

ROL DE LA 3 α ,5 α -TETRAHIDROPROGESTERONA (ALOPREGNANOLONA) EN EL CONTROL DE LA NEUROGÉNESIS DURANTE EL DESARROLLO Y EN EL CEREBRO ADULTO

ROLE OF 3 α ,5 α -TETRAHYDROPROGESTERONE (ALLOPREGNANOLONE) IN NEUROGENESIS DURING DEVELOPMENT AND IN THE ADULT BRAIN

NATHALIE GAGO¹, KATHERINE ALCALÁ¹, MARIANNY PERNÍA¹, GAZZEN EZZI¹, YVETTE AKWA², MICHAEL SCHUMACHER², ELIZABETH CARDILLO¹, HILDA GUERRERO¹, DAÏSSY MARCANO¹

¹Universidad Central de Venezuela. Facultad de Medicina. gagonat@gmail.com

²Insititut National de la Santé et la Recherche Médical. France.

michael.schumacher@inserm.fr.

Resumen

El estudio de los factores que regulan la neurogénesis durante el desarrollo del sistema nervioso y en el adulto es indispensable para el desarrollo exitoso de estrategias terapéuticas. Entre estos factores se encuentran el GABA y el neuroesteroide, 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona (3 α ,5 α -THP o alopregnanolona), un potente modulador positivo del receptor GABAA. Demostramos que progenitores neurales PSA-NCAM+ aislados de cerebro de rata recién nacida eran capaces de sintetizar *in vitro* tanto GABA como 3 α ,5 α -THP, los cuales estimulaban de manera autocrina o paracrina la proliferación de estas células vía receptor GABAA. Por otra parte, establecimos la distribución de la enzima responsable de la síntesis de la 3 α ,5 α -THP, en el cerebro de rata durante el desarrollo embrionario y postnatal y en el cerebro adulto. La expresión de la enzima es significativa en las zonas neurogénicas, desde las etapas embrionarias hasta las postnatales, y aunque disminuye durante el desarrollo, persiste en los nichos neurogénicos del adulto. Los resultados sugieren que la 3 α ,5 α -THP pudiese participar en el control de la neurogénesis *in vivo*. Finalmente, estudiamos *in vivo*, el efecto de la 3 α ,5 α -THP sobre la proliferación de los progenitores neurales (PN) de un nicho neurogénico del adulto; la zona subventricular y la corriente migratoria rostral. Los resultados revelaron un efecto dual de la 3 α ,5 α -THP sobre la proliferación de estos PN; inhibitorio a bajas concentraciones y estimulador, a altas concentraciones vía receptores GABAA. El conjunto de estos resultados apoya el posible rol de la 3 α ,5 α -THP en el control de la neurogénesis durante el desarrollo y en el cerebro adulto.

Palabras clave: neurogénesis; progenitor neural; 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona; alopregnanolona; GABA.

Abstract

The study of factors that regulate neurogenesis during nervous system development and in the adulthood is essential for the successful development of therapeutic strategies. Among these factors are GABA and the neurosteroid 3 α ,5 α -tetrahydroprogesterone (3 α ,5 α -THP or allopregnanolone), a potent positive modulator of GABA_A receptor. We demonstrated that neural progenitors PSA-NCAM⁺ isolated from newborn rat brain were able to synthesize *in*

in vitro, GABA and 3 α ,5 α -THP, which both stimulated, in an autocrine or paracrine manner, the proliferation of these cells acting through GABA_A receptor. Furthermore, we established the distribution of the enzyme responsible for the synthesis of 3 α ,5 α -THP in the rat brain during embryonic and postnatal development and in the adult brain. The enzyme expression is significant in neurogenic zones, from embryonic to postnatal stages and even if it decreases during development, it persists in adult neurogenic niches. These results suggest that 3 α ,5 α -THP could participate in the control of neurogenesis *in vivo*. Finally, we studied *in vivo*, the effect of 3 α ,5 α -THP on the proliferation of neural progenitors (NP) belonging to an adult neurogenic niche; the subventricular zone and rostral migratory stream. The results revealed a dual effect of 3 α ,5 α -THP on NP proliferation; inhibitory at low concentrations and stimulatory, at high concentrations, through GABA_A receptors. All these results support the possible role of 3 α ,5 α -THP in the control of neurogenesis during development and in the adult brain.

Keywords: neurogenesis; neural progenitor; 3 α ,5 α -tetrahydroprogesterone; allopregnanolone; GABA.

Introducción

Por mucho tiempo se pensó, que una vez culminado el desarrollo del sistema nervioso, las células madre neurales (CMN) y los progenitores neurales (PN) desaparecían por completo. Sin embargo, actualmente se sabe que estas células persisten en nichos neurogénicos en el tejido adulto, sirviendo como fuente de nuevas células nerviosas durante toda la vida, y pudiendo incluso participar en procesos regenerativos. Los nichos neurogénicos más estudiados son la zona subventricular (ZSV) de los ventrículos laterales y en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. Con respecto a la ZSV, ésta es considerada el área con la mayor reserva de CMN y de PN, así como una de las zonas neurogénicas de mayor actividad en el cerebro adulto (revisado por Galli *et al.*, 2003; revisado por Bordey, 2006). A partir de la ZSV se generan neuroblastos que migran siguiendo la corriente migratoria rostral (CMR), hasta llegar a los bulbos olfatorios en donde se diferencian en interneuronas (Doetsch y Alvarez-Buylla, 1996). El estudio en profundidad de la biología de las CMN y de los PN, y en particular de los factores que regulan la proliferación, migración, diferenciación y supervivencia de estas células, es indispensable para el desarrollo exitoso de estrategias terapéuticas.

En la regulación de la neurogénesis intervienen diversos factores que actúan durante el desarrollo y que persisten en los nichos neurogénicos en la etapa adulta. Además de los factores de crecimiento y factores morfogénicos, otras moléculas están cobrando interés, este es el caso de neurotransmisores, en particular del ácido γ -aminobutírico (GABA) y de los neuroesteroides, como la 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona (3 α ,5 α -THP o allopregnanolona) un metabolito neuroactivo de la progesterona que actúa como un potente modulador del receptor GABA_A.

El GABA como modulador de la neurogénesis

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC) adulto actuando vía receptores ionotrópicos (receptores GABA_A y GABA_C) y vía receptores metabotrópicos (receptores GABA_B). El receptor GABA_A es el que está más ampliamente distribuido en el SNC. Está formado por 5 subunidades pero éstas presentan una gran diversidad, lo cual permite la conformación de diversos receptores GABA_A con propiedades farmacológicas diferentes. La interacción del GABA con sus receptores GABA_A produce

la apertura de un canal de Cl⁻, generando la entrada de este ion a la célula y por lo tanto un potencial postsináptico inhibitorio (revisado por Ben-Ari *y col.*, 2007). Durante el desarrollo, el GABA ejerce efectos excitatorios y no participa en la neurotransmisión, sino que ejerce efectos morfogénicos, por vía de modular la proliferación, migración y diferenciación de los PN (revisado por Bordey, 2006). Durante el desarrollo, la unión del GABA a los receptores GABA_A produce la despolarización de los PN. Esto se debe a que en estas células inmaduras, la concentración intracelular de Cl⁻ es más elevada que en el adulto, por lo que, cuando el GABA se une a sus receptores GABA_A se produce una salida de Cl⁻ y la consecuente despolarización de la célula (revisado por Ben-Ari *y col.*, 2007; Ganguly *y col.*, 2001). Posteriormente, se produce la apertura de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje y la entrada de Ca²⁺ al interior celular (revisado por Ben-Ari *y col.*, 2007), lo que activa una serie de respuestas intracelulares que explican los efectos morfogénicos del GABA durante el desarrollo.

Por ejemplo, en PN neonatales que expresan la forma polisialilada de la molécula de adhesión celular neural (PSA-NCAM), describimos la expresión de distintas subunidades del receptor GABA_A en progenitores PSA-NCAM⁺ purificados, y demostramos que el GABA incrementaba la proliferación de estas células de manera dosis-dependiente y de forma específica vía receptores GABA_A (Gago *y col.*, 2004).

En los nichos neurogénicos del cerebro postnatal se han reportado efectos similares a los observados durante el desarrollo. En efecto, se ha descrito que los PN de la ZSV y de la CMR, producen GABA, expresan receptores GABA_A, y pueden ser despolarizados por efecto del GABA (Wang *y col.*, 2003). Por otra parte, se ha visto que estas señales gabaérgicas disminuyen la velocidad de migración de los neuroblastos en la ZSV y la CMR, y que disminuyen la proliferación de neuroblastos y astrocitos localmente (revisado por Bordey, 2006). Actualmente, se considera que el GABA actúa como un factor morfogénico importante durante el desarrollo del SNC y que esta señal está conservada en el adulto en los nichos neurogénicos, en donde, mediante mecanismos autocrinos y/o paracrinos, modula una serie de aspectos de la biología de las CMN y de los PN tales como la proliferación, la migración y la diferenciación celular.

La 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona como modulador de la neurogénesis *in vitro*

El efecto excitatorio del GABA está ampliamente mediado por los receptores GABA_A los cuales son el blanco de un cierto número de drogas psicoactivas, como las benzodiazepinas, los barbitúricos, el alcohol, así como de los neuroesteroides (revisado por Sieghart, 1995; Lambert *y col.*, 2003).

Los neuroesteroides son esteroides sintetizados de novo en el sistema nervioso a partir del colesterol o a partir de esteroides circulantes, capaces de ejercer efectos autocrinos y/o paracrinos (Schumacher *y col.*, 2000). La biosíntesis de los neuroesteroides se inicia con la formación de pregnenolona a partir de colesterol por acción del citocromo P450_{sc}. Luego, la pregnenolona es convertida a progesterona (PROG) por la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ Δ 5- Δ 4isomerasa (3 β -HSD). La PROG es luego reducida por la 5 α -reductasa, en 5 α -dihidroprogesterona (5 α -DHP). A partir de ésta se forma la 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona (3 α ,5 α -THP) ó alopregnanolona y el isómero 3 β (3 β ,5 α -THP), gracias a la acción de la 3 α -hidroxiesteroide oxidoreductasa (3 α -HSOR) y de la 3 β -hidroxiesteroide oxidoreductasa (3 β -HSOR), respectivamente (Gagoycol., 2001; Schumacher *y col.*, 2000) (Fig. 1).

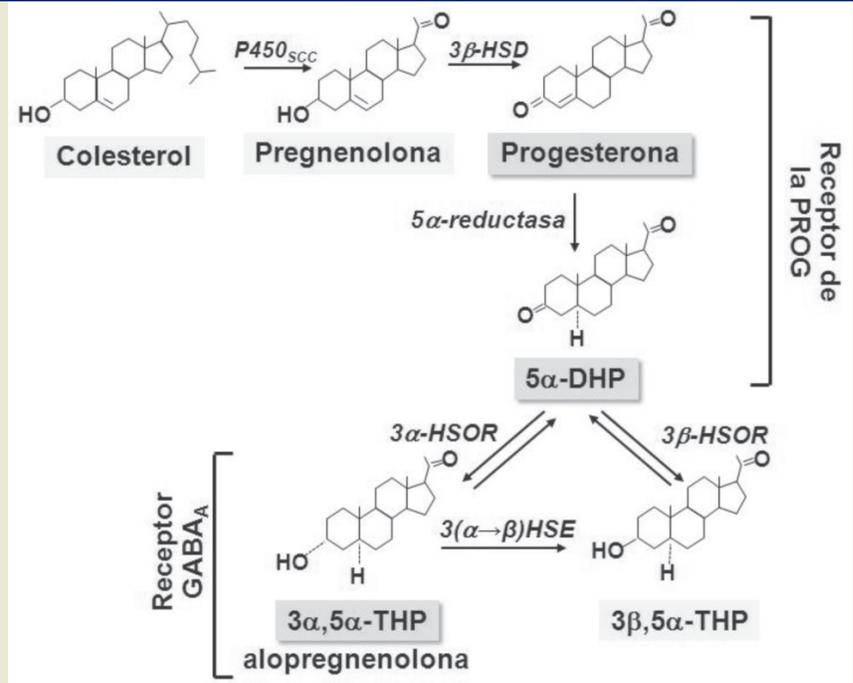


Figura 1. Esquema de la biosíntesis de los neuroesteroides. La PROG y la 5 α -DHP activan la transcripción genética actuando vía los receptores intracelulares de la PROG, y la 3 α ,5 α -THP ejerce sus efectos biológicos potenciando el receptor GABA_A.

Los neuroesteroides ejercen sus efectos a través de mecanismos de acción genómicos y no genómicos (Schumacher *y col.*, 2000; revisado por Compagnone y Mellon, 2000). En los mecanismos genómicos, los neuroesteroides actúan regulando la transcripción de genes sensibles a hormonas. En los mecanismos nongenómicos, los neuroesteroides pueden actuar a través de receptores específicos de membrana o actuar a través de receptores para neurotransmisores en la membrana plasmática. Este es el caso de la 3 α ,5 α -THP, la cual actúa como un modulador alostérico positivo de los receptores GABA_A (revisado por Brinton *y col.*, 2008). Debido a esto, la 3 α ,5 α -THP es capaz de disminuir la excitabilidad neuronal y degenerar una serie de efectos fisiológicos y farmacológicos, tales como efectos anticonvulsivantes, analgésicos, anestésicos, ansiolíticos y efectos sobre el estrés, el sueño, la depresión y la memoria (Schumacher *y col.*, 2000).

Por otro lado, también se le han atribuido a los neuroesteroides efectos tróficos y regenerativos sobre el sistema nervioso (Schumacher *y col.*, 2000). Dentro de los efectos neurotróficos destacan los que ejercen la PROG y sus metabolitos 5 α -reducidos sobre la síntesis de mielina en el sistema nervioso. Por ejemplo, en el sistema nervioso periférico, se ha demostrado que la PROG, la 5 α -DHP y la 3 α ,5 α -THP, estimulan la producción de mielina por parte de las células de Schwann, mediante la activación de los genes que codifican para varias de las proteínas de la mielina (Koening *y col.*, 1995; Melcangi *y col.*, 1999).

En el SNC, pudimos demostrar que PN PSA-NCAM⁺ aislados de cerebro de rata recién nacida eran capaces de sintetizar *in vitro* varios esteroides biológicamente activos, como la PROG y la 3 α ,5 α -THP (Gago *y col.* 2001). Adicionalmente, observamos que la actividad de la enzima 3 α -HSOR encargada de la síntesis de la 3 α ,5 α -THP, era particularmente elevada en estos progenitores con respecto a la registrada en otras células nerviosas como los progenitores de oligodendrocitos, los oligodendrocitos diferenciados (Gago *y col.* 2001) y las neuronas (Gago, 1998). Posteriormente, demostramos que los progenitores PSA-NCAM⁺ también eran capaces de sintetizar GABA, y observamos que tanto el GABA como 3 α ,5 α -THP,

estimulaban de manera autocrina y/o paracrina la proliferación de estos PN actuando vía receptores GABA_A. (Gago y col., 2004) (Fig. 2). Estos resultados fueron posteriormente confirmados por Wang y colaboradores en 2005.

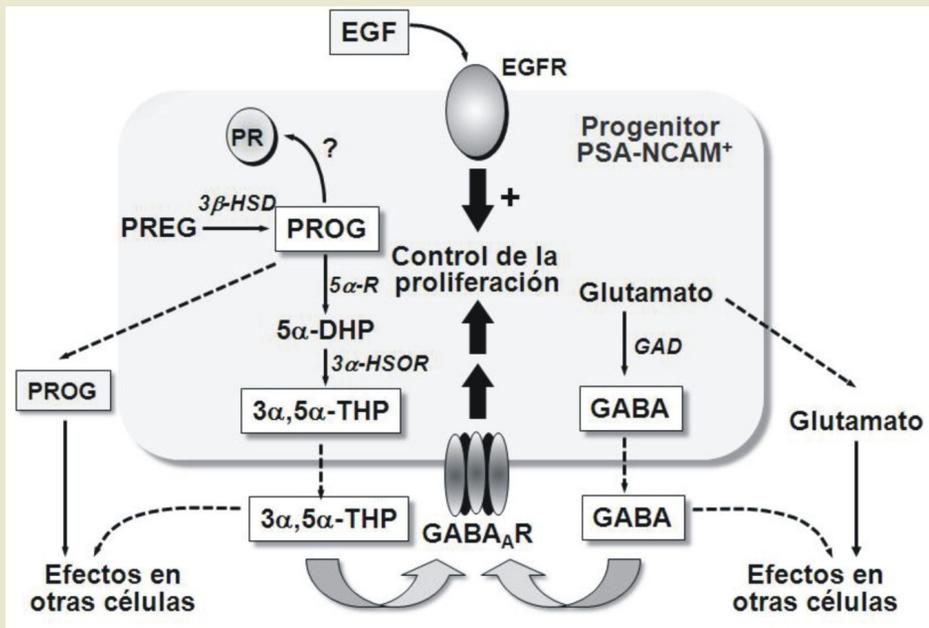


Figura 2. Resumen de los distintos factores que regulan la proliferación de los progenitores PSA-NCAM⁺ *in vitro*. En esta regulación participan factores de crecimiento, amino ácidos y neuroesteroides. El factor de crecimiento epidérmico (EGF) ejerce un potente efecto mitogénico (Gago y col., 2003). Por otra parte, los progenitores PSA-NCAM⁺ expresan varias de las subunidades del receptor GABA_A, y sintetizan GABA el cual ejerce una estimulación tónica sobre la proliferación. Estos progenitores también sintetizan 3 α ,5 α -THP (Gago y col., 2001), que a concentraciones del orden del nanomolar aumenta la proliferación celular a través del receptor GABA_A, probablemente potenciando la respuesta del GABA. De esta manera, el GABA y la 3 α ,5 α -THP pueden modular, *in vitro*, la proliferación de estos progenitores actuando vía receptores GABA_A. (Modificado de Gago y col., 2004).

La 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona como modulador de la neurogénesis *in vivo*

Debido a que la mayoría de los resultados que apoyan un papel de la neuroesteroides y en particular de la 3 α ,5 α -THP como posible modulador de la neurogénesis han sido obtenidos *in vitro* a partir de cultivos celulares hemos desarrollado más recientemente proyectos cuyo objetivo central es el de establecer el efecto de la 3 α ,5 α -THP sobre la biología de las CMN y de los PN en condiciones *in vivo*.

Como primera aproximación, decidimos establecer, la distribución de la enzima 3 α -HSOR responsable de la síntesis de la 3 α ,5 α -THP en el cerebro de rata durante el desarrollo embrionario y postnatal. Esto fue realizado por inmunofluorescencia utilizando primero un anticuerpo policlonal anti-3 α -HSOR no comercial desarrollado en conejo contra la enzima purificada de hígado de rata (Penning y col., 1984) y luego un anticuerpo policlonal desarrollado contra un péptidosintético de la enzima. Este anticuerpo fue realizado en colaboración con los doctores Yelitza Campos y Walter Mosca del laboratorio de Fisiopatología del Instituto de Biomedicina, Escuela de Medicina J. M. Vargas.

Observamos que, en general la 3 α -HSOR se expresa ampliamente durante el desarrollo siguiendo un patrón espacio-temporal definido (Alcalá, 2009). La expresión de la 3 α -HSOR es considerable en las zonas neurogénicas, desde las etapas embrionarias hasta las etapas postnatales, siendo más alta al comienzo del desarrollo embrionario y durante el período comprendido entre los días postnatales 7 y 12 (P7 y P12). Durante el desarrollo, la 3 α -HSOR también se expresa en zonas no neurogénicas clásicas, como en la corteza y en el cerebelo. Adicionalmente, cabe destacar dos resultados particularmente interesantes que obtuvimos a partir de estos trabajos, primero, la alta expresión de la 3 α -HSOR en las células endoteliales siguiendo también un patrón espacio-temporal definido y segundo, la alta expresión de la enzima que denominamos la extensión caudal de la zona subventricular (ECZSV) (Alcalá, 2009; Pernía, 2012).

La ECZSV es un nicho neurogénico aún poco estudiado el cual reviste los ventrículos laterales, se sitúa entre el hipocampo y el cuerpo calloso, y en su parte anterior, forma un continuo con la ZSV, debido a esto lo hemos denominado extensión caudal de la ZSV. En términos generales, los resultados obtenidos muestran que este nicho presenta grandes cambios estructurales durante el desarrollo postnatal y que constituye una fuente importante de células gliales (Pernía, 2012). En efecto, observamos durante el desarrollo postnatal, una muy alta densidad de células 3 α -HSOR⁺ que forman cadenas radiales que penetran en el cuerpo calloso. La expresión de la 3 α -HSOR en la ECZSV incrementa en los primeros días postnatales, alcanza un máximo en P12, y posteriormente disminuye. Las cadenas radiales desaparecen en P21, quedando sólo células 3 α -HSOR⁺ aisladas, dispersas en la sustancia blanca. La expresión de la 3 α -HSOR en la ECZSV y en las cadenas radiales que se derivan de ésta, sugiere que la 3 α , 5 α -THP puede modular, *in vivo*, ciertos aspectos asociados a la función de este nicho neurogénico, como la producción de células gliales (oligodendrocitos y astrocitos) durante el desarrollo postnatal, la migración de las mismas al cuerpo calloso y la corteza y el proceso de mielinización (Pernía, 2012).

De igual forma establecimos la distribución de la 3 α -HSOR en el cerebro de rata adulta (Gagoycol., 2007). Los resultados obtenidos muestran que la 3 α -HSOR se expresa ampliamente en todo el cerebro, lo cual concuerda con el efecto modulador de la 3 α , 5 α -THP sobre los receptores GABA_A descrito en los individuos adultos. Por otra parte, también observamos que la 3 α -HSOR se expresa en zonas neurogénicas como la ZSV, la CMR y la zona subgranular del giro dentado del hipocampo (Fig. 3).

De igual forma, también observamos la expresión de la 3 α -HSOR en estructuras dotadas de una alta plasticidad como lo son los bulbos olfatorios, los bulbos olfatorios accesorios, el hipocampo y la fimbria del hipocampo, lo que sugiere que la 3 α , 5 α -THP puede contribuir a la remodelación de circuitos neuronales. En conjunto estos resultados aportan evidencias anatómicas de que la 3 α , 5 α -THP puede participar en el control de la biología de los PN que residen en los nichos neurogénicos del cerebro adulto.

Como segunda aproximación para establecer el posible efecto de la 3 α , 5 α -THP sobre la biología de las CMN y de los PN en condiciones *in vivo*, desarrollamos otro proyecto cuyo objetivo fue el de establecer el efecto de la 3 α , 5 α -THP sobre la proliferación de los PN de la ZSV y de la CMR en el cerebro de rata adulta, en condiciones *in vivo*. Para ello, trabajamos con ratas macho adultas y la proliferación celular fue evaluada mediante inmunohistoquímica cuantificando la expresión del antígeno nuclear celular de proliferación (PCNA). Lo primero que investigamos fue el efecto de la 3 α , 5 α -THP endógena mediante la inhibición de su bio

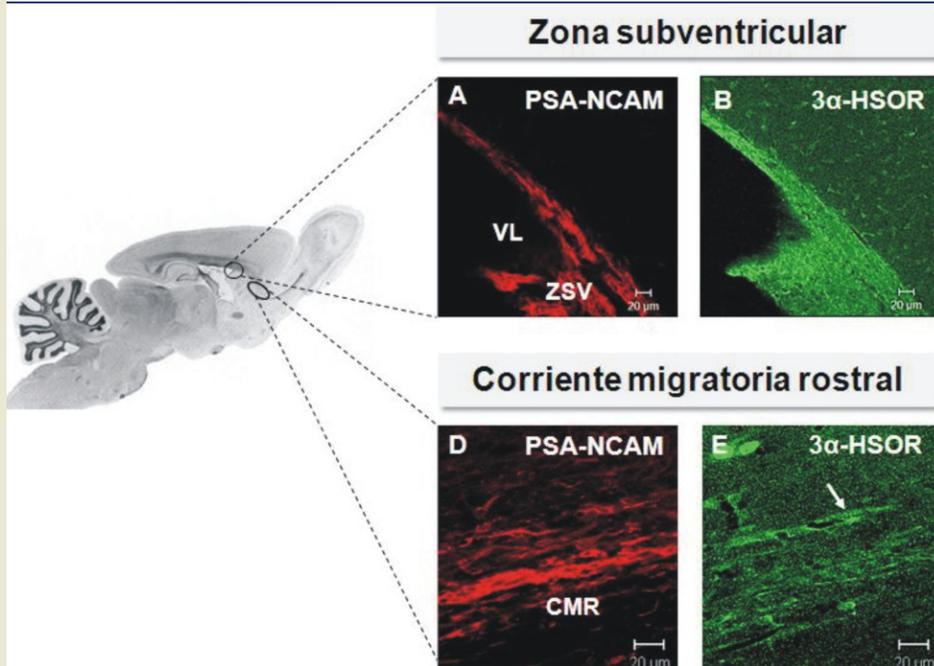


Figura 3. Distribución de la enzima 3 α -HSOR en el cerebro de la rata adulta. Inmunofluorescencia para la 3 α -HSOR (Alexa 488) y PSA-NCAM (rodamina) en cortes sagitales de cerebro de rata macho adulto, a nivel de la ZSV (A, B) y de CMR (D, E). De manera general, se puede observar que la ZSV, adyacente al ventrículo lateral (VL) así como la CMR, ambas caracterizadas por la expresión de PSA-NCAM, expresan también la 3 α -HSOR. (Modificado de Gago *y col.*, 2007).

síntesis administrando finasterida, un inhibidor de la 5 α -reductasa. Los resultados revelaron que los metabolitos 5 α -reducidos, dentro de los cuales se encuentra la 3 α ,5 α -THP, inhiben la proliferación de los PN tanto en la ZSV como en la CMR (Gazzen, 2015). Posteriormente, se evaluó el efecto de la administración exógena de 3 α ,5 α -THP por vía intracerebroventricular a nivel de los ventrículos laterales, encontrándose que el neuroesteroide ejerce un efecto estimulador sobre la proliferación de los PN, el cual pudo ser abolido mediante la administración de picrotoxina (un antagonista del receptor GABA_A) (Gazzen, 2015). Estos resultados muestran un efecto dual de la 3 α ,5 α -THP sobre la proliferación de los PN de la ZSV y de la CMR; inhibitorio a bajas concentraciones y estimulador a altas concentraciones, vía receptores GABA_A. Los efectos duales o bi-fásicos de los neuroesteroides han sido ampliamente descritos en la literatura (revisado por Whang, 2011).

Conclusiones

El conjunto de todos estos resultados apoya la hipótesis sobre el posible rol de la 3 α ,5 α -THP en el control de la neurogénesis. En efecto, el estudio de la distribución de la 3 α -HSOR en el cerebro de rata durante las etapas embrionarias y postnatales, proporcionó evidencias anatómicas significativas en cuanto a la posible función de la 3 α ,5 α -THP como modulador de los procesos de neurogénesis y de mielinización. La persistencia de la expresión de esta enzima en los nichos neurogénicos del adulto sugiere que esta señal se conserva en estas zonas como un factor morfogénico, lo cual pudimos en efecto demostrar en la ZSV y en la CMR, en donde la 3 α ,5 α -THP actúa como un factor regulador de la proliferación celular de los PN. Estos resultados aumentan nuestro conocimiento sobre la neurogénesis y los factores capaces de modularla y potencialmente pudiesen contribuir al desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a mejorar la regeneración del SNC.

Abreviaturas

3 α ,5 α -THP: 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona o alopregnanolona. 3 α -HSOR: 3 α -hidroxie steroideoxidoreductasa. 3 β -HSD:3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ Δ 5- Δ 4 isomerasa. 3 β -HSOR: 3 β -hidroxiesteroideoxidoreductasa. 3(α \rightarrow β)HSE: 3(α \rightarrow β) hidroxiesteroi-deepimerasa. 5 α -DHP: 5 α -dihidroprogesterona. 5 α -R: 5 α -reductasa. CMN: célula madre neural. CMR: corriente migratoria rostral. ECZSV: extensión caudal de la zona subventricular. EGF: factor de crecimiento epidérmico. EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico. GABA: ácido γ -aminobutírico. GABA_AR: receptor GABA_A. GAD: glutamato descarboxilasa. P450scc: citocromo P450scc.PCNA: antígeno nuclear celular de proliferación.PN: progenitor neural. PR: receptor de la progesterona. PREG: pregnenolona. PROG: progesterona. PSA-NCAM: forma polisialilada de la molécula de adhesión celular neural. SNC: sistema nervioso central. ZSV: zona subventricular de los ventrículos laterales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (PI 09-11-5236-2007; PG 09-00-6794-2007) y el Programa Ecos-Nord (N° 20238).

Referencias

- ALCALÁ K. (2009). *Distribución de la 3 α -hidroxiesteroideoxidoreductasa en el cerebro de rata durante el desarrollo embrionario y postnatal: un posible rol para los neuroesteroides en el control de la biología de los progenitores neurales*. Tesis de Licenciatura en Biología. Tutora: Nathalie Gago. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- BEN-ARI Y., GAIARSA J., TYZIO R., KHAZIPOV R. (2007). *GABA: a pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations*. *Physiol Rev.* 87: 1215-1284.
- BORDEY A. (2006). *Adult neurogenesis. Basic concepts of signaling*. *Cell Cycle.* 5: 722-728.
- BRINTON R.D., THOMPSON R.F., FOY M.R., BAUDRY M., WANG J., FINCH C.E., MORGAN T.E., PIKE C.J., MACK W.J., STANCZYK F.Z., NILSEN J. (2008). *Progesterone receptors: form and function in brain*. *Front. Neuroendocrinol.* 29: 313-339.
- COMPAGNONE N., MELLON S. (2000). *Neurosteroids: bioynthesis and function of these novel neuromodulators*. *Neuroendocrinol.* 21: 1-56.
- DOETSCH F., ALVAREZ-BUYLLA A. (1996). *Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 14895–14900.
- EZZI G., AKWAY., SCHUMACHER M., GAGO N.(2015). *Efecto bifásico del neuroesteroide 3alfa,5alfa-tetrahidroprogesterona sobre la proliferación de los progenitores neurales de la zona subventricular y de la corriente migratoria rostral en el cerebro de la rata*. LXV Convención anual de AsoVAC, Caracas, Venezuela.
- GAGO N., AKWA Y., SANANÈS N., GUENNOUN R., BAULIEU E.E., EL-ETR M., SCHUMACHER M. (2001). *Progesterone and the oligodendroglial lineage: Stage-*

dependent biosynthesis and metabolism. Glia. 36: 295-308.

GAGO N., EL-ETR M., SANANÉS N., CADEPOND F., SAMUEL D., AVELLANA-ADALID V., BARON-VAN EVERCOOREN A., SCHUMACHER M. (2004). *3 α ,5 α -Tetrahydroprogesterone (Allopregnanolone) and γ -Aminobutyric Acid: Auto-crine/Paracrine Interactions in the control of neonatal PSA-NCAM+ progenitor proliferation. J. Neurosci. Res. 78: 770-783.*

GAGO N., MENSAH-NYAGAN A.G., GUERRERO H., CARDILLO E., MARCANO D., SCHUMACHER M. (2007). *Expression of the neurosteroid 3 α ,5 α -tetrahydroprogesterone in neurogenic zones of the adult rat brain. VIII European Glial Cells Meeting. Londres, Inglaterra.*

GAGO N., AVELLANA-ADALID V., BARON-VAN EVERCOOREN A., SCHUMACHER M. (2003). *Control of cell survival and proliferation of postnatal PSA-NCAM+ progenitors. Mol. Cell. Neurosci. 22: 162-178.*

GAGO N. (1998). *Metabolismo de la Progesterona por los oligodendrocitos diferenciados. Trabajo de ascenso para optar a la categoría de Profesor Asistente. Escuela de Medicina J. M. Vargas. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Venezuela*

GALLI R., GRITTI A., BONFANTI L., VESCOVI A.L. (2003). *Neural stem cells: an overview. Circ. Res. 92: 598-608*

GANGULY K., SCHNIDER A.F., WONG S.T., POO M. (2001). *GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABAergic responses from excitation to inhibition. Cell. 105: 521-532. .*

KOENIG H.L., SCHUMACHER M., FERZAZ B., DO THI A.N., RESSOUCHES A., GUENNON R., JUNG-TESTAS I., ROBEL P., AKWA Y., BAULIEU E.-E. (1995). *Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. Science. 268: 1500-1503.*

LAMBERT J. J., BELELLID., PEDEND. R., VARDYA. W., PETERS J. A. (2003). *Neurosteroid modulation of GABA_A receptors. Prog. Neurobiol. 71: 67-80.*

MELCANGI R. C., MARNAGHI V., CAVARRETTA I., ZUCCHI I., BOVOLIN P., D'URSO D., MARTINI L. (1999). *Progesterone derivatives are able to influence peripheral myelin protein 22 and P0 gene expression: possible mechanism of action. J. Neurosci. Res. 56: 349-357.*

PENNING T. M., MUKHARJI I., BARROWS S., TALALAY P. (1984). *Purification and properties of a 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase of rat liver cytosol and its inhibition by anti-inflammatory drugs. Biochem J. 222: 601-611.*

PERNIA M. (2012). *Estudio del desarrollo postnatal de la extensión caudal de la zona subventricular del cerebro de rata: un posible rol para los neuroesteroides. Tesis de Licenciatura en Biología. Tutora: Nathalie Gago. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.*

SCHUMACHER M., AKWA Y., GUENNOUN R., ROBERT F., LABOMBARDA F., DERSARNAUD F., ROBEL P., DE NICOLA A., BAULIEU E. E. (2000). *Steroid synthesis and metabolism in the nervous system: Trophic and protective effects*. J. Neurocytol. 29: 307-326.

SIEGHART W. (1995). *Structure and pharmacology of GABAA receptor subtypes*. Pharmacol. Rev. 47: 181-234.

WANG J. M., JOHNSTON P. B., BALL B. G., BRINTON R. B. (2005). *The neurosteroid allopregnanolone promotes proliferation of rodent and human neural progenitor cells and regulates cell-cycle gene and protein expression*. J. Neurosci. 25: 4706-4718.

WANG D., KRUEGER D. D., BORDEY A. (2003). *GABA depolarizes neuronal progenitors of the postnatal subventricular zone via GABAA receptor activation*. J. Physiol. 550: 785-800.

WANG M. (2011). *Neurosteroids and GABA-A receptor function*. Front. Endocrinol. 2: 1-23