

Steroidi e sistema nervoso centrale: il ruolo del progesterone e dei progestinici di sintesi

Nicola Pluchino, Alessandra Cubeddu, Andrea R. Genazzani
DIPARTIMENTO DI MEDICINA DELLA PROCREAZIONE E DELL'ETÀ EVOLUTIVA
DIVISIONE DI GINECOLOGIA E OSTETRICIA, UNIVERSITÀ DI PISA

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni, sempre maggiore attenzione è stata posta sugli effetti extragonadici dei composti estrogeno-progestinici utilizzati sia a scopo contraccettivo che per la terapia ormonale sostitutiva (TOS). La risposta biologica dei tessuti extragonadici alla somministrazione di steroidi sessuali, infatti, rappresenta sicuramente uno degli aspetti più dibattuti dalla comunità scientifica, costituendo uno dei meccanismi promuoventi gli effetti benefici degli steroidi, ma anche possibile base di discrepanze tra studi sperimentali e trials clinici. Uno dei punti di maggior confronto è il ruolo extragonadico del progesterone e dei progestinici di sintesi disponibili in commercio. Per molti anni, infatti, queste molecole sono state considerate unicamente per contrastare l'azione proliferativa degli estrogeni a livello endometriale. Tuttavia, sappiamo ormai che, a seconda del tessuto con cui interagisce, ogni progestinico presenta differenze nella sua azione specifica che possono variare significativamente, anche tra molecole appartenenti alla stessa classe. Di conseguenza, l'azione estrogenica può essere favorita o contrastata in relazione al tessuto analizzato. Pertanto, la scelta clinica del progestinico da associare nella TOS o nelle formulazioni contraccettive è importante per determinare gli effetti benefici o potenzialmente negativi.

Questa specificità d'azione può essere di particolare importanza nel sistema nervoso centrale (SNC), a livello del quale il progesterone (P) è determinante, in quanto capace di svolgere attività neuropsicologiche e neuroprotettive oltre che per la funzione riproduttiva e la sessualità. Pertanto confrontare gli effetti neuroendocrini del progesterone naturale e dei progestinici sintetici, può evidenziare aspetti differenziali di attività nel SNC con sviluppi clinici interessanti. In particolare lo studio differenziale della sintesi dei metaboliti neuroattivi del progesterone e l'interazione con il sistema oppioide costituiscono elementi per analizzare l'interazione dei progestinici con funzioni integrate del sistema nervoso centrale come la risposta adattiva, emotivo-comportamentale e cognitiva.

MECCANISMO D'AZIONE DEL PROGESTERONE NEL SNC

Una descrizione esaustiva delle attività molecolari e cellulari del progesterone a livello del SNC^{1,2} va oltre lo scopo di questo articolo, pertanto ci limiteremo a

descrivere quei meccanismi biomolecolari necessari per comprendere e sostenere l'ipotesi che il progesterone e i progestinici possano influenzare i diversi aspetti dell'attività cognitiva. L'azione del progesterone può essere mediata sia da recettori nucleari (PR) sia da recettori di membrana³. PR è presente in diverse isoforme, tuttavia i PR-A e PR-B sono le isoforme più rappresentate e sono responsabili degli effetti trascrizionali del progesterone. Sebbene entrambe le isoforme originino dallo stesso gene⁴, PR-B differisce dall'isoforma A per una sequenza aggiuntiva di 164 aminoacidi nella regione N-terminale⁵; la differente struttura quindi conferisce loro altrettante differenti proprietà trascrizionali osservate sia *in vitro*^{6,7} sia *in vivo*^{8,9}. Recentemente, è stata identificata una terza isoforma PR-C, la cui funzione sembrerebbe quella di modulare l'attività trascrizionale delle due isoforme PR-A e PR-B^{10,11}. La differente struttura delle isoforme del recettore PR fa sì che la risposta al progesterone sia specifica in ogni tessuto. Infatti, ogni isoforma si contraddistingue per specifiche modificazioni post-traslazionali, dimerizzazioni e reclutamento di cofattori che contribuiscono alla differenziazione delle proprietà di transattivazione che portano quindi alla regolazione di distinti substrati di geni sensibili al progesterone².

Nel SNC, sono stati identificati PR-A e PR-B, sebbene non siano state ancora completamente definite le loro proprietà biologiche^{12,13,14}, mentre non è stata ancora provata la presenza di PR-C². Analisi eseguite con RT-PCR hanno evidenziato l'espressione dell'mRNA di entrambe le isoforme A e B in tutte le regioni cerebrali dove è già noto essere presente PR a livello neuronale². La loro co-localizzazione in diversi distretti cerebrali come l'amigdala, l'ippocampo, la corteccia, il cervelletto, il locus coeruleus, i nuclei mediali del rafe, cellule gliali e materia grigia, potrebbe confermare il coinvolgimento del P nel controllo dei processi che controllano le funzioni cognitive, il benessere e la memoria in condizioni sia fisiologiche sia patologiche¹⁵. Inoltre, è stato dimostrato che, nel ratto femmina adulto, E2 e P regolano differenzialmente le due isoforme a seconda della regione cerebrale presa in considerazione¹⁶. Nell'ipotalamo per esempio, gli estrogeni possono stimolare l'espressione di PR-A e PR-B in quanto entrambi i recettori sono espressi nelle stesse aree dei recettori per gli estrogeni, mentre il progesterone stesso inibisce la loro espressione. Nell'ippocampo invece, E2 è in grado di

indurre l'espressione solo di PR-A, al contrario di P che non esercita alcuna influenza¹⁶. Invece, a livello cerebellare e nella corteccia frontale l'espressione di mRNA di entrambe le isoforme di PR non è influenzata né da E2 né da P. Inoltre, la trascrizione di PR varia a seconda della fase del ciclo estrale in modo specifico per ogni regione cerebrale; per esempio, studi condotti su macachi rhesus trattati con E2 dimostrano una regolazione diversa delle due isoforme PR, con l'espressione dell'isoforma A predominante a livello ipofisario e la B a livello ipotalamico^{17,18}.

Visto il numero sempre maggiore di studi in vitro e in vivo che dimostrano le differenti proprietà trascrizionali e le diverse interazioni con i fattori co-regolatori di PR-A e PR-B, è possibile ipotizzare che queste due isoforme possiedano ruoli distinti nel mediare segnali aggiuntivi o alternativi nei neuroni sensibili agli steroidi². Inoltre, le variazioni del gene comune per il recettore del progesterone descritte nell'endometrio e nel tessuto mammario, potrebbero essere associate a differenze funzionali anche a livello cerebrale.

Riguardo i meccanismi non genomici, molti studi hanno dimostrato che P è capace di interagire con recettori di membrana quali il PGRM1 (progesterone receptor membrane component 1), il recettore sigma 1, e il recettore A per il GABA, attraverso il suo neurometabolita allopregnanolone (AP); PGRMC1 è localizzato sulla membrana dei neuroni ipotalamici e spinali^{21,22} e la sua espressione sembra essere stimolata da trattamenti con E2, suggerendo un suo ruolo nell'attivazione del comportamento sessuale femminile²¹. Inoltre, il ruolo protettivo di PGRMC1 nel mediare gli effetti protettivi di P nel sistema nervoso è supportato dall'osservazione che in ratti maschi, dopo danneggiamento dei neuroni del corno dorsale della corda spinale, il trattamento con P incrementava che sia il mRNA e la proteina del recettore di membrana²². Un altro recettore di membrana con il quale interagisce P è il recettore sigma 1, che sembra essere coinvolto nei processi di invecchiamento neuronale^{23,24}. Il recettore sigma 1 è coinvolto nel potenziamento della risposta NMDA dei neuroni ippocampali e nel rilascio di noradrenalina NMDA-mediato e sembra che P abbia un effetto inibitorio sull'attività di Sigma 1^{25,26}. Inoltre, P gioca un ruolo nel controllo di altri sistemi neurotrasmettitivi, come l'oppioidergico, il serotoninergico e il colinergico. Infatti i recettori nicotinico o per l'acetilcolina sono inibiti da P indipendentemente dal potenziale di membrana^{27,28}.

Studi in vitro, hanno dimostrato che PR, come altri recettori steroidei, può essere modulato da composti diversi dagli steroidi in modo "ligando-indipendente". Queste molecole comprendono anche nucleotidi ciclici che incrementano l'attività kinasica intracellulare²⁹, altri composti extracellulari, come fattori di crescita e neurotrasmettitori come la dopamina che interagendo con i recettori di membrana, stimolano l'attivazione della cascata fosforilativa intracellulare.

Quindi, sia il meccanismo ligando-dipendente (genomico/classico e non-genomico/non-classico) sia il meccanismo ligando-indipendente per l'attivazione e sensibilizzazione di PR, permette agli steroidi di influenzare ampiamente la regolazione delle attività cerebrali sia in condizioni fisiologiche che patologiche.

EFFETTI NEUROPROTETTIVI DEL PROGESTERONE

Il P esercita importanti azioni neuroprotettive e neurotrofiche, soprattutto in quelle popolazioni neuronali più suscettibili ai danni citotossici e ischemici come le cellule piramidali dell'ippocampo e della corteccia, le cellule del purkinjia e le cellule dopanimergeche nel mesencefalo^{30,31}.

Infatti, numerosi modelli sperimentali hanno apportato dati sul ruolo neuroprotettivo di P nel ridurre la vulnerabilità neuronale per molecole neurotossiche³², nella perdita di cellule a seguito di eventi ischemici³³, nell'inibire la perossidazione lipidica, la produzione di isoprostani³⁴ e l'espressione di geni pro-infiammatori³⁵. Gli effetti benefici di P sono stati documentati in modelli di TBI (traumatic brain injury) nei ratti e nell'esperienza clinica³⁶. Edema, morte neuronale eccitotossica secondaria nelle zone limitrofe alla lesione e la degenerazione neuronale retrograda sono conseguenze di TBI. Il trattamento con P riduce sia l'edema sia le perdite neuronali secondarie e migliora il recupero comportamentale dopo TBI in entrambi i sessi. Inoltre, in ratti femmina, protette dai livelli di P endogeni, il contenuto di acqua dopo TBI era più basso rispetto ai ratti maschi^{37,38}. Probabilmente la capacità di P nel ridurre l'edema può essere spiegato dal fatto che P è capace interagire con l'aquaporina 4 (AQP4), una proteina di membrana coinvolta nell'omeostasi dell'acqua. La somministrazione di P aumenta l'espressione di AQP4 nell'ipotalamo attorno al terzo ventricolo, dove sono situati i neuroni osmosensibili, e queste differenze regionali nell'espressione dell'AQP4 potrebbero essere un meccanismo che aiuta il drenaggio di fluidi accumulati, riducendo quindi la formazione di edema e regolando il bilancio idrico per un appropriato funzionamento cerebrale³⁹.

Un'altra importante conseguenza della somministrazione di P è la riduzione della perossidazione lipidica; l'aumentata esposizione allo stress ossidativo dei tessuti in invecchiamento, potrebbe parzialmente derivare da una diminuita attività degli enzimi antiossidanti, come la superossido dismutasi. È stato dimostrato che il trattamento prolungato con progesterone, estradiolo o entrambi in combinazione di ratti femmina di mezza età e anziane prive di ciclo estrale, aumentava l'attività della superossido dismutasi e riduceva la perossidazione lipidica (40). Infine, P aumenta l'espressione di proteine anti-apoptiche come la Bcl-2⁴¹⁻⁴², riduce il processo di infiammazione reprimendo l'attivazione di cellule della microglia e inibendo la produzione di citochine pro-infiammatorie⁴³ e stimola l'espressione di neurotrofine come il BDNF (brain-derived neurotrophic factor)⁴⁴, una neurotrofina coinvolta nei processi di plasticità neuronale, la cui concentrazione è influenzata dalle fluttuazioni ormonali del ciclo mestruale⁴⁵.

Il P inoltre è coinvolto nei processi di mielinizzazione e rimielinizzazione a livello del sistema nervoso centrale e periferico. L'effetto positivo di P nella mielinizzazione è stato riscontrato sia in studi in vitro che in vivo; è stato infatti dimostrato che P è capace di stimolare la rimielinizzazione agendo direttamente sulle cellule della glia nel sistema nervoso centrale, e sulle cellule di Schwann a livello periferico¹. Le cellule di Schwann infatti sono capaci di sintetizzare P il quale a sua volta promuove la formazione di nuovi strati di mielina dopo un evento lesivo⁴⁶. È probabile che anche AP abbia un ruolo in questi processi, dato che il suo recettore è stato localizzato a

livello delle cellule di Schwann¹⁵. Nel SNC, P è capace di stimolare la produzione di mielina da parte degli oligodendrociti; Ghoumaru e collaboratori, hanno dimostrato che l'aggiunta di P al mezzo di coltura di tessuto cerebellare, incrementava la formazione di mielina. In questo caso, l'azione di P era mediata dal recettore PR, infatti veniva bloccata se somministrato mifepristone e non è stata osservata nelle colture di cervelletto ottenute da topi knock-out per il gene di PR. Anche AP è coinvolto nell'induzione della mielinizzazione, come è stato dimostrato negli espianti cerebellari, ma ancora non è chiaro se AP agisca tramite il recettore GABA-A neuronale o gliale⁴⁷.

Quindi, il P non solo svolge un ruolo importante nel mantenere un'efficiente comunicazione interneuronale, sia ma gioca un ruolo anche nel mantenimento delle strutture di comunicazione⁴⁸, e questa attività si dimostra particolarmente incisiva a livello cerebrale e nervoso periferico nei processi di invecchiamento, caratterizzato dalla perdita di mielina⁴⁶.

PROGESTERONE, PROGESTINICI ORALI E NEUROSTEROIDOGENESI IL METABOLISMO DEL PROGESTERONE A LIVELLO CEREBRALE

La concentrazione degli steroidi a livello del SNC deriva dagli ormoni prodotti dalle ghiandole periferiche, che attraversano la barriera emato-encefalica¹⁵, e dalla produzione in situ nel SNC. Infatti, sia i neuroni sia le cellule gliali possiedono il corredo enzimatico necessario per la sintesi di P, testosterone ed estradiolo (aromatasi, 5 α reduttasi presenti principalmente nei neuroni, 3 α -idrossi steroidodeidrogenasi principalmente localizzata negli astrociti tipo 1)⁴⁹. Neuroni e cellule gliali metabolizzano coordinatamente gli ormoni steroidei, formando quindi un'unica unità funzionale; essendo la concentrazione ormonale a livello nervoso dipendente sia dalla sintesi locale sia dalla sintesi a livello ghiandolaire, le variazioni dei livelli circolanti di ormoni a seguito dei cambiamenti dovuti all'invecchiamento, si riflettono a livello cerebrale. Inoltre, lo stesso SNC è capace di produrre steroidi a partire dal colesterolo, rendendosi almeno in parte indipendente dal rilascio di steroidi da parte delle ghiandole periferiche; gli steroidi prodotti a livello cerebrale prendono il nome di "neurosteroidi" ed esercitano importanti azioni regolatorie sui neuroni e sulla glia^{50,51}. In particolare, uno dei più importanti neurometaboliti che derivano da P è AP (3 α , 5 α -tetraidrossiprogestosterone) i cui livelli circolanti derivano principalmente dalle gonadi, dalla corteccia surrenalica e dal SNC^{52,53}. AP agisce come agonista del recettore A del GABA ed è coinvolto nella regolazione dello stress, umore e comportamento avendo effetti ansiolitici, sedativi e antiepilettici⁵³. Infatti, i livelli di AP a livello cerebrale aumentano durante le fasi di stress acuto, in gravidanza, durante il parto e nella depressione. Gli steroidi ovarici possono influire sui livelli di AP. È stato riportato che, nei ratti, i livelli di AP in circolo fluttuano a seconda della fase ormonale (più alti durante il proestro rispetto al diestro o l'estro)^{54,55}; inoltre è stato visto come i livelli di AP decrescano significativamente sia a livello periferico sia nel SNC dopo ovariectomia⁵⁶⁻⁶². Invece, la somministrazione di 17 β -estradiolo aumenta il contenuto di AP in particolare a livello dell'ippocampo, dell'ipotalamo dell'ipofisi e nel siero. Anche P è capace di aumentare i livelli di AP nel lobo parietale, nell'ippocampo, nell'adenoipofisi in

modo dose-dipendente¹⁵. Questo incremento di AP nel sangue e nelle regioni corticali, probabilmente è responsabile dell'effetto ansiolitico di questa molecola^{63,64}. È stato recentemente descritto che la concentrazione di AP a livello cerebrale è maggiore in quegli animali che ricevono estradiolo benzoato (EB) più progesterone, rispetto a quelli che ricevono solo EB oppure EB e P in combinazione con un inibitore della 5 α reduttasi coinvolta nel metabolismo di P⁶³. L'effetto positivo della terapia combinata EB+P sui livelli di AP potrebbe essere dovuto alla capacità dell'estrogeno di modulare la 5 α -reduttasi e la 3 α -idrossisteroidodeidrogenasi (5 α -R-3 α -HSD)^{64,65} e sulla maggiore disponibilità di P per essere metabolizzato in AP⁶⁶. Per cui è probabile che anche nelle donne dopo la menopausa, la diminuzione di AP possa essere coinvolta nell'insorgenza della sintomatologia climaterica e che la somministrazione di P possa avere una funzione positiva sulla biologia cerebrale.

EFFETTI DIFFERENZIALI DEI PROGESTINICI ORALI SULLA CONCENTRAZIONE DI AP

Il P naturale, se somministrato oralmente, è altamente suscettibile al metabolismo epatico di primo passaggio. Al contrario i progestinici orali di sintesi si dimostrano più resistenti all'effetto di primo passaggio epatico rispetto al progesterone naturale. I progestinici non sono tutti uguali: sono differenti nella struttura chimica, nella farmacodinamica, nel metabolismo, nella farmacocinetica e nella potenza⁶⁸. Infatti, progestinici di sintesi possono derivare dal testosterone (derivati del 19-nortestosterone come norethisterone, levonorgestrel e gestodene), da P o idrossiprogestosterone (derivati del 17-OH progesterone come medrossiprogestosterone acetato, clormadinone e ciproterone acetato e derivati del 19-norprogesterone come il nesterone e il nomegestrolo acetato) o dallo spironolattone (drospirenone). Quindi, la loro differente struttura può influenzare l'affinità per PR e per altri recettori steroidei come il recettore per gli androgeni AR, per gli estrogeni ER, per il glucocorticoidi GR e per i mineral corticoidi MR. Tutte le suddette differenze possono influenzare la loro attività anche nel SNC. In accordo con la loro diversa selettività, queste molecole possono indurre effetti biologici molto diversi da quelli del progesterone naturale⁶⁹. La differente struttura chimica può anche indurre un metabolismo differente; al contrario del P, non tutti i progestinici possono essere convertiti in AP¹. Alcuni dei 19-norprogestinici, in particolare quelli che derivano dal 19-nortestosterone, possono essere potenzialmente convertiti in metaboliti neuroattivi, dato che vengono convertiti in 5 α -, 3 α , 5 α - e 3 β , 5 α -metaboliti^{70,71}. È stato visto che il noretisterone acetato e il medrossiprogestosterone acetato possiedono effetti ansiolitici nei ratti quando questi venivano sottoposti ai test "elevated plus maze" e "shock-probe burying test"⁷², sostenendo l'ipotesi che possano essere metabolizzati in steroidi neuroattivi. Studi condotti su donne in menopausa hanno riscontrato che l'uso di estrogeno da solo aumentava i livelli di AP in circolo⁷³⁻⁷⁶, ma quando l'estrogeno era associato a P o progestinici, l'effetto variava a seconda della molecola associata^{57,61}. Nei ratti femmina ovariectomizzati (OVX), progestinici differenti (progesterone micronizzato (MP), medrossiprogestosterone acetato (MPA), diidrogesterone (DYG), drospirenone (DRSP) e nomegestrolo acetato (NOMAc)) hanno effetti differenti sulla concentrazione di AP in specifiche aree cerebrali (corteccia

frontale e parietale, ippocampo, ipotalamo, adenoipofisi) e nel siero, mentre non sembrano avere alcun effetto a livello della ghiandola surrenale. In dettaglio, il P è attivo in tutte le aree cerebrali prese in considerazione con dosaggi di 2-4-8 mg/kg/day somministrato sia singolarmente che in associazione con E2. MPA è capace di aumentare significativamente la concentrazione di AP in tutte le aree cerebrali e, in combinazione con E2, la sua azione viene potenziata a livello della corteccia frontale e parietale, dell'ipotalamo e dell'adenoipofisi. A livello sierico o nel surrene, MPA non sembra avere nessun effetto su AP, suggerendo che l'effetto osservato a livello centrale è dovuto ad un effetto diretto di questo composto sul contenuto di AP a livello cerebrale indipendentemente dalla quota di AP presente in circolo⁶⁰. DYD rincrementa la concentrazione di AP dopo OVX in tutte le aree considerate ad eccezione delle corteccia parietale e dell'adenoipofisi. L'azione positiva si manifesta inoltre in modo dose-dipendente nella corteccia frontale, nell'ippocampo e nell'ipotalamo raggiungendo livelli statisticamente significativi quando somministrato alla dose maggiore (1.0 mg/kg/day), raggiungendo concentrazioni simili a quelli degli animali fertili. La somministrazione di DYD 1.0 mg/kg/day in associazione a E2 porta ad un maggiore incremento dei livelli di AP nella corteccia frontale, nell'ippocampo e nell'ipotalamo in confronto all'effetto riscontrato somministrando solo DYD, cioè nelle stesse aree in cui era stato osservato un incremento di AP a seguito della somministrazione unicamente di DYD. È possibile che la stretta somiglianza di DYD con P renda questo progestinico un valido substrato per la cascata enzimatica di 5 α -R-3 α -HSD per la sintesi di AP. Per cui, la corteccia frontale, l'ippocampo e l'ipotalamo sembrano essere delle aree sensibili all'azione di DYD nella sintesi/rilascio dei metaboliti 3 α , 5 α -ridotti di P⁵⁸. Invece DRSP non sembra avere nessun'azione su AP né a livello cerebrale né sul siero, dimostrando un effetto metabolico neutrale, anche

in associazione con E2⁵⁹. Al contrario, NOMAc possiede un effetto positivo su AP solo nell'ippocampo (0.5-1.0 mg/kg/day). L'associazione NOMAc più E2 provoca effetti differenti nelle diverse aree: nell'ippocampo, nell'ipotalamo e nell'adenoipofisi il dosaggio di 1.0 mg/kg/day di NOMAc con E2 è in grado di produrre un effetto addirittura maggiore rispetto alla somministrazione di E2 da solo. Questo effetto aggiuntivo di NOMAc è stato osservato in quelle zone, come l'ipotalamo, e l'adenoipofisi, in cui la sola somministrazione di NOMAc non era in grado di aumentare la concentrazione di AP⁷⁷. Nel siero invece nessun progestinico porta ad un incremento di AP ad eccezione di MP. Questi risultati suggeriscono che l'aggiunta di un composto estrogenico incrementa la risposta di alcune regioni cerebrali selezionate all'azione dei progestinici sulla sintesi e/o rilascio di AP. L'interazione differenziale con il sistema enzimatico 5 α -R-3 α -HSD dei progestinici di sintesi, rispetto al progesterone, può essere una conseguenza della loro differente struttura chimica. È stato dimostrato che i progestinici influenzano in maniera differente l'attività della 5 α -R; per esempio, il norgestimato blocca l'attività con un valore IC₅₀ di 10 μ M, seguito per grado di capacità inibitoria dal levonorgestrel, dienogest, ciproterone acetato e gestodene, influenzando quindi il tasso di sintesi di AP⁷⁸ (vedi tabelle 1 e 2).

PROGESTINICI ORALI E SISTEMA OPIOIDE

È ben noto come gli ormoni sessuali siano coinvolti nella regolazione degli oppioidi endogeni, i quali esercitano segnali inibitori o eccitatori sui neuroni ipotalamici adibiti alla secrezione dei fattori di rilascio delle gonadotropine (GnRH)¹⁵. In particolare, è stata posta l'attenzione sulla beta-endorfina (β -EP) per le sue proprietà analgesiche, termoregatorie, neuroendocrine^{79,80}; a livello ipotalamico, la concentrazione di β -EP svolge un ruolo fondamentale nella regolazione

Effetto di MP, MPA, DYG, DRSP, NOM Ac sull'allopregnanolone a livello della corteccia frontale, corteccia parietale, ippocampo, ipotalamo, adenoipofisi, surrene e siero.

	MP	MPA	DYG	DRSP	NOMAc
Corteccia Frontale	↑ 4-8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	↑ 1 mg/kg/day	=	=
Corteccia Parietale	↑ 2-4-8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	=	=	=
Ippocampo	↑ 8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	↑ 1 mg/kg/day	=	↑ 0.5-1 mg/kg/day
Ipotalamo	↑ 4-8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	↑ 1 mg/kg/day	=	=
Adenoipofisi	↑ 8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	=	=	=
Surrene	=	=	=	=	↓ 1 mg/kg/day
Siero	↑ 2-4-8 mg/kg/day	=	=	=	=

Tabella 1

MP (progesterone micronizzato) 2-4-8 mg/kg/die (ref 73), MPA (medroxyprogesterone acetato) 0.05-0.1-0.2 mg/kg/die (ref. 57), DYG (dydrogesterone) 0.2-0.6-1 mg/kg/die (ref 55), DRSP (drospirenone) 0.1-0.5-1 mg/kg/die (ref. 56), NOMAc (nomegestrolacetato) 0.05-0.1-0.2-0.5-1 mg/kg/die (ref 73). =: nessuna differenza statistica rispetto a OVX; ↑: Incremento significativo rispetto a OVX; ↓: decremento significativo rispetto a OVX

delle risposte autonome, endocrine e somatiche, come la regolazione della temperatura corporea, e il ritmo sonno-veglia¹⁵. Inoltre, è stato ipotizzato un ruolo per la β -EP nei meccanismi di eccitamento e di piacere in entrambi i sessi^{81,82}. È stato riportato che i livelli in circolo di LH vengono ridotti dalla β -EP, inibendo la secrezione di LH-RH. Inoltre, nel ratto, è stata ipotizzata una correlazione fra la concentrazione di β -EP a livello dell'ipotalamo, dell'ipofisi e del siero e il ciclo estrale, suggerendo l'ipotesi che gli estrogeni e il P svolgano un ruolo nel controllo della sintesi /rilascio di questo peptide. Infatti, in ratti ovariectomizzati, i livelli di β -EP nell'adenoipofisi sono inferiori rispetto a quelli dei ratti fertili, e il trattamento con estradiolo riporta la concentrazione di β -EP ai livelli dei ratti fertili¹⁵. Nelle scimmie, è stato osservato che il P è necessario per il rilascio della β -EP dall'ipotalamo al circolo portale. E' dunque ragionevole ipotizzare che gli ormoni sessuali possano influenzare l'attività adenoipofisaria con meccanismi che coinvolgono in parte la β -EP⁸³.

Il ruolo di P nella trasmissione oppiatergica è parzialmente confermata dal fatto che un'alta percentuale di neuroni secernenti β -EP esprimono PR⁸⁴ e, nel nucleo arcuato, la distribuzione di β -EP si sovrappone a quella dei PR⁸⁵; infatti è stato recentemente riportato che P interagisce con i neuroni secernenti β -EP per influenzare l'attività dei neuroni secernenti GnRH del nucleo preottico⁸⁶. Nei ratti, l'espressione di β -EP a livello cerebrale diminuisce a seguito dell'ovariectomia; questo decremento veniva riportato a livelli pre-operatori somministrando E2, mentre il trattamento cronico con P o differenti progestinici (MPA, DYG, DRSP, NOMAc) da soli o in associazione con E2, aveva effetti differenti a seconda dell'area esaminata. Il P, somministrato al dosaggio di 2 mg/kg/day dimostrava di essere efficace solo sul plasma, mentre, in dosi maggiori, portava ad un incremento di β -EP anche nell'ipotalamo e nella neuroipofisi. In associazione con E2, P (2 mg/kg/day) era efficace nell'ipotalamo e nella neuroipofisi; quando somministrato a 4 mg/kg/day, induceva un incremento della concentrazione di β -EP, rispetto alla somministrazione di solo estrogeno, anche nella corteccia

frontale e parietale e nell'adenoipofisi⁷⁷. Il trattamento con MPA non induceva alcuna modifica nel contenuto di β -EP nelle aree considerate ad eccezione della neuroipofisi, con un incremento di β -EP, e nell'ippocampo, dove la somministrazione di MPA ha portato ad una diminuzione dell'opioide, inoltre, è probabile che la mancanza di attività di MPA a livello dell'ipotalamo nell'aumentare i livelli di β -EP potrebbe essere dovuta alla sua marcata azione glucocorticoide, molto maggiore rispetto a P, che porta ad una forte inibizione del rilascio del fattore corticotropo (CRF) e di conseguenza ad una diminuzione della produzione di β -EP^{15,60}. In combinazione con E2, MPA influenza i livelli di β -EP nella neuroipofisi e anche nell'adenoipofisi⁶⁰. DYG non produce nessun cambiamento della concentrazione di β -EP a livello cerebrale e periferico ad eccezione dell'ipotalamo, a livello del quale si osserva un incremento selettivo della β -EP solo al dosaggio maggiore (1.0 mg/kg/day). Anche in combinazione con E2 questo progestinico non induce nessun cambiamento nei livelli cerebrali di β -EP, non influenzando la risposta delle aree cerebrali alla terapia estrogenica⁵⁸. Il trattamento con DRSP induce un incremento in tutte le aree cerebrali considerate ad eccezione della corteccia parietale e del plasma, dimostrando un'importante azione sul sistema oppiatergico centrale. L'ampiezza dell'incremento di β -EP, soprattutto quando DRSP è somministrato al dosaggio maggiore, si estende anche al trattamento combinato con E2, dove si manifestano effetti differenti a seconda delle aree cerebrali. Nell'ipotalamo e nell'ippocampo, DRSP non influenza l'aumento della β -EP dovuto all'azione estrogenica. Nella neuroipofisi, come nel plasma, la terapia combinata (DRSP+E2) produce un effetto maggiore nei livelli di β -EP rispetto alla sola somministrazione di E2. P aumenta i livelli di β -EP a livello dell'ipotalamo, della neuroipofisi e del plasma, mentre in combinazione con E2, produce un ulteriore aumento dei livelli di β -EP rispetto al solo trattamento con E2 ad eccezione dell'ippocampo, dove P non porta nessuna modifica rispetto al trattamento con solo estrogeno⁵⁹.

Nell'adenoipofisi, nessun dei progestinici considerati si è

Effetti di E2V, MP+E2V, MPA+E2V, DYG+E2V, DRSP+E2V, NOMAc+E2V sulla concentrazione di allopregnanolone a livello del lobo frontale, lobo parietale, ippocampo, ipotalamo, adenoipofisi, surrene, siero.

	E2V	MP+E2V	MPA+E2V	DYG+E2V	DRSP+E2V	NOMAc+E2V
Corteccia Frontale	↑	▲ 8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	▲ 1 mg/kg/day	-	-
Corteccia Parietale	↑	▲ 4-8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	-	-	-
Ippocampo	↑	▲ 8 mg/kg/day	-	▲ 1 mg/kg/day	-	▲ 1 mg/kg/day
Ipotalamo	↑	▲ 8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	▲ 1 mg/kg/day	-	▲ 1 mg/kg/day
Adenoipofisi	↑	▲ 8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	-	-	▲ 1 mg/kg/day
Surrene	-	-	▼ 0.2 mg/kg/day	-	-	▼ 1 mg/kg/day
Siero	↑	▲ 2-4-8 mg/kg/day	-	▲ 1 mg/kg/day	-	-

Tabella 2

E2 (estradiol valerate) 0.05 mg/kg/die (vedi Ref. 54, 55, 56), MP (micronized progesterone) 2-4-8 mg/kg/die (ref 73), MPA (medroxyprogesterone acetate) 0.05-0.1-0.2 mg/kg/die (ref. 57), DYG (dydrogesterone) 0.2-0.6-1 mg/kg/die (ref 55), DRSP (drospirenone) 0.1-0.5-1 mg/kg/die (ref. 56), NOMAc (nomegestrol acetate) 0.05-0.1-0.2-0.5-1 mg/kg/die (ref 73). ▲: Incremento significativo verso E2; ▼: decremento significativo verso E2; —: Nessuna differenza rispetto a E2.

dimostrato attivo eccetto DRSP; infatti, DRSP inverte la riduzione dopo l'ovariectomia nell'ippocampo, nella corteccia frontale, nell'ipotalamo, nell'adenopofisi, nella neuroipofisi e nel plasma, dimostrando che l'effetto oppiatergico potrebbe essere dovuto alla combinazione dell'attività progestogenica, anti-mineralcorticoide e anti-androgenica della molecola. Infatti, riguardo all'attività anti-mineralcorticoide, è stato visto che il blocco recettoriale provocato dallo spironolattone, porta ad un incremento plasmatico di cortisolo mediato dall'ACTH e dalla β -EP^{87,88}; quindi, la somiglianza strutturale di DRSP allo spironolattone, lascia supporre un simile meccanismo d'azione a livello del SNC. Inoltre non possiamo escludere che anche le proprietà anti-androgeniche di DRSP posano modulare

l'espressione ed il rilascio di β -EP.

Il trattamento con NOMAc incrementa la concentrazione di β -EP a livello dell'ippocampo e dell'ipotalamo se somministrato nei dosaggi più alti (0.5 e 1.0 mg/kg/day). In combinazione con E2, è stato visto un ulteriore incremento anche nell'adenopofisi, e nel plasma, suggerendo una marcata azione sinergica nella sensibilizzazione di determinate aree cerebrali. Inoltre, l'andamento dell'incremento della β -EP è dose-dipendente, aumentando in parallelo all'aumento del dosaggio di NOMAc. Possiamo quindi affermare che l'azione di NOMAc è specifica per il sistema limbico (ippocampo ed ipotalamo) e a livello periferico nel siero e nel plasma aumentando rispettivamente la concentrazione di AP e β -EP, lasciando ipotizzare

Effetti di MP, MPA, DYG, DRSP, NOMAc sulla concentrazione di beta-endorfina a livello di lobo frontale e parietale, ippocampo, ipotalamo, adenopofisi, neuroipofisi e plasma.

	MP	MPA	DYG	DRSP	NOMAc
Corteccia Frontale	-	-	-	↑ 0.1-0.5-1mg/kg/day	-
Corteccia Parietale	-	-	-	-	-
Ippocampo	-	↓	-	↑ 0.1-0.5-1mg/kg/day	↑ 1 mg/kg/day
Ipotalamo	↑ 4-8 mg/kg/day	-	↑ 1mg/kg/day	↑ 0.5-1 mg/kg/day	↑ 0.5-1 mg/kg/day
Adenopofisi	-	-	-	↑ 0.1-0.5-1 mg/kg/day	-
Neuroipofisi	↑ 8 mg/kg/day	↑ 0.2 mg/kg/day	-	↑ 1 mg/kg/day	-
Plasma	↑ 2-4-8 mg/kg/day	-	-	↑ 0.5-1 mg/kg/day	-

Tabella 3

MP (progesterone micronizzato) 2-4-8 mg/kg/die (ref 73), MPA (medroxyprogesterone acetato) 0.05-0.1-0.2 mg/kg/die (ref. 57), DYG (dydrogesterone) 0.2-0.6-1 mg/kg/die (ref 55), DRSP (drospirenone) 0.1-0.5-1 mg/kg/die (ref. 56), NOMAc (nomegestrolacetato) 0.05-0.1-0.2-0.5-1 mg/kg/die (ref 73).
 =: nessuna differenza statistica rispetto a OVX; ↑: Incremento significativo rispetto a OVX; ↓: decremento significativo rispetto a OVX.

Effetti di E2V, MP+E2V, MPA+E2V, DYG+E2V, DRSP+E2V, NOMAc+E2V sulla concentrazione di beta-endorfina a livello del lobo frontale e parietale, ippocampo, ipotalamo, adenopofisi, neuroipofisi e plasma.

	E2V	MP+ E2V	MPA+ E2V	DYG+ E2V	DRSP+ E2V	NOMAc+ E2V
Corteccia Frontale	↑	▲ 4-8 mg/kg/day	-	-	-	-
Corteccia Parietale	↑	▲ 4-8 mg/kg/day	-	-	-	-
Ippocampo	↑	-	-	-	-	▲ 1 mg/kg/day
Ipotalamo	↑	▲ 2-4-8 mg/kg/day	-	-	-	▲ 1 mg/kg/day
Adenopofisi	↑	▲ 4-8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	-	-	▲ 1 mg/kg/day
Neuroipofisi	↑	▲ 2-4-8 mg/kg/day	▲ 0.2 mg/kg/day	-	▲ 1 mg/kg/day	-
Plasma	↑	▲ 8 mg/kg/day	-	-	▲ 1 mg/kg/day	▲ 1 mg/kg/day

Tabella 4

E2 (estradiol valerate) 0.05 mg/kg/die (ref. 54-56), MP (micronized progesterone) 2-4-8 mg/kg/die (ref.73), MPA (medroxyprogesterone acetate) 0.05-0.1-0.2 mg/kg/die (ref.57), DYG (dydrogesterone) 0.2-0.6-1 mg/kg/die (ref.55), DRSP (drospirenone) 0.1-0.5-1 mg/kg/die (ref.56), NOMAc (nomegestrol acetate) 0.05-0.1-0.2-0.5-1 mg/kg/die (ref 73). ▲: Incremento significativo verso E2; ▼: decremento significativo verso E2; —: Nessuna differenza rispetto a E2.

che questo progestinico possa svolgere un ruolo nella regolazione dello stato cognitivo ed emotivo, e nell'omeostasi neuro-endocrina⁷⁷ (vedi tabelle 3 e 4).

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

Il P svolge un ruolo critico in organi target extra-gonadici come il cervello. In modo simile i progestinici di sintesi possono svolgere un ruolo centrale nella modulazione dell'attività cerebrale e nella risposta agli stimoli ambientali, influenzando sia le funzioni "riproduttive" sia quelle "non-riproduttive". Questi effetti derivano dalla diretta interazione delle molecole progestiniche sui rispettivi recettori a livello del SNC e del SNP, dal metabolismo nei metaboliti 3 α , 5 α - e dall'interazione con il sistema oppioide, che può spiegare l'importante influenza del P nella modulazione dell'affettività, dei processi cognitivi che condizionano la qualità di vita di ogni singola donna. Tuttavia, i meccanismi neuroattivi reclutati possono essere diversi fra le varie classi di progestinici, inducendo

quindi effetti diversi dal P naturale sia per potenza che per area cerebrale modulata.

Un numero crescente di studi traslazionali evidenzia come queste differenze possano modificare profondamente la risposta clinica alla somministrazione di diversi composti estrogeno-progestinici in termini di funzione emozionale e cognitiva. Questi risultati, possono altresì spiegare i risultati contrastanti di alcuni trial clinici recentemente pubblicati. Tuttavia, anche se sempre più medici siano consapevoli delle differenze strutturali fra le varie classi di progestinici, la caratterizzazione dei loro effetti a livello cellulare e la conseguente risposta clinica non sono ancora sufficientemente caratterizzati.

È pertanto decisiva la conoscenza di aspetti molecolari, dell'attività recettoriale, delle modalità di trasmissione dei segnali ed il metabolismo dei singoli progestinici e quindi della specifica risposta biologica organo-specifica, sia per un utilizzo clinico più consapevole dei composti già a disposizione, che per la sintesi di nuove molecole.

{BIBLIOGRAFIA}

1. Schumacher M, Guennoun R, Ghomari A, Massaad C, Robert F, El-Etr M, Akwa Y, Rajkowski K and Baulieu E-E. Novel perspectives for progesterone in hormone replacement therapy, with special reference to the nervous system. *Endocrine reviews* 2007; 28(4):387-439.
2. Mani S. Progestins receptor subtypes in the brain: the known and the unknown. *Endocrinology* 2008; Jun 149(6):2750-2756.
3. Tsai M-J and O'Malley B-W. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Ann Rev Biochem* 1994; 63: 451-486.
4. Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H and Chambon P. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptors forms A and B. *EMBO J* 1990; 9:1603-1614.
5. Takimoto G-S, Tung L, Abdel H, Abel M-G, Sartorius C-A, Richer J-K, Jacobsen B-M, Bain D-L and Horwitz K-B. Functional properties of the N-terminal region of progesterone receptors and their mechanistic relationship to structure. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 85:209-219.
6. Dijkema R, Schoonen W-G, Teuwen R, van der Struik E, de Ries R-J, van der Kar B-A and Olijve W. Human progesterone receptor A and B isoforms in CHO cells. I. Stable transfection of receptor and receptor-responsive reporter genes: transcription modulation by (anti)progestagens. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1998; 64:147-156.
7. Hovland A-R, Powell R-L, Takimoto G-S, Tung L and Horwitz K-B. An N-terminal inhibitory function, IF, suppresses transcription by the A-isoform but not the B-isoform of human progesterone receptors. *J Biol Chem*. 1998; 273:5455-5460.
8. Shyamala G, Yang X, Silberstein G, Barcellos H, Dale E. Transgenic mice carrying an imbalance in the native ratio of A to B forms of progesterone receptor exhibit developmental abnormalities in mammary glands. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95:696-701.
9. Shyamala G, Yang X, Cardiff R-D, Dale E. Impact of progesterone receptor on cell-fate decisions during mammary gland development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97:3044-3049.
10. Wei L-L, Gonzales-Aller C, Wood W-M, Miller L-A, Horwitz K-B. 5'- heterogeneity in human progesterone receptor transcripts predicts a new amino-terminal truncated C-receptor and unique A-receptor messages. *Mol Endocrinol*. 1990; 4:1833-1840.
11. Wei LL, Hawkins P, Baker C, Norris B, Sheridan PL, Quinn PG. An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRc, enhances progestin-induced transcriptional activity. *Mol Endocrinol* 1996; 10:1379-1387.
12. Camacho-Arroyo I, Perez-Palacios G, Pasapera A-M and Cerbon M-A. Intracellular progesterone receptors are differentially regulated by sex steroid hormones in the hypothalamus and the cerebral cortex of the rabbit. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 50:299-303.
13. Guerra-Araiza C, Coyoy-Salgado A and Camacho-Arroyo I. Sex differences in the regulation of progesterone receptor isoforms expression in the rat brain. *Brain Res Bull* 2002; 59:105-109.
14. Inoue T, Akahira J-I, Takeyama J, Suzuki T, Darnel AD, Kaneko C, Kurokawa Y, Satomi S, Sasano H. Spatial and topological distribution of progesterone receptor A and B isoforms during human development. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 182:83-89.
15. Pluchino N, Luisi M, Lenzi E, Centofanti M, Begliuomini S, Freschi L, Ninni F, Genazzani A-R. Progesterone and progestins: Effects on brain, allopregnanolone and μ -endorphin. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102:205-213.

16. Camacho-Arroyo I, Guerra-Araiza C, Cerbon M-A. Progesterone receptor isoforms are differentially regulated by sex steroids in the rat forebrain. *Neuroreport* 1998; 9:3993-3996.
17. Guerra-Araiza C, Cerbon M-A, Morimoto S, Camacho-Arroyo I. Sex differences in the regulation of progesterone receptor isoforms expression in the rat brain during the estrous cycle. *Life Sci* 2000; 66:1743-1752.
18. Bethea C-L, Widmann A-A. Differential expression of progestins receptor isoforms in the hypothalamus, pituitary and endometrium of rhesus macaques. *Endocrinology* 1998; 139:677-687.
19. Wu Y, Strawn E, Basir Z, Halverson G, Guo S-W. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics* Apr-Jun 2006; 1(2):106-11. Epub 2006 Apr 1.
20. Trotter A, Bokelmann B, Sorgo W, Bechinger-Kornhuber D, Heinemann H, Schmücker G, Oesterle M, Köhntop B, Brisch KH, Pohlandt F. Follow-up examination at the age of 15 months of extremely preterm infants after postnatal estradiol and progesterone replacement. *J Clin Endocrinol Metab* Feb 2001;86(2):601-3.
21. Krebs C-J, Jarvis E-D, Chan J, Lydon J-P, Ogawa S, Pfaff D-W. A membrane-associated progesterone-binding protein, 25-Dx, is regulated by progesterone in brain regions involved in female reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:12816-12821.
22. Labombarda F, Gonzalez S-L, Deniselle M-C, Vinson G-P, Schumacher M, De Nicola A-F and Guennoun R. Effects of injury and progesterone treatment on progesterone receptor and progesterone binding protein 25-Dx expression in the rat spinal cord. *J Neurochem* 2003; 87:902-913.
23. Phan V-L, Miyamoto Y, Nabeshima T and Maurice T. Age-related expression of 1 receptors and antidepressant efficacy of a selective agonist in the senescence-accelerated (SAM) mouse. *J Neurosci Res* 2005; 79:561-572.
24. Monnet F-P, Maurice T. The 1 protein as a target for the non-genomic effects of neuron(active)steroids: molecular, physiological, and behavioral aspects. *J Pharmacol Sci* 2006; 100:93-118.
25. Monnet F-P, Mahé V, Robel P and Baulieu E-E. Neurosteroids, via receptors, modulate the [3H]norepinephrine release evoked by N-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:3774-3778.
26. Debonnel G, Bergeron R, Monnet F-P, de Montigny C. Differential effects of ligands on the N-methyl-D-aspartate response in the CA1 and CA3 regions of the dorsal hippocampus: effect of mossy fiber lesioning. *Neuroscience* 1996; 71:977-987.
27. Lena C and Changeux J-P. Allosteric modulations of the nicotinic acetyl-choline receptor. *Trends Neurosci* 1993; 16: 181-186.
28. Valera S, Ballivet M and Bertrand D. Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9949-9953.
29. Denner L-A, Weigel N-L, Maxwell B-L, Schrader W-T, O'Malley B-W. Regulation of progesterone receptor-mediated transcription by phosphorylation. *Science* 1990; 250: 1740-1743.
30. Gonzales-Vidal M-D, Cervera-Gaviria M, Ruelas R, Escobar A, Morali G, Cervantes M. Progesterone: protective effects on the cat hippocampal neuronal damage due to acute global cerebral ischemia. *Arch Med Res* 1998; 29: 117-124.
31. Xu L, Sapolsky R-M, Giffard R-G. Differential sensitivity of murine astrocytes and neurons from different brain regions to injury. *Exp Neurol* 2001; 169: 416-424.
32. Goodman Y, Bruce A-J, Cheng B, Mattson M-P. Estrogens attenuate and corticosterone exacerbates excitotoxicity, oxidative injury, and amyloid beta-peptide toxicity in hippocampal neurons. *J Neurochem* May 1996; 66(5):1836-44.
33. Cervantes M, González-Vidal M-D, Ruelas R, Escobar A, Morali G. Neuroprotective effects of progesterone on damage elicited by acute global cerebral ischemia in neurons of the caudate nucleus. *Arch Med Res* Jan-Feb 2002; 33(1):6-14.
34. Roof R-L, Hoffman S-W and Stein D-G. Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats. *Mol Chem Neuropathol* .May 1997; 31(1):1-11.
35. Pettus E-H, Wright D-W, Stein D-G, Hoffman S-W. Progesterone treatment inhibits the inflammatory agents that accompany traumatic brain injury. *Brain Res* 2005; 1049, 112-119.
36. Melton L. What can sex hormones do for the damaged brain?. *The Lancet* Sept 8 2001; Vol 358.
37. Roof R-L, Duvdevani R, Stein D-G. Gender influences outcome of brain injury—progesterone plays a protective role. *Brain Res* 1993; 607:333-336.
38. Roof R-L, Duvdevani R, Braswell L, Stein D-G. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats. *Exp Neurol* 1994; 129:64-69.
39. Guo Q, Sayeed I, Baronne L-M, Hoffman S-W, Guennoun R, Stein D-G. Progesterone administration modulates AQP4 expression and edema after traumatic brain injury in male rats. *Exp Neurol* 2006; 198: 496-478.
40. Moorthy K, Yadav U-C, Siddiqui M-R, Mantha A-K, Basir S-F, Sharma D, Cowsik S-M, Baquer N-Z. Effect of hormone replacement therapy in normalizing age-related neuronal markers in different age groups of naturally menopausal rats. *Bio-gerontology* 2005; 6:345-356.
41. Alkayed N-J, Goto S, Sugo N, Joh H-D, Klaus J, Crain B-J, Bernard O, Traystman R-J, Hurn P-D. Estrogen and Bcl-2: gene induction and effect of transgene in experimental stroke. *J Neurosci* 2001; 21:7543-7550.
42. Irwin R-W, Yao J, Hamilton R-T, Cadenas E, Brinton R-D, Nilsen J. Progesterone and estrogen regulate oxidative metabolism in brain mitochondria. *Endocrinology* Jun 2008; 149(6):3167-75.
43. Pettus E-H, Wright D-W, Stein D-G, Hoffman S-W. Progesterone treatment inhibits the inflammatory agents that accompany traumatic brain injury. *Brain Res* 2005; 1049:112-119.

44. Gonzalez S-L, Labombarda F, Deniselle M-C, Mouguel A, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola A-F. Progesterone neuroprotection in spinal cord trauma involves up-regulation of brain-derived neurotrophic factor in motoneurons. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 94:143-149.
45. Begliuomini S, Casarosa E, Pluchino N, Lenzi E, Centofanti M, Freschi L, Pieri M, Genazzani A-D, Luisi S, Genazzani A-R. Influence of endogenous and exogenous sex hormones on plasma brain-derived neurotrophic factor. *Hum Rep* 2006; 1-9.
46. Peters A. Structural changes in the normally aging cerebral cortex of primates. *Prog Brain Res* 2002; 136: 455-465.
47. Ghoumari A-M, Ibanez C, el-Etr M, Leclerc P, Eychenne B, Baulieu E-E, Schumacher M. Progesterone and its metabolites increase myelin basic protein expression in organotypic slice cultures of rat cerebellum. *J Neurochem* 2003; 86: 848-859.
48. Yin X, Crawford T-O, Griffin J-W, Tu P, Lee V-M, Li C, Roder J, Trapp B-D. Myelin-associated glycoprotein is a myelin signal that modulates the caliber of myelinated axons. *J Neurosci* 1998; 18:1953-1962.
49. Wang M-D, Wahlström G, Bäckström T. The regional brain distribution of the neurosteroids pregnenolone and pregnenolone sulfate following intravenous infusion. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 62: 299-306.
50. Baulieu E-E. Neurosteroids: a new function in the brain. *Biol Cell* 1991; 71: 3-10.
51. Baulieu E-E. Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res* 1997; 52:1-32.
52. Wolf O-T, Neumenm O, Helhammer D-H. Effects of a two-week physiological dehydroepiandrosterone substitution on cognitive performance and well-being in healthy elderly women and men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2363-2367.
53. Schumacher M, Coirini H, McEwen B-S. Regulation of high affinity GABAA receptors in the dorsal hippocampus by estradiol and progesterone. *Brain Res* 1989; 487: 178-184.
54. Genazzani A-R, Bernardi F, Stomati M, Monteleone P, Luisi S, Rubino S, Farzati A, Casarosa E, Luisi M, Petraglia F. Effects of estradiol and raloxifene analog on brain, adrenal and serum allopregnanolone content in fertile and ovariectomized female rats. *Neuroendocrinology* 2000; 72: 162-170.
55. Palumbo M-A, Salvestrone C, Gallo R, Guo A-L, Genazzani A-D, Artini P-G, Petraglia F, Genazzani A-R. Allopregnanolone concentrations in hippocampus of prepubertal rats and female rats throughout estrous cycle. *J Endocrinol Invest* 1995; 18: 853-856.
56. Stomati M, Bersi C, Rubino S, Palumbo M, Comitini G, Genazzani A-D, Santuz M, Petraglia F, Genazzani A-R. Neuroendocrine effects of different estradiol-progestin regimens in postmenopausal women. *Maturitas*. 1997; 15;28(2):127-35.
57. Genazzani A-R, Bernardi F, Pluchino N, Giretti M-S, Begliuomini S, Casarosa E, Luisi M, Kloosterboer H-J. Effect of tibolone administration on central and peripheral levels of allopregnanolone and beta-endorphin in female rats. *Menopause* 2006;13(1):57-64.
58. Pluchino N, Lenzi E, Casarosa E, Cela V, Begliuomini S, Ninni F, Freschi L, Luisi S, Genazzani A-R. Dihydroprogesterone increases allopregnanolone in selected brain areas and in serum of female rats. *Fertil Steril* May. 2008; 89(5 Suppl):1384-9.
59. Genazzani A-R, Pluchino N, Begliuomini S, Pieri M, Centofanti M, Freschi L, Casarosa E, Luisi M. Drospirenone increases central and peripheral beta-endorphin in ovariectomized female rats. *Menopause* 2007; 14(1):63-73.
60. Bernardi F, Pluchino N, Pieri M, Begliuomini S, Lenzi E, Puccetti S, Casarosa E, Luisi M, Genazzani A-R Progesterone and medroxyprogesterone acetate effects on central and peripheral allopregnanolone and beta-endorphin levels. *Neuroendocrinology* 2006; 83 (5-6):348-59.
61. Genazzani A-R, Petraglia F, Bergamaschi M, Genazzani A-D, Facchinetti F and Volpe A. Progesterone and progestins modulate beta-endorphin concentrations in the hypothalamus and in the pituitary of castrated female rats. *Gynecol Endocrinol* 1987; 1(1):61-9.
62. Genazzani A-R, Petraglia F, Cleva M, Brillì G, Mercuri N, De Ramundo B-M, Volpe A. Norgestimate increases pituitary and hypothalamic concentrations of immunoreactive beta-endorphin. *Contraception* 1989; 40(5) 605-13.
63. Bitran D, Purdy R-H, Kellogg C-K. Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABAA receptor function. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45:423-428.
64. Bitran D, Shiekh, McLeod M. Anxiolytic effect of progesterone is mediated by the neurosteroid allopregnanolone at brain GABAA receptors. *J Neuroendocrinol* 1995; 7: 171-177.
65. Frye C-A, Bayon L-E, Pursnani N-K, Purdy R-H. The neurosteroids, progesterone and 3alpha,5alpha-THP, enhance sexual motivation, receptivity, and proceptivity in female rats. *Brain Res* 1998; 808: 72-83.
66. Corpechot C, Young J, Calvel M, Wehrey C, Veltz J-N, Touyer G, Mouren M, Prasad V-V, Banner C, Sjøvall J et al. Neurosteroids: 3 alpha-hydroxy-5 alpha-pregnan-20-one and its precursors in the brain, plasma, and steroidogenic glands of male and female rats. *Endocrinology* 1993; 133: 1003-1009. .
67. Wiebe J-P, Kavaliers M. Analgesic effects of the putative FSH- suppressing gonadal steroid, 3{alpha}-hydroxy-4-pregnen-20-one: possible modes of action. *Brain Research* 1988; 461 150-157.
68. Stanczyk F-Z. All progestins are not created equal *Steroid*. 2003; 68: 879-890.
69. Nilsen J, Brinton R-D. Divergent impact of progesterone and medroxyprogesterone acetate (provera) on nuclear mitogen-activated protein kinase signaling. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 10506-10511.
70. Morali G, Lemus A-E, Munguia R, Garcia G-A, Grillasca I, Perez-Palacios G. Hormone-like behavioral effects of levonorgestrel and its metabolites in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002; 73:951-961.

71. Garcia-Becerra R, Borja-Cacho E, Cooney A-J, Jackson K-J, Lemus A-E, Perez-Palacios G, Larrea F. The intrinsic transcriptional estrogenic activity of a non-phenolic derivative of levonorgestrel is mediated via the estrogen receptor- β . *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 82:333-341.
72. Winneker R-C, Bitran D, Zhang Z. The preclinical biology of a new potent and selective progestin: trimegestone. *Steroids* 2003; 68:915-920.
73. Sitruk-Ware R. New progestagens for contraceptive use. *Hum Reprod Update* 2006; 12 (2): 169-78.
74. Genazzani A-R, Petraglia F, Bernardi F, Casarosa E, Salvestrioni C, Tonetti A, Nappi RE, Luisi S, Palumbo M, Purdy R-H, Luisi M. Circulating levels of allopregnanolone in humans: gender, age, and endocrine influences. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 (6) 2099-103.
75. Bernardi F, Pieri M, Stomati M, Luisi S, Palumbo M, Pluchino N, Ceccarelli C; Genazzani A-R. Effect of different hormonal replacement therapies on circulating allopregnanolone and dehydroepiandrosterone levels in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17(1): 65-77.
76. Pluchino N, Genazzani A-D, Bernardi F, Casarosa E, Pieri M, Palumbo M, Picciarelli G, Gabbanini M, Luisi M, Genazzani A-R. Tibolone, transdermal estradiol or oral estrogen-progestin therapies: effects on circulating allopregnanolone, cortisol and dehydroepiandrosterone levels. *Gynecol Endocrinol* 2005; 20(3):144-9.
77. Lenzi E, Pluchino N, Begliuomini S, Ninni F, Freschi L, Centofanti M, Casarosa E, Luisi S, Valentino V, Luisi M, Genazzani A-R. Effects of norgestrel acetate administration on central and peripheral beta-endorphin and allopregnanolone in ovx rats. *Journnaol of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2008; 110: 67-75.
78. Rabe T, Kowald A, Ortmann J, Rehberger-Schneider S. Inhibition of skin 5 alpha-reductase by oral contraceptive progestins in vitro *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 223-230.
79. Yu W-H. Survival of motoneurons following axotomy is enhanced by lactation or by progesterone treatment. *Brain Res* 1989; 491: 379-382.
80. Etgen A-M and Karknias G-B. Estrogen regulation of noradrenergic signaling in the hypothalamus. *Psychoneuroendocrinology* 1994; 19: 603-610.
81. Argiolas A. Neuropeptides and sexual behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23:1127-1142.
82. Bancroft J. The endocrinology of sexual arousal. *Journal of Endocrinology* 2005;186:411-427.
83. Wardlaw S-L, Wehrenberg W-B, Ferin M, Antunes J-L, Frantz A-G. Effect of sex steroids on beta-endorphin in hypophyseal portal blood. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 877-881.
84. Fox S-R, Harlan R-E, Shivers B-D, Pfaff D-W. Chemical characterization of neuroendocrine targets for progesterone in the female rat brain and pituitary. *Neuroendocrinology* 1990; 51: 276-283.
85. Aleem F-A, McIntosh T. Menopausal syndrome: plasma levels of beta-endorphin in postmenopausal women using a specific radioimmunoassay. *Maturitas* 1985; 13: 76-84.
86. Dufourny L, Caraty A, Clarke I-J, Robinson J-E, Skinner D-C. Progesterone-receptive beta-endorphin and dynorphin B neurons in the arcuate nucleus project to regions of high gonadotropin-releasing hormone neuron density in the ovine preoptic area. *Neuroendocrinology* 2005; 81 pp. 139-149.
87. Heuser I, Deuschle M, Weber B, Stalla G-K, Holsboer F. Increased activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal system after treatment with the mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone. *Psychoneuroendocrinology* 2000;25:513-518.
88. Young E-A, Lopez J-F, Murphy-Weinberg V, Watson S-J, Akil H. The role of mineralocorticoid receptors in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3339-3345.