófise e hipotálamo, e 150 µg de hipocampo).

A adição de 50 µl (50.000 cpm) do rT3-¹²⁵I ou 100 µl (100.000 cpm) do T4-¹²⁵I em todos os tubos deu início à reação. Durante 60 minutos para D1 ou 180 minutos para D2, os tubos foram incubados a 37° C (± 1° C) em banho maria. Decorrido o tempo de incubação, a reação foi interrompida colocando-se os tubos em banho de gelo por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 200 µl de soro fetal bovino (*CRIPION BIOTECNOLOGIA LTDA*) e 100 µl de ácido tricloroacético (TCA) 50% para a precipitação das proteínas. Os tubos foram agitados vigorosamente no *vortex* durante 2 minutos e centrifugados (8000 xg 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 de D1 foi expressa em picomoles de rT3/ min. mg de ptn, e atividade de D2 em femtomoles de T4/ min. mg de ptn.

4.9 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*). Os procedimentos experimentais foram repetidos pelo menos três vezes. Para análise do peso corporal das mães foi utilizado ANOVA bivariada, seguido de pós-teste de Bonferroni. Para análise do peso corporal dos filhotes, peso absoluto e relativo dos tecidos, T3, T4, corticosterona, D1 e D2 utilizou-se o teste T-Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Mães no 20º dia Gestacional

Para estudar os efeitos agudos da restrição de sono no final da gestação, analisamos a função tireoidiana das mães logo após 6 dias consecutivos de restrição de sono. Os resultados obtidos em relação às ratas prenhas controle (C) e restritas de sono (RS) eutanasiadas no 20º dia gestacional são descritos abaixo.

5.1.1 Peso Corporal

No 1º dia, 14º dia e 20º dia do período gestacional as ratas prenhas foram pesadas. Apesar de utilizarem o mesmo protocolo experimental que utilizamos em nosso estudo (Plataformas Múltiplas Modificada), os achados de THOMAL *et al.* (2010) diferiram dos nossos resultados. Esse grupo observou diminuição do ganho de peso corporal no 20º dia gestacional, nas ratas prenhas restritas de sono em relação às ratas controle, enquanto que em nosso trabalho não foram observadas alterações significativas do peso corporal no 1º, 14º e 20º dia de gestação entre os grupos estudados (Figura 9).

A privação/restrrição crônica de sono, independente da metodologia utilizada é conhecida por ativar de sistemas de estresse, aumentando a resposta aos estímulos estressores (COENEN & VAN LUIJTELAAR, 1985; ANDERSEN *et al.*, 2004; GALVÃO *et al.*, 2009), causando diminuição do peso corporal (SUCHECKI *et al.*, 1998). Outra característica observada em ratos privados de sono por um longo período (mais de quatro dias) é a hiperfagia (PATCHEV *et al.*, 1991; SUCHECKI *et al.*, 2003; KOBAN & STEWART, 2006), que associada a fadiga observada nestes animais, em função da restrição crônica de sono, pode conduzir a redução da atividade física (DINGES *et al.*, 1997; PATEL *et al.*, 2006). Como dito anteriormente, é sábio que diferentes tipos de estresse produzem perda de peso, e quanto maior o estímulo, maior a perda de peso. Como em nosso estudo não observamos diminuição do peso corporal, podemos falar que o estímulo estressor não foi tão nocivo, a fim de provocar tal diminuição.

A grande maioria dos estudos com privação de sono (NUNES & TUFIK, 1994, SUCHECKI *et al.*, 1998, ANDERSEN *et al.*, 2004a e 2005a) causa diminuição do peso corporal, em ratos machos submetidos à privação de sono REM (paradoxal) pela Metodologia das Plataformas Múltiplas Modificada. Contudo, a restrição crônica de sono em humanos (diminuição da quantidade de sono por muitas noites consecutivas), pode afetar o equilíbrio energético com diminuição da tolerância à glicose e da sensibilidade à insulina, regulando positivamente o apetite (diminuição de leptina e aumento de ghrelina), diminuindo o gasto energético, podendo levar ao aumento ou até excesso de peso (SPIEGEL *et al.*, 2005; KNUTSON, 2007).

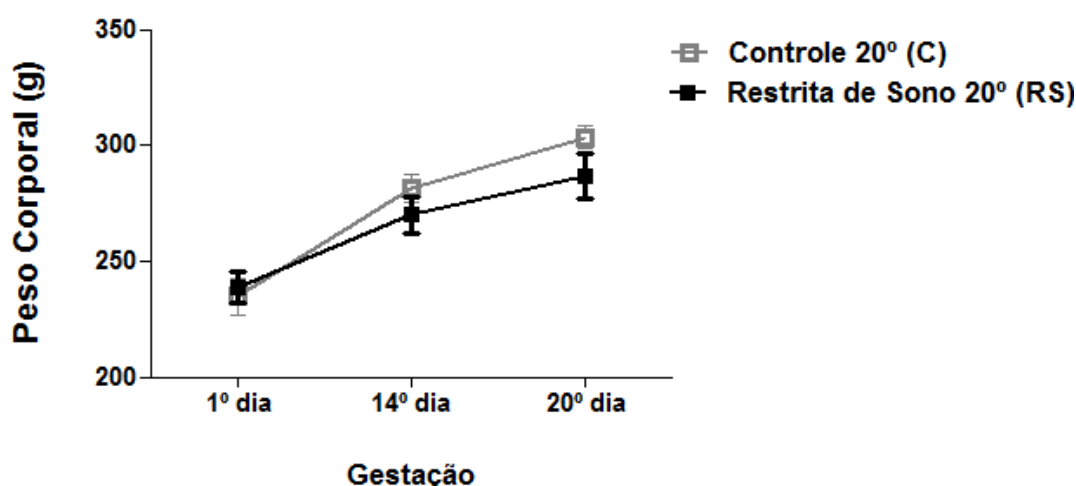


Figura 9: Peso corporal das ratas controle (C, n=7) e restritas de sono (RS, n=11) no 1º, 14º e 20º dia gestacional.

5.1.2 Peso Absoluto dos Tecidos

Avaliamos o peso absoluto das adrenais, hipófise e tireoide. Na glândula adrenal observamos aumento significativo do peso no grupo restrito de sono (RS), quando comparado ao grupo controle (C). Enquanto que na glândula tireoide e na hipófise não foram observadas alterações significativas do peso absoluto entre os grupos estudados (Figura 10).

RECHTSCHAFFEN *et al.* (1983) também observaram aumento do peso absoluto da adrenal ao privar ratos machos por vários dias (5 e 15 dias) através da metodologia de plataforma giratória.

O aumento do peso absoluto da adrenal demonstra que a glândula está sendo estimulada, em função da ativação do eixo HHA. Isto pode estar ocorrendo em resposta a uma ação trófica do ACTH na glândula adrenal (RACHAMANDRAN *et al.*, 1977), que é reforçada pelo aumento de ACTH em ratos privados de sono por um longo período pelo método de plataformas múltiplas (SUCHECKI *et al.*, 2004).

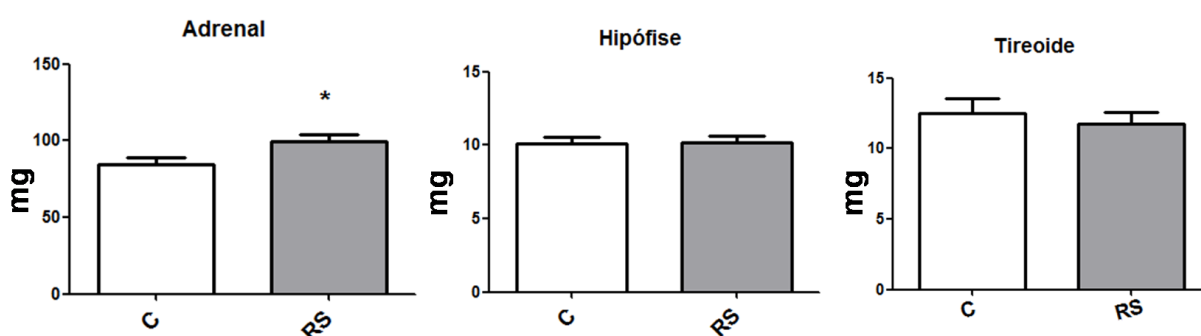


Figura 10: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em mg nos grupos de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional (adrenal: C=84,79 ± 4,296, n=7 e RS=99,64 ± 4,644, n=11; hipófise: C=10,13 ± 0,4379, n=7 e RS=10,17 ± 0,4650, n=10; tireoide: C=12,53 ± 1,054, n=7 e RS=11,75 ± 0,8601, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.

5.1.3 Peso Relativo dos Tecidos

Com relação ao peso relativo das adrenais, hipófise e tireoide, não detectamos alterações significativas entre os grupos C e RS em nenhum dos tecidos estudados (Figura 11). Nosso trabalho diferiu de COENEN *et al.* (1985), SUCHECKI *et al.* (2000) e ANDERSEN *et al.* (2004a e 2005a) que fizeram privação de sono em machos, e THOMAL *et al.* (2010) que utilizaram protocolo idêntico ao nosso; todos observaram aumento do peso relativo da adrenal, o que pode ser explicado pela diminuição do peso corporal observada no grupo privado ou restrito de sono nesses trabalhos.

Uma explicação para o aumento do peso absoluto da adrenal não ter sido acompanhado pelo aumento do peso relativo, é que esse aumento foi em baixa proporção (17,5%), podendo ter sido anulado quando normalizado pelo peso corporal, além disso, no final da gestação de ratos, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) é hiporreativo (WIGGER *et al.*, 1999; DOUGLAS *et al.*, 2003), assim, apesar da presença de componente estressor, pode não ser detectado aumento do peso absoluto e/ou relativo na adrenal de ratas prenhas submetidas à restrição de sono, ainda mais em nosso estudo, que utilizou a metodologia das plataformas múltiplas modificada para a restrição do sono, minimizando variáveis de estresse como isolamento social e restrição de movimento.

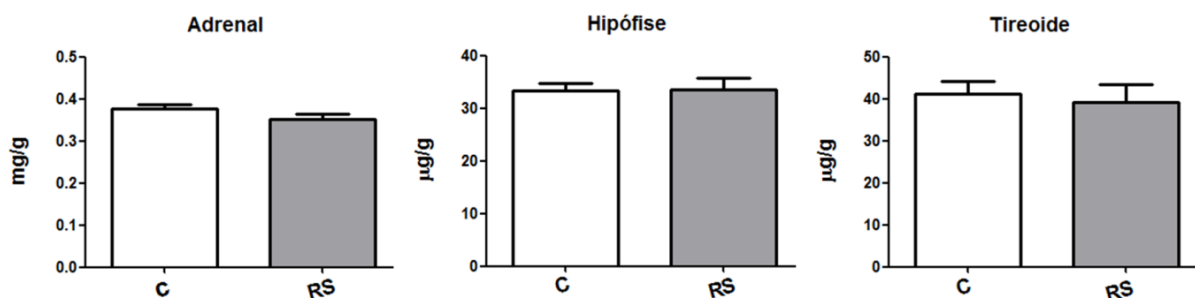


Figura 11: Peso relativo da adrenal em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide em µg/g de peso corporal nos grupos de ratas controle (C) e restrita de sono (RS), no 20º dia gestacional, (adrenal: C=0,3756 ± 0,01057, n=7 e RS=0,3510 ± 0,01274, n=11; hipófise: C=33,38 ± 1,356, n=7 e RS=33,46 ± 2,338, n=11; tireoide: C=41,15 ± 3,099, n=7 e RS=39,25 ± 4,106, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.1.4 Dosagens Hormonais

Observamos uma diminuição significativa dos níveis séricos de T4 no grupo de ratas prenhas restrita de sono (RS) em relação ao grupo controle (C). Com relação ao T3 sérico, não foi detectada diferença significativa entre os grupos estudados (Figura 12).

Na literatura não há nenhum trabalho que avalie a função tireoideia no caso de uma perda de sono durante a gestação, então nosso grupo é o primeiro a relatar diminuição de tiroxina em ratas prenhas submetidas à restrição de sono. Nossos resultados corroboram os de BAUMGARTNER *et al.* (1986), BERGMANN (1989), EVERSON & REED (1995) e EVERSON *et al.* (2004), que utilizaram machos e a metodologia de plataforma giratória. Entretanto, nesses estudos em machos de BERGMANN (1989) e EVERSON & REED (1995), a diminuição dos níveis séricos de T4 foi acompanhada de diminuição significativa dos níveis séricos de T3, fato que não ocorreu em nosso estudo, mas que pode ser plenamente justificado pelas grandes diferenças de *status* fisiológico que existe entre machos e fêmeas

preenhas, além das diferenças na duração e metodologia utilizada para a privação/restrrição de sono.

Como não avaliamos os níveis séricos de TSH, não sabemos se a diminuição dos níveis de T4 relatada é acompanhada de níveis elevados de TSH, numa tentativa de restabelecer a normalidade do eixo HHT, ou níveis normais de TSH, como ocorre em outros casos de privação de sono. Apesar do desconhecimento dos valores de TSH, os valores de T3 encontram-se normais, não acarretando em prejuízos maiores a esses animais (PHAROAH *et al.*, 1973). Entretanto, em tecidos como os cerebrais, que dependem principalmente do T4 para a disponibilidade de T3, pode haver uma deficiência de T3 local, caracterizando um hipotireoidismo seletivo (HETZEL, 1994), sem manifestações clínicas de hipotireoidismo no indivíduo comum todo. Além disso, neste período o feto ainda necessita da passagem transplacentária de T4 para geração de T3 (DE ESCOBAR, 1990), assim, se o T4 sérico materno estiver em baixas concentrações, o desenvolvimento fetal pode ser afetado e uma programação perinatal desenvolvida.

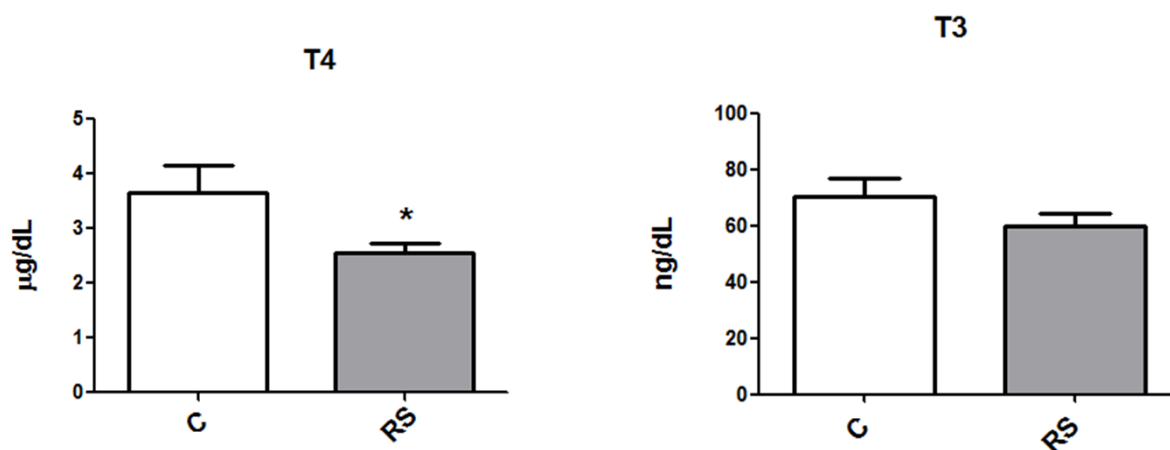


Figura 12: Níveis séricos de T4 em µg/dL e T3 em ng/dL nas ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional (T4: C=3,649 ± 0,5040, n=7 e RS=2,555 ± 0,1621, n=11; T3: C=70,51 ± 6,157, n=7 e RS=59,66 ± 4,886, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.

Com relação aos níveis séricos de corticosterona, apesar de apresentar tendência a diminuir nas ratas prenhas restritas de sono, essa diferença não foi significativa em relação ao grupo controle (Figura 13).

Este dado é muito interessante, pois demonstra que a restrição de sono durante o último terço da gestação, não estimula o eixo HHA como esperado em uma situação de estresse, assim, a manutenção dos níveis de corticosterona no final da gestação, estão de acordo com dados da literatura em ratas prenhas, ou seja, redução da atividade do eixo HHA, pela diminuição dos níveis de corticosterona, devido ao aumento de CBG no plasma (LOHRENZ *et al.*, 1967; WETTERBUERG *et al.*, 1979; SANTIAGO *et al.*, 2001; BRUNTON *et al.*, 2005), redução da expressão de RNAm para CRF e vasopressina (JOHNSTONE *et al.*, 2000) e POMC (precursor do ACTH) (MA *et al.*, 2005), sendo os níveis plasmáticos matidos durante toda a gestação e só aumentando no momento do parto (ATKINSON & WADDELL, 1995). Essas adaptações ocorrem a fim de tamponar o estresse e proteger o cérebro fetal do excesso de glicocorticóides, evitando o risco de programação (WELBERG & SECKL, 2001). Corroborando nosso resultado, em um estudo com mulheres grávidas, SUZUKI *et al.* (1993) detectou uma tendência não significativa de diminuição do ritmo de liberação do cortisol em mulheres grávidas que tinham sono de má qualidade.

Comparando com estudos em machos, que corroboram os nossos resultados, EVERSON & REED (1995) e RECHTSCHAFFEN & BERGMANN (1995), utilizando a metodologia da plataforma giratória e privação total ou parcial de sono, não detectaram mudanças nas concentrações de corticosterona. MEERLO *et al.* (2002), que fizeram restrição de sono por oito dias utilizando a metodologia do disco giratório, e como a nossa, os ratos dormiam quatro horas por dia, também não foi observado alteração da corticosterona.

A metodologia de privação/restrrição de sono é conhecida por ativar sistemas clássicos de estresse, elevar adrenalina e cortisol (corticosterona em ratos), constituindo um fator de estresse (KNUTSON, 2007; MEERLO, 2008; GALVÃO *et al.*, 2009). Divergindo da idéia de que a privação de sono cause ativação do eixo HHA e aumento dos hormônios catabólicos, não observamos diminuição do peso corporal, nem aumento significativo no peso relativo das adrenais e nenhuma alteração significativa nos níveis de corticosterona; isto pode estar relacionado com possíveis adaptações ocorridas durante a restrição de sono, associadas a alterações nos sistemas e na reatividade do estresse (FOLKOW, 1989; LOPEZ *et al.*, 1999; DE KLOET *et al.*, 2005; HENSLER, 2006; NOVATI *et al.*, 2008), como ocorre no momento do parto, quando apesar de haver aumento de ACTH e corticosterona, o eixo HHA é inibido (WIGGE *et al.*, 1993; DOUGLAS *et al.*, 2003). Após a ativação do sistema de estresse, alças de *feedback* são acionadas rapidamente em vários níveis do sistema (isto é, a partir da glândula adrenal para o regiões do hipotálamo e outras regiões cerebrais, tais como o hipocampo e córtex frontal), com a finalidade de desativar o eixo HHA e restabelecer o *set point* homeostático (LUPIEN *et al.*, 2009).

Entretanto, apesar da hiporreatividade do eixo HHA no parto, não exclui este processo de ser um estressor. Em situações que ocorre dificuldades na evolução do trabalho de parto podem constituir estímulo ao eixo HHA (WIGGER *et al.*, 1999). A privação/restrrição de sono é conhecida causar fadiga (MELTZER & MINDELL, 2007) e alterações hormonais (BERGMANN *et al.*, 1989; EVERSON & CROWLEY, 2004), que poderiam tornar o parto estressante, estimulando conseqüentemente o eixo HHA (WIGGER *et al.*, 1999; DE KLOET *et al.*, 2005).

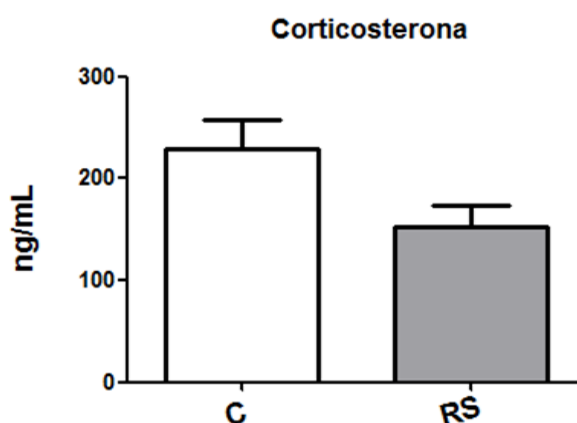


Figura 13: Níveis séricos de corticosterona em ng/ml nas ratas controle (C: 228,4 ± 28,78, n=5 e restritas de sono (RS: 151,8 ± 22,06, n=9), no 20º dia gestacional. Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.1.5 Desiodase Tipo 1 (D1)

A atividade desiodase tipo 1 foi avaliada no fígado, rim e tireoide de mães controle (C) e restrita de sono (RS), no 20º dia gestacional, não sendo observadas alterações significativas na atividade D1 em nenhum dos tecidos estudados (Figura 14). Isto nos mostra que a desiodação periférica de D1 não foi recrutada para aumentar os níveis plasmáticos de T3, mantendo as concentrações de T3 normais.

Apesar do importante papel da D1 na regulação do sistema tireoideo, nenhum trabalho da literatura estudou a atividade desta enzima na privação/restrrição de sono. Nossos resultados sugerem que a restrição de sono por 20h, durante 6 dias, no final da gestação, não afeta o T3, mas provoca nas mães diminuição do T4 sérico, o que é independente da atividade D1 pois esta encontra-se normal no fígado, rim e tireoide, assim parece ser um mecanismo central, provavelmente regulação direta do eixo HHT, que gera menor síntese e/ou secreção de T4; sendo assim, avaliar TRH e TSH, além da resposta hipofisária ao TRH, torna-se muito importante em nosso trabalho.

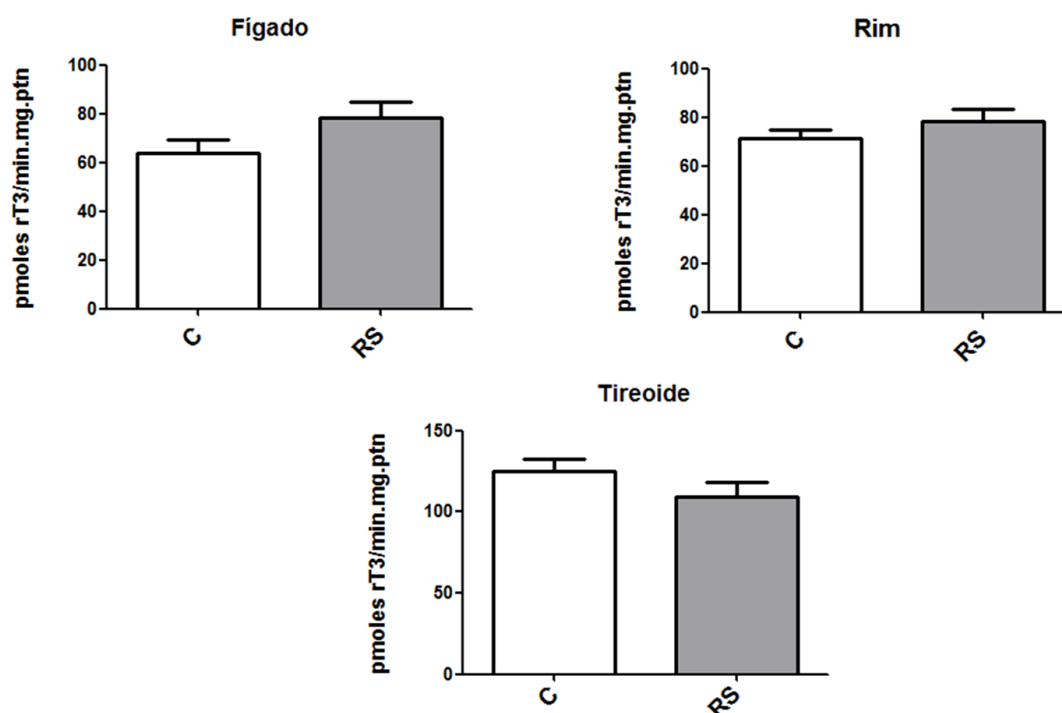


Figura 14: Atividade desiodase tipo 1 no fígado, rim e tireoide de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional, expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=63,89 ± 5,418, n=7 e RS=78,14 ± 6,499, n=11; rim: C=71,11 ± 3,911, n=6 e RS=78,20 ± 5,318, n=10; tireoide: C=125,3 ± 6,864, n=7 e RS=109,1 ± 9,449, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.1.6 Desiodase Tipo 2 (D2)

A atividade desiodase tipo 2 foi avaliada no tecido adiposo marrom (TAM), hipófise, hipotálamo e hipocampo nos grupos de mães controle (C) e restrita de sono (RS), sendo observado um aumento significativo da atividade D2 no TAM, entretanto, não encontramos alterações na hipófise, hipotálamo e hipocampo (Figura 15).

O aumento significativo da atividade D2 no TAM corrobora SILVA *et al.* (1984), SILVA & LARSEN (1986) e BALZANO *et al.* (1990), que utilizaram a metodologia da plataforma giratória para a privação de sono em machos. O aumento da D2 no TAM seria a provável explicação para a manutenção dos níveis séricos de T3 normais, indicando que um mecanismo periférico é acionado em situações de baixa de T4, isto ficou bem claro no trabalho de BALZANO *et al.* (1990), que observaram um aumento de 100 vezes no TAM de ratos privados de sono. Entretanto, GIRALT *et al.* (1986), observaram em ratas prenhas saudáveis no 20º dia gestacional, diminuição da atividade D2 no TAM quando comparadas com ratas virgens.

Com relação à atividade D2 na hipófise, nossos resultados corroboram os de BALZANO *et al.* (1990), em machos e com privação de sono total, onde não foram observadas alterações significativas na atividade D2. Também não encontramos alterações significativas da atividade D2 no hipotálamo e no hipocampo, dado inédito da literatura e bem interessante, pois indica que a regulação da D2 é a mesma para três diferentes tecidos centrais, isto é, a restrição de sono no final da gestação não afeta a D2 centralmente, apenas aumenta sua atividade periféricamente (no TAM).

Como não observamos alterações da atividade D1 e detectamos níveis de T3 normais, parece que a restrição de sono nas ratas prenhas diminui o T4 por causa de uma menor secreção deste hormônio pela tireoide, e ainda podemos afirmar que a responsável pela manutenção dos níveis de T3 normais é a atividade D2, tendo em vista o aumento observado no TAM. Esta relação também foi observada por GIRALT (1986) e por FERNADEZ (1987), que colocou o TAM como fonte principal de T3 periféricamente em ratos expostos ao estresse por frio agudo.

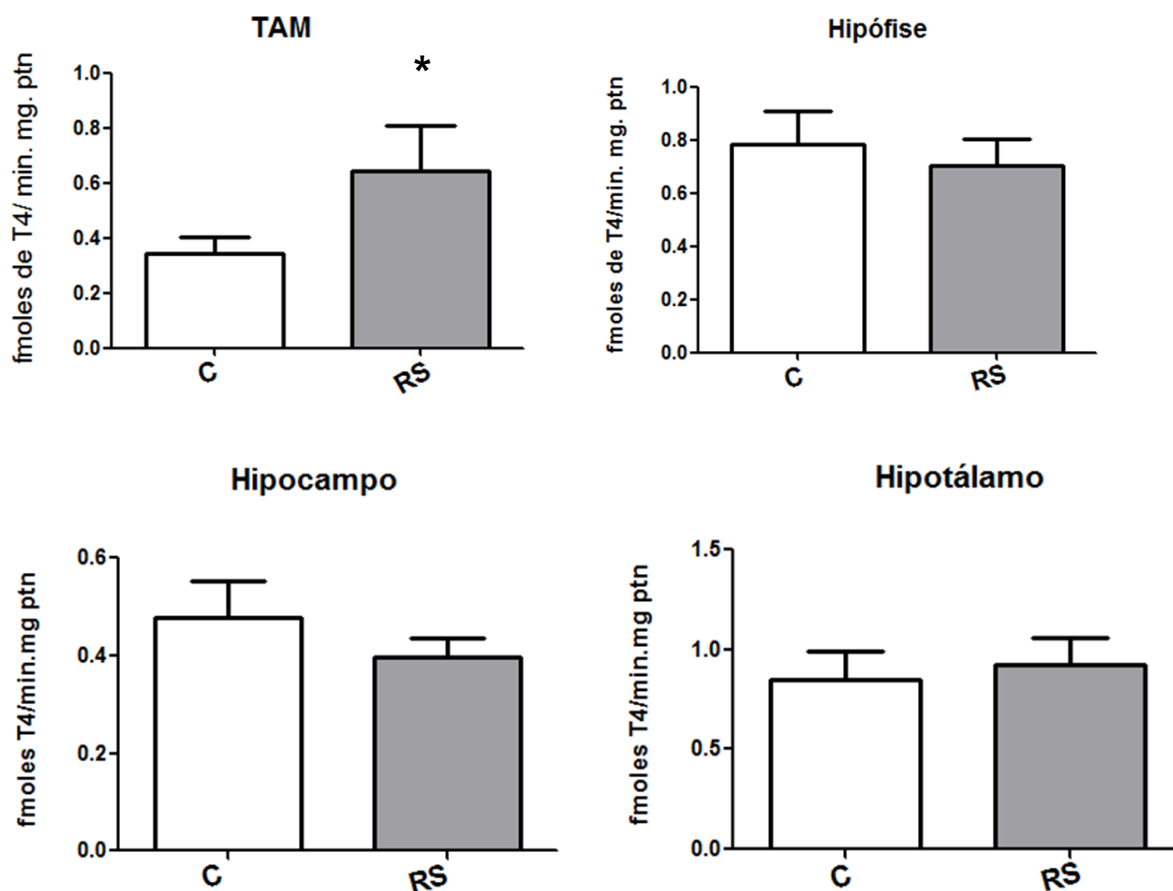


Figura 15: Atividade desiodase tipo 2 no TAM, hipófise, hipocampo e hipotálamo de ratas controle (C) e restritas de sono (RS), no 20º dia gestacional, expressa em fmoles T4/min.mg.ptn (TAM: C=0,3414 ± 0,06408, n=7 e RS=0,6450 ± 0,1619, n=10; hipófise: C=0,7817 ± 0,1265, n=6 e RS=0,7045 ± 0,09792, n=11; hipocampo: C=0,4786 ± 0,07265, n=7 e RS 0,3958 ± 0,03872, n=12; hipotálamo: C=0,8500 ± 0,1404, n=6 e RS=0,9227 ± 0,1329, n=11). Dados expressos em média ± erro padrão da média ; n=número total de ratos. * P<0,05.

5.2 Mães no Desmame dos Filhotes

Para estudar os efeitos crônicos da restrição de sono no final da gestação, analisamos a função tireoidiana das mães 21 dias após o nascimento dos filhotes, no momento do desmame.

Com relação às mães controle (C) e restritas de sono (RS) que foram permitidas parir normalmente e permanecer com os filhotes até o desmame, obtivemos os resultados descritos abaixo.

5.2.1 Peso Corporal

O peso corporal das ratas prenhas controle (C) e restritas de sono (RS) foi avaliado no 1º dia, 14º dia, 20º dia gestacional e no 21º dia após o nascimento dos filhotes (desmame). Não foram observadas alterações significativas no peso corporal em nenhum dos momentos avaliados nos grupos de mães C e RS (Figura 16). Esses resultados deixam claro que a restrição de sono no final da gestação não tem nenhum efeito no peso corporal dessas ratas 21 dias depois do nascimento de seus filhotes.

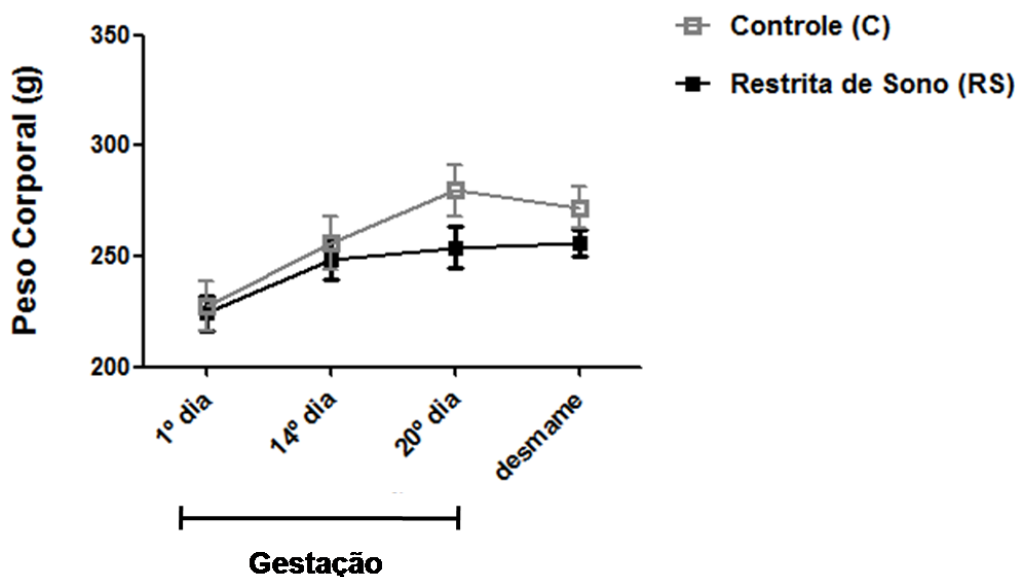


Figura 16: Peso corporal de ratas controle (C, n=4) e restritas de sono (RS, n=6) no 1º, 14º, 20º dia gestacional e no dia do desmame dos filhotes.

5.2.2 Peso Absoluto dos Tecidos

Com relação ao peso absoluto das adrenais, hipófise e tireoide, não observamos diferenças significativas entre os grupos de mães C e RS estudados (Figura 17). Assim como discutido para o peso corporal, a restrição de sono em ratas prenhas, além de não afetar o peso corporal, também não afeta o peso absoluto das glândulas adrenal, tireoide e hipófise, 21 dias após o final da gestação.

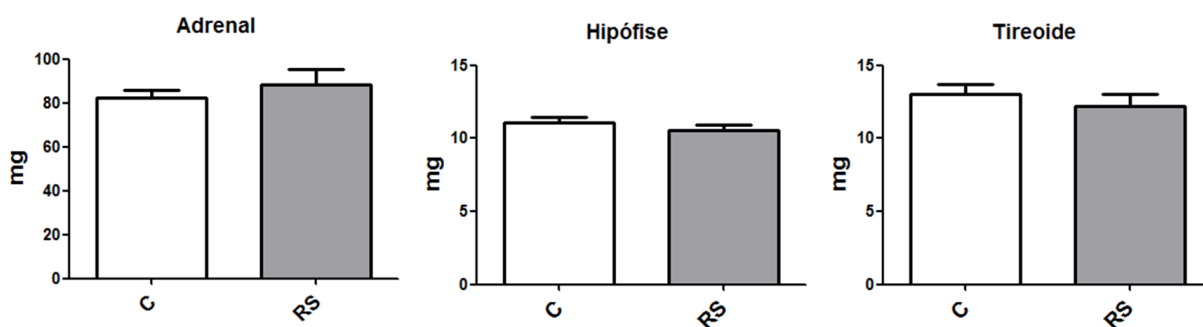


Figura 17: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide expresso em mg em ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (adrenal: C=82,44 ± 3,523, n=8 e RS=88,56 ± 6,534, n=9; hipófise: C=11,04 ± 0,3950, n=8 e RS=10,56 ± 0,3516, n=10; tireoide: C=13,03 ± 0,6662, n=8 e RS 12,22 ± 0,8011, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.2.3 Peso Relativo dos Tecidos

Com relação ao peso relativo dos tecidos, observamos aumento significativo do peso relativo da adrenal no grupo restrito de sono (RS) em relação ao grupo controle (C) das mães que permaneceram com os filhotes até o desmame. Não foram observadas diferenças significativas nos pesos relativos da hipófise e tireoide entre as ratas C e RS (Figura 18).

Como o peso corporal das ratas C e RS não são diferentes, o peso relativo da adrenal se torna muito confiável. O aumento do peso relativo da adrenal, 21 dias após o nascimento dos filhotes, em ratas que foram restritas de sono durante a gestação, é semelhante ao observado em ratos após um longo período de privação e apresentam-se em estado de morbidade avançada. Isto mostra que alterações morfológicas como consequência da restrição de sono podem ser encontradas muitos dias após o período de restrição, denotando efeitos crônicos (EVERSON, 1995). Existe a hipótese de que a privação de sono induz efeitos que se enquadrariam na síndrome de adaptação generalizada de SELYE (1950). De acordo com esta síndrome, mudanças corporais que são tentativas de reagir, resistir e se adaptar a circunstâncias avassaladoras, entretanto estas mudanças podem causar reações adversas, tornando-se insuficientes para o equilíbrio, podendo até terminar em morte (SELYE, 1950).

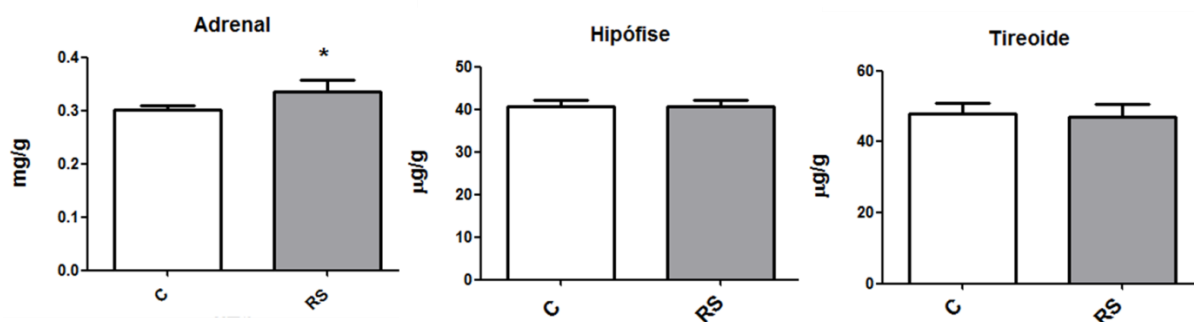


Figura 18: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide em µg/g de peso corporal em ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (adrenal: C=0,3017 ± 0,008310, n=8 e RS=0,3355 ± 0,02142, n=9; hipófise: C=40,55 ± 1,506, n=8 e RS=40,68 ± 1,446, n=10; tireoide: C=48,01 ± 2,959, n=8 e RS=47,07 ± 3,516, n=10). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.* P<0,05.

5.2.4 Dosagens Hormonais

Com relação aos níveis séricos de T4 e T3 das mães que permanecerem com os filhotes até o desmame, observamos nas ratas RS uma diminuição significativa dos níveis de T4, como ocorrido no grupo das mães eutanasiadas no 20º dia gestacional, e apesar de tender a diminuir, o T3 não diferiu de forma significativa entre os grupos C e RS (Figura 19). Para comprovarmos que o T3 realmente não diminui nas mães RS, é necessário aumentar o número de animais neste grupo, que foi reduzido (n=4) e pode então explicar a falta de diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados.

É interessante ressaltar que a diminuição dos níveis séricos de T4, observada no 20º dia gestacional de ratas prenhas restritas de sono, se mantém 21 dias após o nascimento dos filhotes, sugerindo um efeito crônico ou até mesmo irreversível da restrição de sono sobre a função tireoideia, que pode levar a consequências prejudiciais à mãe e ao filhote ainda em fase de lactação.

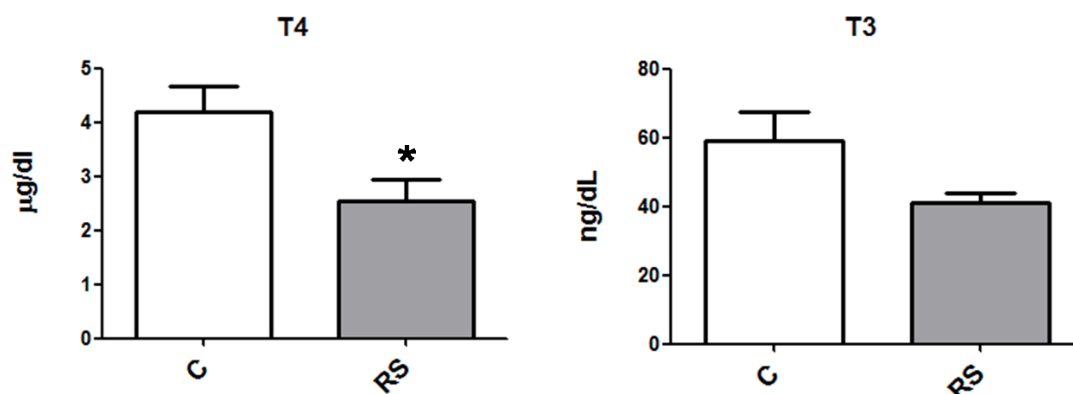


Figura 19: Níveis séricos de T4, expresso em $\mu\text{g/dL}$ e T3, expresso ng/dL em mães controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame (T4: C= $4,186 \pm 0,4688$, n=5 e RS= $2,540 \pm 0,3944$, n=4; T3: C= $58,96 \pm 8,438$, n=5 e RS= $41,21 \pm 2,744$, n=4). Dados expressos em média \pm erro padrão da média; n=número total de ratos. * $P < 0,05$.

Com relação aos níveis séricos de corticosterona, não observamos alterações significativas entre as ratas controle (C) e restritas de sono (RS) eutanasiadas no momento do desmame (Figura 20).

No rato, a responsividade do eixo HHA ao estresse é progressivamente atenuado ao final da gestação, manifestando-se entre os dias 10-15 de gestação, sendo mantido durante a lactação até o desmame pela presença ou sucção dos filhotes (WINDLE *et al.*, 1997; WALKER *et al.*, 2001). Como dito anteriormente, essa adaptação ocorre para amortecer o impacto do estresse e reduzir a exposição fetal e da própria rata ao excesso de glicocorticóides (WEINSTOCK, 1997). Mesmo estressores psicológicos de imobilização (DA COSTA *et al.*, 1996) e labirinto em cruz elevado (NEUMANN *et al.*, 1998), físicos, como desafio imunológico (BRUNTON *et al.*, 2005), e a natação forçada (NEUMANN *et al.*, 1998), não foram capazes de aumentar a secreção de ACTH e corticosterona. Além disso, durante a lactação, o estímulo à secreção de ocitocina é reduzido em resposta ao estresse físico (CARTER & LIGHTMAN, 1987; WALKER *et al.*, 1995) e estimulado após o estresse hiperosmótico ou farmacológico (PATEL *et al.*, 1991; NEUMANN *et al.*, 1995a).

Como observamos aumento do peso relativo da adrenal, provavelmente está havendo alguma estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, entretanto o organismo destas mães, como nas ratas eutanasiadas no 20º dia gestacional dos filhotes, parece ter desenvolvido um mecanismo adaptativo para bloquear os efeitos nocivos do excesso de glicocorticóides não afetarem negativamente os filhotes.

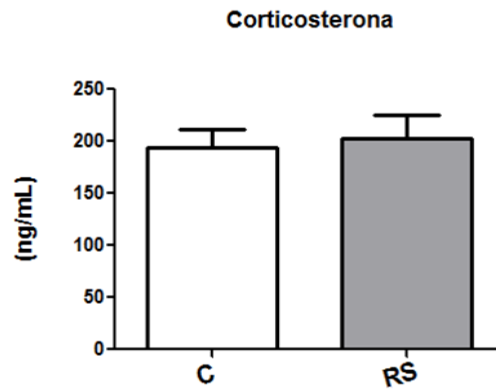


Figura 20: Níveis séricos de corticosterona de mães controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressos em ng/ml (C=193,7 ± 17,41, n=4 e RS=202,4 ± 22,32, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.2.5 Desiodase Tipo 1 (D1)

A atividade desiodase tipo 1 foi avaliada no fígado, rim, tireoide e hipófise em mães controle (C) e restrita de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame. Observamos diminuição significativa da atividade D1 no fígado e na hipófise, e aumento da atividade D1 no rim, sem alteração desta na tireoide (Figura 21), resultados bem diferentes do observado em mães eutanasiadas no 20º dia gestacional, pois não observamos qualquer alteração significativa. A partir desses resultados, podemos sugerir que cronicamente os HTs passam a regular positivamente a D1 hepática e hipofisária, como esperado, o que resulta em diminuição dessas atividades 21 dias após o nascimento dos filhotes nas ratas RS; já a D1 renal aumentada pode ser um mecanismo compensatório de desiodação periférica, contribuindo para o T3 sérico normal.

Com relação a atividade D1 no fígado, nossos dados são semelhantes aos de BALZANO *et al.* (1990), que relataram diminuição da atividade D1 no fígado ao privar de sono ratos machos utilizando a metodologia da plataforma giratória. Nossos dados também foram semelhantes aos de KAHL *et al.* (1987), que demonstraram diminuição da atividade D1 hepática, acompanhada de redução de T4 e T3 em ratas lactantes, quando comparadas com ratas não lactantes. JACK *et al.* (1994) demonstraram uma forte relação inversa entre a intensidade de lactação e os níveis de HTs, e a atividade D1 hepática, ou seja, quanto maiores os HTs, menor a atividade D1 hepática. Isto não foi visto em nosso trabalho, onde observamos diminuição de T4 e da atividade D1 hepática.

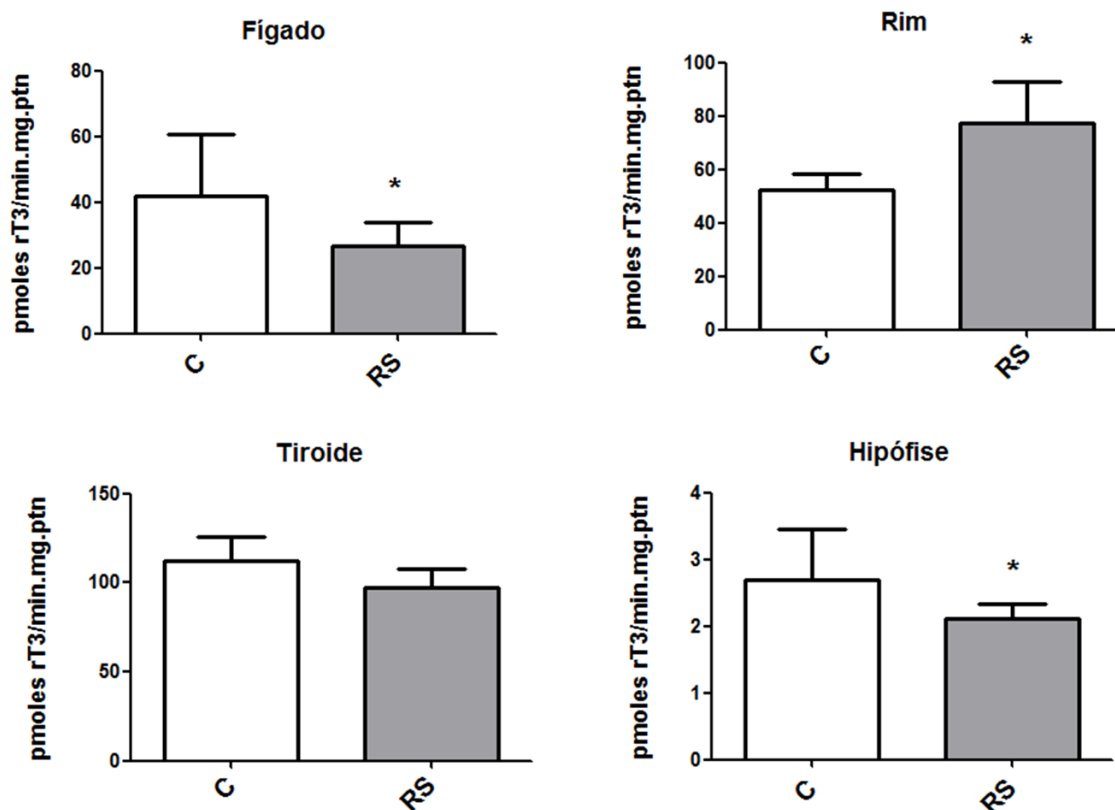


Figura 21: Atividade desiodase tipo 1 no fígado, rim, tireoide e hipófise de ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=41,89 ± 18,98, n=8 e RS=26,58 ± 7,255, n=10; rim: C=52,32 ± 6,008, n=8 e RS=77,13 ± 15,56, n=9; tireoide: C=112,1 ± 13,30, n=8 e RS=96,96 ± 11,06, n=9; hipófise: C=2,692 ± 0,7712, n=5 e RS=2,117 ± 0,2129, n=6). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P<0,05.

5.2.6 Desiodase Tipo 2 (D2)

Com relação a atividade desiodase tipo 2 no TAM e hipocampo de ratas que permaneceram com os filhotes até o desmame, apesar da aparente tendência em diminuir, a atividade D2 no TAM não é significativamente diferente entre os grupos C e RS, assim como a atividade D2 no hipocampo que também não sofre alterações (Figura 22). Em virtude de um baixo número de animais (RS=3 e C=4), esses resultados de atividade D2 precisam ser confirmados.

Nosso achado de não modulação da atividade D2 no TAM de ratas RS 21 dias após o nascimento dos filhotes, mesmo com T4 baixo, sugere que cronicamente, outros fatores que não aumento da D2 em tecido periférico, pode estar contribuindo para a manutenção do T3 sérico nessas ratas, podemos pensar até mesmo em uma participação da maior atividade D1 renal.

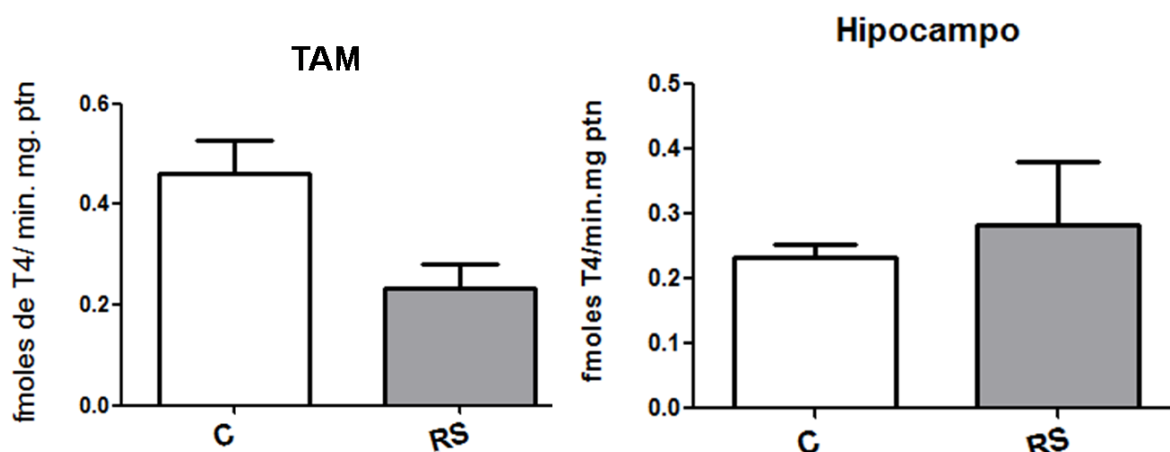


Figura 22: Atividade desidase tipo 2 no tecido adiposo marrom (TAM) e hipocampo de ratas controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame, expressa em fmoles T4/min.mg.ptn (TAM: C=0,4600 ± 0,06819, n=4 e RS=0,2333 ± 0,04842, n=3; Hipocampo: C=0,2325 ± 0,02136, n=4 e RS=0,2833 ± 0,09770, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.3 Filhotes Machos com 21 Dias de Vida

Com relação ao estudo da prole, avaliamos a função tireoidiana em filhotes ainda pré-púberes (21 dias de vida), machos e fêmeas, de mães submetidas à restrição de sono.

Os dados abaixo são referentes aos filhotes machos de 21 dias de idade das mães controle (C) e restritas de sono (RS) que foram permitidas parir livremente.

5.3.1 Peso Corporal dos Filhotes Machos com 21 Dias

Ao avaliarmos o peso corporal dos filhotes machos aos 21 dias de vida, observamos diminuição significativas entre os filhotes machos das fêmeas restritas de sono (RS) quando comparados aos filhotes machos controle (C).

Em mamíferos, o aumento da atividade do eixo HHA é conhecido por ser responsável pelo retardo do crescimento fetal (Phillips *et al.*, 1998) e baixo peso ao nascer (Seckl, 2001). LESAGE *et al* (2004) e MAIRESSE *et al* (2007a), observaram diminuição do peso corporal em filhotes machos de mães que sofreram estresse pré-natal de contecção na última semana gestacional. Apesar de não avaliarmos o peso corporal no nascimento, o menor peso corporal dos filhotes machos RS é provavelmente é reflexo de baixo peso corporal ao nascer e não recuperação do peso corporal até os 21 dias de vida, ou por diminuição do peso corporal do nascimento até os 21 dias de vida.

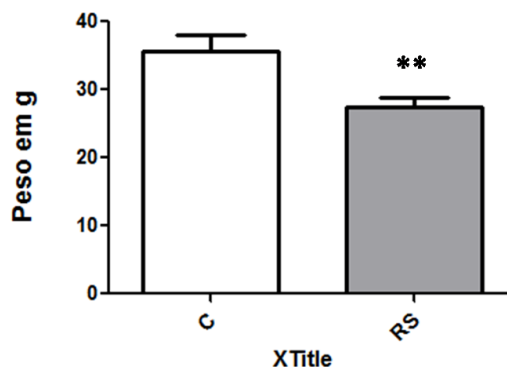


Figura 23: Peso corporal de filhotes machos aos 21 dias de vida de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=35,63 ± 2,442, n=8 e RS=27,44 ± 1,420, n=16). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. **P < 0,05.

5.3.2 Peso Absoluto dos Tecidos

Com relação ao peso absoluto dos tecidos, observamos aumento significativo da tireoide e diminuição significativa da adrenal nos filhotes de mães restritas de sono (RS), quando comparados com os filhotes das mães controle (C). Não foram observadas diferenças na hipófise entre os grupos estudados (Figura 24).

OBREGÓN *et al.* (1991), ao estudarem filhotes de ratas que receberam dieta pobre em iodo, detectaram hipertrofia da tireoide fetal, entretanto essa avaliação foi somente observacional, além disso, houve aumento do peso absoluto da tireoide após o nascimento até o 28º dia de vida (tempo do experimento), o que corrobora nossos resultados e nos sugere que esse aumento de peso da tireoide nos filhotes machos pode ser resultado de um programação perinatal, já que mães submetidas à restrição de sono apresentaram baixos níveis de T4 sérico.

Como em nosso estudo, LESAGE *et al.* (2004) e MAIRESSE *et al.* (2007a), ao submeterem ratas prenhes ao estresse de contação na última semana gestacional, observaram diminuição do peso absoluto da glândula adrenal no filhote macho no dia do nascimento. Essa atrofia adrenal, provavelmente é uma adaptação à superexposição aos glicocorticóides fetais, para atenuar os níveis elevados de glicocorticóides.

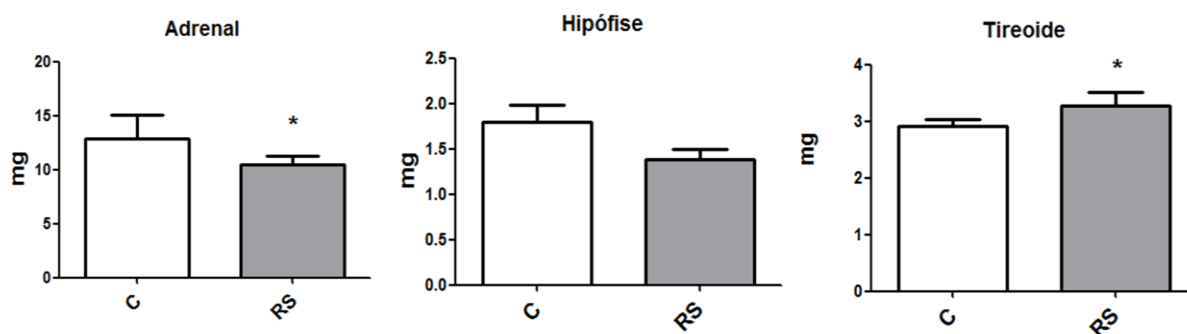


Figura 24: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes machos de 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg (adrenal: C=12,90 ± 2,135, n=7 e RS=10,88 ± 0,7075, n=12; hipófise: C=1,800 ± 0,1832, n=8 e RS=1,388 ± 0,1080, n=16); tireoide: C=2,917 ± 0,1249, n=6 e RS=3,271 ± 0,2378, n=14). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. *P < 0,05.

5.3.3 Peso Relativo dos Tecidos

Ao analisarmos o peso relativo da adrenal, hipófise e tireoide, observamos um aumento significativo do peso relativo da tireoide, enquanto que não foram detectadas alterações significativas no peso relativo da adrenal e da hipófise nos grupos estudados (Figura 25).

A diminuição do peso absoluto da adrenal, provavelmente, foi um resultado não real causado por animais com menor peso corporal, tanto que quando é calculado o peso relativo da adrenal não encontramos alterações significativas, assim, filhotes machos de 21 dias de idade de ratas RS não apresentam alteração no peso da adrenal. O aumento significativo do peso relativo da tireoide complementa e confirma nossa suposição de programação perinatal, que resulta em aumento desta glândula como consequência da exposição aos baixos níveis de T4 durante o final da gestação.

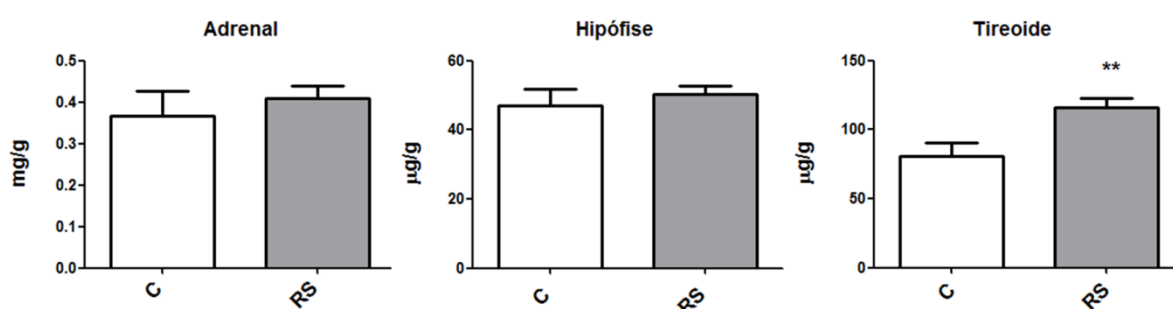


Figura 25: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressas em µg/g de peso corporal nos filhotes machos de 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,3675 ± 0,05825, n=7 e RS=0,4085 ± 0,02960, n=14; hipófise: C=46,99 ± 4,768, n=7 e RS=50,30 ± 2,535, n=16; tireoide: C=81,00 ± 9,562, n=7 e RS=115,9 ± 7,040, n=15). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. ** P<0,01.

5.3.4 Dosagens Hormonais

Observamos aumento significativo dos níveis séricos de T4 nos filhotes machos de mães restritas de sono (RS), em relação aos filhotes de mães C. Com relação aos níveis séricos de T3, não foram observadas alterações significativas entre os grupos de filhotes (Figura 26).

Em casos de deficiência de Iodo, ocorre hiperplasia da glândula tireoide, diminuição dos níveis de T4 e consequente aumento da razão T3/T4, independentemente do TSH, ocorrendo mesmo em animais hipofisectomizados (CHAPMAN, 1941; HALMI & SPIRTOS, 1955). Em um estudo de ELTOM *et al.* (2001) em uma área de deficiência de Iodo na África, foi feita uma comparação entre os níveis de T4 das mães no momento do parto e dos recém-nascidos, sendo observado aumento do T4 sérico nos neonatos, com um nível de significância de $P < 0,0001$. Ao avaliarmos o T4, também detectamos aumento do T4 nos filhotes machos de 21 dias das mães RS, com este mesmo valor de P ao compararmos com filhotes de mães C.

OBREGÓN *et al.* (1991) observaram que fetos de fêmeas alimentadas com uma dieta pobre em Iodo (LID) apresentaram aumento constante dos níveis de T4 e T3, proveniente da glândula tireoide, desde o período fetal até o 28º dia pós-natal. Já em mães com dieta pobre em Iodo que receberam suplementação de KI na água de beber (OID), os fetos não apresentaram alterações nos níveis de T4 e T3, mas houve aumento de T3 e T4 no 4º dia de vida, chegando ao aumento máximo de T3 aos 21 dias de vida e de T4 aos 28. Apesar do aumento de T3 e T4 nos filhotes LID, sempre foi menor que nos OID. Com relação às concentrações séricas de T4, os animais IOD apresentaram valores maiores que os animais LID a partir do 4º dia pós-natal até o 28º (período experimental avaliado). Os níveis plasmáticos de T3 foram semelhantes em ambos os grupos, com apenas um pequeno aumento detectado. O aumento dos níveis de T4 e T3 nos filhotes OID se deve ao aumento da captação de Iodo pela tireoide e glândula mamária das ratas (LINO & GREER, 1961) e durante a amamentação o Iodo fica disponível para o feto através do leite (POTTER *et al.*, 1959; VERMIGLIO *et al.*, 1991), e nos filhotes OID e LID deve-se ao acúmulo de T4 e T3 na glândula pela estimulação do TSH.

Em nosso estudo, as alterações nos níveis de T4 séricos sinalizam que, modificações hormonais ocorridas durante a restrição de sono nas ratas prenhas ou em algum período no período pós-natal causou alteração da regulação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (HHT) de sua prole, caracterizado por elevados níveis de T4 nos filhotes machos, sendo reforçado pelo aumento significativo do peso absoluto e relativo da glândula tireoide desses animais.

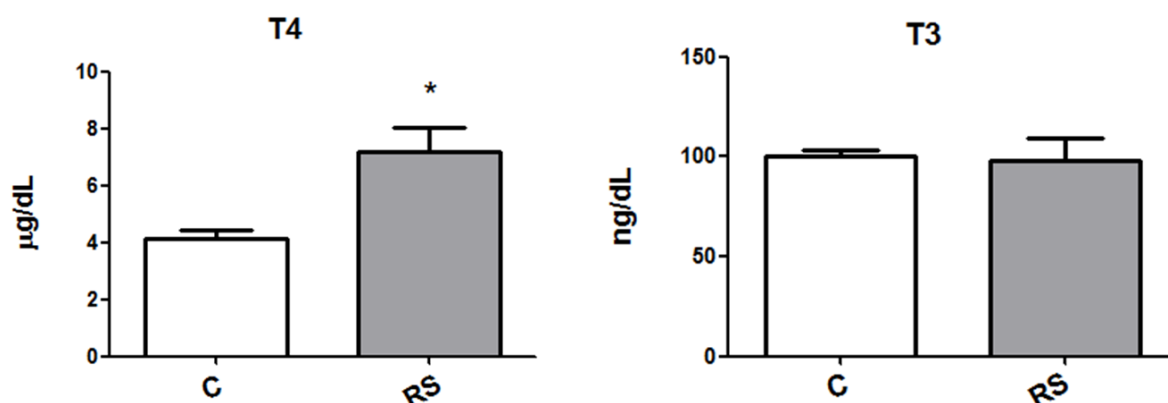


Figura 26: Níveis séricos de T4 expresso em µg/dL, e níveis séricos de T3 expressos em ng/dL, da prole do sexo masculino com 21 dias de vida, de ratos controle (C) e restritas de sono (RS) (T4: C=4,120 ± 0,2911, n=4 e RS=7,183 ± 0,8570, n=3; T3: C=100,2 ± 3,295, n=4 e RS=97,81 ± 11,12, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. * P<0,05.

Com relação aos níveis séricos de corticosterona, observamos um aumento significativo no grupo dos filhotes de mães restritas de sono (RS) em relação aos filhotes de mães controle (C) (Figura 27). Em roedores, as duas primeiras semanas de vida são conhecidas por um período de hiporresponsividade do eixo HHA (LEVINE, 1994), sendo mantida principalmente pelos cuidados maternos. Em crianças, pode existir uma comparável hiporreatividade que se estende na maior parte da infância (GUNNAR & CHEATHAM, 2003). Dessa forma, correlacionando com nosso resultado, parece que a restrição de sono no final da gestação afeta essa hiporresponsividade do eixo HHA presente nas primeiras semanas de vida, inibindo-a em ratos.

A vida perinatal, primeira infância e a infância são os períodos de maior plasticidade para o sistema de estresse e são, portanto, particularmente sensíveis aos estressores. Estes estressores durante estes períodos críticos da vida, podem afetar funções comportamentais e fisiológicas, tais como crescimento, metabolismo, reprodução e resposta imune/inflamatória (SECKL, 2001). As concentrações de corticosterona elevadas, que encontramos nos filhotes de mães que foram restritas de sono, assemelham-se a de animais que sofreram exposição pré-natal a glicocorticóides sintéticos (dexametasona) na última semana de gestação (LEVITT *et al.*, 1996). Em crianças, o estresse e ansiedade materna pré-natal têm sido associados com aumento da atividade basal do eixo HHA de sua descendência aos 6 meses, 5 e 10 anos de idade (LYONS-RUTH *et al.*, 2000; GUTTELING *et al.*, 2005; O'CONNOR *et al.*, 2005).

Em nosso estudo, apesar de não observamos alterações significativas nos níveis de corticosterona nas ratas prenhas RS no 20º dia gestacional ou naquelas que permaneceram com os filhotes e foram analisadas no dia do desmame, parece que de algum modo a restrição de sono na mãe afetou o eixo HHA dos filhotes machos de 21 dias, causando elevados níveis de corticosterona nesses animais. As ratas prenhas como animais em geral que são submetidos à restrição de sono passam por quadro de fadiga (MELTZER & MINDELL, 2007), depressão perinatal (GOYAL *et al.*, 2009; CHANG *et al.*, 2010) e alterações hormonais que poderiam tornar o parto mais difícil, demorado, estressante, e consequentemente estimular a atividade do eixo HHA (WIGGER *et al.*, 1999; DE KLOET *et al.*, 2005). Além disso, o aumento das concentrações de catecolaminas de origem materna levará a constrição de vasos sanguíneos placentários podendo levar a hipóxia fetal (OHKAWA *et al.*, 1991), que por sua vez irá ativar o eixo HPA fetais (CHALLIS *et al.*, 2000).

Humanos e roedores são dependentes de cuidados maternos durante as primeiras fases da vida, e estressores que envolvem a falta de cuidado parental podem induzir uma resposta de estresse (GUNNAR & CHEATHAM, 2003), por isso, postulou-se que a restrição de sono durante a gestação poderia levar a uma deficiente relação mãe-bebê, com déficit dos cuidados maternos, surgindo mais um componente estressor, contudo, isso não foi observado por PIRES *et al.*, (2012). Esses gatilhos ambientais podem não ter um efeito passageiro, mas sim permanente sobre o organismo (BARKER, 1995), alterando o *set-point* de funções fisiológicas na idade adulta, e no caso do nosso trabalho, isso parece acontecer em filhotes ainda pré-púberes (21 dias de idade).

A hiper-ativação crônica do eixo HHA é associada com à supressão do crescimento, reprodução e secreção dos HTs, tornando os indivíduos vulneráveis à doenças como obesidade, hipertireoidismo e diabetes mellitus (PASQUALI *et al.*, 2006), além de diminuir a sensibilidade do receptor glicocorticóide (SAPOLSKY *et al.*, 2000). Mesmo que os filhotes machos de mães RS do nosso estudo não desenvolvam quaisquer dessas patologias, a longo prazo, a hipersecreção de T4 e corticosterona poderiam comprometer a regulação do eixo hipotálamo-hipófise, tornando a hipófise insensível à estimulação tireoidiana pelos HTs (resistência ao HT) e pelos glicocorticóides, o que pode ser prejudicial ao organismo.

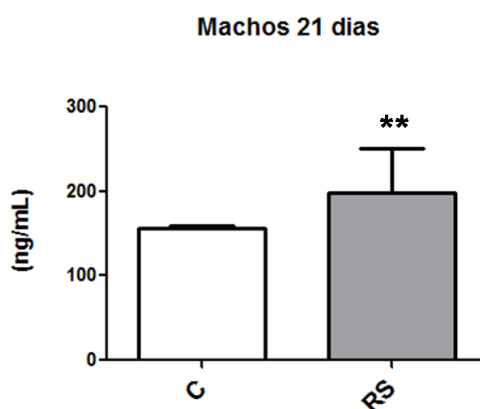


Figura 27: Níveis séricos de corticosterona expresso em ng/ml, em filhotes machos com 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (C=155,9 ± 3,175, n=3 e RS=198,6 ± 52,25, n=3). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos. **P < 0,01.

5.3.5 Desiodase Tipo 1 (D1)

A atividade desiodase tipo 1 (D1) foi avaliada no fígado, rim, tireoide e hipófise dos filhotes machos de 21 dias de mães controle (C) e restrita de sono (RS) que pariram livremente. Não observamos alteração significativa da atividade D1 em nenhum dos tecidos estudados (Figura 28), o que é muito interessante, pois sugere que o aumento de T4 sérico encontrado nesses animais independe da participação da D1 na metabolização das iodotironinas, sendo, provavelmente, esse aumento de tiroxina resultado de maior síntese/liberação pela tireoide e/ou diminuição da atividade D2, que futuramente será analisada pelo nosso grupo.

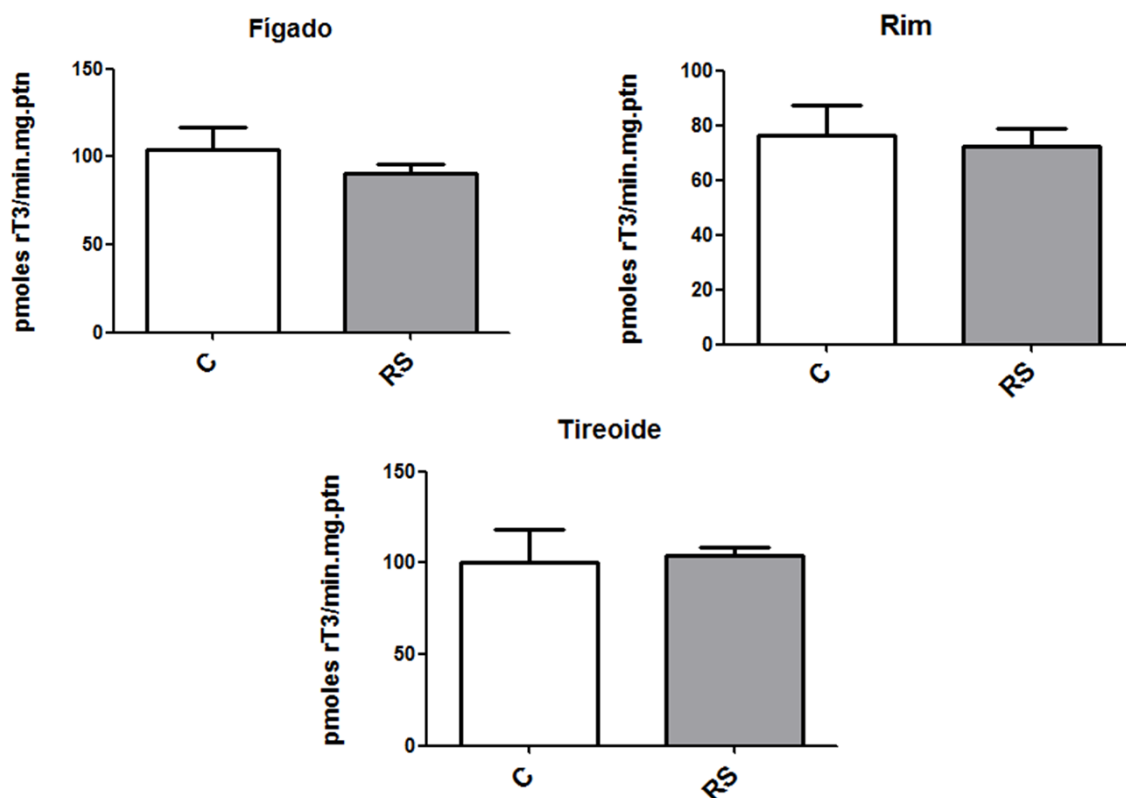


Figura 28: Atividade desiodase tipo 1 no fígado, rim e tireoide, expressa em pmoles rT3/min.mg de ptn, de filhotes machos com 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (fígado: C=104,3 ± 12,40, n=6 e RS= 90,42 ± 5,310, n=15; rim: C=76,44 ± 10,84, n=7 e RS=72,31 ± 6,426, n=20; tireoide: C=100,3 ± 17,85, n=4 e RS=103,7 ± 4,618, n=9). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.4 Filhotes Fêmeas com 21 Dias de Vida

Os dados abaixo são referentes às filhotes fêmeas de 21 dias de vida, das mães controle (C) e restritas de sono (RS) que foram permitidas parir livremente.

5.4.1 Peso Corporal de Filhotes Fêmeas com 21 Dias

Ao avaliarmos o peso corporal de filhotes fêmeas aos 21 dias, não observamos diferenças significativas entre as filhotes fêmeas das ratas, controle (C) e restritas de sono (RS). Este dado das fêmeas é diferente do observado em machos da mesma idade de mães RS, sinalizando a existência de uma relação sexo-específica entre os filhotes de 21 dias.

LESAGE *et al.* (2004), ao submeter ratas prenhas ao estresse de contenção, observaram diminuição do peso corporal nos filhotes fêmeas destas mães. BRUNTON & RUSELL, ao submeterem ratas prenhas ao estresse social pré-natal, também observaram diminuição de peso corporal em filhotes fêmeas no dia do nascimento. Não sabemos se nossas fêmeas RS apresentaram baixo peso ao nascer, entretanto, se tal fato ocorreu, as fêmeas após 21 dias conseguiram aumentar o peso corporal, equiparando-se às fêmeas C, diferentemente dos machos RS, que não conseguiram normalizar o peso corporal com o grupo C.

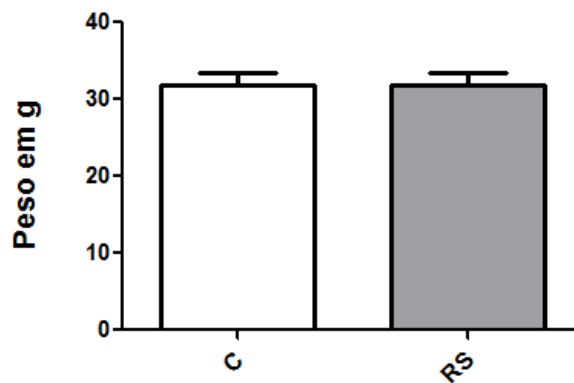


Figura 29: Peso corporal de filhotes fêmeas aos 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=31,93 ± 1,572, n=15 e RS=31,92 ± 1,508, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.4.2 Peso Absoluto dos Tecidos

Ao avaliar o peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes fêmeas com 21 dias de vida das mães C e RS, não observamos diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos tecidos estudados (Figura 30).

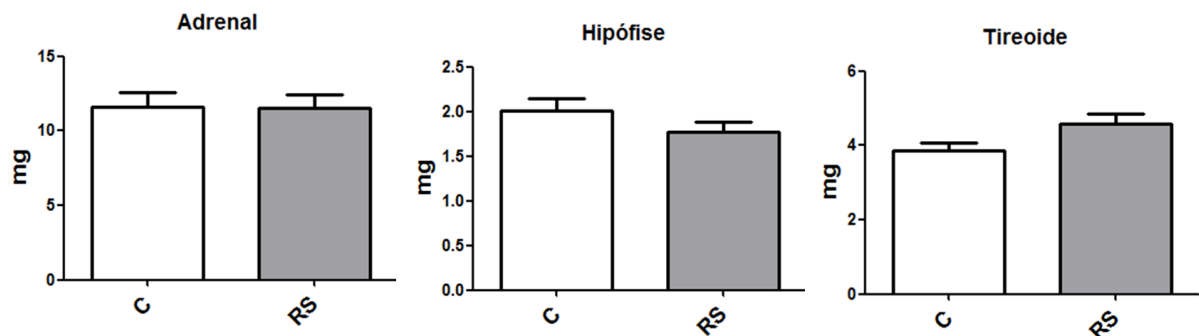


Figura 30: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide dos filhotes fêmeas com 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg. (adrenal: C=11,59 ± 0,9682, n=15 e RS=11,52 ± 0,8896, n=13; hipófise: C=2,008 ± 0,1323, n=12 e RS=1,769 ± 0,1200, n=13; tireoide C=3,846 ± 0,2385, n=13 e RS=4,585 ± 0,2689, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.4.3 Peso Relativo dos Tecidos

Ao avaliarmos o peso relativo da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes fêmeas com 21 dias de vida de mães C e RS, também não observamos diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos tecidos analisados (Figura 31). Relatamos que em filhotes machos da mesma idade, a restrição de sono materna aumentou de forma significativa o peso relativo da tireoide, assim, fica claro, que pelo menos a alteração morfológica desta glândula, é diferente entre os sexos.

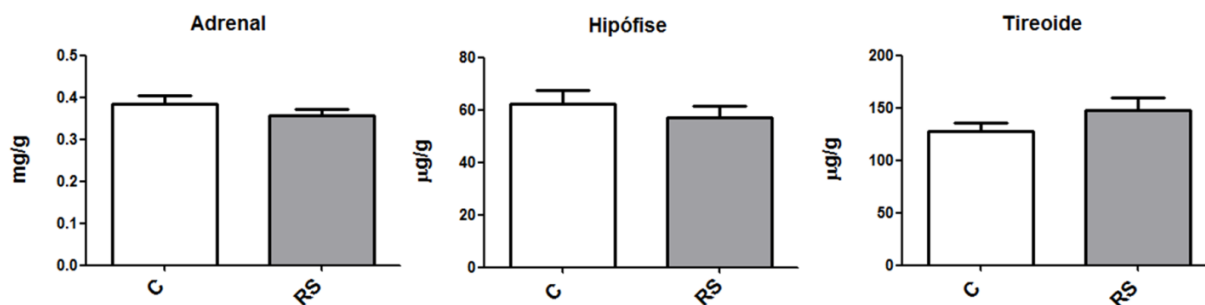


Figura 31: Peso relativo da adrenal, expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressos em µg/g de peso corporal em filhotes fêmeas de 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,3840 ± 0,01963, n=14 e RS=0,3570 ± 0,01582, n=13; hipófise: C=59,47 ± 6,874, n=13 e RS=57,11 ± 4,531, n=13; tireoide: C=127,5 ± 8,024, n=14 e RS=148,0 ± 11,42, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.4.4 Desiodase Tipo 1 (D1)

Ao estudarmos a atividade D1 no fígado, rim e tireoide de filhotes fêmeas com 21 dias de vida de mães que foram restritas ou não de sono, não observamos diferenças significativas entre os grupos em nenhum desses tecidos (Figura 32), igualmente ao observado nos filhotes machos da mesma idade. Como não avaliamos os HTs nas fêmeas de 21 dias de idade, só podemos afirmar que tanto em filhotes machos quanto em fêmeas, a D1 hepática, renal e tireoidea não é modulada pela restrição de sono no final da gestação.

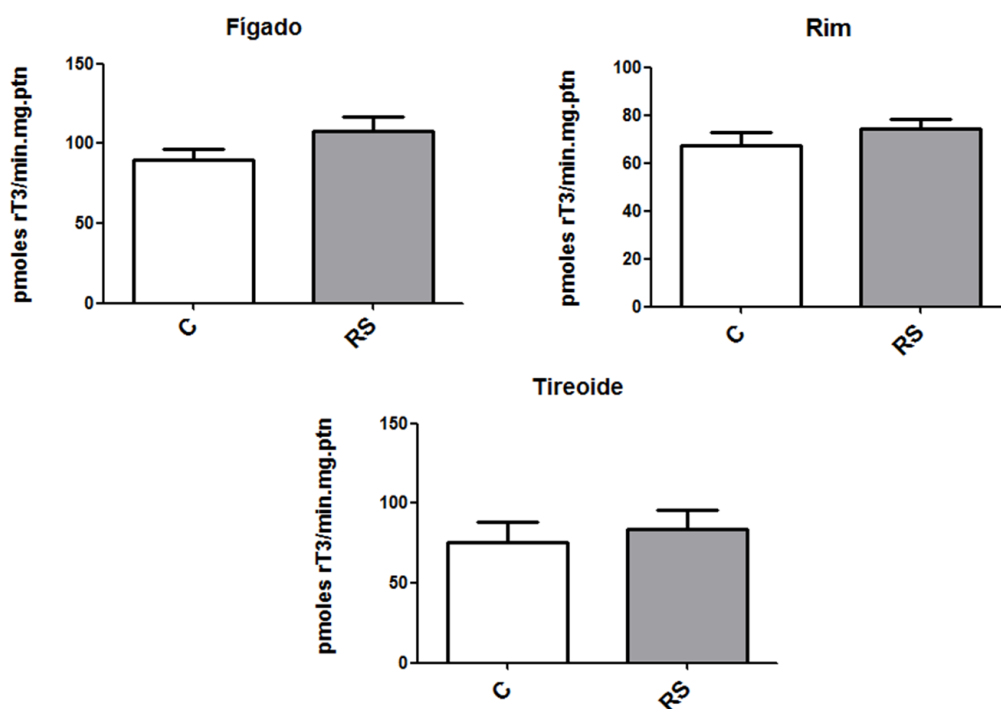


Figura 32: Atividade desiodase tipo 1 (D1) em filhotes fêmeas com 21 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=90,01 ± 6,648, n=14 e RS=107,9 ± 8,615, n=13; rim: C=67,13 ± 5,501, n=15 e RS=74,52 ± 3,728, n=12; tireoide: C=75,69 ± 12,29, n=7 e RS=83,98 ± 11,89, n=7). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5. 5 Filhotes Fêmeas com 60 Dias de Vida

Ainda no contexto do estudo da prole, avaliamos a função tireoidiana em filhotes adultos (60 dias de vida). Apenas fêmeas, de mães submetidas à restrição de sono foram utilizadas nesta fase.

Os resultados abaixo são referentes às filhotes fêmeas de 60 dias de vida das mães controle (C) e restritas de sono (RS) que permaneceram com os filhotes até o desmame.

5.5.1 Peso Corporal de Filhotes Fêmeas com 60 Dias

Ao avaliarmos o peso corporal de filhotes fêmeas na idade adulta (60 dias), não observamos diferenças significativas entre filhotes das ratas controle (C) e restritas de sono (RS).

Igualmente as fêmeas RS com 21 dias, as fêmeas RS adultas não apresentaram diferença significativa do peso corporal, fato diferente do observado em filhotes machos RS com 21 dias, indicando um efeito prejudicial ligado ao sexo que pode estar relacionado ao baixo crescimento ou a um deficiente sistema de armazenamento de energia. Isto provavelmente se deve a algum tipo de programação causada ou como consequência da restrição de sono nas mães, o que acarretou na alteração do metabolismo e de mecanismos regulatórios da prole.

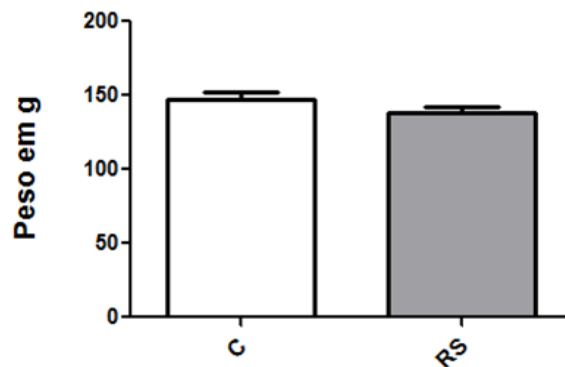


Figura 33: Peso corporal de filhotes fêmeas aos 60 dias de vida, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) expresso em g (C=147,5 ± 5,107, n=4 e RS=138,3 ± 3,381, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.5.2 Peso Absoluto dos Tecidos

Ao avaliar o peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide das fêmeas com 60 dias de vida, filhotes de mães restritas ou não de sono, não observamos diferenças significativas entre os grupos C e RS em nenhum dos tecidos estudados (Figura 34).

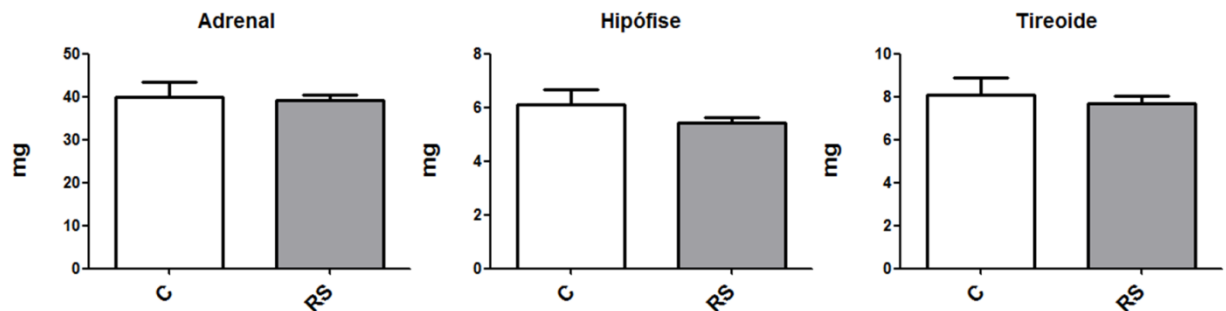


Figura 34: Peso absoluto da adrenal, hipófise e tireoide em filhotes fêmeas com 60 dias de vida, das mães controle (C) e restritas de sono (RS), expresso em mg (adrenal: C=40,03 ± 3,427, n=4 e RS=39,14 ± 1,158, n=11; hipófise: C=6,100 ± 0,5523, n=4 e RS=5,433 ± 0,1835, n=12; tireoide: C=8,075 ± 0,7941, n=4 e RS=7,708 ± 0,3403, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.5.3 Peso Relativo dos Tecidos

Somado à não alteração do peso absoluto, o peso relativo da adrenal, hipófise e tireoide das fêmeas adultas, filhotes de mães restritas ou não de sono, não diferiu significativamente entre os grupos C e RS nos tecidos analisados (Figura 35).

Esses resultados corroboram nossa suposição de que a alteração morfológica da tireoide é sexo-dependente, havendo aumento do peso desta glândula em machos pré-púberes e sendo as fêmeas menos suscetíveis a esse tipo de programação perinatal, pois não encontramos alteração em filhotes fêmeas pré-púberes ou adultas.

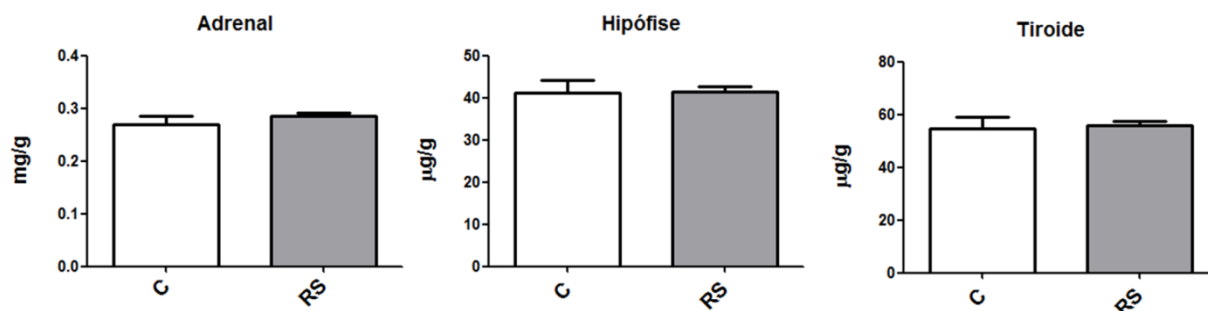


Figura 35: Peso relativo da adrenal expresso em mg/g de peso corporal, hipófise e tireoide, expressas em µg/g de peso corporal na prole de 60 dias do sexo feminino, de mães controle (C) e restritas de sono (RS) (adrenal: C=0,2703 ± 0,01604, n=4 e RS=0,2856 ± 0,005923, n=12; hipófise: C=41,24 ± 3,036, n=4 e RS=41,38 ± 1,261, n=12; tireoide: C=54,56 ± 4,359, n=4 e RS=55,67 ± 1,849, n=13). Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.5.4 Desiodase Tipo 1 (D1)

Ao analisarmos a atividade desiodase tipo 1 (D1) no fígado, rim e tireoide de filhotes fêmeas adultas (60 dias de idade) de mães controle (C) e restritas de sono (RS), não observamos nenhuma diferença significativa entre os grupos (Figura 36). Como também não avaliamos os HTs nessas fêmeas de 60 dias de vida, só podemos afirmar que, assim como observado em machos e fêmeas pré-púberes, a D1 hepática, renal e tireoidea de filhotes fêmeas adultas não é modulada pela restrição de sono no final da gestação.

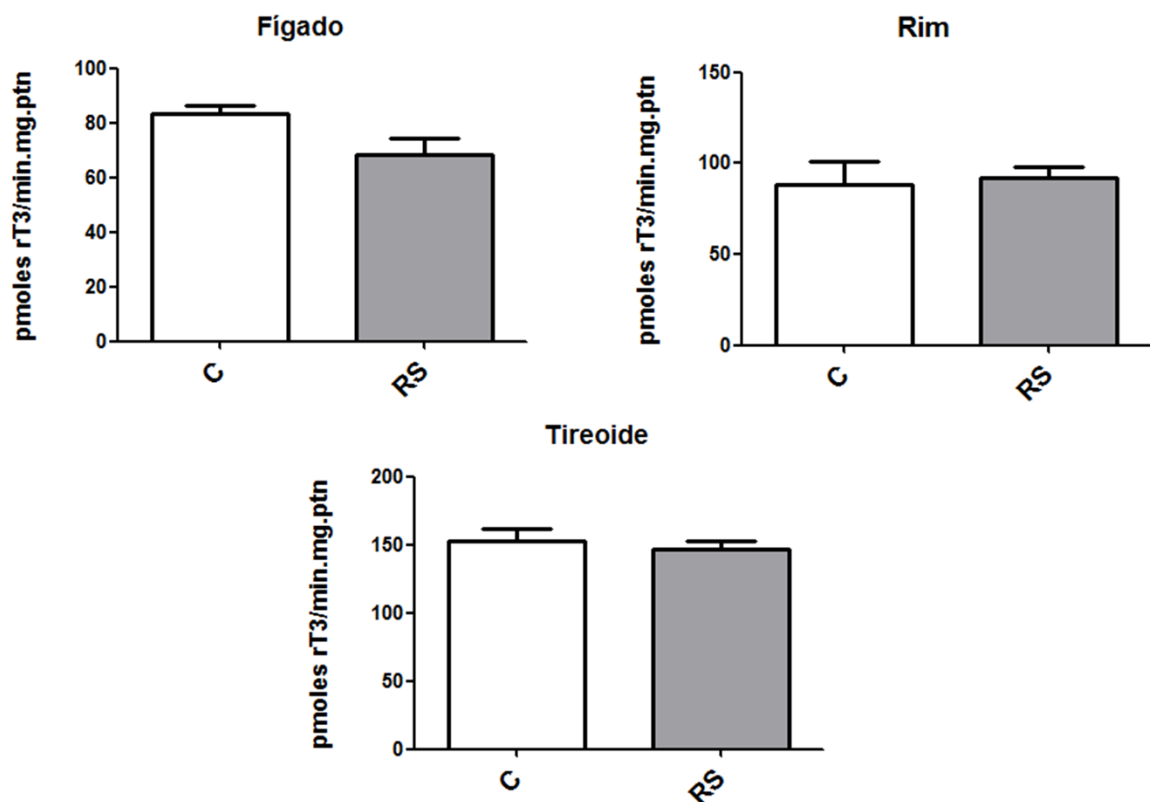


Figura 36: Atividade desiodase tipo 1 (D1) em filhotes fêmeas de 60 dias, de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em pmoles rT3/min.mg.ptn (fígado: C=83,12 ± 2,997, n=4 e RS=68,45 ± 5,808, n=12; rim: C=88,07 ± 13,03, n=4 e RS=92,01 ± 6,158, n=13; tireoide: C=152,3 ± 9,553, n=4 e RS=146,8 ± 5,473, n=13. Dados expressos em média ± erro padrão da média; n=número total de ratos.

5.5.5 Desiodase Tipo 2 (D2)

A atividade D2 no hipotálamo foi significativamente menor em filhotes fêmeas aos 60 dias de vida, de mães restritas de sono (RS) comparadas com aquelas de mães controle (C). Com relação à atividade D2 no hipocampo, não observamos diferenças significativas entre os grupos C e RS (Figura 37).

Essa modulação da atividade D2 hipotalâmica indica que a função tireoidiana pode estar alterada nas fêmeas adultas de mães RS, como demonstrado neste estudo em machos pré-púberes, que tem elevados níveis de T4 sérico, além disso, essa diminuição da atividade D2 centralmente pode ser resultado de HT elevado ou pode ser um mecanismo compensatório para manutenção de níveis normais de T4 sérico, dessa forma, além da verificação sérica de T3 e T4, a atividade D2 precisa ser analisada em outros tecidos centrais, além de tecidos periféricos, como no TAM, para definirmos o papel da D2 na modulação da função tireoidea em fêmeas adultas de mães restritas de sono.

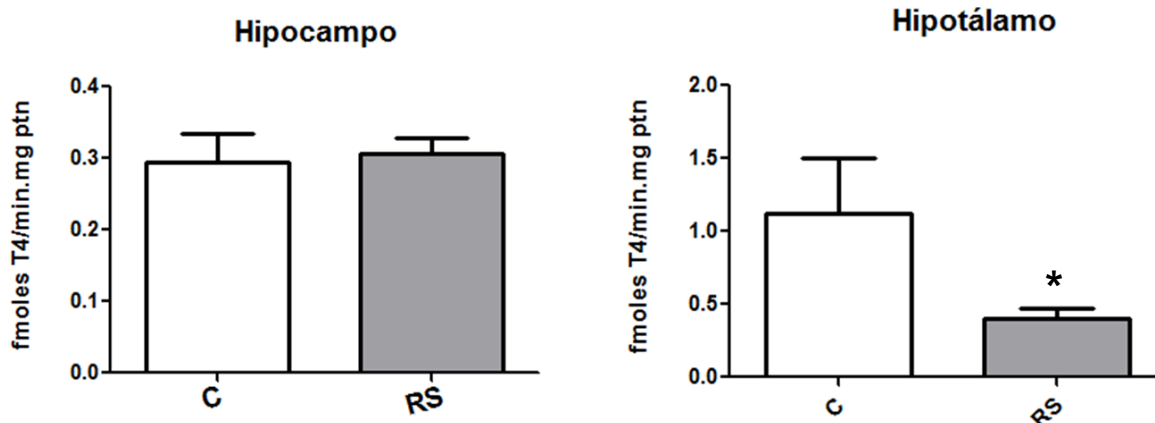


Figura 37: Atividade desidase tipo 2 (D2) em filhotes fêmeas de 60 dias, de mães controle (C) e restritas de sono (RS), expressa em fmoles T4/min.mg.ptn. Hipocampo de fêmeas C com 60 dias ($0,2950 \pm 0,03841$, $n=4$) e RS ($0,3062 \pm 0,02197$, $n=13$); Hipotálamo C ($1,127 \pm 0,3703$, $n=3$) e RS ($0,3967 \pm 0,07513$, $n=9$). Dados expressos em média \pm SEM; n =número total de ratos. * $P<0,05$.

Apesar da restrição de sono na última semana gestacional não ter causado aumento da corticosterona nas ratas RS, outras substâncias como catecolaminas, β -endorfina e o ACTH, podem estar envolvidos com os efeitos a longo prazo do estresse perinatal (FALCONER *et al.*, 1988; OHKAWA *et al.*, 1991). Realmente, de alguma forma as alterações endócrinas e morfológicas observadas nas mães que sofreram RS na última semana de gestação causaram algum tipo de programação nos filhotes, além disso, os efeitos do estresse materno podem prolongar-se por 21 dias após o estresse, como observado por DARNAUDÉRY & MACCARI (2008). A diferença entre os sexos podem ter influências potentes na reatividade ao estresse. Estudos em animais (MC CORMICK & MATHEWS, 2007) e humanos (KUDIELKA *et al.*, 2004) demonstram que existem diferenças sexo-específicas na resposta ao estresse. Ao que tudo indica, as alterações observadas em nosso estudo foram sexo-específicas, tendo em vista diferentes resultados entre filhotes machos e fêmeas, em diferentes idades, podendo, a longo prazo, provocar diferentes mudanças metabólicas, hormonais e comportamentais, levando ao surgimento de doenças.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nas mães, podemos concluir que a restrição de sono, durante 6 dias no final da gestação, diminui de forma significativa os níveis séricos de T4 e não afeta o T3, tanto agudamente, no 20º dia de gestação, quanto cronicamente, 21 dias após o nascimento dos filhotes, momento do desmame. Observamos que o mecanismo para manutenção dos níveis de T3 é diferente, enquanto no 20º dia gestacional, isso acontece provavelmente pelo aumento da atividade desidrase tipo 2 (D2) no TAM dessas ratas, no momento do desmame, a atividade D2 não é alterada, mas encontramos aumento da atividade desidrase tipo 1 (D1) no rim, que poderia então contribuir para o T3 normal. Resumindo, a restrição de sono em ratas prenhas parece afetar diretamente o eixo HHT causando baixos níveis de T4 sérico, mas o T3 é mantido normal por modulação da desidração periférica, o que acontece no 20º diagestacional e no desmame.

Com relação aos resultados obtidos na prole, concluimos que filhotes machos de 21 dias de vida, de mães submetidas à restrição de sono durante a gestação, desenvolvem um mecanismo compensatório caracterizado por aumento dos níveis séricos de T4, frente a deficiência de T4 materna, observada em nosso estudo durante importantes fases do desenvolvimento. Entretanto, não sabemos se esta alteração ocorreu no período perinatal, no momento do parto ou na vida pós-natal. Essa possível programação perinatal sugerida neste trabalho não envolve a participação da desidrase tipo 1 (D1), visto que, tanto em filhotes, machos e fêmeas pré-púberes (21 dias), quanto em fêmeas adultas (60 dias), de mães restritas de sono, a atividade D1 hepática, renal e tireoidea não sofreram alterações. Resumindo, a restrição de sono durante a gestação parece afetar o eixo HHT da prole, havendo elevação na concentração de T4 sérico associado à níveis de T3 e atividade D1 normais.

Vale lembrar que o nosso trabalho é o primeiro a demonstrar que a restrição de sono, durante a gestação, afeta a função tireoidiana de ratas prenhas, havendo modulação da desidração periférica, além de alterar também o *status* tireoidiano da prole.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEBO, C.; MILLMAN, R.P.; ROSENBERG, C.; CAVALLO, A.; CARSKADON, M.A. Sleep, breathing, and cephalometrics in older children and young adults. Part I: Normative values. **Chest journal**, v.109, n.3, p.664–672, 1996.

ACHACHE, H.; REVEL, A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. **Human Reprod Update**, v.12, n.6, p.731-746, 2006.

ANCOLI-ISRAEL, S.; POCETA, J.S.; STEPNOWSKY, C.; MARTIN, J.; GEHRMAN P. Identification and treatment of sleep problems in the elderly. **Sleep Med Rev**, v.1, n.1, 3-17, Nov, 1997.

ANCOLI-ISRAEL, S. **Normal human sleep at different ages: Sleep in older adults. In: Sleep Research Society, eds. SRS Basics of Sleep Guide.** Sleep Research Society, p. 21–26, Westchester, IL, 2005.

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

ALLAN, J.S.; CZEISLER, C.A. Persistence of the circadian thyrotropin rhythm under constant conditions and after light-induced shifts of circadian phase. **J Clin Endocrinol Metab**, v.79, n.2, p.508–512, 1994.

ALLEN, B.M. The results of thyroid removal in the larvae of *Rana pipiens*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 24, n. 3, p. 499-519, 1918.

ALEXANDER, E.K.; MARQUSEE, E.; LAWRENCE, J.; JAROLIM, P.; FISCHER, G.A.; LARSEN, P.R. Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. **N Engl J Med**, v.351, n.3, p.241–249, 2004.

AMBROGETTI, A.; OLSON, G.; SAUNDERS, N.A. Differences in the symptoms of men and women with obstructive sleep apnea. **Aust N Z J Med**, v.21, n.6, p.836-866, 1991

ANDERS, T.F.; SADEH, A.; APPAREDDY, V. Normal sleep in neonates and children. **In: Ferber RKM. ed. Principles and Practice of Sleep Medicine in the Child.** Philadelphia: Saunders. p. 7-18, 1995.

ANDERSEN, M.L.; ANTUNES, I.B.; SILVA, A.; ALVARENGA, T.A.; BARACAT, E.C.; TUFIK, S. Effects of sleep loss on sleep architecture in Wistar rats: Gender-specific rebound sleep. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v.32, n.4, 975-983, 2008.

ANDERSEN, M.L.; BIGNOTTO, M.; MACHADO, R.B.; TUFIK, S. Different stress modalities result in distinct steroid responses by male rats. **Brazilian journal medical biological research**, v.37, n.6, 791-797, 2004.

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

- ANDERSEN, M.L.; TUFIK, S. Effects of progesterone blockade over cocaine- induced genital reflexes of paradoxical sleep deprived male rats. **Hormones Behavior**, v.47, n.4, 477-484, 2005.
- ANDERS, T.F.; SADEH, A.; APPARENDY, V. Normal sleep in neonates and children. In: Ferber R, Kryger M. Principles and practice of sleep medicine in the child. **Sauders Company**, p.7-18, Philadelphia, WB, 1995.
- ANDERSEN, M.L.; MARTINS, P.J.; D'ALMEIDA, V.; BIGNOTTO, M.; TUFIK, S. Endocrinological and catecholaminergic alterations during sleep deprivation and recovery in male rats. **J Sleep Res**, v.14, n.1, p.83-90, 2005.
- ANTHONY, A.; ADAMS, P.M.; STEIN, S.A. The effects of congenital hypothyroidism using the hyt/hyt mouse on locomotor activity and learned behavior. **Horm Behav**, v.27, n.3, p.418-433, 1993.
- ANTUNES, I.B.; ANDERSEN, M.L.; BARACAT, E.C.; TUFIK, S. The effects of paradoxical sleep deprivation on estrous cycles of the female rats. **Horm Behav**, v.49, n.4, p.433-440, 2006.
- ANTUNES, I.B.; ANDERSEN, M.L.; ALVARENGA, T.A.; TUFIK, S. Effects of paradoxical sleep deprivation on blood parameters associated with cardiovascular risk in intact and ovariectomized rats compared with male rats. **Behav Brain Res**, v.176, n.2, p.187-192, 2007.
- ASERINSKY, E.; KLEITMAN, N. Regulatory occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. **Science**, v.118, p.273-274, 1953.
- AURELL, J.; ELMQVIST, D. Sleep in the surgical intensive care unit: continuous polygraphic recording of sleep in nine patients receiving postoperative care. **Br Med J (Clin Res Ed)**, v.290, n.6474, p.1029, 1985.
- AYAS, N.T.; WHITE, D.P.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.J.; SPEIZER, F.E.; MALHOTRA, A.; HU, F.B. A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. **Arch Intern Med**, v.163, n.2, p.205-209, 2003.
- BACH, V.; TELLIEZ, F.; LEKE, A.; LIBERT, J.P. Gender-related sleep differences in neonates in thermoneutral and cool environments. **Journal of Sleep Research**, v.9, n.3, p.249-254, 2000.
- 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, Aug, 1990.
- BAQUI, M.M.A.; GEREBOON, B.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R.; BIANCO, A.C. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. **Endocrinology**, v.141, n.11, p.4309-4312, 2000.
- BARATTE-BEEBE, K.R.; LEE, K. Sources of midsleep awakenings in childbearing women. **Clinical Nursing Research**, v.8, n.4, p.386-397, 1999.

BARKER, D.J.; WINTER, P.D.; OSMOND, C.; MARGETTS, B.; SIMMONDS, S.J. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **The Lancet**, v.2, n.8663, p.577-580, 1989

BECKER, G.; KOWALL, M. Crucial role of the postnatal maternal environment in the expression of prenatal stress effects in the male rats. **J Comp Physiol Psychol**, v.91, n.6, p.1432-1446, 1977.

BECKER, K.B.; STEPHENS, K.C.; DAVEY, J.C.; SCHNEIDER, M.J.; GALTON, V.A.; The type 2 and type 3 iodothyronine deiodinases play important roles in coordinating development in *Rana catesbeiana* tadpoles. **Endocrinology**, v.138, n.7, p.2989-2997, 1997.

BEECH, S.G.; WALKER, S.W.; ARTHUR, J.R.; LEE, D.; BECKETT, G.J. Differential control of type-I iodothyronine deiodinase expression by the activation of the cyclic AMP and phosphoinositol signalling pathways in cultured human thyrocytes. **J Mol Endocrinol**, v.14, n.2, p.171-177, 1995.

BENINGTON, J.H.; HELLER, H.C. REM-sleep timing is controlled homeostatically by accumulation of REM-sleep propensity in non-REM sleep. **Am J Physiol**, v.266, n.6, Pt.2, p.1992-2000, 1994.

BERGER, H. Über das elektrenkephalogramm des menschen. **Arch f.psychiatry**, v.87, n.1, p.527-570, 1929.

BERGMANN, B.M.; WINTER, J.B.; ROSENBERG, R.S.; RECHTSCHAFFEN, A. NREM sleep with low-voltage EEG in the rat. **Sleep**, Feb, v.10, n.1, p.1-11, 1987.

BERGMANN, B.M.; KUSHIDA, C.A.; EVERSON, C.A.; GILLILAND, M.A.; OBERMEYER, W.; RECHTSCHAFFEN, A. Sleep deprivation in the rat: II. Methodology. **Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine**, v. 12, n.1, 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.; GRIECO, D.; TAYLOR, B.A.; MAIA, A.L.; KIEFFER, J.D.; BEAMER, W.; GLOVER, E.; POLAND, A.; LARSEN, P.R. Physiological and genetic analysis of inbred mouse strains with a type I iodothyronine 5' deiodinase deficiency. **J Clin Invest**, v.92, n.3, p.1517-1528, 1993.

BIANCO, A.C.; SILVA, J.E.; Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenic function of brown adipose tissue. **J Clin Invest**, v.79, n.1, p.295-300, 1987.

BIANCO, A.C.; KIM, B.W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. **Journal of Clinical Investigation**, v.116, n.10, p. 2571-2579, 2006.

BITRAN, D.; PURDY, R.H.; KELLOGG, C.K. Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABA A receptor function. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.45, n.2, p.423-428, 1993.

- 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.
- BLYTON, D.M.; SULLIVAN, C.E.; EDWARDS, N. Lactation is associated with an increase in slow-wave sleep in women. **J Sleep Res**, v.11, n.4, p.297-303, 2002.
- BONNET, M.H.; ARAND, D.L. We are chronically sleep deprived. **Sleep**, v.18, p.908-911, 1995.
- BORBÉLY, A.A. A two process model of sleep regulation. **Hum Neurobiol**, v.1, p.195-204, 1982.
- BORBÉLY, A.A. Processes underlying sleep regulation. **Horm Res**, v.49, p.114-7, 1998.
- BRABANT, G.; PRANK, K.; RANFT, U.; SCHUERMEYER, T.; WAGNER, T.O.; HAUSER, H.; KUMMER, B.; FEISTNER, H.; HESCH, R.D.; VON ZUR MÜHLEN, A. Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. **J Clin Endocrinol Metab**, v.70, n.2, p.403-409, 1990.
- BORBELY, A.A.; ACHERMANN, P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. **Journal of biological rhythms**, v.14, n.6, p.559-570, 1999.
- 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 and Behavior**, v.6, n.6, p.743-746, 1971.
- BRAUNSTEIN, G.D.; GRODIN, J.M.; VAITUKAITIS, J.; ROSS, G.T. Secretory rates of human chorionic gonadotropin by normal trophoblast. **Am J Obstet Gynecol**, v.115, n.4, p.447-450, 1973
- BROWN, D.D. The role of deiodinases in amphibian metamorphosis. **Thyroid**, v.15, n.8, p.815-821, 2005.
- BRUNNER, D.P.; MUNCH, M.; BIEDERMANN, K.; HUCH, R.; HUCH, A.; BORBELY, A.A. Changes in sleep and sleep electroencephalogram during pregnancy. **Sleep**, v.17, p.576-582, 1994.
- BRUNTON, P.J.; MEDDLE, S.L.; MA, S.; OCHEDALSKI, T.; DOUGLAS, A.J.; RUSSELL, J.A. Endogenous opioids and attenuated hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to immune challenge in pregnant rats. **J Neurosci**, v.25, n.21, p.5117-5126, 2005.
- BURROW, G.N.; FISHER, D.A.; LARSEN, P.R. Maternal and fetal thyroid function. **N Engl J Med**, v.331, n.16, p.1072-1078, 1994.

CAI, L.; BROWN, D.D. Expression of type II iodothyronine deiodinase marks the time that a tissue responds to thyroid hormone-induced metamorphosis in *Xenopus laevis*. **Dev Biol**, v.266, n.1, p.87-95, 2004.

CALEGARE, B.F.; FERNANDES, L.; TUFIK, S.; D'ALMEIDA, V. Biochemical, biometrical and behavioral changes in male offspring of sleep deprived mice. **Psychoneuroendocrinology**, v.35, n.5, p.775-784, 2010.

CAMPOS-BARROS, A.; AMMA, L.L.; FARIS, J.S.; SHAILAM, R.; KELLEY, M.W.; FORREST, D. Type 2 iodothyronine deiodinase expression in the cochlea before the onset of hearing. **Proc Natl Acad Sci, USA**, v.97, n.3, p.1287-1292, 2000.

CALVIN, J.; HOBEL, M.D.; DUNKEL-SCHETTER, C.; ROESCH, S.C.; CASTRO, L.C.; ARORA, C.P. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. **Am J Obstet Gynecol**, v.180, n.1, pt.3, 1999.

CANANI, L.H.; CAPP, C.; DORA, J.M.; MEYER, E.L.; WAGNER, M.S.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R.; GROSS, J.L.; BIANCO, A.C.; MAIA, A.L.; The type 2 deiodinase A/G (Thr92Ala) polymorphism is associated with decreased enzyme velocity and increased insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, n.6, p.3472-3478, 2005.

CARTER, D. A.; LIGHTMAN, S. L. Oxytocin responses to stress in lactating and hyperprolactinaemic rats. **Neuroendocrinology**, v.46, n.6, p.532-537, 1987.

CHALLIS, J.R.G.; MATTHEWS, S.G.; GIBB, W.; LYE, S.J. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. **Endocr Rev**, v.21, n.5, p.514-550, 2000.

CHANG, P.P.; FORD, D.E.; MEAD, L.A.; COOPER-PATRICK, L.; KLAG, M.J. Insomnia in young men and subsequent depression. The Johns Hopkins precursors study. **Am J Epidemiol**, v.146, n.2, p.105-114, 1997.

CHANG, J.J.; PIEN, G.W.; DUNTLEY, S.P.; MACONES, G.A. Sleep deprivation during pregnancy and maternal and fetal outcomes: is there a relationship? **Sleep Med Rev**, v.14, n.2, p.107-114, 2010.

CHAN, J.L.; BULLEN, J.; STOYNEVA, V.; DEPAOLI, A.M.; et al. Recombinant methionyl human leptin administration to achieve high physiologic or pharmacologic leptin levels does not alter circulating inflammatory marker levels in humans with leptin sufficiency or excess. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, n.3, p.1618-1624, 2005.

CHAN, J.L.; HEIST, K.; DE PAOLI, A.M.; et al. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. **J Clin Invest**, v.111, n.9, p.1409-1421, 2003.

CHANOINE, J.P.; BRAVERMAN, L.E.; FARWELL, A.P.; SAFRAN, M.; ALEX, S.; DUBORD, S.; LEONARD, J.L. The thyroid gland is a major source of circulating T3 in the rat. **J Clin Invest**, v.91, n.6, p.2709-2713, 1993.

CHOPRA, I.L. Nature, source and relative significance of circulating thyroid hormones. Werner and Ingbar's the thyroid, p.111, 1996.

CAMPBELL, E.A.; LINTON, E.A.; WOLFE, C.D.; SCRAGGS, P.R.; JONES, M.T.; LOWRY P.J. Plasma corticotropin-releasing hormone concentrations during pregnancy and parturition. **J Clin Endocrinol Metab**, v.64, n.5, p.1054-1059, 1987.

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.

CARPENTER, M.B.; LEIBINGER, R.D. Neuroanatomiahumana. 7^a ed. Rio de Janeiro: **Interamericana**, 1976.

CARSKADON, M.A.; HARVEY, K.; DUKE, P.; ANDERS, T.F.; LITT, I.F.; DEMENT, W.C. Pubertal changes in daytime sleepiness. **Sleep**, v.2, n.4, p.453-460, 1980.

CARSKADON, M.A. Sleeping and Waking Disorders: Indications and Techniques. Addison-Wesley Publishing Company Medical/Nursing. P.99-125, 1982.

CARSKADON, M.A.; ORAV, E.J.; DEMENT, W.C. Evolution of sleep and daytime sleepiness in adolescents. Sleep/Wake Disorders: Natural History, Epidemiology, and Long-Term Evolution. New York: Raven Press, p.201-216, 1983.

CARSKADON, M.; DEMENT, W. Normal human sleep: An overview. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, eds. Principles and Practice of Sleep Medicine, **Philadelphia** 4th ed. p.13-23, 2005.

CARVALHAES-NETO, N.; RAMOS, L.R.; SUCHECKI, D.; TUFIK, S.; HUAYLLAS, M.K.; KATER, C.E. The effect of hospitalization on the sleep pattern and on cortisol secretion of healthy elderly. **Exp Aging Res**, v.29, n.4, p.425-36, Oct-Dec, 2003.

COENEN, A.M.L.; VAN LUIJTELAAR, E.L.J.M. Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. **Physiol Behav**, v.35, n.4, p.501-504, 1985.

COHEN, H.B.; DEMENT, W.C. Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of "paradoxical" phase. **Science**, v.150, n.3701, p.1318-1319, 1965.

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 estrus cycles. **Brain Research**, v.7, n.2, p.173-183, 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.

COUSINS, L.; RIGG, L.; HOLLINGSWORTH, D.; et al. Qualitative and quantitative assessment of the circadian rhythm of cortisol in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, v.145, n.411, 1983.

CROTEAU, W.; DAVEY, J.C.; GALTON, V.A.; ST GERMAIN, D.L. Cloning of the mammalian type II iodothyronine deiodinase. A selenoprotein differentially expressed and regulated in human and rat brain and other tissues. **J Clin Invest**, v.98, n.2, p.405-417, 1996.

CUNNINGHAM, E.G.; LEVENO, K.J.; BLOOM, S.L, et al, eds. Maternal physiology. In **Williams Obstetrics**, New York, Mc Graw-Hill, p.121, 2005.

CURETON-LANE R.A.; FONTAINE, D.K. Sleep in the pediatric ICU: an empirical investigation. **Am J Crit Care**, v.6, n.1, p.56-63, 1997.

CURZI-DASCALOVA, L.; CHALLAMEL, M.J. Neurophysiological basis of sleep development. **Lung Biology in Health and disease**, New York, Basel Marcel Dekker, Inc. v.147, p.3-38, 2000.

DA COSTA, A.P.C.; WOOD, S.; INGRAM, C.D.; LIGHTMAN, S.L. Region-specific reduction in stress-induced c-fos mRNA expression during pregnancy and lactation. **Brain Res**, v.742, n.1, p.177-184, 1996.

DAI, G.; LEVY, O.; CARRASCO, N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. **Nature**, p.458-460, 1996.

DE ESCOBAR, M.G.; ESCOBAR DEL REY, F.; RUIZ, M.A. Thyroid hormone and the developing brain. In: Dussault JH, Walker P (eds) Congenital Hypothyroidism. Marcel Dekker, Inc., p.85-125, New York, 1983.

DE ESCOBAR, M.G.; CALVO, R.; OBREGON. M.J.; et al. Contribution of maternal thyroxine to fetal thyroxine pools in normal rats near term. **Endocrinology**, v.126, n.5, p.2765-2767, 1990.

DE ESCOBAR, M.G.; OBREGÓN, M.J.; CALVO, R., PEDRAZA, P.E.; ESCOBAR DEL REY, F. Iodine deficiency, the hidden scourge: the rat model of human neurological cretinism. In: **Neuroendocrinology**. C.H. Hendrich (ed.). Research Signpost and Scientific Information Guild. Trivandrum, India. P.55-70, 1997.

DE ESCOBAR, M.G.; OBREGON, M.J.; DEL REY, E.F. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism, or to maternal hypothyroxinemia? **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.85, n.11, p.3975-3987, 2000.

DE ESCOBAR, M.G.; ESCOBAR DEL REY, F.; OBREGÓN, M.J. To screen or not to screen; to treat or not to treat. **Hot Thyroidology** (www.hotthyroidology.com), 2002.

DE ESCOBAR, M.G.; ESCOBAR DEL REY, F. Consequences of iodine deficiency for brain development. In *The Thyroid and Brain*. (Ed) G Morreale de Escobar, JJM DeVijlder, S Butz & U Hostalek. Stuttgart: Schattauer, p.33-56, 2003.

DE ESCOBAR, M.G.; OBREGÓN, M.J.; ESCOBAR DEL REY, F. Role of thyroid hormone during early brain development. **Eur J Endocrinol**, v.151, n.Suppl 3, p.U25-U37, 2004.

DE ESCOBAR, G.; OBREGÓN, M.J.; ESCOBAR, F. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. **BestPractice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.18, n.2, p.225–248, 2004.

DE GERIHARO, L.; FERRARA, M. Sleep deprivation and phasic activity of REM sleep: Independence of middle-ear muscle activity from rapid eye movements. **Sleep**, v.23, n.1, p.81-85, 2000.

DEMENT, W.; KLEITMAN, N. Cyclic variation in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. **EEG Clin Neurophysiol**, v.9, n.4, p.673-690, 1957.

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

DINGES, D.F; PACK, F., *et al.* Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. **Sleep**, v.20, p.267–277, 1997.

DOUGLAS, A.J.; BRUNTON, P.J.; BOSCH, O.J.; RUSSELL, J.A.; NEUMANN, I.D. Neuroendocrine responses to stress in mice: hyporesponsiveness in pregnancy and parturition. **Endocrinology**, v.144, n.12, p.5268-5276, 2003.

DRIVER, H.S.; SHAPIRO, C.M. A longitudinal study of sleep stages in young women during pregnancy and postpartum. **Sleep**, v.15, n.5, p.449-453, 1992.

DUMONT, J.E.; LAMY, F.; ROGER, P.P.; MAENHAUT, C. Physiological and pathological regulation of thyroid cell proliferation and differentiation by thyrotropin and other factors. **Physiological Rev**, v.72, n.3, p.667-697, 1992.

EAVRS, J.T. Developmental relationship between brain and thyroid. In: Michael RP (ed) *Endocrinology and human Behaviour*. **Oxford university Press**, London, p.239-255, 1960.

EHLERS, C.L.; KUPFER, D.J. Slow-wave sleep: Do young adult men and women age differently. **Journal of Sleep Research**, v.6, n.3, p.211-215, 1997.

EDGAR, D.M.; DEMENT, W.C.; FULLER, C.A. Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. **J Neurosci**, v.13, n.3, p.1065-1079, 1993.

EDWARDS, N.; MIDDLETON, P.G.; BLYTON, D.M.; *et al.* Sleep disordered breathing and pregnancy. **Thorax**, v.57, n.6, p.555-558, 2002.

ELEK, S.M.; HUDSON, D.B.; FLECK, M.O. Expectant parents' experience with fatigue and sleep during pregnancy. **Birth**, Berkeley, Calif, v. 24, n.1, p.49-54, 1997.

ELSTER, A.D.; SANDERS, T.G.; VINES, F.S.; *et al.* Size and shape of the pituitary gland during pregnancy and post partum: measurement with MR imaging. **Radiology**, v.181, n.2, p.531-535, 1991.

ENGLER, D.; BURGER, A.G. The deiodination of the iodothyronines and their derivatives in man. **Endocr Rev**, v.5,n.2, p.151-184, 1984.

ESCOBAR-MORREALE, H.F.; OBREGON, M.J.; HERNANDEZ, A.; ESCOBAR DEL REY, F.; DE ESCOBAR, M.G. Regulation of iodothyronine deiodinase activity as studied in thyroidectomized rats infused with thyroxine or triiodothyronine. **Endocrinology**, 138, n.6, p.2559-2568, 1997.

EVERSON, C.A.; SMITH, C.B.; SOKOLOFF, L. Effects of prolonged sleep deprivation on local rates of cerebral energy metabolism in freely moving rats. **J Neurosci**, v.14, n.11, p.6769-6778, 1994.

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.

EVERSON, C.A.; WEHR, T.A. Nutritional and metabolic adaptations to prolonged sleep deprivation in the rat. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.264, n., p.R376-R387, 1993.

EVERSON, C.A.; REED, H.L. Pituitary and peripheral thyroid hormone responses to thyrotropin-releasing hormone during sustained sleep deprivation in freely moving rats. **Endocrinology**, v.136, n.4, p.1426-1434, 1995.

EVERSON, C.A.; NOWAK, T.A. Hypothalamic thyrotropin-releasing hormone mRNA responses to hypothyroxinemia induced by sleep deprivation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.283, n.1, p.E85-E93, 2002.

FACCO, F.L.; KRAMER, J.; HO, K.H.; ZEE, P.C.; GROBMAN, W.A. Sleep disturbances in pregnancy. **Obstet Gynecol**, v.115, n.1, p.77-83, 2010.

FANG, J.; FISHBEIN, W. Sex differences in paradoxical sleep: influences of estrus cycle and ovariectomy. **Brain Res**, v.734, n.1, p.275-85, 1996.

FALCONE, M.; MIYAMOTO, T.; FIERRO-RENOY, F.; et al. Antipeptide polyclonal antibodies specifically recognize each human thyroid hormone receptor isoform. **Endocrinology**, v.131, n.5, p.2419-2429, 1992.

FEINSILVER, S.H.; HERTZ, G. Respiration during sleep in pregnancy. **Clin Chest Med**, v.13, n.4, p.637-644, 1992.

FISHER, C.; DEMENT, W.C. Studies on the psychopathology of sleep and dreams. **The American Journal of Psychiatry**, v.119, n.12, p.1160-1168, 1963.

FISHER, D.A. Fetal and neonatal endocrinology. In: DeGroot LJ, Jameson JL, de Kretser D, et al, eds. **Endocrinology**, Philadelphia, 5th ed. p.3369, 2006.

FISHBEIN, W.; BRIGHT, P.F.; Feminization of male sleep cycle rhythmicity by prenatal stress. **Society for Neuroscience Abstract**, v.13, p.226, 1987.

- FOLLENIUS, M.; BRANDENBERGER, G.; BANDESAPT, J.J.; et al. Nocturnal cortisol release in relation to sleep structure. *Sleep*, v.15, n.1, p.21-27, 1992.
- FORD, D.H.; CRAMER, E. Developing nervous system in relation to thyroid hormones. In: Grave G.D. (ed) *Thyroid Hormones and Brain Development*. **Raven Press**, New York, p.1-18, 1977.
- FOYOUZI, N.; FRISBAEK, Y.; NORWITZ, E.R. Pituitary gland and pregnancy. **Obstet Gynecol Clin North Am**, v.31, n.4, p.873, 2004.
- FRIESS, E.; TAGAYA, H.; TRACHSEL, L.; HOLSBOER, F.; RUPPRECHT, R. Progesterone-induced changes in sleep in male subjects. **American Journal of Physiology**, v.272, n.5, pt.1, p.E885-891, 1997.
- FULLER, P.M.; GOOLEY, J.J.; SAPER, C.B.; Neurobiology of the sleepwake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. **J Biol Rhythms**, v.21, n.6, p.482-493, 2006.
- GALTON, V.A. The roles of the iodothyronine deiodinases in mammalian development. **Thyroid**, v.5, n.8, p.823-834, 2005
- GALTON, V.A.; WOOD, E.T.; ST. GERMAIN, E.A.; WITHROW, C.A.; ALDRICH, G, ST. GERMAIN, G.M.; CLARK, A.S.; ST. GERMAIN, D.L. Thyroid hormone homeostasis and action in the type 2 deiodinase-deficient brain during development. **Endocrinology**, v.148, n.7, p.3080-3088, 2007.
- GAILLARD, J.M.; BLOIS, R. Spindle density in sleep of normal subjects. **Sleep**, v.4, n.4, p.385-391, 1981.
- GARDI, J.; OBAL, F.J.; FANG, J.; ZHANG, J.; KRUEGER, J.M. Diurnal variations and sleep deprivation-induced changes in rat hypothalamic GHRH and somatostatin contents. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.277, n.5, p.R1339-R1344, 1999.
- GAUDREAU, H.; CARRIER, J.; MONTPLAISIR, J. Age-related modifications of NREM sleep EEG: From childhood to middle age. **Journal of Sleep Research**, v.10, n.3, p.165-172, 2001.
- GEREBEN, B.; ZAVACKI, A.M.; RIBICH, S.; et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. **Endocr Rev**, v.29, n.7, p.898-938, 2008.
- GEREBEN, B.; ZAVACKI, A.M.; RIBICH, S.; KIM, B.W.; HUANG, S.A.; SIMONIDES, W.S.; ZEÖLD, A.; BIANCO, A.C. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. **Endocr Rev**, v.29, n.7, p.898-938, 2008.
- GILLETTE, M.; ABBOTT, S. Fundamentals of the circadian system. In: Sleep Research Society, eds. *SRS Basics of Sleep Guide*. **Sleep Research Society**, p.131-138, Westchester, IL 2005.

GIANNOTTI, F.; CORTESI, F.; SEBASTIANI, T.; OTTAVIANO, S. Circadian preference, sleep and daytime behaviour in adolescence. **Journal of Sleep Research**, v.11, n.3, p.191-199, 2002.

GLINOER, D.; DE NAYER, P.; BOURDOUX, P.; et al. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. **J Clin Endocrinol Metab**, v.71, n.2, p.276-287, 1990.

GLINOER, D.; RIAHI, M.; GRUN, J.P.; KINTHAERT, J. Risk of subclinical hypothyroidism in pregnant women with asymptomatic autoimmune thyroid disorders. **J Clin Endocrinol Metab**, v.79, n.1, p.197-204, 1994.

GLINOER, D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. **Endocr Rev**, v.18, n.3, p.404, 1997.

GNIDEHOU, S.; CAILLOU, B.; TALBOT, M.; OHAYON, R.; KANIEWSKI, J.; NOËL-HUDSON, M.S.; MORAND, S.; AGNANGJI, D.; SEZAN, A.; COURTIN, F.; VIRION, A.; DUPUY, C. Iodotyrosine dehalogenase 1 (DEHAL1) is a transmembrane protein involved in the recycling of iodide close to the thyroglobulin iodination site. **FASEBJ**, v.18, n.13, p.1574-1576, 2004.

GOLAND, R.S.; WARDLAW, S.L.; BLUM, M.; TROPPER, P.J.; STARK, R.I. Biologically active corticotropin-releasing hormone in maternal and fetal plasma during pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, v.159, n.4, p.884-90, 1988.

GOODMAN, J.D.; BRODIE, C.; AYIDA, G.A. Restless leg syndrome in pregnancy. **British Medical Journal**, v.297, n.6656, p.1101-1102, 1988.

GROSS, J.; PITT-RIVERS, R. Triiodothyronine in relation to thyroid physiology. **Rec Prog Horm Res**, v.10, n., p.109-128, 1954.

HEDMAN, C.; POHJASVAARA, T.; TOLONEN, U.; SUHONEN-MALM, A.S.; MYLLYLÄ, V.V. Effects of pregnancy on mothers' sleep. **Sleep Med**, v.3, n.1, p.37-42.

HERTZ, G.; FAST, A.; FEINSILVER, S.H.; ALBERTARIO, C.L.; SCHULMAN, H.; FEIN, A.M. Sleep in normal late pregnancy. **Sleep**, v.15, n.3, p.246-51, 1992.

HENRY, C., KABBAJ, M., SIMON, H., MOAL, M., MACCARI, S. Prenatal stress increases the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response in young and adult rats. **Journal of neuroendocrinology**, v.6, n.3, p.341-345, 1994.

HODIN, R.A.; LAZAR, M.A.; CHIN, W.W. Differential and tissue-specific regulation of the multiple rat c-erbA mRNA species by thyroid hormone. **J Clin Invest**, v.85, n.1, p.101-105, 1990.

HUANG, H.; CAI, L.; REMO, B.F.; BROWN, D.D. Timing of metamorphosis and the onset of the negative feedback loop between the thyroid gland and the pituitary is controlled by type II iodothyronine deiodinase in *Xenopus laevis*. **Proc Natl Acad Sci**, v.98, n.13, p.7348-7353, USA, 2001.

HOFFMANN, P.R.; BERRY, M.J. Selenoprotein synthesis: a unique translational mechanism used by a diverse family of proteins. **Thyroid**, v.15, n.8, p.769–775, 2005.

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. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.9, p.3293-3300, 1999.

HUBLIN, C.; PARTINEN, M.; KOSKENVUO, M.; KAPRIO, J. Sleep and mortality: a population-based 22-year followup study. **Sleep**, v.30, n.10, p.1245-1253, Oct, 2007.

JENNES, L.; JENNES, M.; PURVIS, C.; NEES, M. C-fos expression in noradrenergic A2 neurons of the rat during the estrus cycle and after steroid hormone treatments. **Brain Research**, v.586, n.1, p.171- 175, 1992.

JOHNSTONE, H.A, WIGGER, A.; DOUGLAS, A.J.; NEUMANN, I.D.; LANDGRAF, R.; SECKL, J.R.; RUSSELL, J.A. Attenuation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis stress responses in late pregnancy: changes in feedforward and feedback mechanisms. **J Neuroendocrinol**, v.12, n.8, p.811–822, 2000.

JONES, A.S.; BROOKS, A.N.; CHALLIS, J.R. Steroids modulate corticotropin- releasing hormone production in human fetal membranes and placenta. **J Clin Endocrinol Metab**, v.68, n.4, p.825-34, 1989.

JORDAN, D.; ROUSSET, B.; PERRIN, F.; FOURNIER, M.; ORGIAZZI, J. Evidence for circadian variations in serum thyrotropin, 3,5,3'-triiodothyronine, and thyroxine in the rat. **Endocrinology**,v.107, n.4, p.1245-8, Oct, 1980.

JOUVET, D.; VIMONT, P.; DELORME, F.; JOUVET, M. Study of selective deprivation of the paradoxical sleep phase in the cat. **C R SeancesSocBiol Fil**, v.158, p.756-759, 1964.

JOUVET, M. Neurophysiology of the states of sleep. **Physiol Rev**, v.47, n.2, p.117-177, 1967.

JOUVET, M. Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. **Arch Ital Biol**, v.100, p.125-206, 1962,

KARACAN, I.; HEINE, W.; AGNEW, HW.; WILLIAMS, R.L.; WEBB, W.B.; ROSS, J.J. Characteristics of sleep patterns during late pregnancy and postpartum periods. **Am J Obstet Gynecol**, v.101, p.579-586, 1968.

KENDALL, E.C. The isolation in crystalline form of the compound containing iodine which occurs in the thyroid: its chemical natureand physiological activity. **Trans Assoc Am Physicians**, v.64, n.25, p.2042– 2043, 1915.

KERRY, R.; HUME, R.; KAPTEIN, E.; et al. Sulfation of thyroid hormone and dopamine during human development: ontogeny of phenol sulfotransferases and arylsulfatase in liver, lung, and brain. **J Clin Endocrinol Metab**, v.86, n.6, p.2734-2742, 2001.

KLEIN, D.C.; MOORE, R.Y.; REPERT, S.M. (Ed.) Suprachiasmatic nucleus: The mind's clock. **Oxford University Press**, New York, 1991.

- KLEITMAN, N. Sleep and Wakefulness. **Univ. of Chicago Press**, Chicago, IL, 1963
- KNUTSON, K.L.; SPIEGEL, K.; PENEV, P.; VAN CAUTER, E. "The metabolic consequences of sleep deprivation," **Sleep Medicine Reviews**, v.11, n.3, p.163–178, 2007.
- KIMURA, F.; KAWAKAMI, M. Serum hormone levels during sleep and wakefulness in the immature female rat. **Neuroendocrinology**, v.33, n.5, p.276-83, Nov, 1981.
- KOBAN, M.; STEWART, C.V. Effects of age on recovery of body weight following REM sleep deprivation of rats. **Physiol Behav**, v.87, n.1, p.1-6, 2006.
- KÖHRLE, J. Thyroid hormone deiodination in target tissues - a regulatory role for the trace element selenium? **Experimental and Clinical Endocrinology**, v.102, n.02, p.63-89, 1994.
- KÖHRLE, J. The selenoenzyme family of deiodinase isozymes controls local thyroid hormone availability. **Rev Endocr Metabolic Disorders**, v.1, n.1-2, p.49–58, 2000.
- KOK, S.W.; MEINDERS, A.E.; OVEREEM, S.; LAMMERS, G.J.; ROELFSEMA, F.; FROLICH, M.; PIJL, H. Reduction of plasma leptin levels and loss of its circadian rhythmicity in hypocretin (orexin)-deficient narcoleptic humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v.87, n.2, p.805–809, 2002.
- KRIPKE, D.F.; GARFINKEL, L.; WINGARD, D.L.; KLAUBER, M.R.; MARLER, M.R. Mortality associated with sleep duration and insomnia. **Arch Gen Psychiatry**, v.59, n.2, p.131–136, 2002.
- KRUEGER, J.M.; MAJDE, J.A. Sleep as a host defense: its regulation by microbial products and cytokines. **Clin Immunol Immunopathol**, v.57, n.2, p.188–199, 1990.
- KRUEGER, J.M.; KARNOVSKY, M.L. Sleep as a neuroimmune phenomenon: a brief historical perspective. **Adv Neuroimmunol**, v.5, n.1, p.5–12, 1995.
- KUBOTA, K.; UCHIMURA, H.; MITSUHASHI, T.; CHIU, S.C.; KUZUYA, N.; NAGATAKI, S. Effects of intrathyroidal metabolism of thyroxine on thyroid hormone secretion: increased degradation of thyroxine in mouse thyroids stimulated chronically with thyrotrophin. **Acta Endocrinol**, v.105, n.1, p.57–65, 1984.
- KUDIELKA, B. M.; BUSKE-KIRSCHBAUM, A.; HELLHAMMER, D. H.; KIRSCHBAUM, C. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. **Psychoneuroendocrinology**, v.29, n., p.83–98, 2004.
- LAATIKAINEN, T.; VIRTANEN, T.; RAISANEN, I.; SALMINEN, K. Immunoreactive corticotropin-releasing factor and corticotropin during pregnancy, labor and puerperium. **Neuropeptides**, v.10, n.4, p.343-53, 1987.
- LABERGE, L.; PETIT, D.; SIMARD, C.; VITARO, F.; TREMBLAY, R.E.; MONTPLAISIR, J. Development of sleep patterns in early adolescence. **Journal of Sleep Research**, v.10, n.1, p.59–67, 2001.

- LANCEL, M.; KROMER, S.; NEUMANN, I.D. Intracerebral oxytocin modulates sleep–wake behaviour in male rats. **Regul Pept**, v.114, n.2, p.145-52, 2003.
- LABYAK, S.; LAVA, S.; TUREK, F.; et al. Effects of shift work on sleep and menstrual function in nurses. **Health Care Women Int**, v.23 n.6-7, p.703–714, 2002.
- LARSSON, M.; PETTERSSON, T.; CARLSTROM, A. Thyroid hormone binding in serum of 15 vertebrate species: isolation of thyroxine-binding globulin and prealbumin analogs. **Gen Comp Endocrinol**, v.58, n.3, p.360-375, 1985.
- LAURBERG, P.; VESTERGAARD, H.; NIELSEN, S.; CHRISTENSEN, S.E.; SEEFELDT, T.; HELLEBERG, K.; PEDERSEN, K.M. Sources of circulating 3,5,3'-triiodothyronine in hyperthyroidism estimated after blocking of type 1 and type 2 iodothyronine deiodinases. **J Clin Endocrinol Metab**, v.92, n.6, p.2149–2156, 2007.
- LAURBERG, P. Selective inhibition of the secretion of triiodothyronines from the perfused canine thyroid by propylthiouracil. **Endocrinology**, v.103, n.3, p.900–905, 1978.
- LEAKE, RD.; WEITZMAN, R.E.; GLATZ, T.H.; et al. Plasma oxytocin concentrations in men, nonpregnant women, and pregnant women before and during spontaneous labor. **J Clin Endocrinol Metab**, v.53, n.4, p.730-733, 1981.
- LE BON, O.; STANER, L.; HOFFMANN, G.; DRAMAIX, M.; SAN SEBASTIAN, I.; MURPHY, J.R.; et al. The first-night effect may last more than one night. **Journal of psychiatric research**, v.35, n.3, p.165–72, may-Jun, 2001.
- LEE, K.A.; DEJOSEPH, J.F. Sleep disturbances, vitality, and fatigue among a select group of employed childbearing women. *Birth*, v.19, n.4, p. 208-13, Berkeley, Calif., 1992.
- LEE, K.A.; ZAFFKE. M.E.; MCENANY, G. Parity and sleep patterns during and after pregnancy. **Obstet Gynecol**, v.95, n.1, p.14–8, 2000.
- LEE, K.A.; ZAFFKE, M.E.; BARATTE-BEEBE, K. Restless legs syndrome and sleep disturbance during pregnancy: the role of folate and iron. **J Womens Health Gend Based Med**, v.10, n.4, p.335-41, 2001.
- LEE, K.A.; GAY, C.L. Sleep in late pregnancy predicts length of labor and type of delivery. *Am J Obstet Gynecol*, v.191, n.6, p.2041–6, 2004.
- LEE, K.A. Sleep during pregnancy and postpartum. In: Lee- Chiong T, (ed.) **Encyclopedia of Sleep Medicine**. John Wiley & Sons, p.629–635, New Jersey, NJ, 2006.
- LEHTOVIRTA, P.; RANTA, T. Effect of short-term bromocriptine treatment on amniotic fluid prolactin concentration in the first half of pregnancy. *Acta Endocrinol.*;97:559, 1981.
- LEONARD, J.L.; VISSER, T.J. Biochemistry of deiodination. In: Hennemann G, (ed.) **Thyroid hormone metabolism**. Marcel Dekker, p.189–229, New York, 1986.

- LESAGE, J. et al. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. **Journal of Endocrinology**, v. 181, n. 2, p. 291-296, 2004.
- LEVITT, N.S.; LINDSAY, R.S.; HOLMES, M.C.; SECKL, J.R. Dexamethasone in the last week of pregnancy attenuates hippocampal glucocorticoid receptor gene expression and elevates blood pressure in the adult offspring in the rat. **Neuroendocrinology**, v.64, n.6, p.412-418, 1996.
- LINDSAY, J.R.; NIEMAN, L.K. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy: challenges in disease detection and treatment. **Endocr Rev**, v.26, n.6, p.775, 2005.
- LOPES, E.A.; CARVALHO, L.B.C.D.; et al. Sleep disorders in pregnancy. **Arq Neuropsiquiatr**, v.62, n.2a, p.217-221, 2004.
- LOUBE, D.I.; POCETA, J.S.; MORALES, M.C.; et al.: Self-reported snoring in pregnancy association with fetal outcome. **Chest journal**, v.109, n.4, p.885-889, 1996.
- 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.
- LUM, S.M.; NICOLOFF, J.T.; SPENCER, C.A.; KAPTEIN, E.M. Peripheral tissue mechanism for maintenance of serum triiodothyronine values in a thyroxine-deficient state in man. **J Clin Invest**, v.73, n.2, p.570-575, 1984.
- MACHADO, R.B.; SUCHECKY, D.; TUFIK, S. Sleep homeostasis in rats assessed by a long-term intermittent paradoxical sleep deprivation protocol. **Behavioural Brain Research**, v.160, n.2, p.356-364, 2005.
- 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 T3 in euthyroid humans. **J Clin Invest**, v.115, n.9, p.2524-2533, 2005.
- MAIRESSE, J.; et al. Maternal stress alters endocrine function of the feto-placental unit in rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 292, n. 6, p. E1526-E1533, 2007.
- MANBER, R.; ARMITAGE, R. Sex, steroids, and sleep: a review. **Sleep**, v.22, n.5, p.540-55, 1999.
- MANDEL, S.J.; LARSEN, P.R.; SEELY, E.W.; BRENT, G.A. Increased need for thyroxine during pregnancy in women with primary hypothyroidism. **N Engl J Med**, v.323, n.2, p.91-6, 1990.
- MARKOV, D.; GOLDMAN, M. Normal sleep and circadian rhythms: neurobiologic mechanisms underlying sleep and wakefulness. **Psychiatr Clin North Am**, v.29, n.4, p.841-853, 2006.

MA, S.; SHIPSTON, M.J.; MORILAK, D.; RUSSELL, J.A. Reduced hypothalamic vasopressin secretion underlies attenuated adrenocorticotropin stress responses in pregnant rats. **Endocrinology**, v.146, n.3, p.1626–1637, 2005.

MATSUSHIMA, M.; TAKEICHI, M. Effects of intraventricular implantation of crystalline estradiol benzoate on the sleep-wakefulness circadian rhythm of ovariectomized rats. **Japanese Journal of Psychiatry and Neurology**, v.44, n.1, p.111-121, 1990.

MATSUSHIMA, M. Intracerebral sites of action of estrogen on the sleep-wakefulness circadian rhythm in female rats. **Fukuoka Igaku Zasshi**, v.81, n.1, p.48-67, 1990.

MC CORMICK, C. M.; MATHEWS, I. Z. HPA function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enduring consequences of exposure to stressors. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.86, n.2, p.220-233, 2007.

MCLEAN, M.; BISITS, A.; DAVIES, J.; WOODS, R.; LOWRY, P.; SMITH, R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med*, v.1, n.5, p.460-3, 1995.

MEERLO, P.A.; SGOIFO, A.; SUCHECKI, D. "Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity.". **Sleep Medicine Reviews**, v.12, n.3, pp. 197–210, 2008.

MERRYMAN, W.; BOIMAN, R.; BARNES, L.; ROTHCHILD, I. Progesterone "anesthesia" in human subjects. **Journal of Clinical Endocrinology**, v.14, n.12, p.1567-1469, 1954.

MINDELL, J.A.; JACOBSON, B.J. Sleep disturbances during pregnancy. **J Obstet Gynecol Neonatal Nurs**, v.29, n.6, p.590–597, 2000.

MORENO, M.; BERRY, M.J.; HORST, C.; THOMA, R.; GOGLIA, F.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R.; VISSER, T.J. Activation and inactivation of thyroid hormone by type I iodothyronine deiodinase. **FEBS Let**, v.344, n.2, p.143–146, 1994.

MOSS, H.A.; ROBSON, K.S. The relation between the amount of time infants spend at various states and the development of visual behavior. **Child Development**, v.41, n.2, p.509–517, 1970.

NATIONAL SLEEP FOUNDATION. **Sleep In America Poll**, 2007.

NEUMANN, I.; LANDGRAF, R.; BAUCE, L.; PITTMAN, Q. J. Osmotic responsiveness and cross talk involving oxytocin, but not vasopressin or amino acids, between the supraoptic nuclei in virgin and lactating rats. **Journal of Neuroscience**, v.15, n.5, p.3408-3417, 1995.

NEUMANN, I.D.; JOHNSTONE, H.A.; HATZINGER, M.; LIEBSCH, G.; SHIPSTON, M.; RUSSELL, J.A.; LANDGRAF, R.; DOUGLAS, A.J. Attenuated neuroendocrine responses to emotional and physical stressors in pregnant rats involve adeno-hypophysial changes. **J Physiol**, v.508, n.1, p.289-300, 1998.

NGUYEN, L.; GOODYEAR, R.J.; WOODS, C.A.; SCHNEIDER, M.J.; DIAMOND, E.; RICHARDSON, G.P.; KELLEY, M.W.; ST. GERMAIN, D.L.; GALTON, V.A.; FORREST, D. Hearing loss and retarded cochlear development in mice lacking type 2 iodothyronine deiodinase. **Proc Natl Acad Sci of the USA**, v.101, n.10, p.3473–3479, 2004.

NGUYEN, T.T.; CHAPA, F.; DISTEFANO, III.J.J. Direct measurement of the contributions of type I and type II 5'-deiodinases to whole body steady state 3,5,3'-triiodothyronine production from thyroxine in the rat. **Endocrinology**, v.139, n.11, p.4626–4633, 1998.

NISHINA, H.; HONDA, K.; OKAI, A.; et al.: Characteristic changes in sleep patterns during pregnancy in rats. **Neurosci Lett**, v.203, n.1, p.5–8, 1996.

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

OBÁL, F.J.; PAYNE, L.; KAPÁS, L.; OPP, M.; KRUEGER, J.M. Inhibition of growth hormone-releasing factor suppresses both sleep and growth hormone secretion in the rat. **Brain Res**, v.557, n.1, p.149–153, 1991.

OBÁL, F.J.; KACSOH, B.; BREDOW, S.; GUHA-THAKURTA, N.; KRUEGER, J.M. Sleep in rats rendered chronically hyperprolactinemic with anterior pituitary grafts. **Brain Res**, v.755, n.1, p.130–136, 1997.

OGA, M.; SHONO, H.; KOHARA, M.; et al. Chronological changes in subjective symptoms during pregnancy in nulliparous and multiparous women. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v.74, n.10, p.784–787, 1995.

OHAYON, M.M. Epidemiology of insomnia: What we know and what we still need to learn. **Sleep Med Rev**, v.6, n.2, p.97–111, 2002.

OHKAWA, T.; TAKESHITA, S.; MURASE, T.; OKINAGA, S.; ARAI, K. The effect of an acute stress in late pregnancy on hypothalamic catecholamines of the rat fetus. **Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi**, v.43, n., p.783–787, 1991.

OKUN, M.L.; ROBERTS, J.M.; MARSLAND, A.L.; HALL, M. How disturbed sleep may be a risk factor for adverse pregnancy outcomes. **Obstet Gynecol Surv**, v.64, n.4, p.273–280, 2009.

OLSON, D.P.; KOENIG, R.J. Thyroid function in Rubinstein-Taybi syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, n.10, p.3264–3266, 1997.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L.; SURKS, M.I. Propylthiouracil inhibits the conversion of l-thyroxine to l-triiodothyronine: an explanation of the antithyroxine effect of propylthiouracil and evidence supporting the concept that triiodothyronine is the active thyroid hormone. **J Clin Invest**, v.51, n.9, p.2493–2497, 1972.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L.; SURKS, M.I. Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding sites in the rat: liver, kidney, pituitary, heart, brain, spleen, and testis. **Endocrinology**, v.95, n.3, p.897–903, 1974.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L.; MARIASH, C.N.; KINLAW, W.B.; WONG, N.C.W.; FREAKE, H.C. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. **Endocr Rev**, v.8, n.3, p.288–308, 1987.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L.; STRAIT, K.A. An integrated view of thyroid hormone actions in vivo. In: **Molecular Endocrinology: Basic Concepts and Clinical Correlations**, edited by Weintraub B., Raven, p.249–268, New York, 1995.

PALMER, C.D.; HARRISON, G.A.; HIORNS, R.W. Association between smoking and drinking and sleep duration. **Ann Hum Biol**, v.7, n.2, p.103–107, 1980.

PARKER, D.C.; PEKARY, A.E.; HERSHMAN, J.M. Effect of normal and reversed sleep-wake cycles upon nycthemeral rhythmicity of plasma thyrotropin: evidence suggestive of an inhibitory influence in sleep. **J Clin Endocrinol Metab**, v.43, n.2, p.318–329, 1976.

PARKER, D.C.; ROSSMAN, L.G.; PEKARY, A.E.; HERSHMAN, J.M. Effect of 64-h sleep deprivation on the circadian waveform of thyrotropin (TSH): further evidence of sleep-related inhibition of TSH release. **J Clin Endocrinol Metab**, v.64, n.1, p.157–61, 1987.

PARKER, K.P.; DUNBAR, S.B. **Cardiac nursing**. In: Woods SL, Froelicher ESS, Motzer SU, Bridges E, eds. *Sleep*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. p.197–219, 2005.

PARKER, D.C.; SASSIN, J.F.; MACE, J.W.; GOTLIN, R.W.; ROSSMAN, L.G. Human growth hormone release during sleep: electroencephalographic correlation. **J Clin Endocrinol Metab**, v.29, n.6, p.871–874, 1969.

PATCHEV, V.; FELSZEGHY, K.; KORANYI, L. Neuroendocrine and neurochemical consequences of long term sleep deprivation in rats: similarities to some features of depression. **Homeost Health Dis**, p.97–108, 1991.

PATEL, H.; CHOWDREY, H.S.; LIGHTMAN, S.L. Lactation abolishes corticotropin-releasing factor-induced oxytocin secretion in the conscious rat. **Endocrinology**, v.128, n.2, p.725–727, 1991.

PATEL, S.R.; MALHOTRA, A.; WHITE, D.P.; GOTTLIEB, D.J.; HU, F.B. Association between reduced sleep and weight gain in women. **Am J Epidemiol**, v.164, n.10, p.947–954, 2006.

FULLER, P.M.; GOOLEY, J.J.; SAPER, C.B. Neurobiology of the Sleep-Wake Cycle: Sleep Architecture, Circadian Regulation, and Regulatory Feedback. **Journal of Biological Rhythms**, v.21, n.6, p.482–493, December, 2006.

PEETERS, R.; FEKETE, C.; GONÇALVES, C.; LEGRADI, G.; TU, H.M.; HARNEY, J.W.; et al. Regional physiological adaptation of the central nervous system deiodinases to iodine deficiency. **Am J Physiol**, v.281, n.1, p.E54–E61, 2001.

PEPE, G.J.; ALBRECHT, E.D. Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. **Endocr Rev**, v.16, n.5, p.608–648, 1995.

- PIEN, G.W.; SCHWAB, R.J. Sleep disorders during pregnancy. **Sleep**, v.27, p.1405-1417, 2004.
- PIEN, G.W.; FIFE, D.; PACK, A.I.; NKWUO, J.E.; SCHWAB, R.J. Changes in symptoms of sleep-disordered breathing during pregnancy. **Sleep**, v.28, n.10, p.1299–1305, 2005.
- PIRES, M.L.N.; BENEDITO-SILVA, A.A.; MELLO, M.T.; DEL GIGLIO, S.; POMPEIA, C.; TUFIK, S. Sleep habits and complaints of adults in the city of Sao Paulo, Brazil, in 1987 and 1995. **Braz J Med Biol Res**, v.40, n.11, p.1505– 1515, 2007.
- PHILLIPS, B.A.; DANNER, F.J. Cigarette smoking and sleep disturbance. **Arch Intern Med**, v.155, n.7, p.734–737, 1995.
- RECHTSCHAFFEN, A.; KALES, A. A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System and Sleep Stages of Human Subjects. **University of California Brain Information Service**, Los Angeles, 1968.
- RECHTSCHAFFEN, A.; BERGMANN, B.M. “Sleep deprivation in the rat: an update of the 1989 paper.”. **Sleep**, v.25, n.1, p.18–24, 2002.
- 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.182–184, 1983.
- REDLINE, S.; KUMP, K.; TISHLER, P.V.; et al.: Gender differences in sleep disordered breathing in a community-based sample. **Am J Respir Crit Care Med**, v.149, n.3, p.722–726, 1994.
- REFETOFF, F. thyroid function. In: De Groot LJ fed) **Endocrinology**. Saunders, v.1, p.590 – 639, Philadelphia, 1989.
- REYNOLDS, C.F.III.; SHIPLEY, J.E. Sleep in depressive disorders. In: Hales RE, Frances AJ (eds) **Psychiatry Update: The American Psychiatric Association Annual Review** Washington, D.C. **American Psychiatric Press**, v.4, p.341-351, 1985.
- REYNOLDS, C.F.III.; KUPFER, DJ.; TASKA, L.S.; HOCH, C.C.; SEWITCH, D.E.; SPIKER, D.G. Sleep of healthy seniors: A revisit. **Sleep**, v.8, n.1, p.20–29, 1985.
- RIESCO, G.; TAUROG, A.; LARSEN, P.R. Variations in the response of the thyroid gland of the rat to different low-iodine diets: correlation with the iodine content of the diet. **Endocrinology**, v.99, n.1, p.270–280, 1976.
- ROBBINS, J. Thyroid Hormone Transport Proteins and Physiology of Hormone Binding. In: Braverman, L.; Utiger, RD., editors. **Werner and Ingbar’s The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text**. **Lippincott-Raven**; Philadelphia, p. 103-120, 2000.
- ROBINSON, B.G.; EMANUEL, R.L.; FRIM, D.M.; MAJZOUB, J.A. Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.85, p.5244-5248, 1988.

ROCHA, F.L. Distúrbios psiquiátricos na gravidez e puerpério: atualização. **Científica Nacional**, Rio de Janeiro, 1991.

ROEHRS, T.; ROTH, T. Sleep, sleepiness, and alcohol use. **Alcohol Res Health**, v.25, n.2, p.101–109, 2001.

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.

ROSENBERG, I.N. An overview of thyroid hormone deiodinases. In: WuSY, ed. Thyroid hormone metabolism: regulation and clinical aspects. **Blackwell Scientific**, 29–39, New York, 1991.

RUTGERS, M.; HEUSDENS, F.A.; BONTHUIS, F.; VISSER, T.J. Metabolism of triiodothyroacetic acid (TA3) in rat liver. II. Deiodination and conjugation of TA3 by rat hepatocytes and in rats *in vivo*. **Endocrinology**, v.125, n.1, p.433–443, 1989.

SAHOTA, P.K.; JAIN, S.S.; DHAND, R. Sleep disorders in pregnancy. **Curr Opin Pulm Med.**, v.9, n.6, p.477–483, 2003.

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

SAMUELS, M.H.; RIDGWAY, E.C. Central hypothyroidism. **Endocrinol Metab Clin N&h Am**, v.21, n.4, p.903-919, 1992.

SANTIAGO, J.R.; NOLLEDO, M.S.; KINZLER, W.; SANTIAGO, T.V. Sleep and sleep disorders in pregnancy. **Ann Intern Med**, v.134, n.5, p.396-408, 2001.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocr Rev**, v.21, n.1, p.55–89, 2000.

SASAKI, A.; SHINKAWA, O.; MARGIORIS, A.N.; LIOTTA, A.S.; SATO, S.; MURAKAMI, O.; et al. Immunoreactive corticotropin-releasing hormone in human plasma during pregnancy, labor and delivery. **J Clin Endocrinol Metab**, v.64, n.2, p.224-9, 1987.

SASSIN, J.F.; PARKER, D.C.; MACE, J.W.; GOTLIN, R.W.; JOHNSON, L.C.; ROSSMAN, L.G. Human growth hormone release: relation to slow-wave sleep and sleep-walking cycles. **Science**, v.165, n.3892, p.513–515, 1969.

SBROCCA, L. Ekblom's "restless legs" syndrome or "paresthetic agitation" of the lower extremities in pregnancy. **Minerva Ginecol**, v.14, p.675, 1962.

SCHIFF, I.; REGESTEIN, Q.; TULCHINSKY, D.; RYAN, K.J. Effects of estrogen on sleep and psychological state of hypogonadal women. **Journal of the American Medical Association**, v.242, n.22, p.2405-2407, 1979.

- 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. **Mol Endocrinol**, v.15, n.12, p.2137–2148, 2001.
- SCHNEIDER, M.J.; FIERING, S.N.; THAI, B.; et al. Targeted disruption of the type 1 selenodeiodinase gene (dio1) results in marked changes in thyroid hormone economy in mice. **Endocrinology**, v.147, n.1, p.580-589, 2006.
- SMITH, M.J.; KEEL, J.C.; GREENBERG, B.D.; ADAMS, L.F.; SCHMIDT, P.J.; RUBINOW, D.A.; et al. Menstrual cycle effects on cortical excitability. **Neurology**, v.53, n.9, p.2069-2072, 1999.
- SCHWEIGER, M.S. Sleep disturbance in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, v.114, n.6, p.879-882, 1972.
- SCHULD, A.; BLUM, W.F.; UHR, M.; HAACK, M.; KRAUS, T.; HOLSBOER, F.; POLLMACHER, T. Reduced leptin levels in human narcolepsy. **Neuroendocrinology**, v.72, n.4, p.195–198, 2000.
- SCHUSSLER, G.C. The thyroxine-binding proteins. **Thyroid**, v.10, n.2, p.141–149, 2000.
- SELYE, H. Acquired adaptation to the anesthetic effect of steroid hormones. **Journal of Immunology**, v.41, p.259-268, 1941.
- SELYE, H. Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. **Endocrinology**, v.30, n.3, p.437-453, 1942.
- SELYE, H. Diseases of adaptation. **Wis Med J**, v.49, n.6, 515-516, Jun, 1950.
- SHAW, J.E.; PUNJABI, N.M.; WILDING, J.P.; et al. Sleep-disordered breathing and type 2 diabetes: a report from the International Diabetes Federation Taskforce on Epidemiology and Prevention. **Diabetes Res Clin Pract**, v.81, n.1, p.2–12, 2008.
- SHIBASAKI, T.; ODAGIRI, E.; SHIZUME, K.; LING, N. Corticotropin-releasing factor-like activity in human placental extracts. **J Clin Endocrinol Metab**, v.55, n., p.384-6, 1982.
- SILVA, A.; ANDERSEN, M.L.; TUFIK, S. Sleep pattern in an experimental model of osteoarthritis. **Pain**, v.140, n.3, p.446–55, 2008.
- SILVA, J.E.; MATTHEWS, P. Thyroid hormone metabolism and the source of plasma triiodothyronine in 2-week-old rats: effects of thyroid status. **Endocrinology**, v.114, n.6, p.2394–2405, 1984.
- SILVA, J.E.; LARSEN, P.R. Interrelationships among thyroxine, growth hormone, and the sympathetic nervous system in the regulation of 5'-iodothyronine deiodinase in rat brown adipose tissue. **J Clin Invest**, v.77, n.4, p.1214-1223, 1986.

SOLDIN, O.P.; TRACTENBERG, R.E.; HOLLOWELL, J.G.; JONKLAAS, J.; JANICIC, N.; SOLDIN, S.J. Trimesterspecific changes in maternal thyroid hormone, thyrotropin, and thyroglobulin concentrations during gestation: trends and associations across trimesters in iodine sufficiency. **Thyroid**, v.14, n.12, p.1084–1090, 2004.

SOLÍS-S, J.C.; VILLALOBOS, P.; OROZCO, A.; VALVERDE, R.C. Comparative kinetic characterization of rat thyroid iodotyrosine dehalogenase and iodothyronine deiodinase type 1. **J Endocrinol**, v.181, n., p.385–392, 2004.

SPÄTH-SCHWALBE, E.; et al. Nocturnal wakefulness inhibits growth hormone (GH)-releasing hormone-induced GH secretion. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.80, n.1, p.1995.

SPEROFF, L.; GLASS, R.H.; KASE, N.G. **Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility**. 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, p.317–351, 1989.

SPIEGEL, K.; LAPROULT, R.; COPINSCHI, G.; VAN CAUTER, E. Impact of sleep length on the 24-h leptin profile. (Abstract). **Sleep**, v.24, p.A74, 2001.

SPIEGEL, K.; TASALI, E.; PENEV, P.; VAN CAUTER, E. Brief Communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels and increased hunger an appetite. **Ann Intern Med**, v.141, n.11, p.846-50, 2004.

SPIEGEL, K.; LEPROULT, R.; COLECCHIA, E. F.; et al. Adaptation of the 24-h growth hormone profile to a state of sleep debt. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.279, n.3, p.R874-R883, September, 2000.

STANBURY, J.B. Deiodination of the iodinated amino acids. **Ann NY Acad Sci**, v.86, n.2, p.417–439, 1960.

STERIADE, M.; MCCARLEY, R.W. Brainstem Control of Wakefulness and Sleep. **Plenum**, New York, 1990.

STEIGER, A. Sleep and endocrinology. **J Intern Med**, v.254, n.1, p.13-22, 2003.

STEINSAPIR, J.; BIANCO, A.C.; BUETTNER, C.; HARNEY, J.; LARSEN, P.R. Substrateinduced down-regulation of human type 2 deiodinase (hD2) is mediated through proteasomal degradation and requires interaction with the enzyme's active center. **Endocrinology**, v.141, n.3, p.1127–1135, 2000.

ST. GERMAIN, D.L. Selenium, deiodinases, and endocrine function. In: Hatfield DL, ed. Selenium: its molecular biology and role in human health. **Kluwer Academic Publishers**, p.189–202, Boston, 2001.

STRAIT, K.A.; SCHWARTZ, H.L.; PEREZ-CASTILLO, A.; OPPENHEIMER, J.H. Relationship of *c-erbA* mRNA content to tissue triiodothyronine nuclear binding capacity and function in developing and adult rats. **J Biol Chem**, v.265, n.18, p.10514–10521, 1990.

STRECKFUSS, F.; HAMANN, I.; SCHOMBURG, L.; MICHAELIS, M.; SAPIN, R.; KLEIN, M.O.; KÖHRLE, J.; SCHWEIZER, U. Hepatic deiodinase activity is dispensable for

the maintenance of normal circulating thyroid hormone levels in mice. **Biochem Biophys Res Commun**, v.337, n.2, p.739–745, 2005.

SUCHECKI, D.L.; NETO, J.P. Prenatal Stress and emotional response of adult offspring. **Physiol Behav**, v.49, n.3, p.423-426, 1990.

SUCHECKI, D.L.; LOBO, L.; HIPÓLIDE, D.; 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.

SUCHECKI, D.L.; TUFIK, S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. **Physiol Behav**, v.68, n.3, p.309–316, 2000.

SUCHECKI, D.L.; ANTUNES, J.; TUFIK, S. Palatable solutions during paradoxical sleep deprivation: reduction of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and lack of effect on energy imbalance. **J Neuroendocrinol**, v.15, n.9, p.815-21, 2003.

SUGIHARA, K.; KOBAYASHI, T. Sleep behavior of pregnant women using sleep log. **Psychiatry Clin Neurosci**, v.52, n.2, p.201–202, 1998.

SUZUKI, S.; DENNERSTEIN, L.; GREENWOOD, K.M.; ARMSTRONG, S.M.; SANO, T.; SATOHISA, E. Melatonin and hormonal changes in disturbed sleep during late pregnancy. **J Pineal Res**, v.15, n.4, p.191–8, 1993.

SUZUKI, S.; DENNERSTEIN, L.; GREENWOOD, K.M.; et al. Sleeping patterns during pregnancy in Japanese women. **J Psychosom Obstet Gynecol**, v.15, n.1, p.19–26, 1994.

SZYMUSIAK, R. Thermoregulation and sleep. In: Sleep Research Society, eds. *SRS Basics of Sleep Guide*. **Sleep Research Society**, p.119–126, Westchester, IL, 2005.

TAUROG, A. Hormone synthesis. In: Werner and Ingbar’s *The Thyroid*, ed. Braverman L and Utiger R, **Lip-pincott-Raven**, p.47–81, Philadelphia, PA, 1996.

TAKAHASHI, Y.; KIPNIS, D.M.; DAUGHADAY, W.H. Growth hormone secretion during sleep. **J Clin Invest**, v.47, n.9, p.2079–2090, 1968.

TEGLER, L.; GILLQUIST, J.; LINDVALL, R.; ALMQVIST, S. Secretion rates of thyroxine, triiodothyronine, and reverse triiodothyronine in man during surgery. **Acta Endocrinol** v.101, n.2, p.193–198, 1982.

TIMO-LARIA, C.; et al. Phases and states of sleep. **Physiol Behav**, v.5, n.9, p.1057-1062, 1970.

TOBLER, R.; MURISON, R.; URSIN, R.; URSIN, H.; BORBELY, A.A. “The effect of sleep deprivation and recovery sleep on plasma corticosterone in the rat.”. **Neuroscience Letters**, v.35, n.3, p.297–300, 1983.

THOMAL, J.T.; PALMA, B.D.; PONZIO, B.F.; et al. Sleep Restriction during Pregnancy: Hypertension and Renal Abnormalities in Young Offspring Rats. **Sleep**, v.33, n.10, p.1357-1362, 2010.

THOMPSON, J.; OSSWALD, I. Effects of estrogen on the sleep, mood, and anxiety of menopausal women. **British Medical Journal**, v.2, n.6098, p.1317-1319, 1977.

TOPPILA, J.; ALANKO, L.; ASIKAINEN, M.; TOBLER, I.; STENBERG, D.; PORKKA-HEISKANEN, T. Sleep deprivation increases somatostatin and growth hormone releasing hormone messenger RNA in the rat hypothalamus. **J Sleep Res**, v.6, n.3, p.171-178, 1997.

TOYODA, N.; KAPTEIN, E.; BERRY, M.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R.; VISSER, T.J. Structure-activity relationships for thyroid hormone deiodinases by mammalian type I iodothyronine deiodinases. **Endocrinology**, v.138, n.1, p.213-219, 1997.

TOYODA, N.; NISHIKAWA, M.; HORIMOTO, M.; YOSHIKAWA, N.; MORI, Y.; YOSHIMURA, M.; MASAKI, H.; TANAKA, K.; INADA, M. Graves' immunoglobulin G stimulates iodothyronine 5'-deiodinating activity in FRTL-5 rat thyroid cells. **J Clin Endocrinol Metab**, v.70, n.6, p.1506-1511, 1990.

VAN CAUTER, E.; KERKHOF, M.; CAUFRIEZ, A.; VAN ONDERBERGEN, A.; THORNER, M.O.; COPINSCHI, G. A quantitative estimation of growth hormone secretion in normal man: reproducibility and relation to sleep and time of day. **J Clin Endocrinol Metab**, v.74, n.6, p.1441-1450, 1992.

VAN CAUTER, E.; SPIEGEL, K. Hormones and metabolism during sleep. In: **Sleep Science: Integrating Basic Research and Clinical Practice**, ed. Schwartz WJ. Basel: Karger, p.144-174, 1997.

VAN CAUTER, E.; COPINSCHI, G. Interrelations between sleep and the somatotrophic axis. **Sleep**, v.21, n.6, p.553-566, 1998.

VAN CAUTER, E.; TASALI, E. Endocrine physiology in relation to sleep and sleep disturbances. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, editors. Principles and practice of sleep medicine. **Elsevier Saunders**, St Louis, MO, p.291-311, 2011.

VAN DOORN, J.; ROELFSEMA, F.; VAN DER HEIDE, D. Conversion of thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine in several rat tissues in vivo: the effect of hypothyroidism. **Acta Endocrinol**, v.113, n.1, p.59-64, 1986.

VAN DERWOLF, C.H. Are neocortical gamma waves related to consciousness? **Brain Res.**, v.855, n.2, p.217-224, 2000.

VAN HULZEN, Z.J.M.; COENEN, A.M.L. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. **Physiol Behav**, v.27, n.4, p.741-4, 1981.

VAN WAES, V.; ENACHE, M.; DUTRIEZ, I.; LESAGE, J.; MORLEY-FLETCHER, S.; VINNER, E.; LHERMITTE, M.; VIEAU, D.; MACCARI, S.; DARNAUDERY, M. Hypo-response of the hypothalamic-pituitary adrenocortical axis after an ethanol challenge in prenatally stressed adolescent male rats. **Eur. J. Neurosci.**, v.24, n.4, p.1193-1200, 2006.

VELAZQUEZ-MOCTEZUMA, J.; SALAZAR, D.E.; CRUZ RUEDA, M.L. The effect of prenatal stress on adult sexual behavior in rats depends on the nature of the stressor. **Physiol Behav**, v.53, n.3, p.443-8, 1992.

VENERO, C.; GUADANO-FERRAZ, A.; HERRERO, A.I.; NORDSTROM, K.; MANZANO, J.; DE ESCOBAR, M.G.; BERNAL, J.; VENNSTROM, B. Anxiety, memory impairment, and locomotor dysfunction caused by a mutant thyroid hormone receptor $\alpha 1$ can be ameliorated by T3 treatment. **Genes Dev**, v.19, n.18, p.2152–216, 2005.

VON TREUER, K.; NORMAN, T.R.; ARMSTRONG, S.M. Overnight human plasma melatonin, cortisol, prolactin, TSH, under conditions of normal sleep, sleep deprivation, and sleep recovery. **J Pineal Res**, v.20, n.1, p.7–14, 1996.

WALKER, C. D.; TROTTIER, G.; ROCHFORD, J.; LAVALLÉE, D. Dissociation between behavioral and hormonal responses to the forced swim stress in lactating rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v.7, n.8, p.615-622, 1995.

WARREN, W.B.; PATRICK, S.L.; GOLAND, R.S. Elevated maternal plasma corticotropin-releasing hormone levels in pregnancies complicated by preterm labor. **International journal of gynecology & obstetrics**, v.39, n.4, p.364, 1992.

WATERS, M.A.; LEE, K.A. Differences between primigravidae and multigravidae mothers in sleep disturbances, fatigue, and functional status. **J Nurse Midwifery**, v.41, n.5, p.364–367, 1996.

WEAVER, D.R. The suprachiasmatic nucleus: A 25-year retrospective. **J. Biol. Rhythms**, v.13, n.2, p.100, 1998.

WEINSTOCK, M. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.21, n.1, p.1-10, 1997.

WEINSTOCK, M. The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. **Brain Behav. Immun.**, V.19, n.4, p.296-308, 2005.

WELBERG, L.A.M.; SECKL, J.R. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. **J Neuroendocrinol**, v.13, n.2, p.113–128, 2001.

WERNER, S.C. A History of the Thyroid. **Lippincott**, Philadelphia, PA, 1991.

WIGGER, A.; LORSCHER, P.; OEHLER, I.; KECK, M.E.; NARUO, T.; NEUMANN, I.D. Nonresponsiveness of the rat hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis to parturition-related events: inhibitory action of endogenous opioids. **Endocrinology**, v.140, n.6, p.2843–2849, 1999.

WILLOUGHBY, J.O.; MARTIN, J.B.; RENAUD, L.P.; BRAZEAU, P. Pulsatile growth hormone release in the rat: failure to demonstrate a correlation with sleep phases. **Endocrinology**, v.98, n.4, p.991-996, Apr, 1976.

WINDLE, R. J.; WOOD, S.; SHANKS, N.; PERKS, P.; CONDE, G. L.; DA COSTA, A. P. C.; INGRAM, C. D.; LIGHTMAN, S. L. Endocrine and behavioural responses to noise stress: comparison of virgin and lactating female rats during non-disrupted maternal activity. **Journal of Neuroendocrinology**, v.9, n.6, p.407-414, 1997.

WORTH, J.; ONEYEJE, C.I.; FERBER, A.; et al. The association between fetal and maternal sleep patterns in third-trimester pregnancies. **Am J Obstet Gynecol**, v.186, n.5, p.924-925, 2002.

ZEPELIN, H. A life span perspective on sleep. In: A Mayes (ed). *Sleep Mechanisms and Functions in Humans and Animals: An Evolutionary Perspective*, **Cambridge Univ. Press**. p.126-160, Cambridge, 1983.

ZHANG, S.Q.; INOUE, S.; KIMURA, M. Sleep-promoting activity of prolactin- releasing peptide (PrRP) in the rat. **Neuroreport**, v.12, n.15, p.3173-3176, 2001.

ZIMKELLER, W. Current topic: the role of growth hormone and insulinlike growth factors for placental growth and development. **Placenta**, v.21, n.5, p.451, 2000.