

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA
HUMANAS**



TESIS DOCTORAL

*Alteraciones estructurales de las regiones
cerebrales sexuales tras empleo de paroxetina
versus agomelatina*

Salamanca, 2016

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA
HUMANAS**

Directores: Prof. Dr. Ginés Llorca Ramón y Prof. Dr. Juan Luís

Blázquez Arroyo

Fdo: Yanira del Carmen Santana Hernández

GINÉS LLORCA RAMÓN, CATEDRÁTICO DE PSIQUIATRÍA y **JUAN LUIS BLAZQUEZ ARROYO**, PROFESOR TITULAR DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA HUMANAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

CERTIFICAN:

Que el presente Trabajo de Tesis Doctoral titulado: Alteraciones estructurales de las regiones cerebrales sexuales tras la administración de Paroxetina versus Agomelatina, ha sido realizado bajo nuestra dirección por Dña. Yanira del Carmen Santana Hernández, licenciada en Medicina por la Universidad de Salamanca, reuniendo, a nuestro criterio, las condiciones metodológicas y de originalidad requeridas para poder optar al Grado de Doctora por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste a todos los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Salamanca a

Fdo:

Dr.Ginés Llorca Ramón

Fdo:

Dr. Juan Luis Blázquez Arroyo

Para yaya, espero que estés orgullosa.

Agradecimientos

Agradecimientos:

Este trabajo no habría sido posible sin la ayuda de mis profesores, el Doctor Ginés Llorca Ramón y el Dr. Juan Luis Blazquez Arroyo; desde aquí les quiero mostrar mi agradecimiento por proponerme un tema tan novedoso e interesante. Gracias por darme la oportunidad de ir un paso más allá en mi formación académica, sin ustedes no habría sido posible.

También le estoy muy agradecida a la profesora M^a Ángeles Díez por estar cuando la necesitaba. Estoy muy agradecida por todas las pautas y consejos que me ha dado. Eres una fuente de aprendizaje. Gracias.

Gracias a Elena Zamora, por su colaboración en las fases iniciales de este proyecto.

Por supuesto quiero agradecer a Rosa y Olvido que me enseñaran a trabajar en el laboratorio. Gracias por la dedicación y paciencia que han tenido conmigo. Hemos formado un buen equipo.

Y por último, pero no por ello menos importante, le quiero dar las gracias a Alberto. Gracias por acompañarme, tanto en los ratos fáciles como en los complicados; gracias por entenderme cuando no me aclaraba ni yo misma; gracias por ayudarme cada día y gracias por compartir conmigo esta experiencia.

Índice

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	021
2.- MARCO TEÓRICO.....	027
2.1.- Neuroanatomía de la rata.....	029
2.1.1.- Desarrollo embrionario del Sistema Nervioso.....	029
2.1.2.- Organización del Sistema Nervioso.....	030
2.1.3.- Características histológicas del Sistema Nervioso.....	032
2.1.4.- Fibras nerviosas.....	032
2.1.5.- Clasificación de las neuronas.....	033
2.1.6.- Cuerpo estriado y núcleo accumbens.....	035
2.1.7.- Hipotálamo.....	037
2.1.8.- Complejo amigdalino.....	039
2.1.9.- Hipocampo.....	040
2.1.10.- Sustancia Negra y Área Tegmental Ventral.....	042
2.2.- Sexualidad.....	045
2.2.1.- Control neural de la sexualidad.....	045
2.2.1.1.-Excitación, orgasmo y eyaculación.....	046
2.2.1.2.-El área preóptica medial.....	046
2.2.1.3.-La lordosis en ratas macho (papel del área preóptica medial y el núcleo ventromedial del hipotálamo).....	049
2.2.1.4.-La corteza prefrontal.....	050
2.2.1.5.-Efectos de otras lesiones cerebrales en la conducta sexual masculina.....	051

2.2.1.6.-Neurofisiología de la respuesta sexual.....	051
2.2.2.- Control endocrino de la sexualidad.....	052
2.2.2.1.- La importancia de las hormonas testiculares en los varones humanos.....	052
2.2.2.2.- La importancia de las hormonas testiculares en los machos no humanos.....	056
2.2.2.3.- El papel de los metabolitos de testosterona en los machos no humanos.....	058
2.2.2.4.- Los estudios en ratones knockout.....	061
2.2.3.- Modelos.....	063
2.2.3.1. - Fases de la respuesta sexual Master y Johnson, (1966).....	063
2.2.3.2.- Fases de la respuesta sexual por Mass, (2000) y Clayton, (2000).....	065
2.2.4.- Clasificación de la disfunción sexual.....	066
2.2.4.1.-DSM-IV (American Psychiatric Assosiation, 1994).....	066
2.2.4.2.-CIE-10 (World Health Organitation, 1992).....	067
2.2.4.3 DSM-V (American Psychiatric Assosiation, 2013).....	068

2.2.4.4.-Según la fase del ciclo de la respuesta sexual que se vea afectada las disfunciones (Merino M ^a . J, Plazaola M, 1995).....	069
2.2.5.- Neurofisiología de la disfunción sexual.....	070
2.2.6.- Disfunción sexual secundaria antidepresivos.....	072
2.3.- Psicofármacos: antidepresivos.....	081
2.3.1.- Paroxetina.....	083
2.3.2.- Agomelatina.....	084
3.- HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	089
4.- MATERIAL Y PROCEDIMIENTOS.....	093
4.1.- Animales de experimentación.....	095
4.1.1.- Animales.....	095
4.1.2.- Grupos de Animales.....	095
4.2.- Material.....	096
4.2.1.- Material de laboratorio.....	096
4.2.2.- Psicofármacos.....	096
4.2.3.- Anticuerpos.....	096
4.3.- Procedimientos.....	097
4.3.1.- Administración de psicofármacos.....	097
4.3.2.- Sacrificio de animales. Inclusión de muestras.....	098
4.3.3.- Tinción mediante inmunohistoquímica.....	099
4.3.4.- Estudio y fotografiado de las muestras.....	101
4.3.5.- Cuantificación del marcaje inmunohistoquímico.....	101

5.- RESULTADOS.....	103
5.1.- Resultados fruto de la observación de los animales.....	105
5.2.- Resultados fruto de la observación al microscopio óptico.....	107
5.2.1.- Estudio del sistema dopaminérgico.....	111
5.2.1.1.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales control.....	111
5.2.1.2.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales tratados con Paroxetina.....	118
5.2.1.3.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales tratados con Agomelatina.....	123
5.2.1.4.- Comparativa del efecto de los distintos tratamientos sobre el sistema dopaminérgico.....	129
5.2.1.5.- Cuantificación de la reacción inmunohistoquímica en los distintos grupos.....	131
5.2.2.- Estudio de la inmunorreactividad a Oxitocina.....	137
5.2.2.1- Estudio de la inmunorreactividad a Oxitocina en los animales controles.....	137
5.2.2.2- Estudio de la inmunorreactividad a Oxitocina en animales tratados con Paroxetina.....	139
5.2.2.3- Estudio de la inmunorreactividad a Oxitocina en animales tratados con Agomelatina.....	141
5.2.3.- Estudio del sistema Receptor alfa de estrógenos.....	145
5.2.3.1- Estudio del sistema Receptor alfa de estrógenos en los animales controles.....	145

5.2.3.2- Estudio del sistema Receptor alfa de estrógenos en los animales tratados con Paroxetina.....	148
5.2.3.3- Estudio del sistema Receptor alfa de estrógenos en los animales tratados con Agomelatina...	151
6.-DISCUSIÓN.....	155
6.1.- Nuestro proyecto.....	157
6.2.- El sistema regulador dopaminérgico.....	158
6.3.- Importancia del estudio dopaminérgico en la esfera sexual.....	159
6.4.- Cómo interpretar la disminución de la inmunorreactividad para Tirosina Hidroxilasa (TH) en los animales tratados con Paroxetina.....	160
6.4.1.- Sistema nigroestriado, mesolímbico y mesocortical....	160
6.4.2.- Inhibición de las neuronas dopaminérgicas de la Zona Incerta (ZI).....	162
6.4.3.- Inhibición del sistema Tuberoinfundibular dopaminérgico (TIDA).....	163
6.5.- El tratamiento con Agomelatina disminuye la actividad dopaminérgica pero en menor grado que la Paroxetina.....	165
6.6.- Datos de estudios realizados con otras metodologías y en humanos.....	168
6.7.- El tratamiento con Agomelatina reduce la reactividad a los receptores alfa de estrógenos en la ParsTuberalis de la Hipófisis.....	169
6.8.- El sistema oxitocinérgico no muestra alteraciones estructurales en las circunstancias de nuestro estudio.....	171
6.9.- Perspectivas futuras.....	173

7.- CONCLUSIONES.....	175
8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	179

Introducción

1.- INTRODUCCIÓN

Según cita el Tratado de Psiquiatría Kaplan & Sadock, el estado de ánimo del individuo es un tono vital interno dominante y mantenido, que influye en el comportamiento de la persona y en su percepción del mundo. Éste puede ser normal, elevado o deprimido. Las alteraciones de la esfera afectiva son un grupo de afecciones clínicas que se caracterizan por la pérdida de ese sentido del control y por el sufrimiento subjetivo de un gran malestar. Los pacientes con ánimo deprimido experimentan una pérdida de energía y del interés, sentimientos de culpa, dificultades de concentración, pérdida del apetito, pensamientos de muerte o suicidio... entre otros síntomas.

Ya en el Antiguo Testamento se describe un síndrome depresivo en el rey Saúl al igual que en el suicidio de Áyax en la Iliada de Homero. Aproximadamente en el año 400 a. C. Hipócrates ya se usaban los términos manía y melancolía para describir los trastornos mentales. En el 30 d. C. el médico romano Celso describía la melancolía (griego melan=negro y chole=bilis) en su obra “De re medicina”, como una depresión causada por bilis negra (Kaplan & Sadock, 2009).

Los trastornos del espectro depresivo, cuentan actualmente con una extensa farmacopea, centrados fundamentalmente por los psicofármacos del grupo de los antidepresivos. Tanto el propio deterioro anímico así como su tratamiento pueden traer consigo un síntoma adicional, la disfunción sexual (DS).

Es posible que la depresión pueda explicar por sí misma un descenso del interés sexual, pero también es cierto que desde el inicio del tratamiento antidepresivo los pacientes notifican un empeoramiento (Clayton, 2007).

Podemos afirmar que actualmente la disfunción sexual se ha convertido en un problema muy importante en los países occidentales y que las causas pueden ser derivadas de factores psicosociales, enfermedades somáticas así como enfermedades psiquiátricas. Su prevalencia es mayor en individuos con problemas emocionales, estando fuertemente relacionado con el Trastorno Depresivo Mayor y los fármacos antidepresivos (Clayton, 2006).

Respecto a los psicofármacos, la mayoría de los antidepresivos actualmente disponibles producen DS en hombres y mujeres (Rosen et al, 1999; Montejo, et al, 2001; Clayton et al, 2002; Delgado et al, 2005; Kennedy et al 2006; Clayton et al, 2007), y se sabe que afecta a todas las fases de la actividad sexual, disminuyendo el deseo, la excitación, el orgasmo y la eyaculación. Estos efectos adversos afectan a la calidad de vida del paciente, puede llevar a la falta de cumplimiento terapéutico y, a menudo interfiere con la recuperación de un episodio depresivo (Roose, 1999; Rothschild, 2000; Zajecka., 2000; Montejo, et al, 2001).

El tratamiento con fármacos antidepresivos se requiere en muchas ocasiones como tratamiento a largo plazo o incluso de manera indefinida, pudiendo verse comprometida la calidad de vida del paciente, conduciendo en numerosas ocasiones al incumplimiento terapéutico (Montejo AL, 2006). Sin embargo, la depresión en sí podría deteriorar las relaciones sexuales antes de la ingesta de antidepresivos, y relacionar éstos con la DS, es muy difícil de medir a menos que seleccionen sólo a los pacientes sin DS desde el principio (Waldinger et al, 1994).

Los Inhibidores Selectivos de Recaptación de Serotonina (ISRS) provocan una amplia variedad de DS, desde las más habituales como descenso en la libido, disminución de la excitación y retardo en el orgasmo, a otras más anecdóticas como priapismo, incluyendo priapismo clitoreideo, erección prolongada, anestesia genital,

anestesia peneana, erección espontánea, orgasmos espontáneos, eyaculación espontánea, aumento de la libido y orgasmos dolorosos u obsesiones sexuales (F. Arias et al, 2000).

Los primeros estudios al respecto se hicieron con los antidepresivos tricíclicos (Imipramina) y los Inhibidores de la Monoamino-oxidasa (IMAOS), (fenelzina), señalando como efectos secundarios en un porcentaje variable, una disminución de la libido y anorgasmia en las mujeres y afectación de todas las fases de la respuesta sexual en los hombres (Merino y García Plazaola, 1995).

Durante las décadas de los años sesenta y setenta comenzaron a publicarse informes aislados sobre la disfunción sexual relacionada con el empleo de IMAOS o de antidepresivos tricíclicos. Con la llegada de los nuevos antidepresivos hacia finales de los años ochenta y la década de los noventa, aumentó el número de informes sobre las reacciones adversas sexuales, relacionadas especialmente con los ISRS (Balon, 2006).

A pesar de todo, en las fichas técnicas, la incidencia de la disfunción sexual se establece entre 2-16%, muy inferior a la estimada en la práctica real (Montejo, 2001).

Hasta la fecha, sólo unos pocos estudios han evaluado el impacto sobre la función sexual de la terapia antidepresiva en una población sin síntomas depresivos (Kennedy et al, 1996). Es el estudio realizado por Montejo et al (2010) cuando se realiza un ensayo clínico aleatorio que evalúa la aceptabilidad sexual de un antidepresivo, en una población sin síntomas depresivos, demostrando significativamente menor DS usando el Psychotropic-Related Sexual Dysfunction Salamanca Sex Questionnaire (PreseXdQ-salseX) (22.7% con 25 mg y 4.8% con 50 mg de Agomelatina vs 87.5% con 20 mg de Paroxetina y el 8.7% con placebo). Los porcentajes de DS moderada a severa fueron de 4.5% con Agomelatina, 61.9% con Paroxetina y 0% con placebo. Recientemente

Montejo et al ha publicado un trabajo con igual metodología pero usando el Escitalopram como ISRS obteniendo resultados similares.

De todo esto sacamos en síntesis, que el tratamiento con fármacos antidepresivos es necesario y prolongado en el tiempo, además de producir un efecto no deseado, la DS, que al igual que el propio tratamiento se alarga en el tiempo. Esta DS trae consigo en último extremo el abandono total o parcial del tratamiento, lo que conlleva recaídas, resistencias, mayor gasto de los recursos sanitarios, absentismo laboral, etc.

A modo de resumen, podemos concluir que existe bibliografía que justifica la DS provocada por los antidepresivos (concretamente los ISRS) en seres humanos, no obstante con las limitaciones:

- 1) Los pacientes con Trastorno del espectro depresivo pueden presentar en sí mismo DS como síntoma de la enfermedad.
- 2) Los pacientes pueden presentar comorbilidad que dé lugar a DS.
- 3) La infraestimación de la DS debido a la dificultad que supone recoger en una historia clínica reglada la sexualidad como ritmo biológico esencial.

Es por eso que creemos que es esencial dar un paso más y buscar a nivel biológico, qué es lo que se modifica a nivel estructural en la esfera sexual, tras el empleo de psicofármacos del grupo de los antidepresivos, concretamente comparando un ISRS con un antidepresivo melatoninérgico.

Para ello creemos que es una herramienta muy útil el estudio anatomopatológico del Sistema Nervioso Central de animales de experimentación. Trabajando sobre las áreas cerebrales implicadas en la sexualidad.

Marco teórico

2.- MARCO TEÓRICO

2.1.- Neuroanatomía de la rata:

El núcleo de nuestro estudio está en la neuroanatomía de la rata, es por ello que a continuación se expone dicho tema. Para hacer la exposición de una forma clara y concreta, dividimos el estudio del Sistema Nervioso en diez apartados: Desarrollo embrionario del Sistema Nervioso, organización del Sistema Nervioso, características histológicas del Sistema Nervioso, fibras nerviosas, clasificación de las neuronas, cuerpo estriado y accumbens, hipotálamo, complejo amigdalino, hipocampo y sustancia negra.

2.1.1.- Desarrollo embrionario del sistema nervioso:

La complejísima arquitectura del cerebro de los mamíferos es el resultado del desarrollo embrionario, pero también de las modificaciones que sufre a lo largo de la vida como consecuencia de la relación con el ambiente (aprendizaje, estímulos). En el desarrollo tiene una importancia primordial la expresión de las instrucciones genéticas, que establecen inicialmente las diferentes regiones, producen las distintas células y dirigen la migración desde los lugares de generación hasta sus destinos finales. Estos fenómenos son previos y necesarios para la ulterior producción de las innumerables conexiones que harán funcionar la maquinaria más compleja que ha creado la naturaleza.

El sistema nervioso proviene básicamente de la capa ectodérmica del disco embrionario trilaminar. En el proceso de neurulación, el ectodermo suprayacente a la notocorda se diferenciará en placa neural, que en pocos días se pliega, se hunde y se transforma en un tubo, el tubo neural, esbozo del Sistema Nervioso Central (SNC). De dicha placa neural se han de diferenciar todos los tipos neuronales así como la mayoría

de las células de la glía, es decir, los astrocitos y oligodendrocitos. Por el contrario las células de la microglia derivan del mesodermo.

En el caso del cerebro humano, en el plazo de unos meses, y a partir de una pequeña población de precursores, se van a formar unos 100.000 millones de neuronas y muchas más células gliales. En función del momento y el lugar, así las influencias y los genes expresados, para dar lugar a tan enorme diversidad de tipos celulares, disposición en el espacio, morfologías, neurotransmisores, sinapsis, canales iónicos etc.

El sistema nervioso es un sistema bioeléctrico dinámico y complejo, cuyas células presentan el más alto grado de diferenciación y especialización celular, que poseen caracteres como la excitabilidad y conductividad, rasgos que le permiten captar los estímulos físicos y químicos que se suceden tanto en el medio externo como en el medio interno, convertirlos en potenciales eléctricos y conducirlos por vías nerviosas hacia los centros donde se analizan, integran y elaboran las respuestas (Casadiego, 2012).

2.1.2.- Organización del sistema nervioso:

Dentro de los sistemas orgánicos el Sistema Nervioso es el sistema de control e integración por excelencia. En los humanos, desde un punto de vista morfológico, podemos dividirlo en Sistema Nervioso Central (SNC) y Sistema Nervioso Periférico (SNP). El SNC está integrado por el encéfalo y la médula espinal, mientras que el SNP está formado por los nervios que unen dicho SNC con las diferentes partes del organismo. Este SNP consta de doce pares de nervios craneales y 31 pares de nervios raquídeos o espinales. Como resultado de la evolución, el sistema nervioso está diseñado para responder ante ciertos fenómenos físicos y químicos, permitiendo de esta manera controlar y regular la actividad de los seres vivos, tanto en su relación con el medio externo como con el propio cuerpo. Las nociones que siguen respecto de la

organización general del Sistema Nervioso, de las neuronas y sus tipos y del desarrollo del SNC están tomadas de los reconocidos tratados de Kandel y col (2001) y Purves y col. (2007).

En una aproximación funcional el Sistema Nervioso se divide en Sistema Nervioso Somático (SNS) o de la vida de relación, y Sistema Nervioso Vegetativo o Autónomo (SNA). El SNS se comporta como el principal sistema que controla la relación del individuo con el medio externo, lo que le permite integrar la información aferente (de entrada) y elaborar respuestas motoras (eferentes) mediante los músculos esqueléticos. Presenta para ello una serie de estructuras que se conocen como receptores, que están especializados en captar los cambios que se suceden en el exterior (estímulos), y cadenas neuronales que conducen estos estímulos a los centros superiores donde se produce la percepción, que consiste en la modulación e interpretación del fenómeno permitiendo producir una respuesta adecuada. De igual manera este SNS controla y regula la actividad biológica del individuo, haciendo que cada uno de los demás sistemas, órganos y células que componen el organismo tengan una actividad apropiada y participen adecuadamente en todos los eventos de la vida. Es así como el Sistema Nervioso controla la actividad somática (voluntaria, consciente) del ser humano y le permite relacionarse con el medio y con sus congéneres.

El SNA está integrado por las estructuras nerviosas responsables de (1) captar, transmitir y procesar la información sensitiva procedente de los órganos viscerales (por ejemplo de los sistemas digestivo y cardiovascular) y (2) emitir las órdenes que controlan la musculatura lisa (involuntaria) y cardíaca, y la función de las glándulas viscerales.

Aunque su nombre parece indicar que su función es independiente del Sistema Nervioso Somático, la actividad del SNA puede ser modificada (aumentada o

disminuida) por el Sistema Nervioso Central, en particular por la corteza cerebral y el cerebro emocional. Anatómicamente las regiones viscerales y somáticas del SN están íntimamente relacionadas.

2.1.3.- Características histológicas del Sistema Nervioso:

El Sistema Nervioso está conformado por un tejido rico en células y pobre en sustancia intercelular, lo que permite denominarlo como un tejido celular, las células que lo componen se diferencian en dos líneas: la neuronal y la neuroglial.

Las neuronas corresponden a las células que conducen el estímulo nervioso, procesan la información y elaboran una respuesta.

Las neuronas presentan en su constitución cuatro zonas:

- Zona generadora: que corresponde al cono axónico y es donde se genera el impulso nervioso.
- Zona conductora: que corresponde al axón neuronal y por medio del cual se conduce el impulso nervioso.
- Zona receptora: que corresponde a las prolongaciones dendríticas y al cuerpo o soma neuronal y es donde se capta el estímulo nervioso.
- Zona de transmisión: que corresponde al telodendron donde se produce el paso del estímulo de una neurona a otra o de una neurona a un órgano efector.

2.1.4.- Fibras nerviosas:

Una fibra nerviosa está constituida por un axón más su vaina de mielina (cuando ésta existe). Las fibras nerviosas se clasifican en función de su diámetro, lo que tiene una relación directa con la velocidad de conducción. Así, según la clasificación de

Erlanger y Gasser existen fibras tipo A, B y C, siendo las primeras las más gruesas y rápidas (las de los tipos A y B son mielínicas) y las C las más delgadas y lentas.

En cuanto a su disposición o recorrido en el SNC, podemos distinguir entre:

- Fibras Comisurales: interconectan áreas corticales de los dos hemisferios pasando la línea media, como ejemplo la comisura blanca anterior y el cuerpo caloso.

- Fibras de Asociación: estas fibras relacionan áreas corticales del mismo hemisferio, por ejemplo la cápsula externa y cápsula extrema.

- Fibras de Proyección: Son fibras que conectan áreas corticales con otros centros como son los núcleos del tronco cerebral o de la médula espinal.

- Fibras Musgosas y Trepadoras: Son fibras aferentes al cerebelo que provienen de núcleos del tronco cerebral o astas del cordón espinal.

2.1.5.- Clasificación de las Neuronas:

Según el número de prolongaciones citoplasmáticas que poseen se clasifican en:

- Neuronas Monopolares: poseen una sola prolongación citoplasmática, se encuentran principalmente en el tejido embrionario y en reductos embrionarios del adulto.

- Neuronas Pseudomonopolares: están dotadas de una sola prolongación citoplasmática que se bifurca a su salida de la neurona. Se ubican principalmente en los ganglios de los nervios craneales y espinales del SNP.

- Neuronas Bipolares: poseen dos polos de los cuales emergen sendas prolongaciones citoplasmáticas. Se localizan principalmente en algunos órganos de los sentidos como las células bipolares de la mucosa olfatoria, las células bipolares del órgano de Corti y las células bipolares de la retina.

- Neuronas Multipolares: poseen numerosas prolongaciones citoplasmáticas, son las más abundantes y se encuentran conformando los principales órganos del SNC, principalmente la sustancia gris de la corteza cerebral y cerebelosa, los núcleos basales del cerebro y los núcleos cerebelosos, las astas de la médula espinal y los ganglios paravertebrales y prevertebrales del SNA. Estas células multipolares se dividen, a su vez, en varios tipos dependiendo de la forma del cuerpo neuronal (soma) o de las características del axón.

Según la forma del soma distinguimos:

- Células estrelladas: Células multipolares cuya forma semeja una estrella. Se pueden diferenciar en este tipo de célula dos variaciones: las células estrelladas de axón largo (Golgi tipo I) y las células estrelladas de axón corto (Golgi tipo II).

- Células Piramidales: Son células cuyo cuerpo tiene forma de pirámide entre las que se pueden diferenciar células pequeñas, medianas, grandes y gigantes (de Betz).

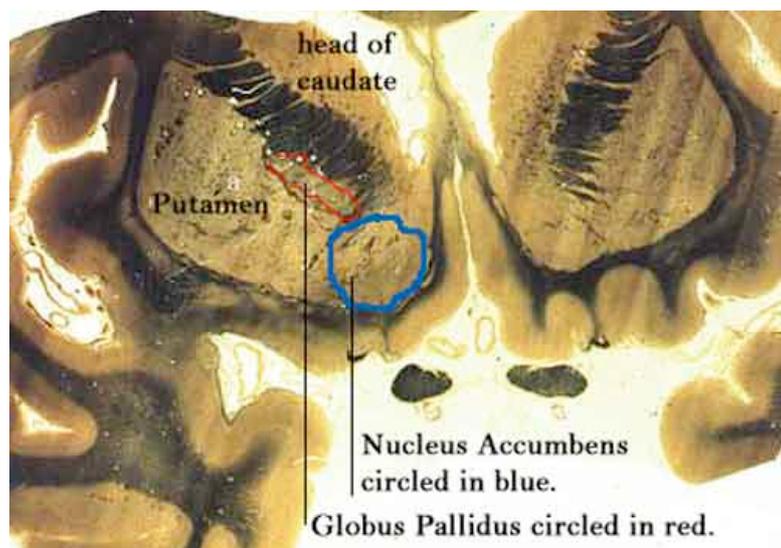
- Células fusiformes: como lo indica su nombre son células cuyo cuerpo presenta forma de huso.

- Células piriformes: Conocidas con el nombre de células de Purkinje, se encuentran localizadas en la capa media de la corteza cerebelosa.

Tras esta introducción del sistema nervioso procedemos a describir las áreas concretas de nuestro estudio

2.1.6.- Cuerpo estriado y núcleo accumbens:

El cuerpo estriado, o simplemente estriado, es uno de los componentes principales de los núcleos centrales del cerebro o ganglios basales. Se trata de un conjunto de núcleos que se sitúan en el interior de cada hemisferio y que está integrado por los núcleos caudado y putamen (en humanos separados por la cápsula interna, pero en la rata en continuidad, siendo denominado caudado-putamen) y por el núcleo pálido. Los dos primeros constituyen el neostriado, tienen el mismo origen y organización, compartiendo también conexiones; el núcleo pálido constituye el paleostriado.

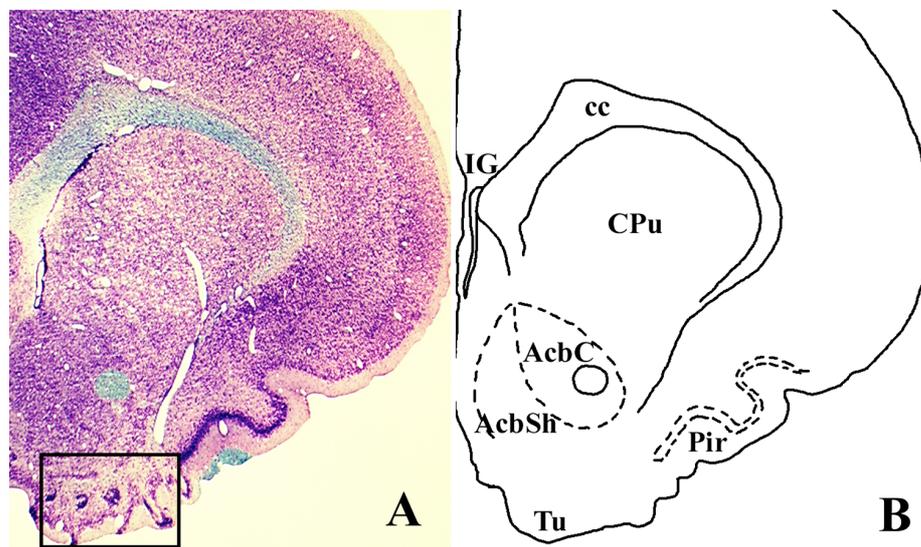


Esquema. 1.- Cuerpo estriado

Otra terminología usualmente empleada es la de “complejo estriado” para referirse a la unidad funcional que integran el neostriado y el estriado ventral, denominación que se aplica al núcleo Accumbens y al tubérculo olfatorio. El núcleo Accumbens, (*nucleus Accumbens septi*, núcleo que yace sobre el septum) que forma parte de nuestro estudio, se

sitúa en la región rostral y ventral del hemisferio, debajo de la zona donde el putamen se continúa con la cabeza del caudado (en humanos).

En la rata (véase en el esquema 1 un corte frontal) el núcleo Accumbens se dispone alrededor y por debajo de la comisura blanca anterior y tiene dos partes bien diferenciadas, una región central y una corteza. Este núcleo es el destino principal de la vía dopaminérgica mesolímbica, que es clave en los circuitos de recompensa y se ha involucrado también en patologías como la esquizofrenia.



Esquema 2.- Núcleo accumbens

Uno de los rasgos que definen el complejo estriado son los estriosomas o parches. Se trata de regiones estriadas pobres en acetilcolinesterasa. Contienen grandes cantidades de uno o más neuropéptidos y diferentes tipos de receptores opiáceos. El resto del complejo estriado es la matriz, donde la colinesterasa es abundante.

Las aferencias más abundantes al estriado proceden de la corteza cerebral. Otras llegan desde el tálamo y la sustancia negra. La vía de salida del neostriado es el pálido, bien directamente o a través del núcleo subtalámico.

El núcleo pálido está integrado por neuronas gabaérgicas con una gran actividad espontánea, de forma que inhiben de forma tónica a sus zonas de proyección. Dentro de este núcleo se distinguen dos porciones, medial y lateral que cumplen funciones diferentes, al menos en humanos.

En todo caso, el complejo estriado, que recibe una amplia inervación cortical y dopaminérgica del tronco encefálico, conecta con el pálido y, a través de él proyecta al tálamo, desde donde la información vuelve a la corteza. De esta manera se constituyen una serie de circuitos de procesamiento de información que comienzan y terminan en la corteza y que permiten modular la actividad cortical. Entre estos circuitos existen tres, el prefrontal dorsolateral, el orbitofrontal lateral y el límbico que son esenciales en los procesos cognitivos y emocionales.

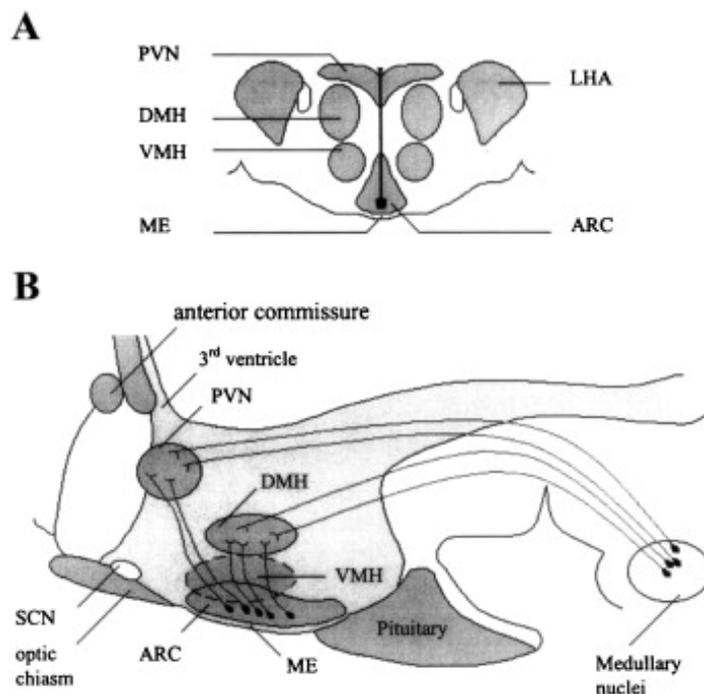
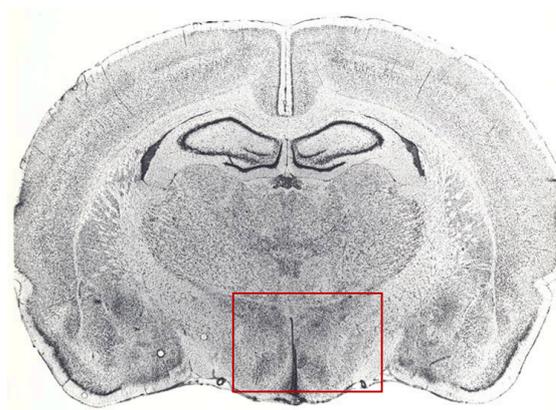
2.1.7.- Hipotálamo:

El hipotálamo es la división del diencéfalo que se relaciona con las funciones viscerales, autónomas y endocrinas. Todas estas funciones tienen un vínculo estrecho con la conducta afectiva y emocional. Está situado a ambos lados del tercer ventrículo por debajo de los surcos hipotalámicos y se extiende a través del suelo de este ventrículo. En la cara ventral del encéfalo emerge el infundíbulo por detrás del quiasma óptico, al cual está unida la hipófisis.

Externamente el hipotálamo está limitado en dirección rostral por el quiasma óptico, hacia ambos lados por las cintillas ópticas y hacia atrás por los cuerpos mamilares. La zona que forma el piso del tercer ventrículo se denomina eminencia

media del tuber cinereum. La porción rostral al tallo infundibular contiene la eminencia media anterior; la porción más distal del proceso infundibular es la neurohipófisis.

La eminencia media representa el punto final de convergencia de las vías del sistema nervioso central en el sistema endocrino periférico, es la interfase anatómica entre el cerebro y la hipófisis anterior (Casadiego, 2012).



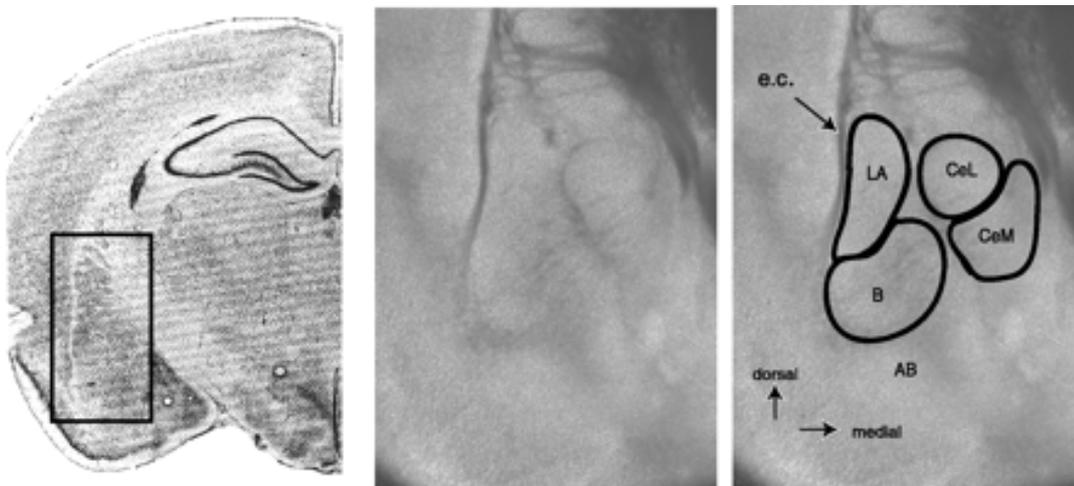
Esquema 3.- Hipotálamo

El hipotálamo está conformado por un gran número de núcleos, de los cuales nos interesa especialmente el núcleo arcuato. Este núcleo, relacionado con diversas funciones, como el control de la esfera gonadal o del apetito, contiene neuronas dopaminérgicas y es el origen de un corto tracto de fibras, el haz tuberoinfundibular, que termina en la eminencia media, desde donde pasa al lóbulo anterior hipofisario, donde actúa como una hormona inhibidora de la liberación de prolactina (Casadiego, 2012).

2.1.8.-Complejo amigdalino:

Al igual que el hipocampo el complejo nuclear amigdalino (denominado con frecuencia amígdala) se localiza en el lóbulo temporal, concretamente en su parte rostral y medial, por delante del hipocampo y del cuerno temporal del ventrículo lateral en los humanos.

Se trata de un conjunto de núcleos (hasta 13 subnúcleos en primates) que pueden sistematizarse en un grupo basolateral y otro corticomedial en el que se incluiría el núcleo central. Funcionalmente, el primero de los grupos está ampliamente conectado con la corteza y estructuras límbicas, mientras que el segundo tiene una mayor relación con el olfato.



Esquema 4.- Complejo amigdalino

La amígdala está conectada con un gran número de estructuras lo que le permite integrar información de diferentes modalidades e influir en las respuestas motoras y vegetativas.

Según los hallazgos experimentales en animales, los datos proporcionados por los estudios de neuroimagen y las observaciones realizadas en pacientes de la enfermedad de Urbach-Wiethe (en que se produce la degeneración bilateral de estas regiones), sabemos que el complejo amigdalino participa activamente en el aprendizaje y almacenamiento de las emociones, especialmente de emociones negativas como el miedo y, en general, en la evaluación emocional del ambiente. También tiene que ver con la conducta sexual.

La estimulación de la amígdala puede producir ansiedad y reacciones de miedo, y se ha observado su activación en los ataques de pánico, fobia social o estrés postraumático. En suma, parece que la amígdala es clave en la detección y evaluación subconsciente de potenciales amenazas y peligros que pueda haber en el ambiente.

En cuanto a su participación en patología mental se han observado alteraciones de la amígdala en pacientes con depresión mayor, trastorno bipolar y esquizofrenia.

2.1.9.- Hipocampo:

La región del hipocampo ha sido objeto de interés para los clínicos desde hace dos siglos, pues ya Bouchet y Cazauvielh (1825) señalaban la presencia de patología en casos de epilepsia y psicosis.

El denominado hipocampo, por su semejanza con esta criatura, es también una parte del lóbulo límbico, en este caso constituye la parte ventral. En la actualidad sabemos que el hipocampo recibe sus aferencias sobre todo desde la corteza que lo rodea (entorrinal y perirrinal), desde la cual le llega información de muchas áreas de la corteza y de, prácticamente, todas las modalidades sensoriales. También está conectado con estructuras vecinas como la amígdala. En cuanto a sus eferencias, podemos distinguir el fórnix, el

tracto más compacto, mediante el cual se conecta con el septum, núcleo accumbens, tálamo anterior y cuerpos mamilares del hipotálamo. Las eferencias más difusas conectan este territorio con las regiones vecinas (corteza entorrinal).

Funcionalmente el hipocampo no es una parte esencial del cerebro emocional. Hoy sabemos que su papel es determinante en el establecimiento de la memoria de larga duración, concretamente de la memoria consciente, episódica. También pensamos que funciona más bien como un comparador de estímulos nuevos y familiares, actuando también en la iniciación o inhibición de las estrategias apropiadas a cada situación. A pesar de ser una de las regiones más investigadas del Sistema Nervioso aún no comprendemos bien todas las funciones del hipocampo.

En los cortes frontales del cerebro de rata el hipocampo es diferente del humano, pues tiene una región dorsal bien desarrollada, que será el objeto de nuestras observaciones (ver la imagen que sigue). Lo que nosotros veremos será semejante a la imagen siguiente, donde se distinguen los territorios del giro dentado (DG) y del cuerno de Ammón (Cornu Ammonis = CA: CA1, CA2, CA3).



Esquema 5.- Hipocampo

El hipocampo es un territorio que muestra una gran plasticidad. En el hipocampo postnatal tienen lugar procesos de apoptosis, y también se ha establecido que es uno de los lugares donde existe neurogénesis en individuos adultos. Tal plasticidad debe guardar relación con su papel modulador en muchas conductas y en la memoria.

En la psicosis de Korsakoff, que se produce por deficiencia de tiamina casi siempre secundaria a alcoholismo, también se afecta la formación de recuerdos de memoria episódica. En este caso la patología más llamativa se localiza en los cuerpos mamilares, uno de los destinos fundamentales del fórnix. El hipocampo es asimismo uno de los lugares más afectados en la enfermedad de Alzheimer, junto con la lesión de las cortezas entorrinal y perirrinal.

La organización del hipocampo es laminar, semejante a una corteza en la que sólo existen tres capas (Allocórtex). Estas capas están constituidas por neuronas que son diferentes en el DG y en el CA; la capa externa en ambos es la capa molecular, la capa media se llama granular en el DG y piramidal en el CA, conteniendo las neuronas eferentes de cada estructura. La capa interna es la capa multiforme, que en el CA también se conoce como estratum oriens y que contiene, además de neuronas, muchos elementos gliales.

2.1.10.- Sustancia Negra:

La Sustancia Negra (SN) se encuentra dorsalmente a los pedúnculos cerebrales y se extiende rostrocaudalmente a lo largo de todo el mesencéfalo (Carpenter, 1981; Parent, 1986). Desde los primeros estudios de Minguzzi en 1888 y Sano en 1910, ha sido dividida en dos porciones macroscópicas; una porción dorsal rica en neuronas que contienen neuromelanina (pigmento oscuro observable en las secciones de mesencéfalo especialmente en el hombre y algunos primates) llamada sustancia negra compacta (SN_C) (Parent, 1986). En la rata forma una delgada capa de 4 a 10 neuronas de espesor adosada a la parte dorsal del núcleo. En la región más ventral se encuentra una porción más

voluminosa con forma de ovoide aplanada y más pobre en células llamada sustancia negra reticulada (SN_R). Aunque se ha distinguido también una porción lateral (SN_L), la mayoría de los autores la incluyen en la porción reticulada (Fallon y Loughlin, 1985). Las dos principales divisiones de la SN pueden ser fácilmente diferenciables por sus neurotransmisores: las neuronas de la SN_C contienen altas concentraciones de Dopamina (DA), mientras que las neuronas de la SN_R contienen GABA (ácido butírico-γ amino) (Heimer, Alheid y Zaborszky, 1985; Conde, 1992). En las secciones frontales del cerebro de rata, la Sustancia Negra comienza a aparecer como una pequeña aglomeración de grandes neuronas de baja densidad en el polo inferior del pedúnculo cerebral, pero luego aparece acompañada por una lámina neuronal densamente poblada sobre su borde dorsomedial. A este nivel también comienza a aparecer un pequeño grupo de neuronas triangulares y oscuras, pertenecientes a la SN_L. En las secciones más caudales, la SN_C comienza a disminuir y desplazarse supero-lateralmente, mientras que la SN_R se hace más voluminosa y ovoidea. Después la expansión superolateral regresa y la SN_C termina situándose en el extremo inferomedial en las últimas secciones de la SN_R (Oorschot, 1996).

El Área Tegmental Ventral (ATV) presenta proyecciones a estructuras corticales y subcorticales. Dichas proyecciones ocupan una posición central en los subsistemas neuronales implicadas en la recompensa, la predicción y la motivación así como en el comportamiento de la adicción (Wise, 1978, 2002, 2009; Berridge y Robinson, 1998; Ungless, 2004; Ranaldi, 2014) y también en la fisiopatología de los trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia (Sesack y Carr, 2002; Laviolette, 2007; Lau et al., 2013) o depresión mayor (Nestler y Carlezon, 2006; Friedman et al., 2009; Russo y Nestler, 2013). Este territorio mesencefálico ventral se ha subdividido en un máximo de ocho subdivisiones/núcleos cuya delineación y terminología varía sustancialmente entre los autores (Swanson, 1982; Ikemoto, 2007; Fu et al., 2012): núcleo parabraqüial pigmentado

(PBP); paranigral (PN); parainterfascicular (PIF); área tegmental ventral rostral (rVTA); ventral tegmental cola (VTT); interfascicular (IF); rostral linear (RLi); y caudal lineal (CLi). ATV consiste principalmente en las neuronas dopaminérgicas (DAérgic) (65%) intercaladas con GABAérgico (33%) y las neuronas glutamatérgica (2 – 3%) (Kawano et al., 2006; Nair-Roberts et al., 2008; Morales y raíz, 2014). El mayor número de neuronas DAérgic se concentra en el PBP, mientras que las neuronas GABAérgicas predominan en los aspectos posteriores de ATV (Olson y Nestler, 2007), y las proyecciones glutamatérgica surgen principalmente en sectores rostromedial involucrando la RLi y el sector intermedio de PBP y la rVTA (Yamaguchi et al., 2011).

2.2.- Sexualidad:

2.2.1.- Control neural de la sexualidad:

Para hablar del control neural de la sexualidad hay que poner en juego el papel de la interacción entre la percepción del mundo externo y la cascada de variaciones que se producen en el organismo a través del sistema hormonal y sus receptores.

La activación de la conducta sexual requiere de información sensorial. En consecuencia, alguna vía sensorial es absolutamente necesaria; del mismo modo al menos algún sistema músculo-esquelético debe ser funcional para que el comportamiento sexual se produzca.

Posteriormente las hormonas tienen la necesidad de actuar sobre las neuronas específicas en algún lugar del cerebro o en el sistema nervioso periférico con el fin de tener su efecto estimulante sobre el sistema nervioso central. Los andrógenos, por ejemplo, tienen efectos importantes sobre los músculos del pene necesarios para la intromisión en ratas macho y hay receptores de andrógenos en las neuronas que inervan los genitales (Keast y Gleeson, 1998; Keast y Saunders, 1998; Keast, 1999).

No nos podemos olvidar de la importancia de los receptores; de hecho, los receptores de hormonas gonadales están ampliamente distribuidos en el cerebro.

Entre los sitios de los receptores de andrógenos que expresan son, el área preóptica medial, la amígdala medial, el núcleo ventromedial del hipotálamo y núcleo de la estría terminal. En cuanto a los receptores de estrógeno se encuentran en el área preóptica medial, el núcleo ventromedial del hipotálamo, los bulbos olfatorios y en muchos otros sitios.

2.2.1.1.- Excitación, orgasmo y eyaculación:

La excitación sexual está mediada por el SNC y periférico; a nivel central, el sistema mesolímbico y el diencefalo, regulados de manera parcial por la dopamina, relacionados con el deseo y la excitación. A nivel periférico, el sistema nervioso simpático y parasimpático regulan la actividad espinal refleja (erección/agrandamiento del clítoris) a través de la serotonina y otros neurotransmisores, regulando el orgasmo y la resolución. Los neurotransmisores dopamina (deseo), serotonina (saciedad) y endorfinas (resolución) son de gran importancia en el proceso sexual, encontrándose alterados en su regulación en múltiples trastornos psiquiátricos afectados por diversos fármacos.

En cuanto al orgasmo y la eyaculación están principalmente mediados por el sistema nervioso periférico, regulado parcialmente por el sistema nervioso simpático y parasimpático. Esto explica la alta incidencia de retardo en el orgasmo o anorgasmia que se presenta en los pacientes con tratamiento con ISRS. La excitación sexual también puede verse modificada como consecuencia de la variación de la libido o alteraciones en el orgasmo, dentro de los mecanismos de feedback. La regulación de la excitación sexual a nivel periférico también se asocia con el óxido nítrico, que puede encontrarse disminuido en las primeras semanas del tratamiento con algunos antidepresivos.

2.2.1.2.- El área preóptica medial:

El área preóptica medial, en el macho, es una estructura esencial para el comportamiento sexual (masculino). Esto se ha demostrado en varias especies de vertebrados (Hillarp et al, 1954; Heimer y Larsson, 1966; Slimp et al, 1978; Koyama et al, 1984; Lloyd y Dixson, 1988) y es más probable que las estructuras equivalentes en el hombre están involucradas (Paredes, 2003 y Paredes y Baum, 1997).

Si se produce una lesión en dicha zona, se elimina todo el comportamiento sexual de forma irreversible, siempre y cuando la lesión incluya la mayor parte de la estructura. Las lesiones axonales tienen los mismos efectos que las lesiones electrolíticas o de radiofrecuencia (Hansen et al, 1982). Por lo tanto, los cuerpos celulares ubicados dentro del área preóptica medial son necesarios.

La estimulación eléctrica de esta estructura produce un comportamiento sexual intenso (Schmidt, 1968; Merari y Ginton, 1975; Satou, 1984). Este efecto se ha observado de forma consistente en varias clases de vertebrados.

Otros medios para la estimulación de la descarga neuronal en el área preóptica son igualmente eficaces para mejorar la intensidad de la conducta sexual. Por ejemplo, el bloqueo de receptores GABA con biculina conduce a una reducción dramática del intervalo post-eyaculación y un aumento en el número de eyaculaciones por prueba (Fernández-Guasti et al, 1986). Se observan efectos similares cuando las neuronas se excitan mediante el depósito de iones ferrosos (Paredes y Agmo, 1992).

Estudios electrofisiológicos han demostrado que las neuronas en el área preóptica medial mejoran la tasa de disparos en el comportamiento-cópula. 16% de las neuronas lo hizo durante la persecución del macho de la hembra, otro 35% durante el empuje pélvico y un 43% durante la retirada rápida inmediatamente después de la intromisión. Después de una eyaculación, la mayoría de las neuronas reducen la tasa de disparos (Shimura et al, 1994). Este estudio sugiere que las neuronas-preoperativas están involucrados en toda la secuencia de eventos que forman el comportamiento copulador masculino.

Además, se sabe que el comportamiento sexual en animales castrados inactivos puede ser activado por los implantes de pequeñas cantidades de testosterona en el área preóptica (Davidson, 1966; Morgantaler y Crews, 1978; Balthazart y Surlemont, 1990).

Con los años, ha habido una cierta discusión con respecto a la función exacta del área preóptica medial, ejecutoria o motivacional. El principal argumento a favor de la función ejecutoria, proviene de estudios en los que las ratas habían sido entrenadas para llevar a cabo las respuestas para el acceso a una hembra receptiva. Después de la lesión preóptica, los machos pronto dejaron de copular con las hembras pero todavía realizan respuestas operantes para obtener acceso a ellas (Everitt y Stacey, 1987; Everitt, 1990).

Otros estudios han encontrado que las respuestas no condicionadas, al igual que la búsqueda de una hembra receptiva suprimirán las lesiones preópticas (Paredes et al, 1993; Hurtazo et al, 2003.). Del mismo modo, el interés en los olores de hembras receptivas desaparece después de lesiones preóptica en ratas y hurones (Paredes y Baum, 1995; Paredes et al, 1998). Estos datos muestran que las reacciones a los incentivos sexuales se reducen o son abolidas por lesiones preópticas y ese efecto se suele interpretar como motivacional. Algunos de los datos experimentales apoyan esta noción (Edwards y Einhorn, 1986), y otros (Hull et al, 1999; Paredes, 2003), están convencidos de que el área preóptica medial es fundamental para la motivación sexual. Si un animal no está motivado para copular, no tiene ninguna razón para mostrar cualquier conducta de cópula.

Tanto la motivación como la probabilidad de ejecución de los reflejos copuladores están determinadas por la excitabilidad de la zona preóptica medial.

2.2.1.3.- La lordosis en ratas macho (papel del área preóptica medial y el núcleo ventromedial del hipotálamo):

Las ratas macho hacen y exhiben conductas copulatorias típicas de su propio sexo. Además, muestran la lordosis fácilmente si se les da la estimulación táctil adecuada de la región perineal y los flancos, ya sea por un macho de montaje o por la mano del experimentador.

En algunas cepas, aproximadamente el 50% de los machos, no tratados muestran la lordosis, mientras que la proporción de machos que muestran este comportamiento puede ser 0 en otras cepas (Södersten et al, 1974). El comportamiento de la lordosis se reduce después de la castración y puede ser restaurada por el tratamiento con estradiol o testosterona (Södersten y Larsson, 1975). Los efectos del estradiol, así como los de la testosterona, son bloqueados por un antagonista del receptor de estrógeno (Södersten y Larsson, 1974), lo que sugiere que la aromatización de testosterona y la posterior estimulación de los receptores de estrógeno son cruciales.

Las lesiones de la zona preóptica medial mejoran el comportamiento de la lordosis en ratas macho de forma independiente de si la lesión es electrolítica o producido por una neurotoxina (Hennessey et al, 1986; Olster, 1993).

El núcleo ventromedial del hipotálamo es mejor conocido por su papel en el comportamiento de lordosis en las hembras de muchas especies de roedores. Sin embargo, también juega un papel en el comportamiento de lordosis en la rata macho. De hecho, la lesión del núcleo ventromedial elimina por completo este comportamiento (Chateau et al, 1987). Parece, pues, que el control neural de la lordosis en rata macho es idéntica a la de la lordosis de la hembra. Si las lesiones preópticas facilitan

comportamientos femeninos, entonces se podría esperar que las lesiones núcleo ventromedial facilitarían comportamientos masculinos.

La lesión bilateral de este núcleo estimula la mayoría de los aspectos de la cópula. Las latencias para montar e intromisiones se redujeron, mientras que el número de montajes, intromisiones y eyaculaciones que aparecen durante las pruebas fue realizada (Christensen et al, 1977). Estas observaciones confirman las de un estudio anterior (Dörner et al, 1969), pero contradicen los de una más reciente (Harding y McGinnis, 2005).

2.2.1.4.- La corteza prefrontal:

Los primeros datos, sugieren que la cantidad de tejido cortical eliminado es el factor que determina el efecto sobre el comportamiento sexual (Beach, 1940). Esta observación sugiere que todas las áreas corticales son igualmente importantes, o tal vez poco importante, para este comportamiento. Esta hipótesis se puso a prueba en un par de experimentos (Larsson, 1962, 1964). Los resultados mostraron que los efectos de las lesiones locales fueron modestos, pero ha sugerido que ablaciones frontales pueden tener efectos más grandes que dorsolateral o ablaciones posteriores. Esta observación fue seguida por un estudio de los efectos de grandes ablaciones de la corteza prefrontal medial y dorsomedial (Soulairac y Soulairac, 1972). Este tipo de lesión parecía tener un efecto fiable y bastante peculiar sobre el comportamiento sexual de la rata macho. Se confirmó estos resultados preliminares en un estudio bastante amplio de las consecuencias de la destrucción medial y dorsal prefrontal en ratas macho. Los sujetos con una lesión de este tipo, con frecuencia empezaron a copular después de dos horas o más tras exposición a una hembra receptiva, mientras que los controles comenzaron la cópula tras un minuto más o menos. Tan pronto como había comenzado la cópula, el comportamiento de los animales lesionados era indistinguible de la de los controles

intactos. El número de montajes de pre-eyaculatorios y intromisiones no era diferente de los controles y la latencia de la eyaculación, así como el intervalo post-eyaculación, estaban completamente afectada por la lesión (Agmo et al, 1995).

2.2.1.5.- Efectos de otras lesiones cerebrales en la conducta sexual masculina:

Las células espinotalámicas lumbares se activan específicamente con la eyaculación pero no con otros componentes de comportamiento sexual masculina (Truitt et al, 2003). La destrucción de éstas, elimina la eyaculación sin afectar a ningún otro aspecto de la conducta sexual de la rata macho (Truitt y Coolen, 2002).

2.2.1.6.- Neurofisiología de la respuesta sexual:

En los cambios físicos producidos durante la respuesta sexual se encuentran involucrados el Sistema Nervioso Simpático y el Parasimpático, y los distintos neurotransmisores juegan un importante papel. (Tabla 1).

En la erección se produce un aporte de sangre a los cuerpos cavernosos, en los que existe una inervación colinérgica y adrenérgica. Esta inervación proviene de las raíces D12, S2 y S3, y son fibras vasodilatadoras y vasoconstrictoras. La erección puede producirse desde el cerebro (psicogénica) y desde centros espinales (reflexogénica). Ambos tipos de erección suelen actuar sinérgicamente.

En la erección reflexogénica intervienen los nervios pélvicos parasimpáticos.

En la erección psicogénica intervienen los nervios simpáticos que parten de la zona cervical. Por este motivo, pacientes con lesiones sacras, pueden tener erecciones.

Para la eyaculación se producen contracciones rítmicas del epidídimo, vasos deferentes, vesículas seminales y próstata, expulsando el líquido seminal a la uretra prostática. Al ser estimulado el bulbo uretral se cierra el cuello de la vejiga para impedir la eyaculación retrógrada. El líquido seminal es expulsado al exterior por contracciones

rítmicas del bulbo uretral y de la musculatura estriada perineal. El epidídimo, los vasos deferentes y las vesículas seminales tienen terminaciones adrenérgicas y colinérgicas. La estimulación adrenérgica es la que produce la emisión del semen y el cierre del cuello vesical, persistiendo dudas sobre el papel de las fibras colinérgicas.

En la mujer, la lubricación vaginal se produce como resultado de la vasocongestión. Los cambios en el clítoris y labios serían de naturaleza similar a la erección producida en el hombre. Las respuestas vasculares están controladas por impulsos parasimpáticos a través del plexo sacro (Merino y Carda Plazaola 1995).

Tabla 1: Neurotransmisores y función sexual

	Erección	Eyaculación	Orgasmo
Dopamina	+	0	0
Serotonina	0	-	-
Adrenérgico alfa 1	-	+	0
Adrenérgico alfa 2	+	0	0
Colinérgico	M	M	M

+: Efecto positivo.; -: Efecto negativo. ; 0: Sin efecto; M: Efecto modulador.

2.2.2.- Control endocrino de la sexualidad:

Para poder explicar el papel que juega el sistema endocrino en la función sexual es necesario mencionar la testosterona (tanto en machos humanos como en animales) sus receptores, sus metabolitos y su proceso de aromatización. Sin olvidar los datos aportados por los estudios de los ratones knockout.

2.2.2.1.- La importancia de las hormonas testiculares en los varones humanos:

Algunos efectos de la eliminación de las hormonas testiculares han sido implícitamente conocida desde hace miles de años. A partir de un período desconocido

de la remota antigüedad, los hombres castrados, eunucos, fueron utilizados como sirvientes en los harenes y como chambelanes a reyes (Humana, 1973). El hecho de que se prefirieron los eunucos para el empleo como guardias y sirvientes de las mujeres puede sugerir que ya en estos tiempos antiguos se sabía que los hombres castrados habían reducido o no tenían ningún interés sexual.

En el mundo cristiano se llegó a considerar la castración como un medio para facilitar la entrada en el Paraíso. Por ejemplo, uno de los grandes pensadores de la Iglesia griega, Orígenes (nombre completo Oregenes Adamantius, nacido en el año 185 en Alejandría, Egipto y murió en 254 en Tiro, Fenicia) se dice que se castró a sí mismo con el fin de evitar las tentaciones sexuales. Había incluso una secta eunuco, el Valesii, activo en el siglo tercero, en el que los miembros no sólo se castraban a sí mismos a la mayor gloria de Dios, sino que también castraban cualquier visitante a su monasterio (Kuefler, 2001 y Scholten, 1995). Una vez más, el objetivo era reducir o eliminar los impulsos sexuales y los actos pecaminosos que estos impulsos pueden haber incitado a los hombres a participar. Esto significa que la reducción en la actividad sexual después de la castración debe haber sido conocido por más de mil años.

Algunos otros efectos de los productos que emanan de los testículos también han sido conocidos durante mucho tiempo. En Italia, los muchachos fueron castrados para evitar la profundización de la voz asociado con la pubertad. Como adultos, estos hombres tenían una hermosa voz de soprano, muy apreciada por muchos amantes de la música. La práctica de la castración con el fin de preservar una voz infantil se suspendió por el Papa León XIII en 1878. Aquí encontramos un ejemplo que muestra que algunos de los efectos periféricos de los productos testiculares eran tan conocidos como sus efectos nerviosos centrales.

Existen muchos estudios científicamente aceptables de las consecuencias de la castración en hombres. La mayoría, si no todos, pueden ser criticados por el empleo de muestras no representativas, esto es por razones fácilmente comprensibles, que no es posible castrar una muestra aleatoria de los hombres. Los hombres que fueron castrados casi siempre habían sido condenados por delitos sexuales y que normalmente se les ofreció un descuento de pena si aceptaban la castración. Esta práctica era considerada inhumana en muchas sociedades. En Noruega, el procedimiento todavía se puede realizar legalmente después de la demanda por parte del individuo y la aprobación por un comité, pero no hay demanda de castración desde 1974. Durante la primera mitad del siglo pasado, sin embargo, la castración de los delincuentes sexuales se realizó regularmente en Europa y algunos científicos se beneficiaron de este para evaluar el comportamiento sexual en estos castrados a largo plazo. Cabe señalar que todas estas castraciones se realizaron después de la pubertad. Por lo tanto, no sabemos cuáles son los efectos si ésta se realiza en la etapa prepuberal.

Los datos de los estudios de hombres castrados en varios países europeos son inequívocos en la forma en que todos ellos muestran que la intensidad de las conductas sexuales, incluyendo sueños y fantasías, se redujeron mucho (por ejemplo Wantoch, 1935; Bremer, 1958; Sturup, 1972; Heim y Hursch, 1979; Ortmann, 1980; Heim, 1981; Wille y Beler, 1989). Además de castrar a los delincuentes sexuales, los profesionales médicos han castrado hombres por otros motivos. Una de estas razones es cáncer de próstata. Los comportamientos sexuales se reducen o eliminan como consecuencia (Bergman et al, 1984). Un estudio de los pacientes con cáncer castrados evaluó la respuesta genital a los incentivos sexuales en forma de una película pornográfica. En lugar de confiar en los cuestionarios o entrevistas como la gran mayoría de los estudios realizados en hombres castrados, este estudio excepcional empleó una medida objetiva

de la respuesta genital. La circunferencia del pene se controla mediante indicadores de tensión colocados en la base del pene y cerca de la corona. Las películas pornográficas aumentan la circunferencia del pene en la mayoría de los hombres, sólo el 25% de los pacientes con cáncer castrados muestra esta respuesta a la película. Los hombres que experimentaron erección, que se manifiesta como un aumento de la circunferencia del pene, tenían concentraciones de testosterona libre en suero aproximadamente el doble de los que no están mostrando la erección (Greenstein et al, 1995). Este resultado sugiere que la secreción adrenal de andrógenos puede ser suficientemente alta, en algunos hombres, para el mantenimiento de un cierto nivel de funcionamiento sexual, incluso en ausencia de andrógenos testiculares.

Debemos recordar que la única fuente de andrógenos en los hombres castrados es la glándula suprarrenal. Estos datos también constituyen una de las pocas piezas existentes de evidencia directa que demuestra que el impacto de los incentivos sexuales es dependiente de andrógenos en el macho humano. La breve revisión anterior de los comportamientos sexuales en los hombres castrados debería haber puesto en evidencia que los andrógenos en efecto son importantes para estos comportamientos. Esta conclusión es un tanto oscurecida por dos complicaciones. Una de ellas es que los pacientes con cáncer de próstata no son necesariamente representativos de la población general. La otra es que los seres humanos producen andrógenos en la corteza suprarrenal. La castración del varón humano, como de otros primates, no reduce la disponibilidad de andrógenos tanto como la castración de las ratas y otros roedores. En contraste a los primates, la corteza suprarrenal de rata no produce andrógenos (Van Weerden et al, 1992) por ello su concentración en sangre cae rápidamente por debajo de los límites de detección en ratas macho. Por lo tanto, no hay una razón a priori para

predecir que los efectos de la castración en los comportamientos sexuales masculinos deben ser idénticos en humanos como en ratas.

2.2.2.2.- La importancia de las hormonas testiculares en los machos no humanos:

Los campesinos han sabido que la castración modifica el comportamiento de los animales domésticos durante siglos. Los toros se convirtieron en bueyes para hacerlos más manejables y los machos de otras especies fueron castrados para mejorar el sabor de su carne. A pesar de la sabiduría popular, hace sólo unos 100 años, que fue publicado el primer estudio experimental de las consecuencias en el comportamiento tras la eliminación testicular en un mamífero.

En un estudio, ratas macho fueron castradas y se encontró que su comportamiento copulador desaparecía después de algún tiempo (Steinach, 1894). La desaparición de los comportamientos sexuales después de la castración se ha confirmado en muchas especies de mamíferos.

Un profesor de la Universidad de Göttingen en Alemania realizó un estudio en el que se había encontrado que la extirpación de los testículos en los gallos elimina comportamientos de apareamiento. Sin embargo, si los testículos, simplemente se desplazan de su lugar normal de la cavidad abdominal, en lugar de ser eliminado del animal, no se produce disminución en comportamientos sexuales. Todas las conexiones nerviosas y vasculares a los testículos habían sido cortadas durante el proceso. El examen histológico postmortem reveló que los testículos se habían revascularizado, pero no había ninguna indicación de una inervación restablecida. La conclusión fue que los testículos producen algún factor de transmisión sanguínea que estimula el comportamiento sexual (Berthold, 1849).

Esta sugerencia fue confirmada en ratas en un estudio ya clásico en el que se encontraron las inyecciones de “*extracto testicular*” para restaurar la cópula en los machos castrados (Nissen, 1929). El *factor de transmisión sanguínea* que emana de las células en los testículos fue identificado en 1935. Resultó que pertenecen a un grupo de lípidos llamados esteroides y se le dio el nombre de testosterona.

Poco después, se demostró que las inyecciones de testosterona, ya sea libre o en forma de éster propionato, activa la conducta de cópula en ratas machos castradas (Shapiro, 1937; Moore y Price, 1938; Stone, 1939). La capacidad de la testosterona para restaurar la cópula en los machos castrados se confirmó rápidamente en muchas especies diferentes de mamíferos (Beach, 1948).

Varios estudios revelaron que la hormona actuó directamente dentro del cerebro cuando se produjo la reactivación del comportamiento copulatorio en ratas macho castradas. Implantes en el área preóptica medial fueron capaces de restaurar el comportamiento. Estos implantes no tuvieron ningún efecto sobre los tejidos periféricos diana, mostrando que la hormona no se escapó a la circulación en cantidades fisiológicamente significativas (Davidson, 1966). En consecuencia, su acción debe haber sido en el cerebro.

Una observación interesante es que la terapia con andrógenos anabólicos reduce los síntomas depresivos en los pacientes hipogonadales, de manera similar a como lo hacen los fármacos antidepresivos tradicionales, lo que sugiere una interacción entre los andrógenos, los circuitos cerebrales y los sistemas de neurotransmisión que participan en la regulación del estado de ánimo y los trastornos afectivos (Martínez-Mota et al, 2012).

2.2.2.3.- El papel de los metabolitos de testosterona en los machos no humanos:

En la década de 1960, se descubrió que un metabolito de la testosterona, 5 α -dihidrotestosterona, se forma a partir de la testosterona circulante en los órganos diana periféricos, como la próstata o la vesícula seminal. La enzima responsable de la transformación de la testosterona en dihidrotestosterona-5 α -reductasa, que está presente en los tejidos diana.

La dihidrotestosterona tiene una mayor afinidad por el receptor de testosterona que ésta en sí misma y pronto se sugirió que la testosterona era un pre-hormona y que necesitaba ser transformada en dihidrotestosterona antes de tener cualquier efecto fisiológico (Wilson y Gloyne, 1970). Era bastante lógico suponer que esto también sería el caso de las acciones de la testosterona en el sistema nervioso central, en particular desde que se había demostrado la presencia en el cerebro de 5 α -reductasa (Jaffe, 1969). Para sorpresa de muchos científicos, este no fue el caso. La dihidrotestosterona resultó ser bastante ineficiente para la restauración de comportamiento copulatorio en ratas machos castradas (McDonald et al, 1970).

Además, algunos estudios han demostrado que los antagonistas del receptor de andrógenos en ratas machos no dan una falta de comportamiento copulatorio tales como el bloqueo de las acciones de testosterona en los tejidos periféricos (próstata y la vesícula seminal) (Beach y Westbrook, 1968; Whalen y Edwards, 1969).

Estas dos líneas de evidencia han permitido proponer que la estimulación de los receptores de andrógenos en el sistema nervioso central no es necesaria para la conducta sexual.

Casi al mismo tiempo, otra enzima había sido descrita, la aromatasa. Esta enzima transforma la testosterona en estradiol. La aromatasa se encuentra principalmente en el cerebro, especialmente en las zonas que se consideran importantes para la cópula (Ryan et al, 1972).

Ya se sabía que el estradiol tiene algunos efectos estimulantes sobre este comportamiento en los animales castrados. De hecho, el estradiol se sabe que estimula de manera eficiente la conducta de monta, pero sus efectos sobre la intromisión fueron leves (Beach, 1942; Davidson, 1969; Södersten, 1973). Las dosis/minuto de estradiol en combinación con dihidrotestosterona era tan eficiente como la testosterona para la restauración de comportamiento copulatorio en ratas castradas (Baum y Vreeburg, 1973; Larsson et al, 1973.).

Las observaciones pioneras pronto fueron confirmadas en una impresionante cantidad de estudios que emplean diferentes técnicas. Por ejemplo, los efectos de los implantes en el cerebro de la testosterona, el estradiol y la dihidrotestosterona se evaluaron en hámsters machos castrados y se encontró que la testosterona era más eficiente que el estradiol, mientras que la dihidrotestosterona era inactiva con respecto a la estimulación de la conducta de cópula (Lisk y Bezier, 1980).

Los inhibidores de la aromatasa se muestran para bloquear la capacidad de la testosterona para estimular este comportamiento en ratas machos castrados (Beyer et al, 1976; Morali et al, 1977). Por lo tanto, parece que la estimulación de los receptores de andrógeno por sí sola no es suficiente para la activación de la conducta sexual masculina en ratas macho castradas. Este parece ser el caso también en algunos otros roedores. En ratones, la dihidrotestosterona sistémica restaura el comportamiento sexual a niveles precastracional en algunas cepas, mientras que este andrógeno es inactivo en otros (Lüttge y Hall, 1973). También hay cepas de ratas que son sensibles a la

dihidrotestosterona (Olsen y Whalen, 1984). Este andrógeno también activa los comportamientos sexuales en el mono rhesus (Phoenix, 1974), mientras que el estradiol es ineficaz en este primate (Michael et al, 1990). En el macaco cangrejero, también llamado el macaco de cola larga o el macaco (*Macaca fascicularis*), el papel de la aromatización o la falta de la misma es menos clara que en el rhesus. Hay datos que indican que la dihidrotestosterona es incapaz de restaurar el comportamiento sexual en machos castrados (Michael et al, 1986).

Por tanto, como conclusión de la función de aromatización, podemos decir que la activación de los receptores de estrógeno no es indispensable para la iniciación de la conducta copulatoria del macho y que la dihidrotestosterona, y por consiguiente la estimulación exclusiva de los receptores de andrógenos, de hecho, puede ser suficiente para la completa restauración de estos comportamientos en los machos castrados de muchas especies. En el caso de la rata, parece que la restauración completa de la conducta sexual en machos castrados, así como la activación inicial de la conducta en la pubertad y su mantenimiento durante la vida adulta, requiere la estimulación simultánea de los receptores de andrógenos y estrógenos en el sistema nervioso central (Vagell y McGinnis, 1997). En los hombres, la mayoría de los datos existentes sugieren que la estimulación del receptor de andrógenos por sí sola es suficiente para la activación y el mantenimiento de los comportamientos sexuales.

Mediante el uso de modelos animales de trastornos psiquiátricos se ha establecido que la testosterona produce acciones antidepresivas en el ratón macho, mientras que el metabolito 3,5-androsta-nediol (3-alfa-diol) disminuye la ansiedad, mejora las funciones cognitivas (aprendizaje y memoria) y produce efectos hedónicos en las ratas macho, a través de su interacción con los receptores de estrógenos. A su vez, el 17-beta-estradiol administrado directamente como un tratamiento de restitución hormonal en ratas

hembra produce efectos antidepresivos, parecidos a los de los ISRS. Sin embargo, en la rata macho no se ha determinado si la testosterona y el 17-beta-estradiol son capaces de inducir acciones antidepresivas en modelos experimentales (Martínez-Mota et al, 2012).

2.2.2.4.- Los estudios en ratones knockout:

Los ratones knockout son ratones a los que se le hace un delección en un gen; con frecuencia se le da un primer nombre que contiene el nombre del producto génico eliminado. Por ejemplo, un ratón que no expresan el receptor de estrógeno α se llama “del receptor de estrógeno α knock-out”.

Antes de empezar a hablar de los ratones knockout es preciso explicar el término “organización”. Los primeros efectos sobre el cerebro de los hormonas esteroideas se llaman “organización”, en el sentido de que la organización del sistema nervioso central para ser como el de un varón. La ausencia de las hormonas gonadales permite que el cerebro permanezca “desorganizado”, es decir, ser como la de una mujer. Es una forma de interpretar el término 'organización'. Una vez que el cerebro ha sido “organizado o desorganizado”, la concentración en sangre de las hormonas gonadales será muy baja hasta la pubertad.

En ratones con delecciones de genes, los efectos de la organización de las hormonas gonadales serán anormales. La anomalía concreta depende de los receptor/receptores eliminados, pero es evidente que el sustrato anatómico y funcional para la acción de la hormona gonadal en la edad adulta es diferente de la de un animal no manipulado. Aunque es muy interesante, los resultados de los estudios que emplean modelos knockout deben ser interpretados con mucha precaución.

Afortunadamente, en el caso de las conductas sexuales que tenemos los datos de muchas otras fuentes y, como veremos, los datos obtenidos en estudios de ratones

knockout coincidimos en su mayoría con las observaciones anteriores que emplean otras técnicas para bloquear acciones del receptor.

Los ratones sin un receptor de estrógeno- α presentan un comportamiento sexual deficiente. Puede tener alguna conducta de monta, pero rara vez se realizan intromisiones y la eyaculación casi nunca es vista (Rissman et al, 1997; Wersinger et al, 1997; Ogawa et al, 1998.). Estos ratones tienen concentraciones de andrógenos en la sangre por encima de lo normal (Eddy et al, 1996; Rissman et al, 1997), por lo que su comportamiento copulatorio deficientes no pueden ser una consecuencia de la reducida disponibilidad de andrógenos. Las diferencias en las concentraciones de andrógenos en sangre entre el knockout y el tipo salvaje fueron, de hecho, eliminados en algunos de los estudios de comportamiento mediante el uso de los machos castrados dados de reemplazo de testosterona.

Lo que muestran los datos es que el receptor de estrógenos α es necesario, ya sea para la organización de los circuitos cerebrales implicados en la conducta sexual o por los efectos de las hormonas gonadales en la activación en los animales después de la pubertad, o de los efectos organizativos y activacionales de estas hormonas.

Después de la eliminación del receptor de estrógenos β no vemos ningún déficit en el comportamiento sexual (Ogawa et al, 1999).

En los ratones que carecen tanto de la α y los receptores de estrógenos β , el comportamiento sexual está completamente ausente. El hecho de que la delección combinada de la α y los genes de los receptores de estrógeno β tiene efectos más dramáticos que la delección del gen del receptor α solo sugiere que el receptor β tiene algún papel en algún momento, aunque su ausencia por sí mismo no modifica el comportamiento sexual de la rata macho. Sin embargo, los datos de los diferentes

ratones knockout de receptores de estrógenos, convincentemente muestran que se necesitan receptores de estrógeno para la plena expresión de la conducta sexual masculina.

También hay algunos estudios que han analizado los comportamientos sexuales en los ratones que carecían del gen que codifica la aromatasa. Este tipo de ratón knockout habría reducido mucho las concentraciones de estrógenos en el cerebro y en otros tejidos en los que normalmente está presente aromatasa. En estos knockout se ve interrumpida severamente la conducta copulatoria. Además, los machos no muestran comportamientos de aproximación a las hembras o sus olores en varios procedimientos de prueba diferentes (Bakker et al, 2002). Aunque los ratones de la aromatasa pueden tener cantidades normales de los receptores de estrógenos, estos receptores deben estar inactivos porque no hay estrógenos que se puede unir a ellos. Por lo tanto, cabe esperar que las consecuencias conductuales de la falta de receptores de estrógeno o de la aromatasa deberían ser muy similares, una expectativa que fue confirmada experimentalmente.

2.2.3.-Modelos:

La respuesta sexual puede ser descrita a través una serie de fases cuyas características son distintas en el hombre y en la mujer. En 1966 Master y Johnson describieron cuatro fases de la respuesta sexual. Posteriormente en el año 2000 Clayton hizo una descripción de la respuesta sexual en tres fases.

2.2.3.1. - Fases de la respuesta sexual Master y Johnson, 1966 (figura 6):

• **Fase I, excitación:** se desencadena por estimulación psicológica (fantasía) o fisiológica (caricias, besos). Puede durar minutos u horas. Sus características son:

- 1) **Mujer:** lubricación vaginal y turgencia del clítoris.

2) **Hombre:** erección del pene.

• **Fase II, meseta:** puede durar de treinta segundos a varios minutos y sus características son:

1) **Mujer:** contracción del tercio externo de la vagina, elevación del clítoris y retracción tras la sínfisis pubiana; aumento de la tamaño de los senos, edematización de los labios mayores, cambio en la coloración de los labios menores.

2) **Hombre:** aumento del tamaño del pene y glande, aumento del tamaño testicular, emisión del líquido mucoide.

3) **Ambos:** contracciones musculares, elevación de la presión arterial, taquipnea y taquicardia.

• **Fase III, orgasmo:** percepción subjetiva de máxima reactividad a los estímulos, seguida de un breve periodo de liberación de la vasoconstricción y miotonía. Sus características son:

1) **Mujer:** contracciones de la plataforma vaginal, contracciones del útero (desde el fondo hasta el cuello).

2) **Hombre:** inevitabilidad eyaculatoria y emisión de semen; cuatro o cinco espasmos rítmicos de próstata, vesículas seminales y uretra a intervalos de 0.8 segundos.

3) **Ambos:** contracciones involuntarias del esfínter interno y externo del ano.

• **Fase IV, resolución:** vaciamiento sanguíneo de los genitales (detumescencia) que inicia el retorno del organismo al estado de reposo. Sus características son:

1) **Mujer:** detumescencia del clítoris en 5-10 minutos; si no hay orgasmo, ingurgitación que dura horas, recuperación del tamaño de los labios mayores, vuelta a la coloración normal de los labios menores.

2) **Hombre:** detumescencia total en 5-10 minutos; si no hay orgasmo la detumescencia se prolonga 6-8 horas.



Esquema. 6.- Ciclo de Respuesta Sexual Humana (Master y Jhonson, 1966)

2.2.3.2.- Fases de la respuesta sexual:

Las fases de la respuesta sexual por Mass M, (2000) y Clayton (2000), son:

1.- Fase de deseo: propensión a realizar actos sexuales y obtener gratificación de ellos, se genera en el cerebro incluye fenómenos afectivos y cognitivos; parece claramente influenciado por los valores de hormonas sexuales, en particular los andrógenos; asimismo, se han identificado varios neurotransmisores que influyen en este estado y que pueden ser interferidos por diversos tratamientos farmacológicos.

2.- Fase de excitación: se caracteriza por el aumento considerable del aporte sanguíneo a la pelvis y la región genital, debido a la vasodilatación de los órganos que contienen.

• **Mujer:** erección del clítoris y vasocongestión del suelo de la pelvis, con aumento y dilatación de la vulva y lubricación vaginal.

- **Hombre:** erección del pene y aumento de secreciones del tracto genital, como la prostática.

3.-Fase de orgasmo: se caracteriza por contracciones intermitentes tanto de la musculatura lisa de los órganos genitales como de la esquelética.

- **Mujer:** contracciones uterinas, contracción rítmica de los músculos estriados del suelo de la pelvis. Estrechamiento intermitente de las paredes vaginales.

- **Hombre:** contracción del conducto deferente, enviándose los espermatozoides almacenados en la uretra y de las vesículas seminales y la próstata que vierten su contenido en esta.

- **Ambos:** contracción intermitente del esfínter anal.

2.2.4.- Clasificación de la disfunción sexual:

A continuación se describe la clasificación de las disfunciones sexuales según criterios diagnósticos de DSM-IV, DSM,-V, CIE-10 y según la fase afectada.

2.2.4.1.- DSM-IV (American Psychiatric Assosiation, 1994):

- Trastorno del deseo sexual

F52.0 Deseo sexual hipoactivo

F52.10 Trastorno por aversión al sexo

- Trastorno de la excitación

F52.2 Trastorno de la excitación sexual en la mujer

F52.2 Trastorno de la erección en el hombre

- Trastornos orgásmicos
 - F52.3 Trastorno orgánico femenino
 - F52.3 Trastorno orgánico masculino
 - F52.4 Eyaculación precoz
- Trastornos sexuales por dolor
 - F52.6 Dispaurenia (no debida a enfermedad médica)
 - F52.5 Vaginismo (no debido a enfermedad médica)
- Trastorno sexual debido a enfermedad médica
- Trastorno sexual inducido por sustancias
- Disfunción sexual no especificada

2.2.4.2.- CIE-10 (World Health Organization, 1992):

- Trastorno del deseo sexual
 - Ausencia o pérdida del deseo sexual.
 - Rechazo sexual y ausencia de placer sexual
- Trastorno de la excitación
 - Fracaso de la lubricación
 - Disfunción eréctil
- Trastornos orgásmicos
 - Disfunción orgásmica
 - Eyaculación precoz
- Trastornos sexuales por dolor
 - Dispaurenia
 - Vaginismo

2.2.4.3.- DSM-V (American Psychiatric Association, 2013):

- Eyaculación retardada 302.74 (F52.32)
- Trastorno eréctil 302.72 (F52.21)
- Trastorno orgánico femenino 302.73 (F52.31)
- Trastorno del interés/excitación sexual femenino 302.72 (F52.22)
- Trastorno del dolor génito-pélvico/penetración 302.76 (F52.6)
- Trastorno del deseo sexual hipoactivo en el varón 302.71 (F52.0)
- Eyaculación prematura (precoz) 302.75 (F52.4)
- Disfunción sexual inducida por sustancias/medicamentos
- Otra disfunción sexual específica 302.79 (F52.8)
- Disfunción sexual no especificada 302.70 (F52.9)

Tabla 2: Disfunción sexual inducida por sustancias/medicamentos

SUSTANCIA		Trastorno por consumo leve	Trastorno por consumo moderado-grave	Sin trastorno por consumo
Alcohol	291.89	F10.181	F10.281	F10.981
Opiáceos	292.89	F11.181	F11.281	F11.981
Sedante hipnótico o ansiolítico	292.89	F13.181	F13.281	F13.981
Anfetamina (u otro estimulante)	292.89	F15.181	F15.281	F15.981
Cocaína	292.89	F14.181	F14.281	F14.981
Otra sustancia (o sustancia desconocida)	292.89	F19.181	F19.281	F19.981

2.2.4.4.-Según la fase del ciclo de la respuesta sexual que se vea afectada las disfunciones son (M^a. J. Merino, M. García Plazaola, 1995):

a) En la **Fase 1**: disminución de la libido; hipersexualidad; fallos en la erección, vaginismo. Pérdida de lubricación vaginal.

b) En la **Fase II**: imposibilidad de completar la erección; eyaculación precoz; contracciones dolorosas vaginales, dispaurenia.

c) En la **Fase III**: eyaculación retardada o retrógrada; incapacidad para eyacular; anorgasmia. Orgasmo retardado; orgasmos dolorosos.

d) En la **fase IV**: erección u orgasmos mantenidos; imposibilidad de detumescencia.

e) **Otros**: priapismo; orgasmos espontáneos.

2.2.5.- Neurofisiología de la disfunción sexual:

En la disfunción sexual se han visto involucradas la transmisión adrenérgica, colinérgica, serotoninérgica y dopaminérgica. La interacción de estos sistemas podría ser la siguiente:

1. La neurotransmisión adrenérgica: está involucrada en la disfunción eréctil por alteración en el balance de alfa y beta en receptores con predominio del alfa-adrenérgico (que desvía el flujo sanguíneo de los cuerpos cavernosos produciendo flaccidez) sobre el receptor beta-2, que mantiene la sangre en los cuerpos cavernosos (erección). Así, los beta-bloqueantes dificultan la erección; por contra, el bloqueo alfa-adrenérgico facilita la erección como es el caso de la fentolamina, yohimbina, trazodona, esta última sustancia puede producir priapismo como resultado del bloqueo sin oposición colinérgica; se puede revertir el priapismo con drogas de efectos anticolinérgicos (difenhidramina y benzotropina). La estimulación adrenérgica es necesaria para la eyaculación. Todos los antidepresivos con antagonismo adrenérgico (imipramina, clorimipramina, amoxapina, amitriptilina), pueden originar por tanto problemas eyaculatorios. La eyaculación retrógrada se produce por una alteración en el balance adrenérgico y colinérgico, que impide el cierre vesical. Puede ser tratada con bronfeniramina, un agente anticolinérgico y antihistamínico.

2. Respecto a los mecanismos colinérgicos implicados en la disfunción: se creyó que las fibras colinérgicas parasimpáticas eran responsables de la erección del pene y que la impotencia secundaria a los antidepresivos tricíclicos la producía directamente el efecto colinérgico de éstos. Sin embargo, no existe correlación entre la presencia notable de otros efectos secundarios anticolinérgicos (sequedad de boca, estreñimiento, retención urinaria, dificultades de acomodación) y disfunción sexual. La neurotransmisión colinérgica actuaría como «moduladora» de la influencia de otros neurotransmisores. El betanecol, un agente muscarínico que se utiliza para tratar la disfunción sexual por algunos antidepresivos, actúa a través de su acción agonista muscarínica potenciando la función adrenérgica.

3. Los efectos serotoninérgicos pueden ser centrales, espinales o periféricos:

Los centrales serían responsables de la anorgasmia.

Los espinales inhiben la eyaculación.

Los periféricos relajan la musculatura lisa del tejido eréctil.

La serotonina produce «inputs» de inhibición hacia el hipotálamo, afectando a la respuesta sexual. Los resultados son contradictorios: puede aumentar o disminuir el funcionamiento sexual según produzca antagonismos de algunos subtipos de receptores, agonismos parciales, o baja regulación del receptor que altera la liberación de serotonina. La serotonina puede también inhibir los «inputs» adrenérgicos que son necesarios para la erección, eyaculación y orgasmo. Las neuronas serotoninérgicas pueden afectar a las vías dopaminérgicas originando bostezos y anorgasmia, por estimulación e inhibición dopaminérgica respectivamente.

Los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina causan depleción de los depósitos de dopamina en algunas regiones cerebrales.

Pueden producir efectos secundarios similares a los antagonistas dopaminérgicos (acatisia y extrapiridamidalismo). La amantadina, agonista dopaminérgico, resuelve la acatisia y la anorgasmia.

4. La dopamina actúa facilitando la erección. Agonistas dopaminérgicos como la apomorfina y bromocriptina, producen respuesta eréctil, al igual que inhibidores de la recaptación de dopamina (anfetamina, cocaína) y precursores de la dopamina (L-dopa). La dopamina no interviene en la eyaculación.

2.2.6.- Disfunción sexual secundaria antidepresivos:

Con el uso racional de los psicofármacos se ha mejorado el pronóstico de las enfermedades mentales; sin embargo con el paso de los años se que ha quitado el foco de atención en los efectos secundarios, fundamentalmente en los denominados “efectos indeseables menores”. Dichos efectos secundarios pueden llegar a ser determinantes en la calidad de vida de los pacientes. Una mejor calidad de vida del paciente en torno al psicofármaco es muy importante para el necesario cumplimiento terapéutico (Fleischhacker et al, 1994).

La psicofarmacología se ha centrado en conocer el mecanismo de acción de los psicofármacos con el objetivo de predecir la respuesta terapéutica y conocer los aspectos puramente biológicos de la enfermedad mental y también prestar atención a la prevención de efectos indeseables. Por ello es fundamental conocer qué mecanismos de acción están implicados en los efectos indeseables, con el fin de evitarlos en el futuro.

El tratamiento antidepresivo, aunque es efectivo al mejorar las manifestaciones de la depresión mayor, también puede ser capaz de inducir o exacerbar algunos síntomas de disfunción sexual. Durante la terapia antidepresiva los síntomas de disfunción sexual pueden ser: disfunción eréctil, disminución de la libido, dificultades en la excitación,

dificultades en la lubricación vaginal, retraso en la eyaculación y anorgasmia, entre otros; estos síntomas afectan negativamente la calidad de vida del sujeto que los padece y su autoestima, esto puede conducir a la falta de apego al tratamiento y, en consecuencia, a la recaída de la sintomatología depresiva (Secín Diep et al, 2012).

Los efectos indeseables, denominados “disfunciones sexuales provocadas por psicofármacos” han pasado, en este contexto, a ser objetivo muy importante en la terapéutica farmacológica psiquiátrica.

Los ISRS provocan una amplia variedad de DS, desde las más habituales como descenso en la libido, disminución de la excitación y retardo en el orgasmo, a otras más anecdóticas como priapismo, incluyendo priapismo clitoreideo, erección prolongada, anestesia genital, anestesia peneana, erección espontánea, orgasmos espontáneos, eyaculación espontánea, aumento de la libido y orgasmos dolorosos u obsesiones sexuales (Arias et al, 2000)

Las estimaciones de la disfunción sexual asociada a los ISRS varían entre porcentajes bajos y porcentajes superiores al 80 %. No se conoce la frecuencia exacta debido al hecho de que algunos estudios comunican la incidencia (el número de casos nuevos en determinada población durante determinado período de tiempo) y otros la prevalencia (el número de casos existentes en determinada población durante determinado período de tiempo o en un momento concreto). Montgomery y cols. señalaron diversos obstáculos para establecer la prevalencia exacta de la disfunción sexual relacionada con la toma de antidepresivos. Una dificultad radica en que los datos sobre la prevalencia de la disfunción sexual en la población general son escasos, lo que no permite establecer unos valores de referencia «normales». En segundo lugar, los pacientes con varios trastornos mentales tienen un riesgo elevado de presentar una disfunción sexual atribuible al impacto que tienen las enfermedades sobre las relaciones

sociales y la conducta. En tercer lugar, la conducta sexual humana está influida por factores sociales y culturales que varían con el tiempo, según el lugar, el grupo étnico, la clase social, etc. En cuarto lugar, los datos sobre la conducta sexual tienden a ser infracomunicados; se ha publicado que la comunicación espontánea por parte de los pacientes y las preguntas directas realizadas por los médicos difieren hasta en un 60 %. En quinto lugar, la mayoría de los estudios sobre la disfunción sexual asociada a los antidepresivos tienen defectos metodológicos, como la utilización de escalas de evaluación no validadas o la falta de evaluaciones iniciales de referencia, de grupos controlados con placebo, de aleatorización o de enmascaramiento. También podría añadirse que la mayoría de los estudios no tienen en cuenta los factores concomitantes, como la comorbilidad de otros trastornos mentales (p. ej., la depresión mayor y los trastornos de ansiedad), el abuso comórbido de sustancias, la presencia de enfermedades comórbidas y el tratamiento con otros fármacos que pueden causar la disfunción sexual (p. ej., fármacos cardiovasculares). Los estudios realizados por Montejo y cols.; Clayton y cols. ilustran lo complejo que resulta calcular la incidencia y prevalencia de la disfunción sexual asociada a los ISRS: las diferencias entre la incidencia de disfunción sexual del primer estudio y la prevalencia de disfunción sexual del segundo estudio, observadas para los diferentes antidepresivos, fueron del 73 frente al 40 % para citalopram, del 58 frente al 36 % para fluoxetina, del 71 frente al 43 % para Paroxetina y del 63 frente a 40 % para sertralina. En otro estudio, la prevalencia de disfunción sexual asociada a los antidepresivos (ISRS y otros) en el Reino Unido y en Francia fue del 39 y del 27 %, respectivamente. Un cálculo realista de la incidencia de disfunción sexual asociada a los ISRS se sitúa, seguramente, entre el 30 y el 50 %. Montgomery y cols. No obtuvieron pruebas suficientemente concluyentes de las diferencias en la

incidencia de disfunciones sexuales de origen farmacológico entre los antidepresivos disponibles (Balon, 2006).

El cerebro juega un papel fundamental en la respuesta sexual, que involucra una combinación de factores neurogénicos, psicogénicos, vasculares y hormonales que son mediados a través del hipotálamo, sistema límbico y la corteza cerebral. Varios neurotransmisores y neuropéptidos han sido implicados en la respuesta sexual y la DS ha sido relacionada con un incremento de serotonina, descenso de dopamina, bloqueo de receptores colinérgicos y alfa1-adrenérgicos, inhibición de óxido nítrico sintetasa y elevación de los niveles de prolactina. Un incremento en la disponibilidad de serotonina inhibe el deseo sexual, la eyaculación y el orgasmo, principalmente a través de agonismo de los receptores 5-Ht₂ y 5-Ht₃, mientras que la liberación de dopamina incrementa la función sexual (Secín Diep et al, 2012).

Revisamos por tanto las posibles bases farmacológicas por las que los psicofármacos pueden inducir disfunciones sexuales.

Tomando como ejemplo de función sexual “la erección” podemos afirmar que dentro del Sistema Nervioso Autónomo, el Sistema Nervioso Simpático es principalmente antieréctil y el Sistema Nervioso Parasimpático (sacro) es principalmente proeréctil. Todo esto hay que visualizarlo dentro de un contexto fisiológico, puesto que cualquier cambio en el área somática de relación con estos sistemas puede afectar la función eréctil. El balance simpático/parasimpático va a ser determinante. Los psicofármacos tienen importantes acciones sobre el sistema nervioso autónomo y por tanto, no es de extrañar que en base a disfunciones del simpático/parasimpático se altere la función eréctil normal (Giuliano et al, 1995).

Así, es muy importante la funcionalidad del Nervio Pudendo, que, a través de la contracción de la musculatura perineal estriada, aumenta la erección ya establecida. Importante es también recordar que existen varias áreas premotoras que pueden ser activadas por información sensorial recibida desde el área genital.

En 1998 en un Simposio celebrado en Chicago se establece la existencia de dos sistemas reguladores de las erecciones: un Sistema Ascendente y otro Sistema Descendente y se concluyó que ambos pueden ser afectados por los psicofármacos.

Con respecto al SNC, existe un hecho de gran importancia y es la integración sensorial y motora, que pone en relación diferentes estructuras con circuitos neuronales, muy importantes en la esfera sexual. Los núcleos, áreas o sistemas más importantes en este sentido son: córtex prefrontal, amígdala, hipotálamo, cerebro medio (o mesencéfalo), tronco cerebral, médula espinal.

En la esfera de los neurotransmisores y sus receptores podríamos destacar: serotonina en los núcleos dorsal y magno del rafe (NDR y NMR) en el cerebro medio o mesencéfalo, a noradrenalina en el locus coeruleus (LC) y a serotonina y noradrenalina en el núcleo reticular paragigantocelular (NRPGC) (Goldstein et al, 2002).

La inhibición selectiva de la recaptación de serotonina, que se logra con algunos antidepresivos, reduce la actividad dopaminérgicas en el sistema mesolímbico a través de los receptores de serotonina 5-Ht₂. Este mecanismo podría explicar que los antidepresivos que antagonizan el receptor 5-Ht₂ (nefazodona) o los que actúan mediante el sistema de recaptación de dopamina (bupropion) presentan una baja incidencia de DS.

Regresando al ejemplo de la erección como disfunción sexual, sabemos que en nuestro cerebro y en los mamíferos en general, existe un núcleo regulador de las

erecciones, este núcleo sería el NRPGC. Este núcleo pertenece al rombencéfalo. Hay que recordar que el rombencéfalo forma parte evolutivamente del cerebro primitivo que entre otras, como la erección, regula importantes funciones como presión sanguínea y ritmo cardíaco. El NRPGC, se reconoce actualmente como un centro inhibitorio de las erecciones. En efecto, las neuronas del NRPGC extienden sus axones a las neuronas de la médula espinal inferior generadoras de erecciones. A este nivel, estas terminaciones nerviosas del NRPGC liberan serotonina, y es posible que a este nivel este neurotransmisor se oponga a los efectos de los neurotransmisores proeréctiles. Los antidepresivos, tienen una actuación preferente inhibiendo la recaptación de noradrenalina y/o serotonina en el NDR, el NMR, LC y NRPGC., conduciendo a un aumento de los niveles de estos neurotransmisores a ese nivel. El rombencéfalo es uno de los centros afectados por los antidepresivos, con estrechas relaciones con el NRD y LC. Los ISRS pueden influir negativamente en una o en todas las fases del ciclo sexual, disminuyendo o anulando el deseo sexual, alterando la excitación sexual, causando una disfunción eréctil o impidiendo o retardando el orgasmo (Balon, 2006). Si se tiene en cuenta que los inhibidores de la recaptación de serotonina aumentan la disposición de este neurotransmisor a este nivel, es posible que este sea el mecanismo por el que los ISRS inducen disfunción eréctil (Rosen et al, 1999). La participación de diferentes sistemas de neurotransmisores, como la inhibición del reflejo eyaculatorio por la neurotransmisión serotoninérgica y la influencia que ejercen los antidepresivos serotoninérgicos sobre estos sistemas, indica que la disfunción sexual que acompaña a la toma de ISRS es causada, realmente, por dichos fármacos. La disfunción sexual asociada a los ISRS puede dificultar considerablemente el tratamiento de diversas enfermedades con estos fármacos, puede repercutir en la planificación terapéutica, en la

recuperación de un episodio clínico, en la calidad de vida y en el cumplimiento del régimen terapéutico, entre otros aspectos (Balon, 2006).

Una prueba de que este núcleo (NRPGC) es fundamental resulta del hecho de que su destrucción favorece las erecciones y su estimulación las inhibe. Un ejemplo claro es la observación de que la destrucción de este núcleo en el animal de experimentación aumenta la frecuencia e intensidad de las erecciones. A esta circunstancia se suma el hecho conocido de que cuando se produce una desconexión de este núcleo, como sería el caso de las secciones medulares transversales aumentan las erecciones. Por tanto vemos que, uno de los posibles mecanismos por los que los antidepresivos inducirían disfunción eréctil sería el aumento en la actividad de estos núcleos frenadores del proceso fisiológico de la erección. Otra prueba de que el aumento de serotonina a este nivel sería el responsable de la disfunción eréctil, es que fármacos antiserotoninérgicos pueden oponerse a este efecto inducido por los antidepresivos o que con los antidepresivos que poseen acción antiserotoninérgica 5-Ht₂ como la nefazodona, la incidencia de este trastorno es menor (Aizenberg et al, 1995; Foreman et al, 1989; Montejo et al, 1997).

La incidencia de DS es fuertemente dependiente de la antidepresivo usado (Clayton y Montejo, 2006). Una mayor incidencia (entre el 50 y el 70%) se observa con fármacos con un perfil alto de 5-Ht bloqueo de la recaptación tales como inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO), agentes tricíclicos o inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN). Los fármacos que aumentan predominantemente noradrenalina o la absorción de dopamina y los bloqueadores de los receptores 5-Ht₂ parecen tener pocos efectos negativos sobre el funcionamiento sexual (Clayton et al, 2002; Montejo et al, 1999). La Agomelatina es un antidepresivo con agonista melatoninérgico y

antagonisata 5-Ht_{2C} que ha demostrado una eficacia (Kennedy y Emsley, 2006) por lo menos tan similares como los antidepresivos disponibles para tratar a pacientes con trastorno depresivo mayor (TDM) (Lemoine, et al, 2007; Kasper, et al 2008; Kennedy et al, 2008) sin efecto nocivo sobre la función sexual. La frecuencia de eventos adversos sexuales fue baja y similar entre los pacientes tratados con Agomelatina y placebo.

Si hablamos de la noradrenalina, se ha demostrado que un aumento de la actividad noradrenérgica incrementa el comportamiento sexual y también que ciertos inhibidores de la recaptación de noradrenalina selectivos como nortriptilina o protriptilina pueden producir un retraso en la eyaculación. La acción anticolinérgica que inducen varios antidepresivos si sería un factor importante en el inicio y mantenimiento de la erección, ya que como se dijo, el sistema colinérgico es proeréctil. En efecto ha podido ser demostrado mediante la estimulación del parasimpático a nivel del sacro, que produce vasodilatación y relajación del tejido cavernoso, conduciendo a la producción de erecciones que son antagonizadas por un anticolinérgico como es la atropina.

Respecto de los niveles de prolactina que inducen ciertos antidepresivos y la acción sobre el óxido nítrico, podemos decir que en el primero de los casos, varios inhibidores de la recaptación de serotonina son capaces de a través de este neurotransmisor aumentar los niveles de prolactina a nivel hipotalámico y esta elevación ha sido estrechamente relacionada con la producción de inhibición sexual principalmente en hombre (Montgomery et al, 2002).

En relación con el óxido nítrico, (neurotransmisor implicado en la regulación de las erecciones a través de sus efectos sobre el lecho vascular). Sabemos que ciertos antidepresivos como la Paroxetina, ejercen potentes efectos inhibidores de la óxido nítrico sintetasa tanto “in vitro” como “in vivo”, por lo que se disminuiría la producción de óxido nítrico que conduce a vasodilatación y erección (Finkel et al, 1996).

A modo de resumen podríamos decir que los mecanismos que se barajan como los más implicados en las alteraciones de la esfera sexual y principalmente la inhibición de la erección serían: un aumento de la actividad de los centros frenadores a través del aumento del tono serotoninérgico, una acción anticolinérgica, el aumento de los niveles de prolactina y por último la inhibición de la producción del óxido nítrico.

En conclusión, podríamos decir que las disfunciones sexuales inducidas por psicofármacos son importantes para el paciente y para su médico. El cumplimiento terapéutico depende en muchos casos de la posible aparición de efectos indeseables, que durante mucho tiempo han estado subestimados. Para los farmacólogos es también muy difícil conocer los mecanismos por los cuales estos fármacos inducen disfunción sexual y ello debido a dos motivos: uno, que no nos atreveríamos a afirmar que conocemos los mecanismos fisiológicos reguladores de la función sexual al menos los mecanismos centrales y dos, que tampoco tenemos un conocimiento amplio del mecanismo de acción de antidepresivos, relacionados con la inducción de los efectos indeseables, aunque conozcamos cada día más de su acción terapéutica. El problema, es que, a veces, efecto terapéutico y efecto indeseable son indisolubles de una manera dosis-dependiente.

2.3.- Psicofármacos: antidepresivos.

Con anterioridad a la introducción de los primeros antidepresivos las herramientas farmacológicas empleadas en el manejo de los trastornos del humor eran muy reducidas. A principios del S. XX se empleaba el *hidrato de cloral*, los *barbitúricos*, las *anfetaminas* e incluso el *láudano* en pacientes melancólicos agitados. Posteriormente se introdujeron algunos preparados químicos inespecíficos como el *dinitrito succínico*, el *nitrito malónico* o el *ácido láctico* aunque con resultados igualmente negativos.

Es en la década de los cincuenta cuando se producen avances históricos en el tratamiento de los trastornos afectivos: se descubren los antidepresivos tricíclicos (ADT), cuyo principal mecanismo de acción es la modificación de los niveles de monoaminas en la hendidura sináptica, debido a su capacidad para inhibir la recaptación neuronal de monoaminas, y los IMAO. En la década de los sesenta se utilizaron las sales de litio en el tratamiento y profilaxis de los trastornos del humor. Durante los años setenta se introdujeron los denominados antidepresivos atípicos, heterocíclicos o de segunda generación. Finalmente, desde finales de los ochenta, la incorporación al arsenal terapéutico antidepresivo de una serie de nuevas familias de fármacos, con unas propiedades farmacodinámicas altamente selectivas, supusieron otra nueva revolución en el tratamiento de los trastornos afectivos: los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores selectivos y reversibles de monoaminoxidasa (RIMA), antidepresivos noradrenérgicos y serotoninérgicos específicos (NaSSA), IRSN, y agentes que combinan la inhibición de la recaptación de serotonina con el bloqueo de receptores postsinápticos 5-Ht₂ (nafazodona) (Salazar, Peralta y Pastor, 2004, Tratado de psicofarmacología: bases y aplicación clínica) En 1987 aparece la fluoxetina, el primer ISRS que modificó algunas actitudes con respecto al tratamiento farmacológico de la depresión. Los efectos secundarios iniciales de la fluoxetina eran en

general mejor tolerados que en los fármacos empleados hasta entonces, como los ADT y los IMAO. Además su dosificación resultaba mucho más sencilla. Posteriormente se han desarrollado otros ISRS que comparten básicamente las mismas propiedades que la fluoxetina.

Cada ISRS posee una estructura molecular diferente cuya única excepción es el escitalopram, un isómero del citalopram. Esta diversidad estructural permite explicar las diferencias de tolerabilidad, respuesta y farmacocinética. Dentro de la farmacocinética la principal diferencia es la semivida sérica (21 horas para la Paroxetina). Como regla general los ISRS se absorben bien tras su administración oral y sus efectos máximos se producen entre 3-8 horas después de la administración. Sertralina, Fluoxetina y Paroxetina son los fármacos con mayor porcentaje de unión a proteínas plasmáticas y el Escitalopram el de menor porcentaje. Todos los ISRS son metabolizados en hígado mediante el citocromo P₄₅₀. La Fluoxetina y la Paroxetina también interactúan en grado importante con la isoenzima CYP_{2D6}, por lo que podrían reducir la eficacia de los análogos opioides como la codeína y la hidrocodona, a través de la inhibición de la conversión de estos fármacos a su forma activa. Por ello la administración concomitante de Fluoxetina o Paroxetina con un opioide interfiere con los efectos analgésicos de este último fármaco así como dichos opioides pueden dar lugar al desarrollo de un síndrome serotoninérgico (Kaplan & Sadock, 2008 Sinopsis de psiquiatría).

La efectividad de los antidepresivos está en relación con los diferentes mecanismos farmacodinámicos en el SNC, básicamente con neurotransmisores serotoninérgicos, noradrenérgicos, dopaminérgicos, muscarínicos, histaminérgicos, etc. Desde el punto de vista farmacológico se metabolizan en el hígado (citocromo P₄₅₀) y se eliminan casi siempre por la orina salvo la porción libre que pasa al cerebro. Buena absorción oral, favorecida por los alimentos en general (Chinchilla, 2013).

Los antidepresivos pueden ser clasificados de la siguiente manera:

- Antidepresivos clásicos: tricíclicos, tetracíclicos, bicíclicos e IMAOs
- Antidepresivos de segunda generación: ISRS e ISRSN
- Otros: bupropion, agomelatina.

Los fármacos objeto de nuestro estudio son la Paroxetina y la Agomelatina. A continuación haremos una breve descripción de los mismos.

2.3.1.- Paroxetina:

La Paroxetina fue desarrollada por la compañía danesa Novo Nordisk y comercializada por primera vez en Gran Bretaña en 1991. En España se empezó a distribuir en septiembre de 1992.

Con respecto a su farmacocinética se absorbe bien en el aparato digestivo y no se altera significativamente por la presencia de alimentos o antiácidos. Al tratarse de una amina lipofílica tiene un gran volumen de distribución aparente. En concentraciones terapéuticas, alrededor del 95% está unido a proteínas plasmáticas. Aproximadamente el 1% de la dosis administrada se mantiene libre en plasma. La semivida de eliminación es de 21 horas. Tiene un metabolismo hepático (citocromo P₄₅₀ mediante oxidación y metilación), en este proceso participa principalmente la isoenzima CYP_{2D6} que tiene gran afinidad y capacidad de saturación. La saturación de la isoenzima CYP_{2D6} explica la cinética no lineal observada durante la administración repetida o tras los incrementos de dosis.

Respecto a su farmacodinamia es un inhibidor potente y selectivo de la recaptación presináptica de serotonina, que potencia la neurotransmisión serotoninérgica, prolongando la actividad de la serotonina en sus receptores postsinápticos. Su administración se asocia a modificaciones neuroadaptativas en los

receptores serotoninérgicos, implicando la desensibilización de los autorreceptores 5-Ht_{1B/1D} terminales y 5-Ht_{1A} serotoninérgicos somatodendríticos lo que se traduce en un aumento de la liberación de serotonina. La Paroxetina ejerce un efecto inhibitorio débil de la recaptación de noradrenalina y también una acción antagonista muscarínica colinérgica (Salazar, Peralta y Pastor, 2004, Tratado de psicofarmacología: bases y aplicación clínica) Estructuralmente la Paroxetina es un derivado fenilpiperidínico. Inhibe el mecanismo de transporte de la membrana para la recaptación de serotonina. Conduce en último término a una reducción del recambio del neurotransmisor a través de un mecanismo de retroalimentación negativa (Dechant y Clissold, 1991). Hoy se sabe que no todos los antidepresivos producen una regulación a la baja de los adrenerreceptores beta, por lo que parece probable que exista otra explicación. Las pruebas demuestran que durante la administración a largo plazo de varios tipos de antidepresivos, entre los que se encuentra los ISRS, se producen cambios adaptativos en los mecanismos sinápticos serotoninérgicos (Bluer et al, 1994)

2.3.2.- Agomelatina:

La Melatonina fue aislada por primera vez en la glándula pineal bovina y estructuralmente identificada por Lerner et al en 1958.

A nivel de estructura química es una hormona sintetizada en la glándula pineal. Es la N-acetil-5-medroxitriptamina. Se sintetiza a partir del triptófano y la serotonina, siendo la N-acetiltransferasa (NAT) la enzima que regula la velocidad de síntesis.

Presenta una buena biodisponibilidad. Se metaboliza con rapidez en el hígado por hidroxilación y conjugación con el ácido glucurónico o sulfúrico. Tanto su síntesis como su liberación presenta un ritmo circadiano: son estimulados por la oscuridad e inhibidos por la luz. Durante el día las células fotorreceptoras de la retina se encuentran

hiperpolarizadas y en reposo, mientras que en la oscuridad se activan y estimulan la vía retino-hipotálamo-espino-pineal; el resultado final es la liberación de noradrenalina por parte de las terminaciones simpáticas que inervan la glándula pineal. La noradrenalina activa receptores alfa 1 y beta de los pinelaocitos, cuya acción concentrada se traduce en un aumento del AMP cíclico (AMPC) y la activación de la síntesis de la enzima NAT.

En la especie humana el máximo de concentración de Melatonina se alcanza entre la dos y las cuatro de la mañana.

La Melatonina actúa sobre dos tipos de receptores:

- El **MT₁** es de alta afinidad (picomolar), está asociado a proteínas G y su activación inhibe la adenilciclasa, parece implicado en la regulación de la función retiniana y de los ritmos circadianos de diversas funciones, incluida la del sueño y en la reproducción. Se han clonado dos subtipos de receptores MT1: El **MT_{1A}** (que facilita la acción inhibitoria de los receptores GABA-A) y el **MT_{1B}** (que inhibe la actividad GABA-A); el primero se expresa en la porción tuberal de la hipófisis y en el núcleo supraquiasmático, mientras que el segundo lo hace en la retina, y en menor grado en el cerebro.

- El **MT₂** es de menor afinidad (monomolar) y está asociado a la hidrólisis de fosfoinosítidos.

La Melatonina podría inhibir la recaptación del glutamato, el mayor neurotransmisor excitador cerebral, en centros relacionados con el sueño.

Además la Melatonina actúa en el espacio intracelular mediante asociación con la calmodulina y de este modo, puede interactuar con las enzimas diana adenilciclasa y fosfodiesterasa (Salazar, Peralta y Pastor, 2004, Tratado de psicofarmacología: bases y aplicación clínica). La Agomelatina es un agonista de los receptores melatoninérgicos

MT₁ y MT₂ y un antagonista de 5-Ht_{2c} (abundante en el Núcleo Supraquiasmático (NSQ), la corteza frontal, el hipocampo, los ganglios basales). La actividad antagonista 5-Ht_{2c} potencia la transmisión adrenérgica y dopaminérgica frontocortical. Es capaz de resincronizar los ritmos circadianos y revertir la conducta depresiva inducida en varios modelos animales. Se describen también los efectos de la Agomelatina en otros aspectos del bienestar del paciente relativos al ciclo sueño-vigilia, la función sexual y la ausencia de efectos adversos asociados generalmente a los ISRS o los ISRN.

Es importante mencionar las limitaciones de las hipótesis clásicas en la Fisiopatología de la depresión; Los antidepresivos clásicos se descubrieron hace más de 50 años e inhiben la recaptación de serotonina y/o noradrenalina, los inhibidores de la MAO y los ISRS más recientes (en los últimos 20 años), que fomentan la función de la serotonina en el cerebro y los ISRN que aumentan las concentraciones en el cerebro tanto de serotonina como de noradrenalina; además son agonistas de receptores distintos de la diana del tratamiento como los histamínicos, muscarínicos y alfa-1 adrenérgicos y en la actividad en esos lugares lo que causa acontecimientos adversos, como sedación, aumento del peso corporal, estreñimiento, trastornos de la memoria e hipertensión ortostática. Además los ISRS y IRSN producen efectos adversos como disfunción sexual, alteraciones gastrointestinales, aumento de peso y somnolencia, así como síntomas de retirada o abstinencia tras la interrupción brusca del tratamiento o si se dejan de tomar dosis. Los ritmos circadianos también influyen en la fisiopatología de la enfermedad.

Los ritmos circadianos juegan un papel clave en la depresión: numerosos ritmos circadianos tales como la temperatura corporal, cortisol, ciclos de sueño-vigila, sueño de movimientos oculares rápidos y sueño de ondas lentas, se asocia a un retraso o avance

de la depresión. El ciclo sueño-vigilia está alterado en los pacientes con trastorno depresivo.

Los pacientes con depresión pueden presentar un retraso del sueño, un menor tiempo de latencia hasta el primer episodio de sueño de movimientos oculares rápidos, un sueño fragmentado y un despertar temprano.

Los receptores MT1, intervienen en la inhibición aguda de la descarga neuronal dentro del NSQ, y los receptores MT2 son responsables de la inducción del cambio de fase de los ritmos circadianos.

La capacidad de resincronizar los ritmos circadianos en las ratas se atribuyo a una asociación directa sobre el marcapasos circadiano principal situado en el NSQ del hipotálamo anterior a través de una alta afinidad de los receptores melatoninérgicos. Las propiedades de resincronización fueron abolidas en las ratas con lesiones del NSQ pero persistieron en las ratas pinealectomizadas (Rouillon, 2009).

Hipótesis de trabajo y objetivos

3.- HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

Tal y como se refleja en los estudios realizados por Clayton (2006) y Montejo (2008), se puede afirmar que los antidepresivos provocan disfunción sexual. Dentro de éstos, uno de los grupos psicofarmacológicos que más disfunción sexual produce es el de los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS). No obstante la cifra de pacientes que presentan disfunción sexual iatrogénica está infraestimada puesto que se trata de un tema difícil de explorar en la práctica clínica diaria.

Por ello, nuestra hipótesis de trabajo se basa en que la Paroxetina produce disfunción sexual y la Agomelatina no, por tanto las regiones cerebrales estudiadas en los animales a los que se les administró Paroxetina mostrarán diferencias con respecto a los animales a los que se les administró Agomelatina. La descripción de dichas diferencias podría dar lugar a las bases que expliquen de forma estructural la disfunción sexual producida por un ISRS.

Esta hipótesis se desarrolló en los siguientes objetivos:

1. Analizar a través de microscopía óptica el impacto de los psicofármacos (Agomelatina y Paroxetina) en el sistema nervioso central del cerebro de rata.
2. Usar como patrón comparativo imágenes del cerebro de rata de grupos controles.
3. Hacer una comparativa entre grupos experimentales y control para analizar las diferencias.
4. Estudiar el sustrato biológico que pueda explicar la disfunción sexual secundaria a antidepresivos a través de la tinción mediante inmunohistoquímica.

Material y Procedimiento

4.- MATERIAL Y PROCEDIMIENTO

4.1.-Animales de experimentación:

4.1.1.-Animales:

Para la realización de nuestro trabajo hemos utilizado como animal de experimentación un total de 20 ratas de la raza Wistar que al inicio del tratamiento tenían aproximadamente 50 días (postpuberales); y un peso aproximado de 150 gr.

Hemos seleccionado este tipo por su facilidad de mantenimiento y porque en el Departamento donde hemos llevado a cabo el trabajo hay una amplia experiencia sobre esta especie. Hemos excluido las hembras porque la reactividad del sistema nervioso puede modificarse en el curso del ciclo menstrual en alguno de los territorios a estudiar.

Todos los animales empleados en nuestro trabajo han sido tratados de acuerdo con las directrices de la CE y el Gobierno de España relativas al cuidado de los animales de experimentación (RD 1201/2005) y las recomendaciones de la Unión Europea recogidas en el Diario Oficial de la Unión Europea de 2007/526/CE.

Durante todo el estudio se mantiene a los animales en un ambiente con una temperatura constante (18°C-20°C), disponiendo de comida y agua libremente hasta el momento del sacrificio.

4.1.2.-Grupos de animales:

Esta camada de ratas se divide en 4 grupos: dos experimentales y dos controles.

- 1) **Animales normales** al que no se le administra ningún tipo de sustancia.

Formado por 4 animales.

- 2) **Animales del Grupo control** al que se le administra **hidroximetil-celulosa (HMC)** al 10% vía oral. Formado por 4 animales.

3) **Animales del Grupo experimental 1** al que se le administra **Paroxetina** en solución oral 10mg/Kg peso/día. Formado por 6 animales.

4) **Animales del Grupo experimental 2** al que se le administra **Agomelatina** 10mg/Kg peso/día vía oral más su vehículo, la Hidroxi-metil-celulosa (HMC) al 10% siempre a las 18:00 p.m. Formado por 6 animales.

4.2.- Material:

4.2.1.- Material de laboratorio:

Para la realización de este proyecto se han utilizado diversos tipos de material de laboratorio: pipetas Pasteur, pipetas micrometradas, microscopio óptico, agua destilada, alcoholes, xiloles...

4.2.2- Psicofármacos:

Para la realización de este proyecto hemos usado Paroxetina en solución oral y Agomelatina en un preparado con HMC para administrar vía oral.

4.2.3- Anticuerpos:

Para la tinción de las muestras se realiza la técnica de la inmunohistoquímica por lo que se utilizan anticuerpo mono y policlonales. En nuestro caso los anticuerpos usados en el estudio son:

- **Anticuerpo Tiroxina-Hidroxilasa (TH):** es un anticuerpo policlonal de conejo, que se puede aplicar en muestras que están congeladas o en parafina. Concentrada a 1/300 (diluido en TPBS con 0.7% de lambda carrageenan (Sigma) y 0.5% de Triton X-100 (Merck).

- **Anticuerpo Receptor alfa de Estrógenos (RE- α):** es un anticuerpo policlonal de conejo, que se puede aplicar en muestras que estén incluidas en parafina.

Concentrada a 1/300 (diluido en TPBS con 0.7% de lambda carrageenan (Sigma) y 0.5% de Triton X-100 (Merck).

• **Anticuerpo Oxitocina (OXT):** es un anticuerpo policlonal de conejo, que se puede aplicar en muestras que estén congeladas. Concentrada a 1/500 (diluido en TPBS con 0.7% de lambda carrageenan (Sigma) y 0.5% de Triton X-100 (Merck).

4.3.- Procedimiento

4.3.1.- Administración de fármacos:

A los grupos control se les separó en dos jaulas (con cuatro animales en cada una), y a los grupos experimentales se les separó en dos jaulas (de tres animales en cada una).

A todos los animales se les expuso a un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas a través de un punto de luz y un temporizador y se les administró las sustancias correspondientes a lo largo de 28 días naturales.

Al grupo de ratas “Paroxetina”, se le administró Paroxetina en solución oral 10mg/kg peso/día diluida al 10% en agua bidestilada. La administración se realizó vía oral, siempre a las 6:00 pm mediante jeringuilla de calibre 0.33x12.7 mm.

Al grupo de rata “Agomelatina”, se le administró Agomelatina en un preparado con HMC diluido en agua bidestilada al 10% en dosis de 10mg/kg peso/día. La administración se realizó vía oral, siempre a las 6:00 pm mediante jeringuilla de calibre 0.33x12.7 mm.

Al grupo de ratas “control”, a cuatro de ellas no se les administró ninguna sustancia y a las otras cuatro ratas, se les administró HMC diluida al 10% en agua bidestilada en dosis de 10mg/kg peso/día. La administración se realizó vía oral, siempre a las 6:00 pm mediante jeringuilla de calibre 0.33x12.7 mm.

Se realizó un pesaje de los animales en tres momentos del estudio: al inicio, en el día 14 y en el día 28. Pesamos la jaula con animales y sin animales, hallamos la diferencia y hacemos un promedio del peso.

A lo largo de los 28 días se realiza un diario de conducta: conductas extrañas, psicomotricidad, subida en patas traseras, olfateo general, olfateo anal, intromisiones, etc.

Al finalizar este periodo de 28 días se procede al sacrificio de los animales y la inclusión de las muestras.

4.3.2.- Sacrificio de animales. Inclusión de muestras:

El sacrificio se realizó por decapitación con una guillotina para pequeños animales, lo que permitió la rápida extracción del cerebro. En los segundos siguientes a la decapitación, se procedía a extraer el encéfalo que se sumergía inmediatamente en la mezcla fijadora.

A continuación se tallaba el encéfalo realizando cortes frontales, el primero de ellos separa la parte más anterior de los lóbulos frontales del resto del encéfalo, el segundo el tronco del encéfalo y el cerebelo y el último dividía la pieza restante en dos mitades que fueron de nuevo sumergidas en la mezcla fijadora.

Como fijador hemos utilizado la solución de Bouin, que se prepara disolviendo 5 cc de ácido acético glacial y 25 cc de formaldehído comercial (35-40%) en 75 cc de solución saturada de ácido pícrico.

Tras permanecer 72 horas en la solución fijadora, los bloques fueron lavados con varios pases por una solución acuosa saturada de carbonato de litio y a continuación deshidratados mediante alcoholes de gradación creciente. Los pases por los alcoholes de 70° y 96° duraron dos horas cada uno. A continuación los bloques fueron pasados tres

veces por alcohol absoluto (sesenta minutos cada uno de los pases). Tras tres pases de treinta minutos cada uno por benceno, las piezas fueron incluidas en parafina según el proceder habitual.

De cada bloque se obtuvieron cortes coronales seriados de 7-10 micras de grosor que fueron montados sobre portaobjetos (entre tres y cuatro cortes por portaobjeto), utilizando una solución de gelatina-alumbre de cromo como adhesivo.

Los territorios elegidos para las tinciones se detallan en el quinto capítulo de la presente Tesis Doctoral.

4.3.3.- Tinción mediante inmunohistoquímica:

La **inmunocitoquímica** es una técnica para la localización de moléculas en los tejidos mediante el empleo de *anticuerpos* (proteínas del tipo inmunoglobulina G). Es una técnica que gracias a la oferta comercial de anticuerpos y a la estandarización de su protocolo se ha convertido en un método sencillo, rápido y muy potente. Se basa en la *gran especificidad y alta afinidad* que tienen los anticuerpos para reconocer a moléculas y unirse a ellas. Además, la conjugación o combinación de los anticuerpos con enzimas o con sustancias fluorescentes permite detectar cantidades ínfimas de moléculas presentes en el tejido.

PASO 1: Desparafinar e hidratar en xilol (I, II y III: 10 minutos en cada uno) y alcohol (100° I, II, III; 96° y 70°: 5 minutos en cada uno). Este proceso se lleva a cabo en 55 minutos.

PASO 2: Para evitar la aparición de falsos positivos se realiza el bloqueo de la peroxidasa endógena con una solución de 1 ml de peróxido de hidrógeno en 100ml de metanol. Este procedimiento dura 30 minutos. Después se sumergen las muestras en alcohol de 96° y de 70° durante 5 cada uno y luego en agua destilada 5 minutos.

PASO 3: Se realiza un lavado con tampón TBPS (40 mM Tris, 3.5 mM KH₂PO₄, 8.4 mM Na₂HPO₄, 120 mM ClNa, 0.02% NaN₃, ajustado a pH 7.8 con ClH) de 5 minutos.

PASO 5: Se secan y se limpian los porta-objetos para establecer una extensión hidrofóbica en cada muestra.

En nuestro caso se hace también un tratamiento con tampón citrato, 30 minutos al baño maría (95-100°C) en las muestras de oxitocina y receptor alfa de estrógenos debido a que dichos anticuerpos son específicos de muestras de congeladas e incluidas en parafina respectivamente, (para aumentar la reactividad).

PASO 6: Se realiza el primer bloqueo enzimático de 6 minutos de duración; posteriormente se hace un lavado en TBPS (40 mM Tris, 3.5 mM KH₂PO₄, 8.4 mM Na₂HPO₄, 120 mM ClNa, 0.02% NaN₃, ajustado a pH 7.8 con ClH) de 5 minutos.

PASO 7: Se añade el anticuerpo primario (receptor alfa de estrógenos, oxitocina o tirosina hidroxilasa) y se deja en un ambiente de oscuridad durante dos horas y media (en el caso de el anticuerpo de la oxitocina, se deja toda una noche): posteriormente se hace un lavado en TBPS (40 mM Tris, 3.5 mM KH₂PO₄, 8.4 mM Na₂HPO₄, 120 mM ClNa, 0.02% NaN₃, ajustado a pH 7.8 con ClH) de 5 minutos.

PASO 8: Se añade un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa (biotina más avidina); posteriormente se hace dos lavados en TBPS (40 mM Tris, 3.5 mM KH₂PO₄, 8.4 mM Na₂HPO₄, 120 mM ClNa, 0.02% NaN₃, ajustado a pH 7.8 con ClH) de 5 minutos cada uno.

PASO 9: Se realiza el revelado con Diaminobenciclina (DAB) a temperatura ambiente y en oscuridad.

PASO 10: Se realizan lavados con agua destilada para frenar la reacción.

PASO 11: Como último paso se realiza una **tinción de Hematoxilina de Weigert** para teñir los núcleos que se realiza del siguiente modo:

1º.-La hematoxilina de Weigert se prepara mezclando a partes iguales una solución de hematoxilina al 1% en alcohol de 96° con una solución al 1,16% de percloruro de hierro en CIH concentrado al 1%. La mezcla es estable durante una semana.

2º.- Diferenciación en solución al 1% de CIH concentrado en alcohol de 70°, mediante dos inmersiones.

3º.- Virado al azul en agua corriente, durante un mínimo de 30 minutos.

Tras finalizar la reacción inmunohistoquímica y después de la tinción de contraste, los cortes fueron lavados con agua bidestilada, deshidratados con alcoholes de gradación creciente, aclarados en xilol y montados con DePeX según el procedimiento habitual.

4.3.4.-Estudio y fotografiado de las muestras:

El estudio se realizó en un microscopio Nikon microphot-FXA. El fotografiado de las preparaciones se llevó a cabo con una máquina digital NikonCoolpix modelo 995.

4.3.5.- Cuantificación del marcaje inmunohistoquímico:

El análisis cuantitativo se efectuó con el programa “*Image J*”, un programa de procesamiento de imagen digital de dominio público desarrollado en el NIH (Instituto Nacional de la Salud de EEUU).

Para ello definimos el contorno de 40 neuronas positivas de la Sustancia Negra y el Área Tegmental Ventral, (diez neuronas por animal de cuatro animales de cada uno de los grupos), y determinamos en cada una de ellas, de manera automática, la

intensidad de píxeles, teniendo en cuenta que los valores de referencia del programa asignan un valor 0 al color negro y 255 al blanco; es decir, que a mayor intensidad en la tinción corresponde un valor numérico (intensidad de píxeles) menor.

Como quiera que el marcaje inmunorreactivo oscurece las neuronas y que el valor máximo de intensidad de píxeles es el blanco y el mínimo el negro, nos encontramos con que los valores numéricos más bajos del análisis cuantitativo corresponden a las reacciones más intensas de TH, es decir, a la mayor actividad del sistema dopaminérgico. Un factor que podía contaminar los resultados se deriva del hecho de que el marcaje se encuentra por el citoplasma, siendo los núcleos de las neuronas inmunonegativos. Para evitar este problema decidimos que todas las neuronas objeto de medición tuvieran núcleo visible.

Resultados

5.- RESULTADOS:

A continuación se exponen los resultados obtenidos. En primer lugar podemos leer los resultados obtenidos a través de la realización del diario de conducta que incluye las modificaciones de peso de los animales. Posteriormente se explican de forma descriptiva las diversas fotografías que se realizaron en los cortes ya teñidos. Se han seleccionado imágenes panorámicas y en detalle. Podremos ver fotografías de cada grupo animal y de cada anticuerpo a su vez. Se ordenan por anticuerpos, primero el estudio del sistema dopaminérgico, segundo el sistema oxitocina y tercero el sistema receptor alfa de estrógenos. De cada anticuerpo se exponen fotografías por orden sistemático, grupo control, animales tratados con Paroxetina y animales tratados con Agomelatina. Tras la descripción de las imágenes del sistema dopaminérgico se procede a un explicar en un apartado la cuantificación de la señal a través del tratamiento estadístico de la inmunorreacción.

5.1.- Resultados fruto de la observación:

A lo largo del periodo de 28 días a la vez que se administran las sustancias se realiza un diario de conducta. Además se hacen tres pesajes de los animales (al inicio del estudio, a los 14 días y al final del estudio).

En el grupo de las ratas a las que se les administró Paroxetina se produjo un importante incremento de peso en comparación con el grupo al que se le administró Agomelatina. Las primeras doblaron su peso y las segundas experimentaron un incremento del 40% del peso corporal aproximadamente. Estos cambios de peso dieron lugar al reajuste de dosis.

En el grupo de Paroxetina llamaba la atención el intenso apetito que mostraban a partir del día 10 del estudio. En comparación con los otros grupos de estudio mostraban

una importante voracidad. Además mostraban un incremento de la actividad motora que se mostraba en subidas sobre patas traseras y olfateo general. A pesar de todo esto era un grupo de ratas muy colaboradoras, que no mostraban resistencia ni a ser manipuladas ni a la administración del fármaco.

Respecto al grupo de Agomelatina mantenían un apetito estable. La psicomotricidad solo se veía incrementada en el momento de la manipulación, que comenzaban a dar vueltas alrededor de la jaula. Se mostraban parcialmente colaboradoras a la manipulación y a la administración del fármaco, con una conducta ambivalente e imprevisible, en ningún momento agresiva.

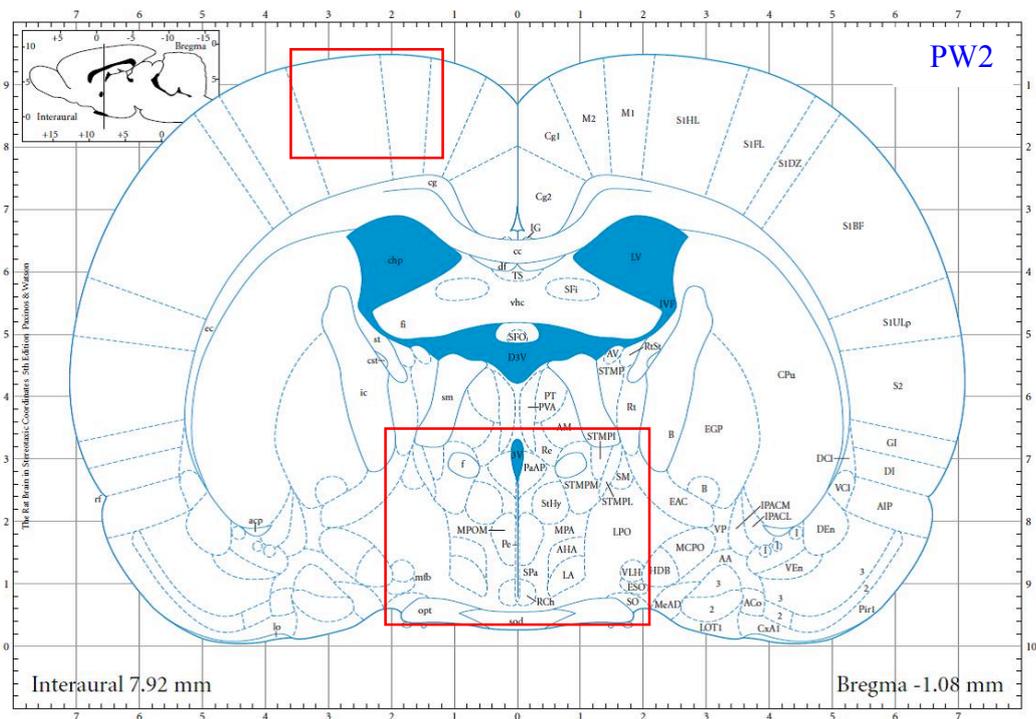
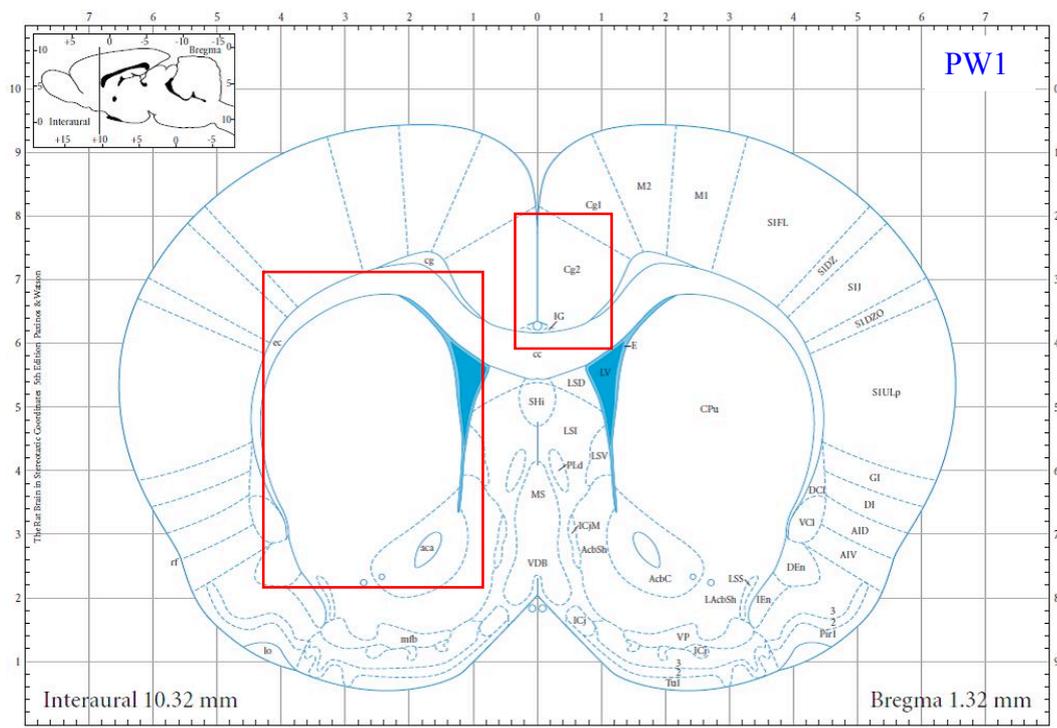
Los grupos control mantuvieron un apetito estable, no sufrieron incremento ni descenso de peso. Respecto a la psicomotricidad no hay hallazgos destacables.

5.2.- Resultados fruto de la observación al microscopio óptico:

Dado que en la exposición de nuestros resultados tendremos que referirnos a un gran número de estructuras anatómicas del cerebro de la rata, hemos creído conveniente hacer una presentación de las mismas en una serie de esquemas tomados de la quinta edición del atlas del cerebro de la rata de Paxinos y Watson (2005). Estas imágenes que son previas a las figuras propias han sido identificadas con las siglas PW1 a PW4.

En los esquemas PW1 y PW2 se ilustran los planos equivalentes a las localizaciones anteriores de nuestros cortes histológicos. En ellos haremos las descripciones de los hallazgos de cualquiera de los marcadores estudiados referidos a la corteza, el estriado (CPu), el núcleo Accumbens (AcbCyAcbSh) y los núcleos anteriores del hipotálamo, los núcleos supraóptico (SO) y paraventricular (PaAP). En un recuadro rojo se muestran las áreas aproximadas de las figuras que describiremos a continuación. Las diferencias más importantes con la organización en humanos estriban en que el estriado forma un gran núcleo equivalente a los núcleos Caudado y Putamen que están separados en los humanos. Las referencias fundamentales para estas regiones son el cuerpo calloso (cc), que limita al Caudado-Putamen dorsal y lateralmente y es también el límite inferior del córtex cingular; el ventrículo lateral (LV), que es el límite interno del estriado y la comisura blanca anterior (aca), alrededor de la cual se encuentra el centro del núcleo Accumbens (AcbC). En los casos en que disponemos de datos sobre la corteza cingular (Cg), motora (M1 y M2) o somatosensorial (S1) se incluyen en el estudio.

Alteraciones estructurales de las regiones cerebrales sexuales tras empleo de paroxetina versus agomelatina

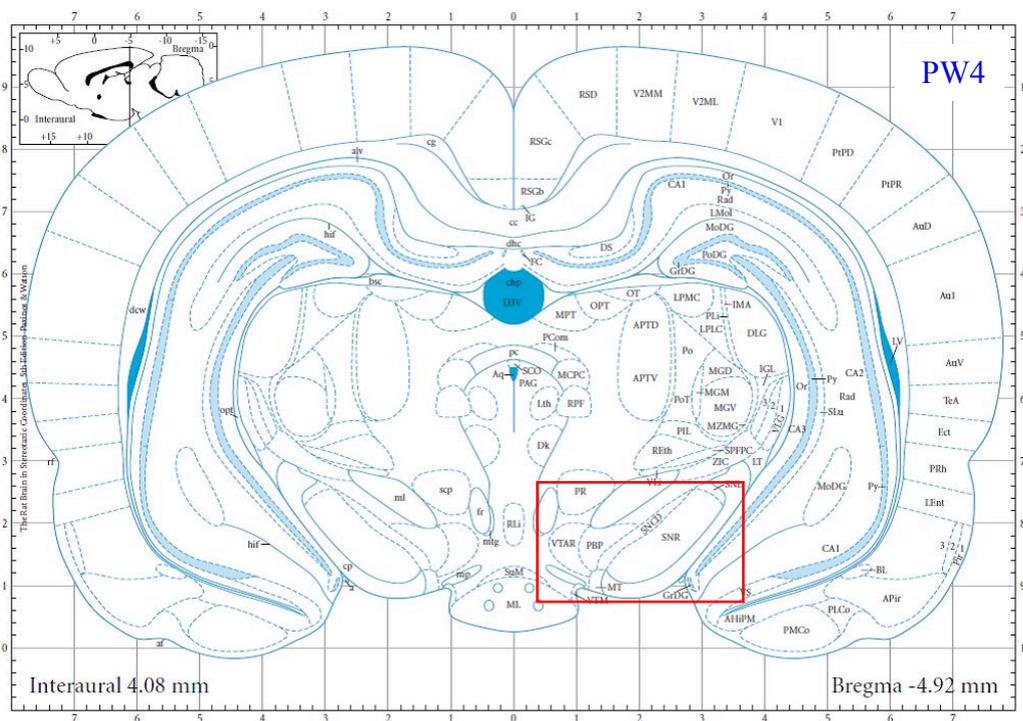
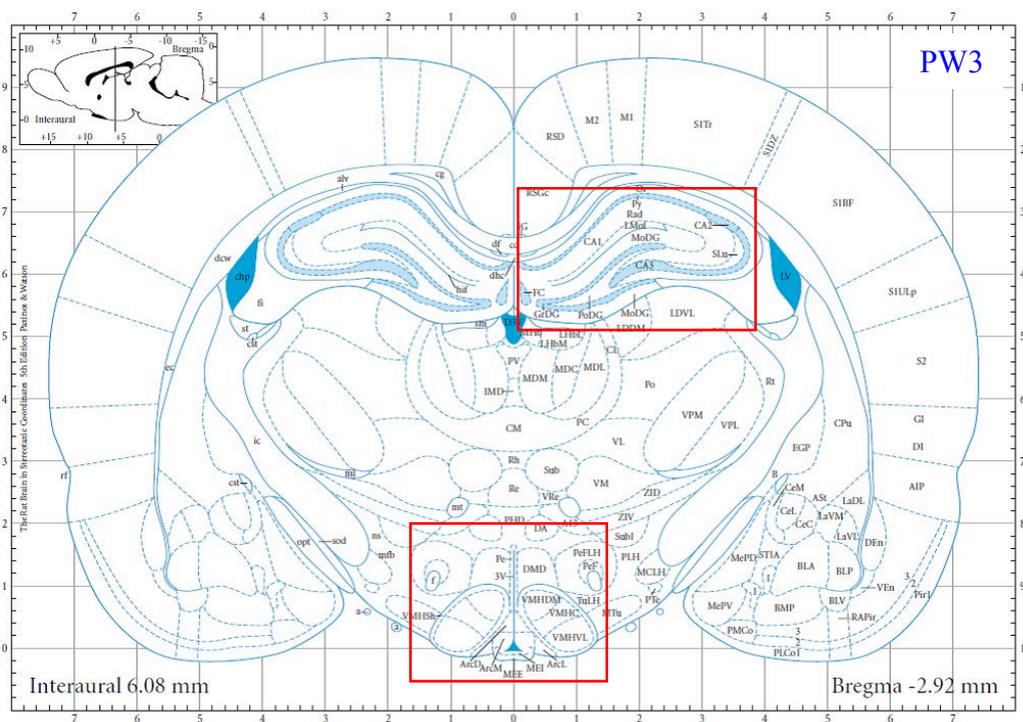


En los esquemas PW3 y PW4 se ilustran los planos equivalentes a las localizaciones posteriores de nuestros cortes histológicos. En ellos describiremos los hallazgos correspondientes al hipocampo, al hipotálamo mediobasal, a la amígdala y a la sustancia negra y el área tegmental ventral. En todos los casos los cortes de nuestro trabajo pueden extenderse a lo largo de las regiones objeto de estudio, pero hemos señalado igualmente en recuadros rojos los territorios que se ilustrarán en las figuras. Para poder establecer una comparativa que resultase fiable, hemos estudiado siempre la parte dorsal del hipocampo, donde se evidencian todos sus componentes (giro dentado-DG- y las partes del asta de Ammón CA1-CA3).

Así mismo hemos de precisar que, si bien se sacrificaron animales controles distintos para los tratados con Agomelatina y Paroxetina, en el presente capítulo de resultados hemos decidido agruparlos, una vez comprobado que no había diferencias en los hallazgos obtenidos en ambos grupos. Por lo tanto los datos de los animales tratados de todos los grupos se analizarán en relación con los controles que presentamos a continuación.

En los esquemas que siguen también mostramos, en la medida de lo posible, la amplitud de los cortes estudiados, que se ven enmarcados en rojo. En relación con esta circunstancia, como se verá, hemos optado por estudiar campos amplios en imágenes representativas, que nos permitan tener una visión del conjunto del territorio antes que los detalles de las células reactivas, pues en esos campos es donde están los datos que nos interesan.

Alteraciones estructurales de las regiones cerebrales sexuales tras empleo de paroxetina versus agomelatina



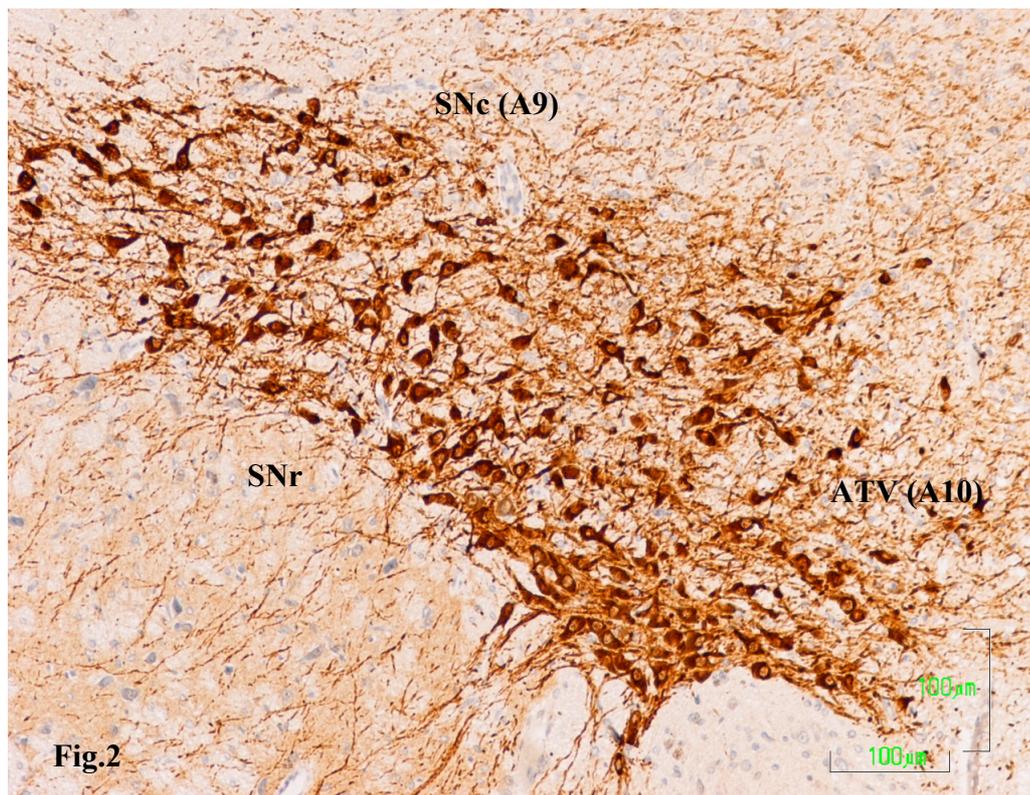
5.2.1.- Estudio del sistema dopaminérgico:

5.2.1.1.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales control:

En el análisis del sistema dopaminérgico, en todos los grupos de nuestro estudio, comenzaremos por los territorios nucleares, donde se encuentran las neuronas, para seguir con las regiones inervadas. Hemos empleado como marcador de estas neuronas la tirosina hidroxilasa, que es el enzima limitante de la síntesis de dopamina y se encuentra presente tanto en el citoplasma como en las prolongaciones celulares.

Por lo que se refiere a la denominación de los núcleos de origen vamos a emplear los términos usuales cuando éstos sean bien conocidos (por ejemplo sustancia negra), pero también haremos referencia a su denominación en la clasificación del sistema aminérgico en grupos, en los que a la dopamina le correspondían los grupos A8-A14 (Dahlström y Fuxe, 1964).

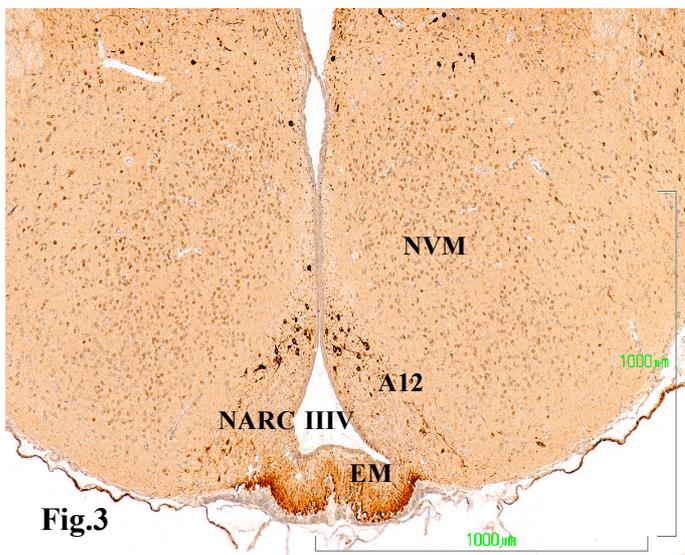
La fig. 1 corresponde a los grupos mesencefálicos de la sustancia negra (A9) y Área Tegmental Ventral (A10), núcleos de origen de la vía nigro-estriada y de las vías meso-límbica y mesocortical. Las neuronas y las prolongaciones vecinas son intensamente reactivas.

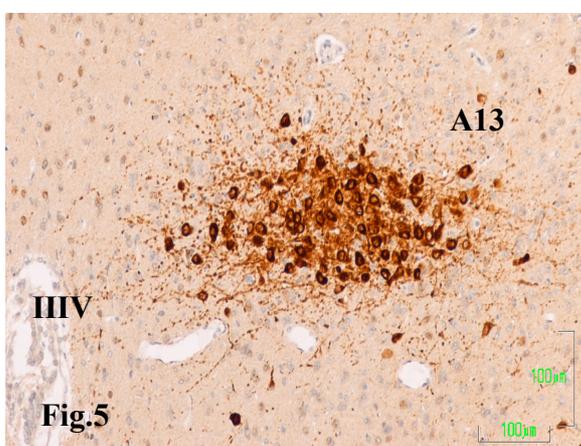
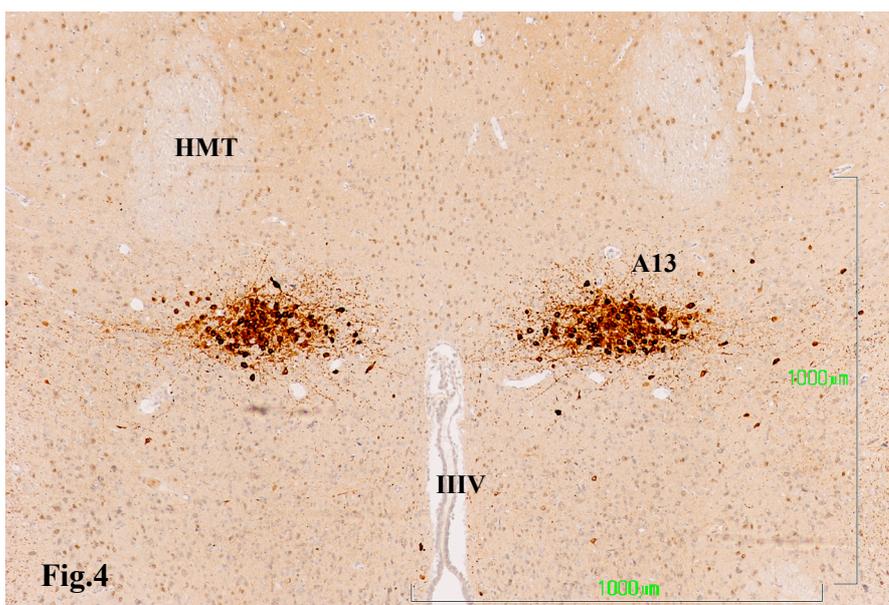


A mayores aumentos (fig. 2) se advierte el intenso marcaje de las neuronas, en que todo el citoplasma es fuertemente reactivo, mientras que el núcleo queda como una zona negativa central. Las prolongaciones neuronales que rodean el territorio nuclear son

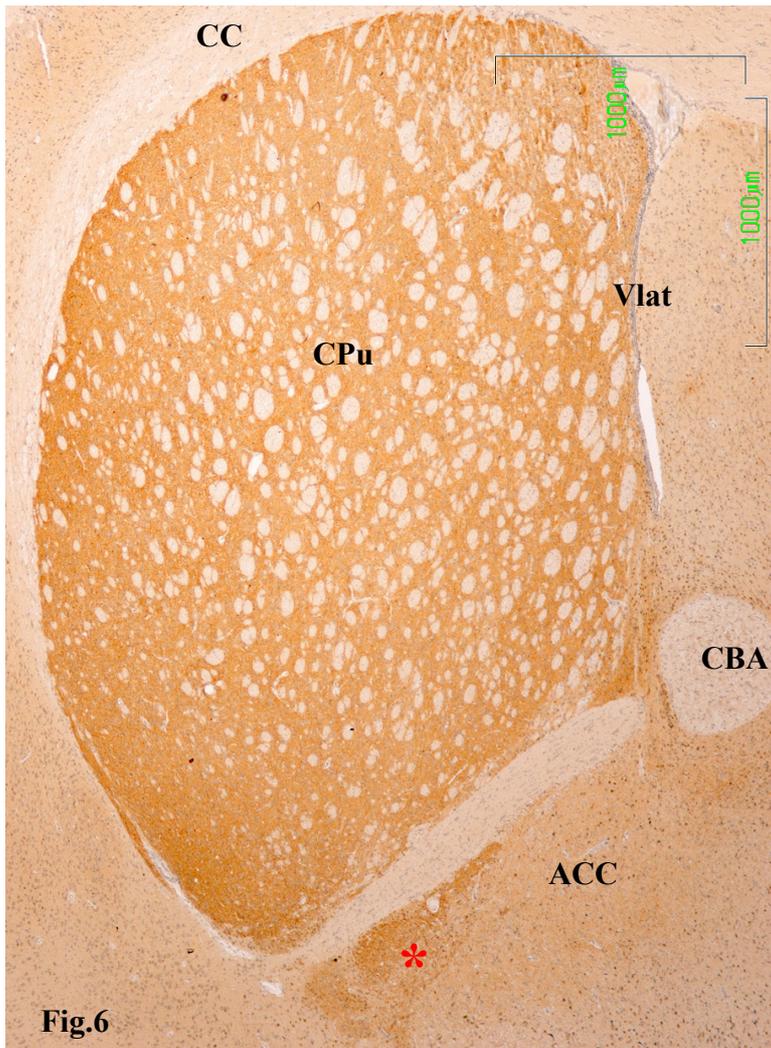
también positivas y desde la sustancia negra compacta, donde se originan (SNc), penetran en la sustancia negra reticular (SNr) y también dorsalmente.

En la figura 3 mostramos una panorámica del hipotálamo mediobasal a la altura del núcleo arcuato, que corresponde al grupo A12 de neuronas aminérgicas. Como referencias señalamos la luz del tercer ventrículo (IIIIV), la eminencia media del túbulo (EM) y el núcleo ventromedial del hipotálamo (NVM) que limita al núcleo arcuato dorsal y lateralmente. En este caso las neuronas dopaminérgicas localizadas a ambos lados de la luz ventricular proyectan a la zona externa de la EM. Tanto los somas neuronales como los axones neuroendocrinos que liberan la dopamina a la sangre portal son fuertemente inmunorreactivos.



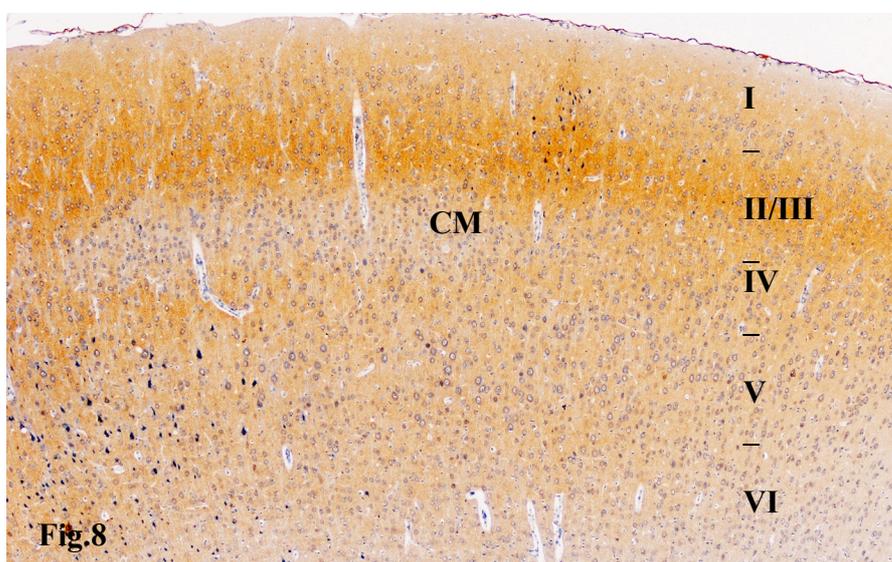
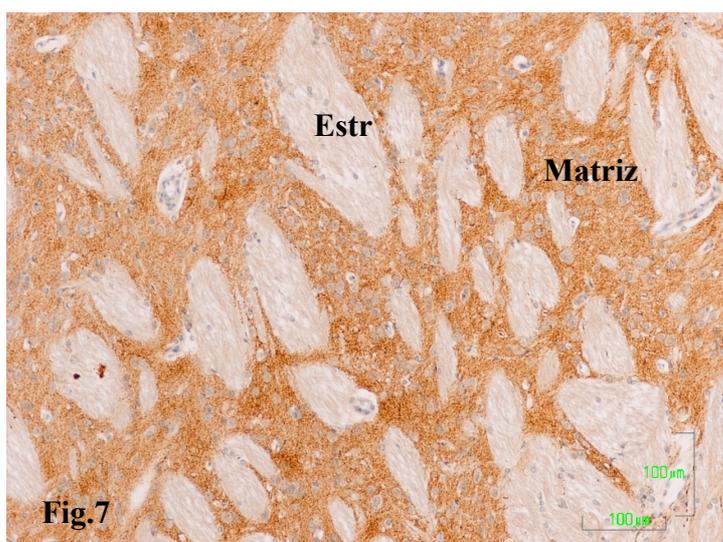


En los mismos planos que el núcleo Arcuato del hipotálamo, pero en situación más dorsal, tenemos el grupo A13 que corresponde a la zona incerta (figs. 4 y 5). Como se aprecia en las imágenes mostradas, se localiza a ambos lados del techo del tercer ventrículo, por debajo del haz mamilotálamico (HMT). De manera similar a lo que hemos señalado en otros grupos dopaminérgicos, tanto las neuronas como los axones presentan una inmunorreactividad intensa. En el centro de los somas neuronales destacan los núcleos negativos (fig. 5).



Entre los destinos de los axones dopaminérgicos destaca el estriado, que apreciamos en la fig. 6 en un plano anterior, en que vemos el conjunto formado por el caudado y el putamen (CPu). Limitando el estriado dorsal y lateralmente tenemos el cuerpo calloso (CC), mientras que por dentro tenemos el ventrículo lateral (Vlat). En la parte ventral, de dentro a fuera se encuentra la comisura blanca anterior (CBA) y el núcleo Accumbens (ACC). En el ACC las fibras dopaminérgicas se localizan preferentemente en la parte lateral (asterisco).

En la figura se advierte que el estriado (CPu) y la parte lateral del ACC son inmunopositivos, mientras que el resto de las regiones carecen de marcaje. En el CPu la reactividad es uniforme y se extiende por toda la matriz, pero los estriosomas son negativos. A mayores aumentos (fig. 7) podemos comprobar que la marca tiene la forma de un punteado denso que corresponde a los axones de la vía nigroestriada que ocupan toda la matriz, sin que hayamos visto somas de neuronas dopaminérgicas marcadas.

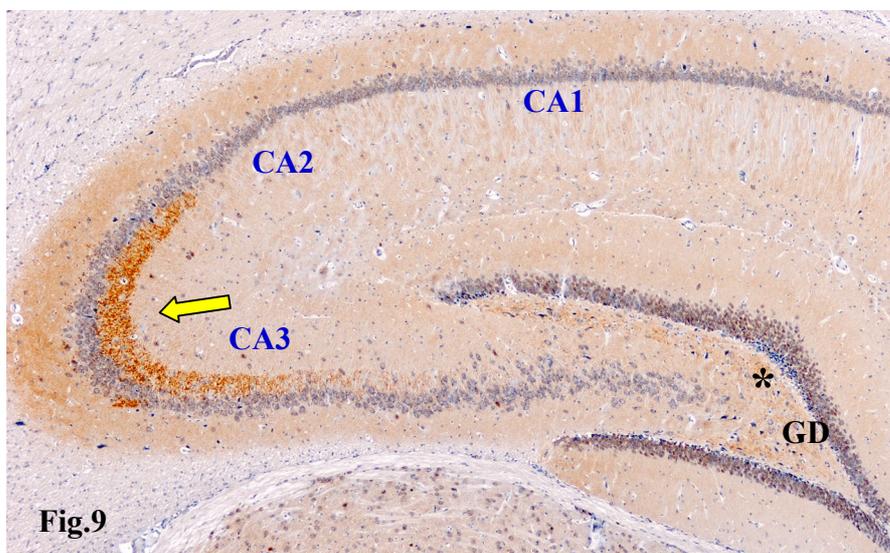


En la figura 8 se resumen nuestras observaciones respecto a la inervación de la corteza motora (CM) de la rata. Representa el final de la vía mesocortical y la reactividad

se limita a axones y se sitúa preferentemente en las capas II/III y va disminuyendo tanto hacia la profundidad (IV, V y VI) como hacia la superficie.

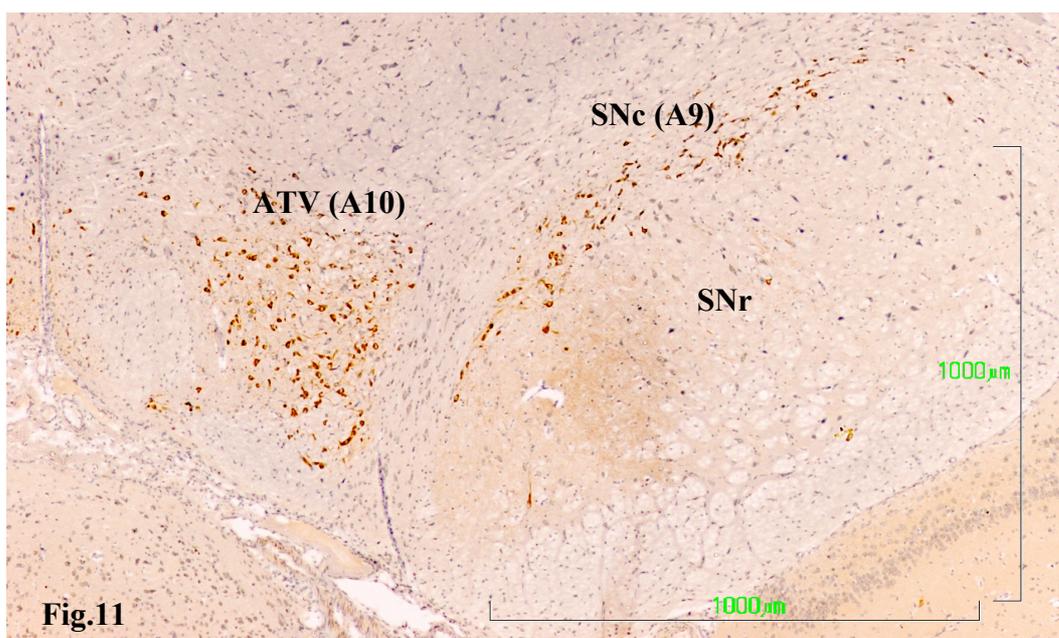
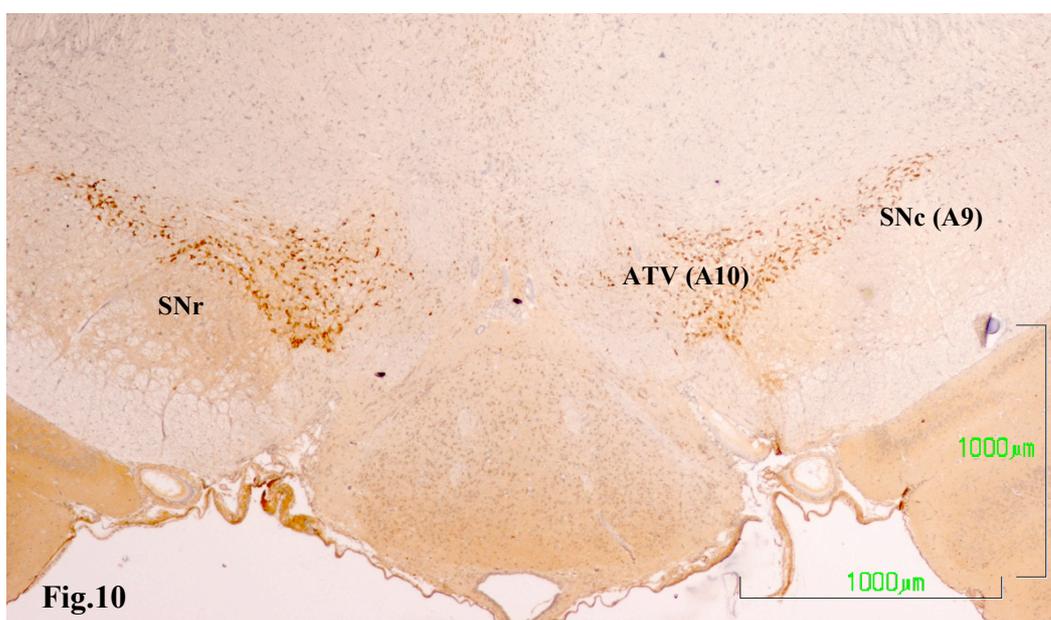
En cuanto al hipocampo (fig. 9), se advierte su organización típica, con las partes del Asta o Cuerno de Ammón (CA1-CA3) y la Fascia o Giro Dentado (GD). En nuestros animales controles la reacción es discreta en la concavidad del Giro dentado (*) y más intensa en la región A3 del Cuerno de Ammón, concretamente en la curvatura lateral (flecha amarilla). Por lo demás existe un discreto marcaje en el conjunto del hipocampo que se manifiesta si comparamos esta región con las circundantes.

Hemos de señalar que las figuras 8 y 9 carecen de barra de aumentos, si bien están realizadas a la misma magnificación que la figura 4, cuya barra puede aplicarse a las citadas.



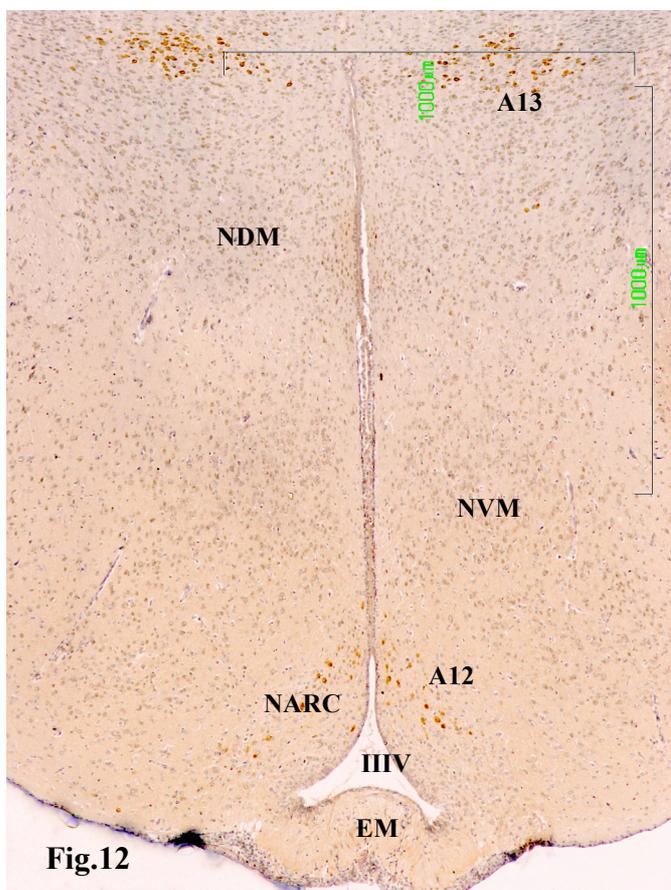
5.2.1.2.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales tratados con Paroxetina:

Tras el tratamiento con Paroxetina (Prx), en los grupos nucleares A9 (Sustancia Negra compacta) y A10 (Área Tegmental Ventral) notamos que la inmunorreactividad disminuye de manera muy importante (figs. 10 y 11), lo que se traduce en un territorio nuclear en que las neuronas parecen menores pues contienen menos marcaje, mientras que desaparece la reacción en las fibras dentro de los núcleos y alrededor de los mismos.



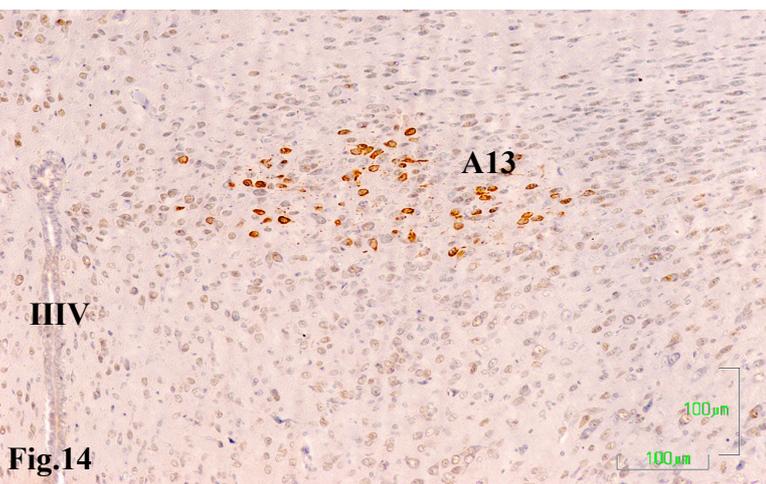
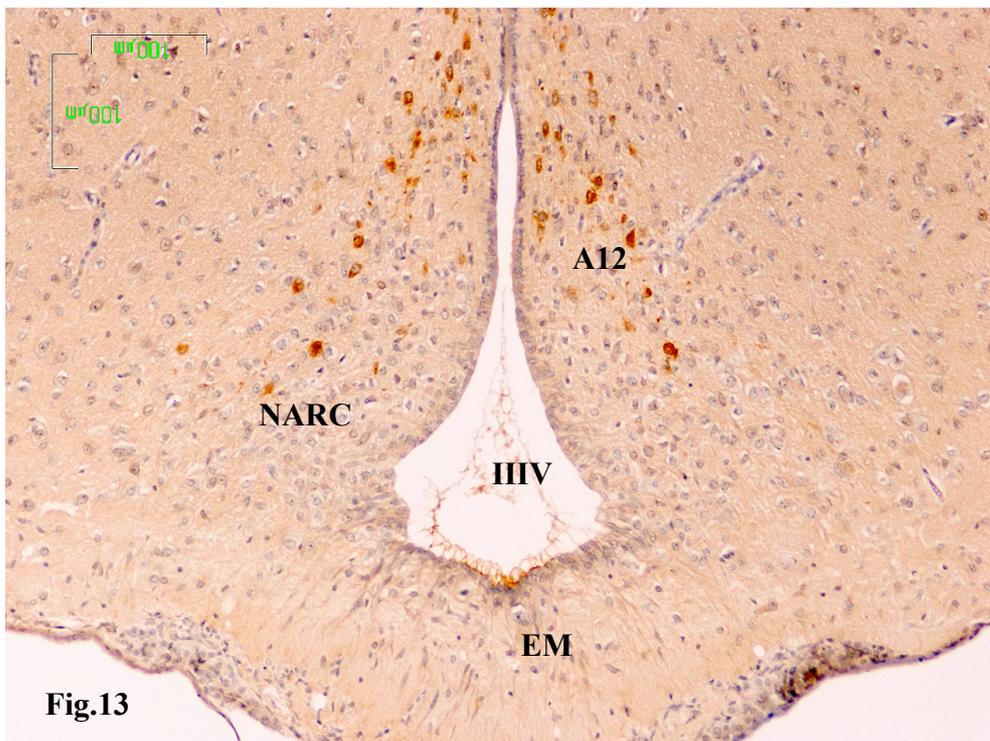
En la figura 11 se nota claramente la ausencia de marcaje en los axones que parten de la sustancia negra y el ATV, origen de las vías dopaminérgicas que alcanzan el estriado, la corteza y el hipocampo.

En los grupos A12 (núcleo arcuato) y A13 (zona incerta) se manifiesta igualmente lo que hemos señalado para los grupos A9 y A10, es decir, la reactividad a la tirosina-hidroxilasa es menor y esto afecta a los somas, que parecen de menor tamaño y a las fibras reactivas, que se encuentran prácticamente desaparecidas (fig. 12).



Resulta enormemente llamativa la ausencia de marcaje que se aprecia en dos cortes diferentes de la eminencia media (figs. 12 y 13), donde terminan los axones de la vía tuberoinfundibular, cuya dopamina actúa como hormona sobre las células de prolactina del lóbulo anterior de la hipófisis.

En la zona incerta, a mayores aumentos (fig. 14) se evidencia igualmente la escasez de marcaje en las neuronas y la ausencia en las fibras que rodean el núcleo. Compárese esta imagen con la de la fig. 5, realizada a los mismos aumentos.



La inervación del estriado también se encuentra notablemente afectada, habiendo desaparecido la inmunorreacción en toda la parte dorsal y medial del Caudado-Putamen y habiéndose reducido de manera importante en el resto (fig. 15). A mayores aumentos

se nota claramente que las fibras dopaminérgicas han desaparecido prácticamente pues los estriosomas apenas difieren de la matriz.

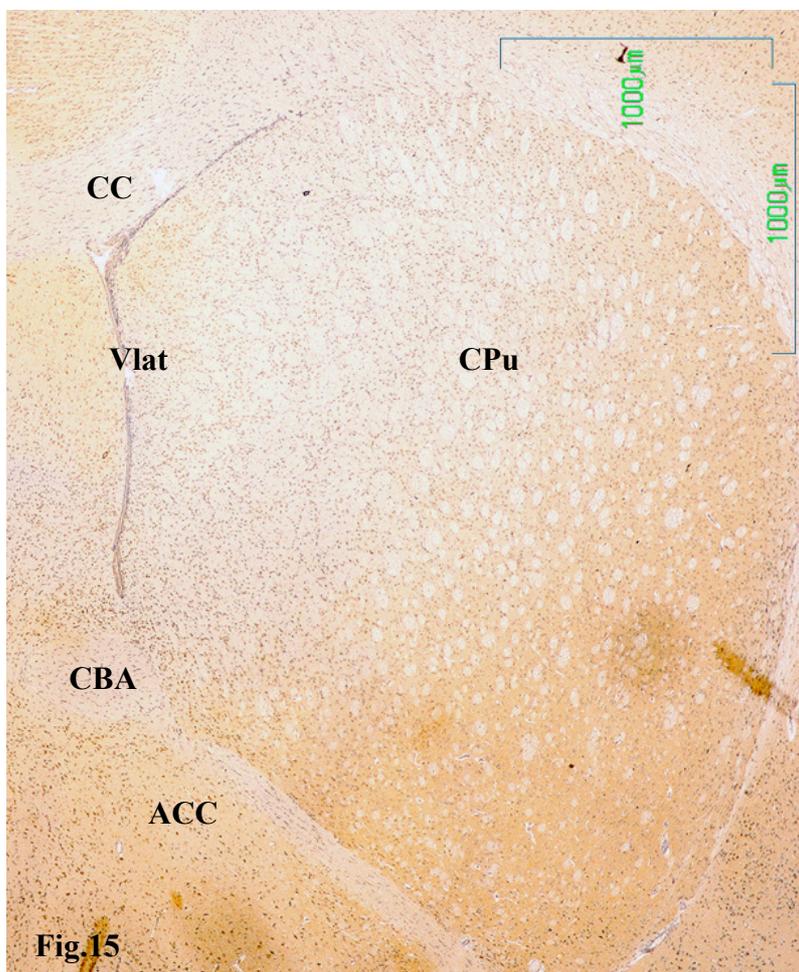
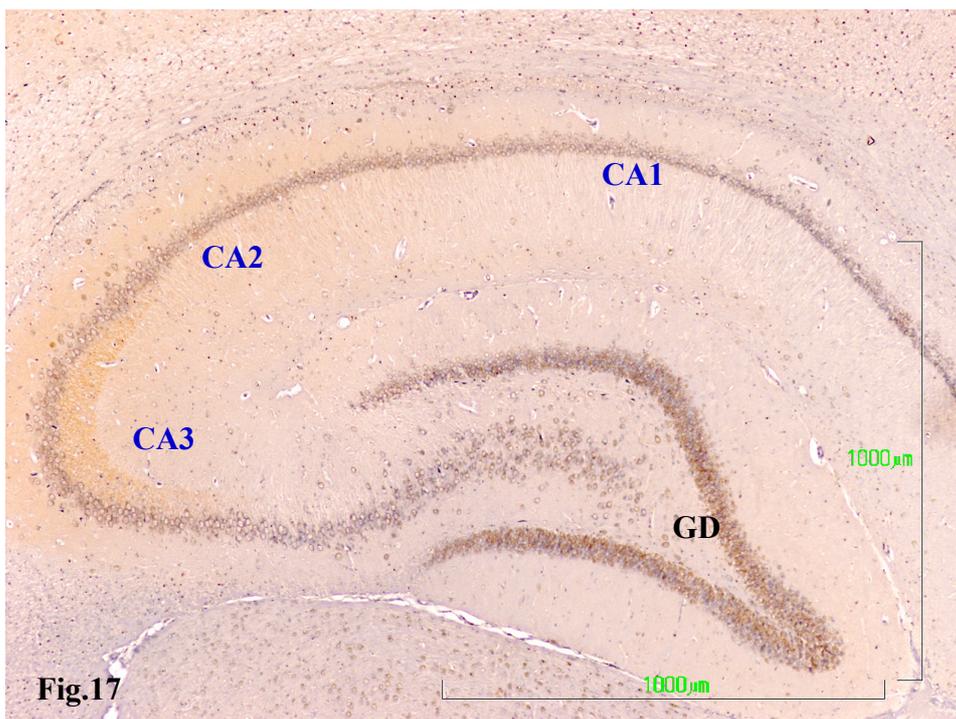
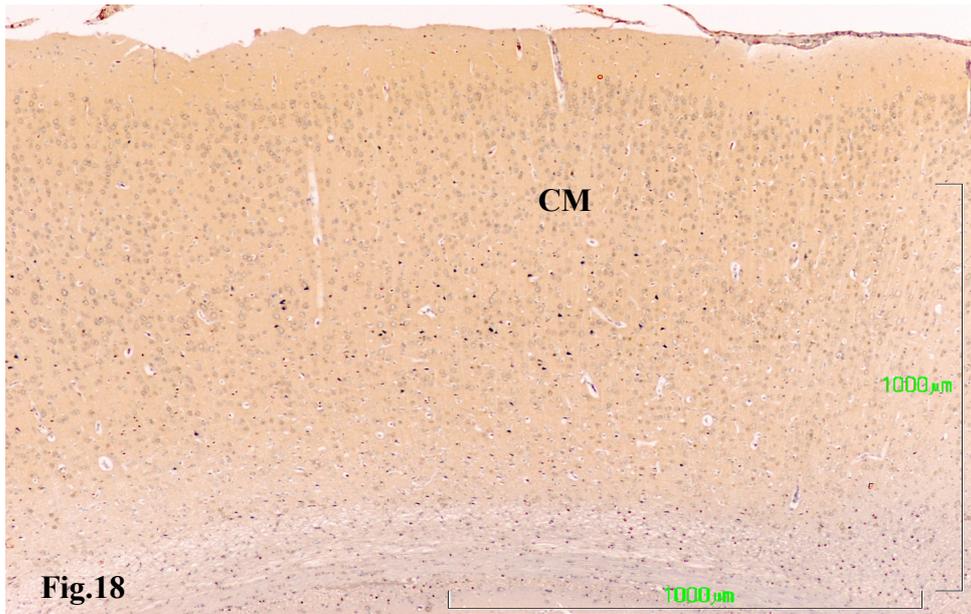


Fig.15



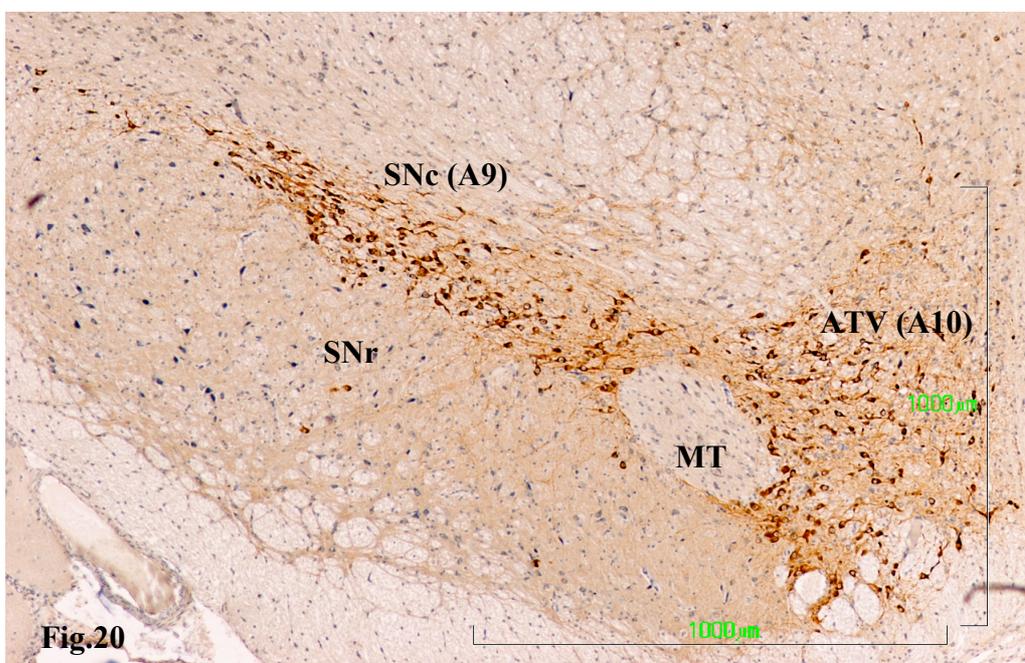
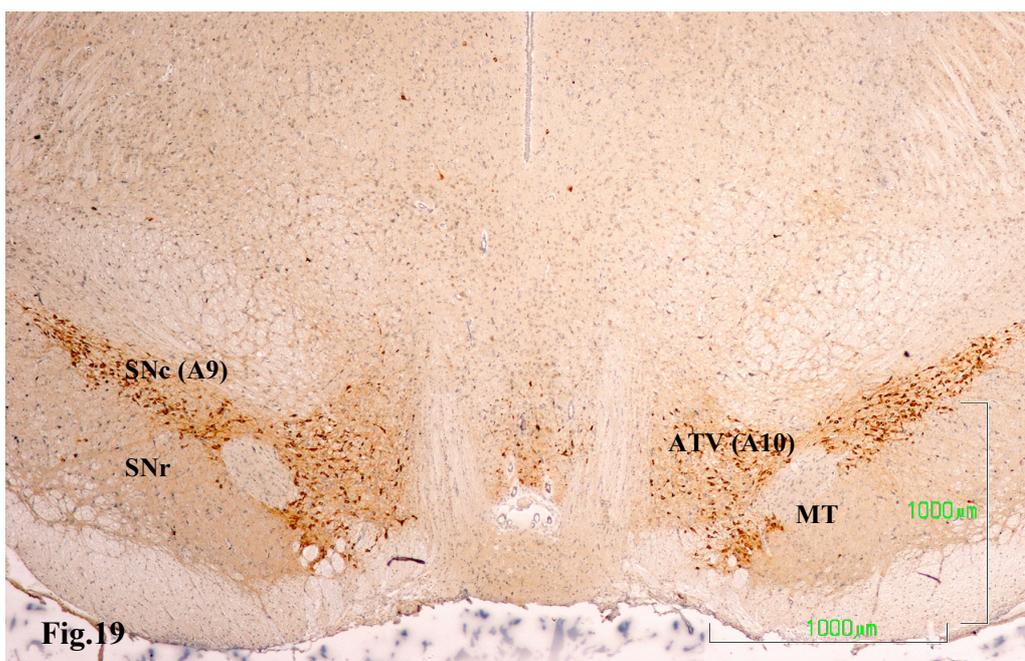


Del Hipocampo y la corteza vale repetir lo que venimos señalando; es decir, el marcaje dopaminérgico está muy reducido. En el Hipocampo no se advierte en el Giro Dentado ni en el contorno de la región, y se ha reducido de manera muy importante en la curvatura de la región A3 del Asta de Ammón (fig. 17).

En cuanto a la corteza cerebral (fig. 18) se diría que el marcaje simplemente ha desaparecido pues el aspecto que ofrece el corte es uniforme, sin axones visibles, pudiendo corresponde a la tinción de fondo.

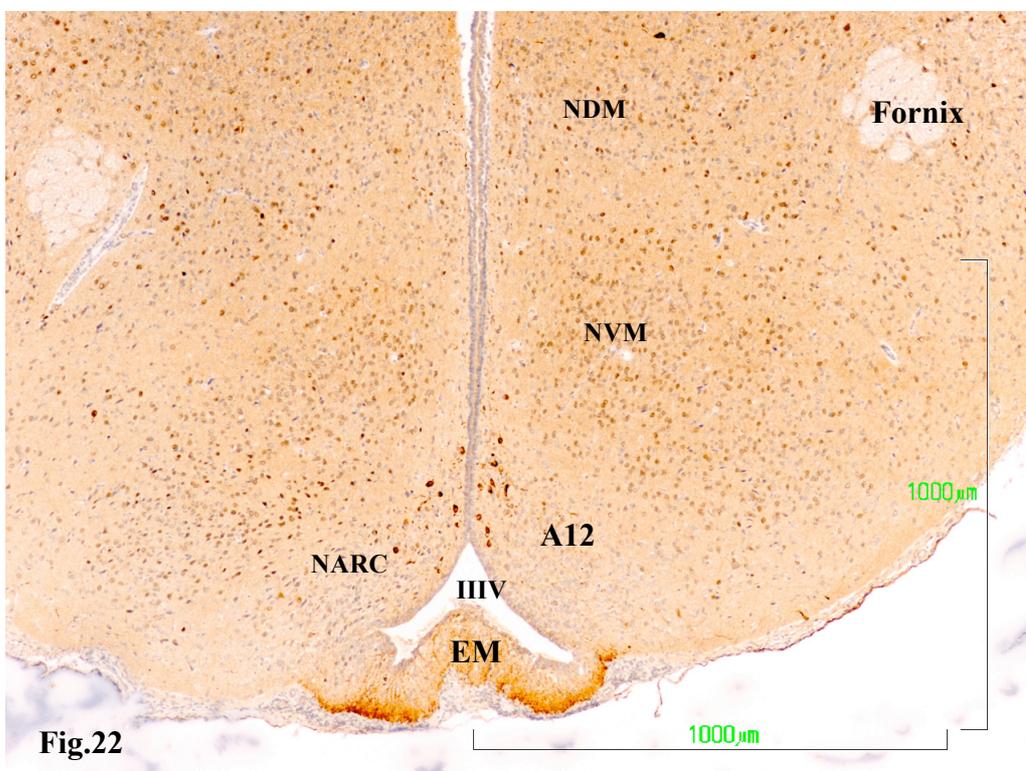
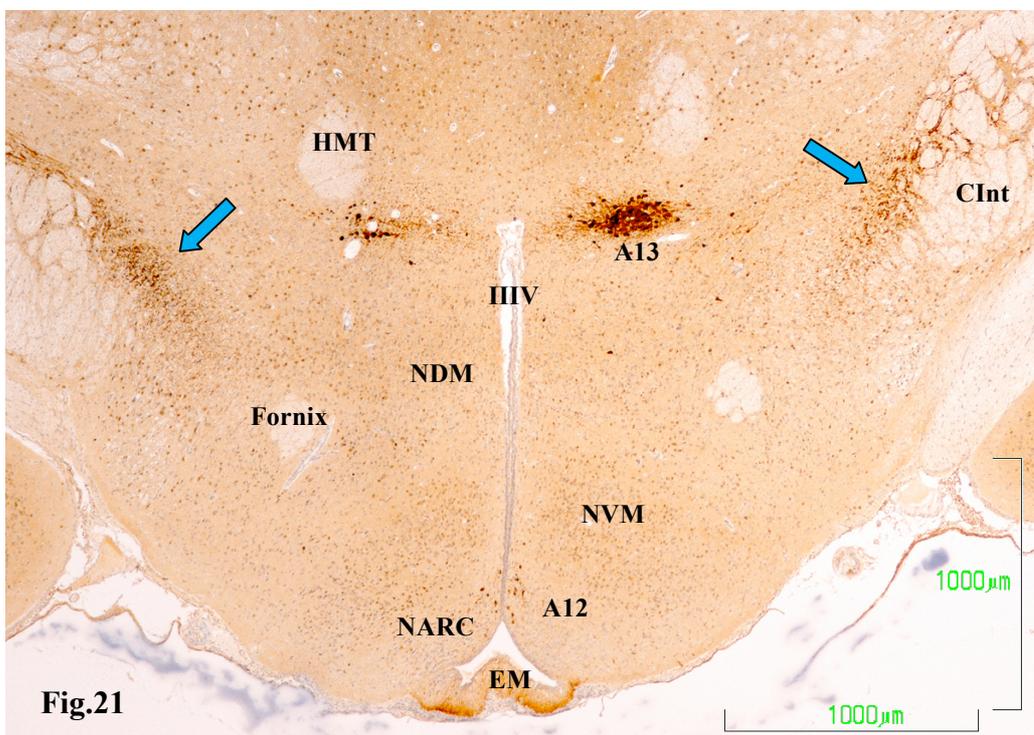
5.2.1.3.- Estudio del sistema dopaminérgico en animales tratados con Agomelatina:

En las ratas tratadas con Agomelatina, la inmunorreactividad para tirosina hidroxilasa en los grupos neuronales dopaminérgicos recuerda más a la que vimos en los animales del grupo control que la que mostraban los tratados con Paroxetina. Esto es lo que se comprueba en las figuras 19 y 20, correspondientes a los grupos A9 (sustancia negra) y A10 (ATV). Las neuronas muestran un marcaje más intenso y se advierten algunas fibras en las inmediaciones de los núcleos.



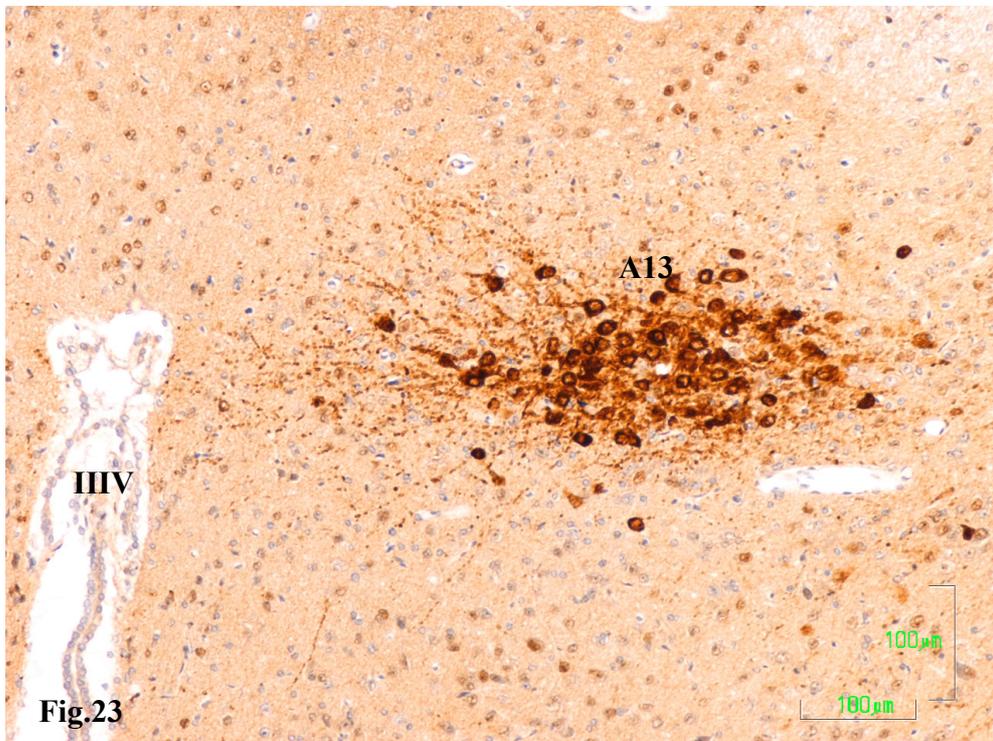
En los cortes que afectan la hipótlamo mediobasal (figs. 21 y 22) la imagen recuerda a la obtenida de ratas controles, tanto en los grupos (A12 del núcleo Arcuato y A13 de la zona incerta) como en las fibras que se originan de los mismos. En este sentido llama la atención la recuperación del marcaje en la zona externa de la EM. También se advierte en el corte de la figura 21 un denso punteado inmunorreactivo que indica la

presencia de abundantes axones dopaminérgicos por dentro de la cápsula interna (Cint. Flechas azules).



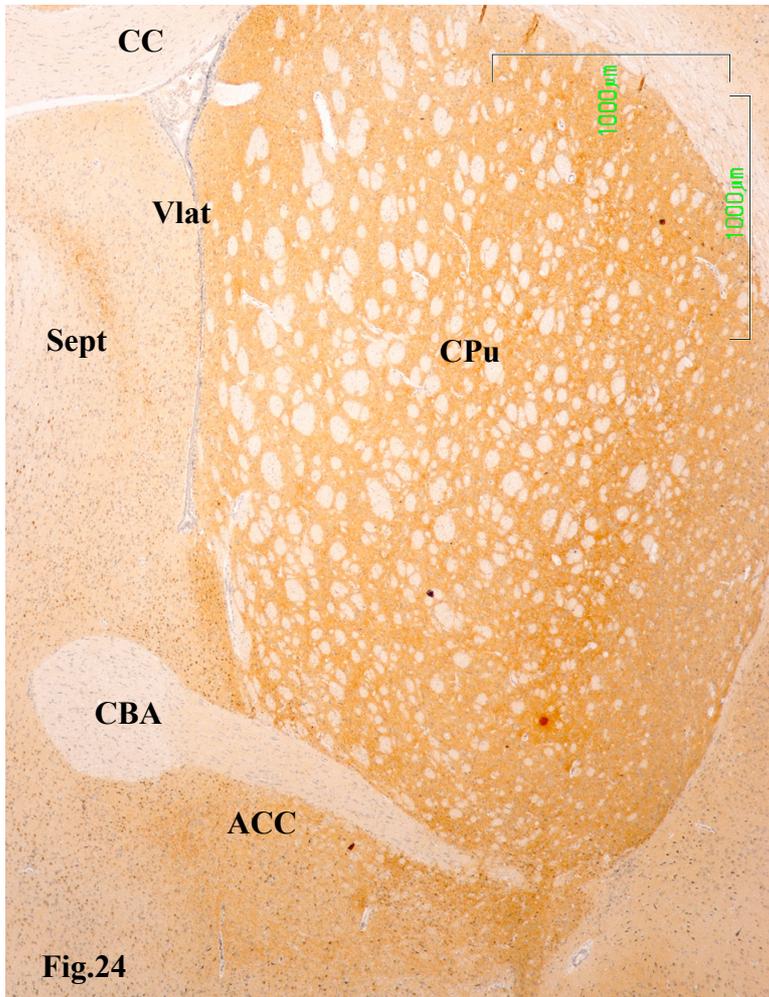
En la figura 22, a mayores aumentos, se constata que la reactividad de los axones de la vía tuberoinfundibular se intensifica conforme nos acercamos a la zona de contacto con los capilares del plexo porta hipofisario.

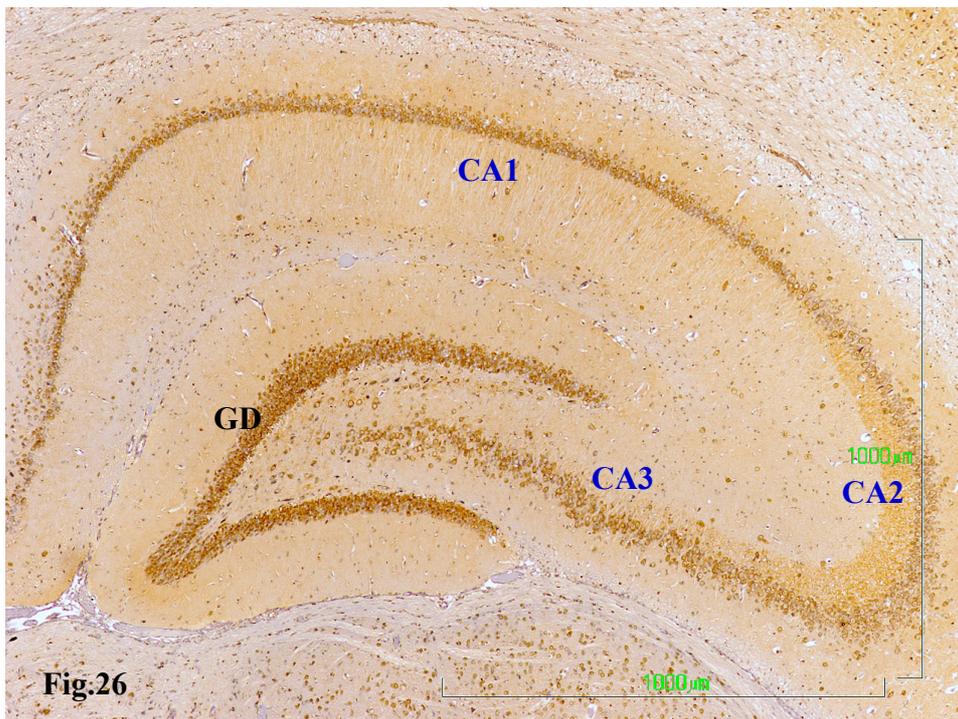
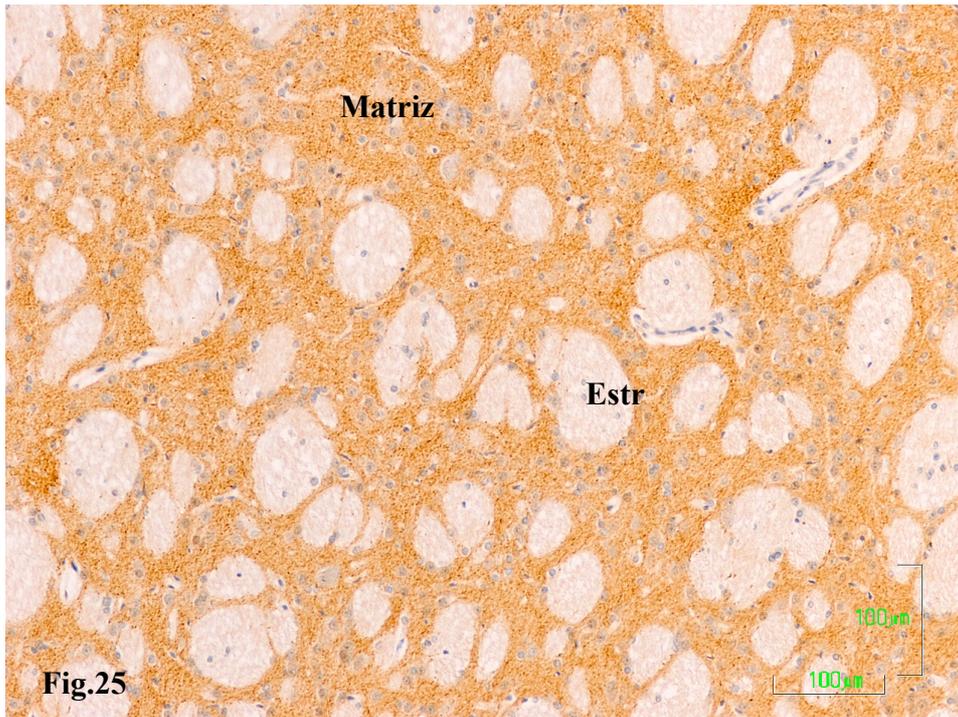
Finalmente, en cuanto al grupo de la zona incerta (A13), su aspecto y caracteres morfológicos son los mismos que apuntamos en los animales del grupo control: las neuronas aparecen densamente teñidas en forma de halo citoplasmático que rodea un núcleo negativo. Además se notan los trayectos arrosariados de los axones que salen del citado núcleo (fig. 23).

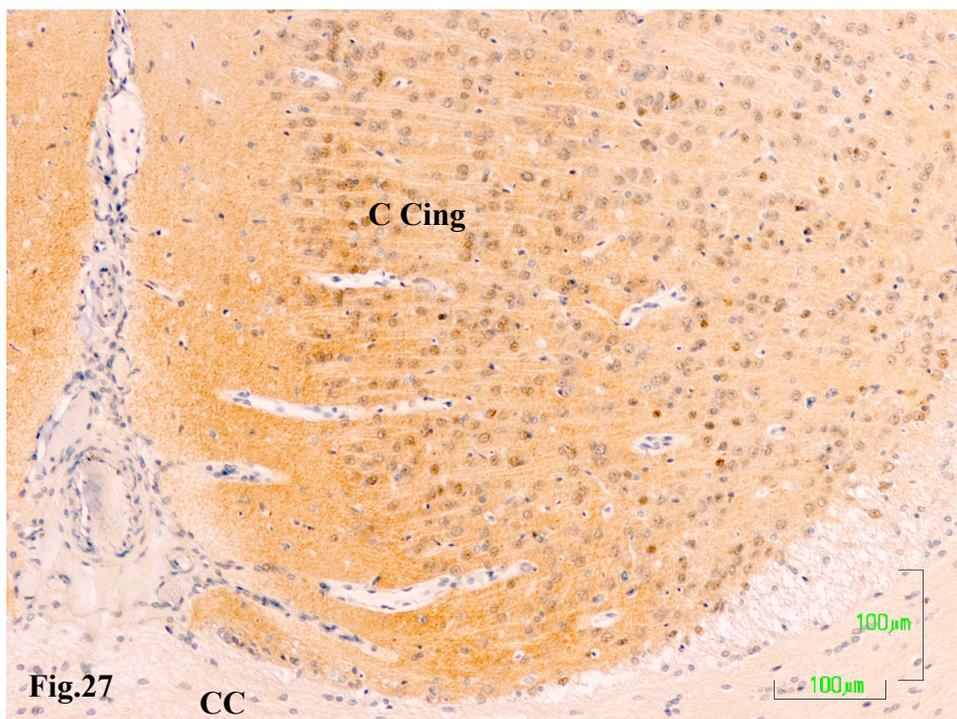


Pasando ya a las fibras dopaminérgicas en las regiones de destino, comprobamos que en el estriado anterior (fig. 24) el patrón del marcaje es uniforme por toda la matriz del Caudado-Putamen, permaneciendo negativos los estriosomas (fig. 25). La reacción se manifiesta como un punteado que indica la presencia de fibras, pero en ningún caso de células dopaminérgicas en esta región.

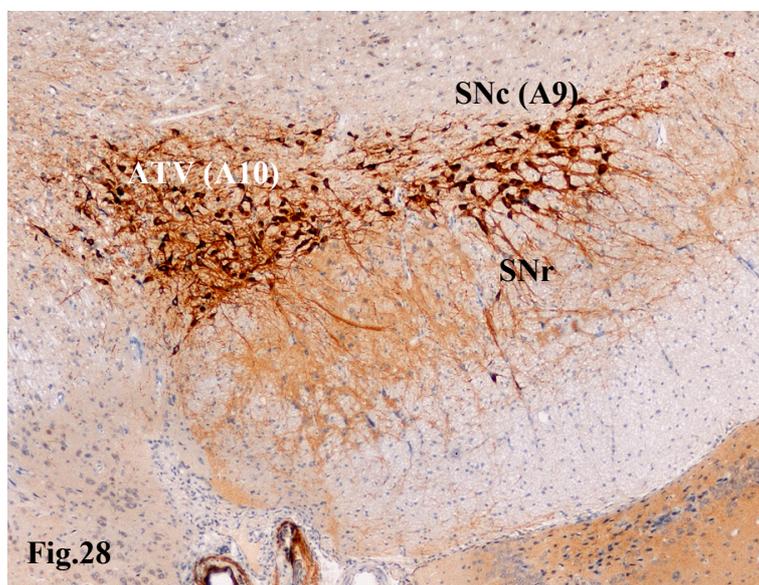
Como detalles menores que diferencian este patrón de reacción del observado en las ratas control, notamos que en el territorio del ACC el marcaje es más regular por toda su extensión. Por otro lado se ven algunas fibras reactivas en los núcleos septales (Sept, fig. 24).

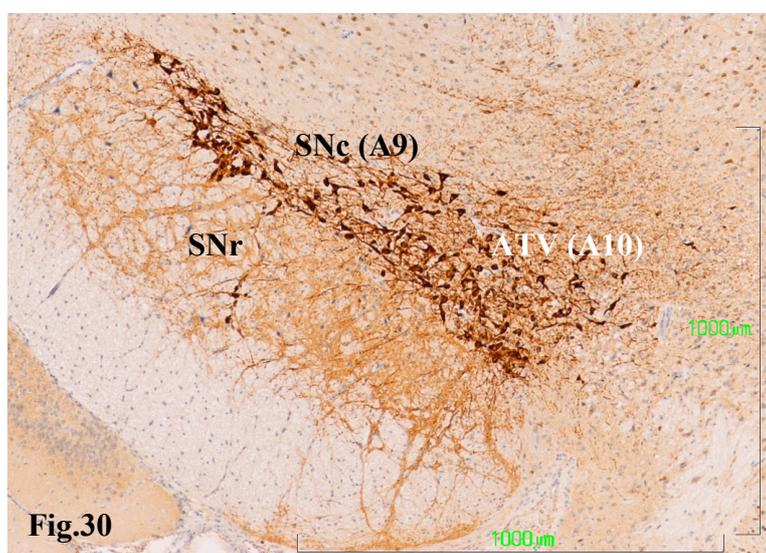
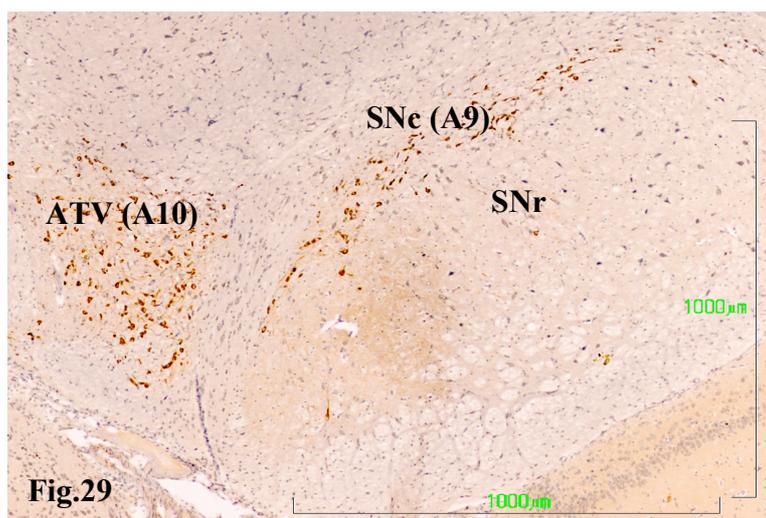






5.2.1.4.- Comparativa del efecto de los distintos tratamientos sobre el sistema dopaminérgico:





De manera simplificada podemos notar que, respecto de las ratas del grupo control (fig. 28), la reactividad de las neuronas de la Sustancia Negra y el Área Tegmental Ventral se reduce muy ostensiblemente tras el tratamiento con Paroxetina (fig. 29), tanto en los somas de las neuronas como en los axones que parten de ellas hacia distintas regiones del sistema nervioso. En las ratas tratadas con Agomelatina la reactividad de las neuronas y fibras a la TH es intermedia entre la que se pone de manifiesto en los animales controles y la reducción que se aprecia debido a la Paroxetina (fig. 30), si bien, a nuestro juicio, la reducción no es muy importante.

5.2.1.5.- Cuantificación de la reacción inmunohistoquímica a TH en los distintos grupos:

La cuantificación se ha efectuado mediante el programa “Image J “ tal y como señalamos en el capítulo de material y procedimientos. Para ello se ha definido el contorno de 40 neuronas positivas de la Sustancia negra y el ATV, (diez neuronas por animal de cuatro animales de cada uno de los grupos), y se ha determinado en cada una de ellas, de manera automática, la intensidad de píxeles, teniendo en cuenta que los valores de referencia del programa asignan un valor 0 al color negro y 255 al blanco; es decir, que a mayor intensidad en la tinción corresponde un valor numérico (intensidad de píxeles) menor. Este procedimiento nos ha permitido cuantificar y comparar la reacción inmunohistoquímica sin modificar las imágenes.

En primer lugar realizamos una descriptiva básica de los tres grupos.

Descriptivos

medida

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					control	40		
paroxetina	40	109,58150	19,970774	3,157657	103,19454	115,96846	72,070	148,270
agomelatina	40	57,00325	13,393584	2,117712	52,71977	61,28673	33,650	95,140
Total	120	64,84333	36,993992	3,377074	58,15639	71,53028	14,780	148,270

Si realizamos el test de normalidad se obtiene que los grupos experimentales son significativos mientras que el grupo control no lo es. Pero cuando realizamos la representación box-plot (cuanto mayor sea la simetría de la caja más se considera una distribución simétrica) se observan que son bastantes simétricas las distribuciones, si

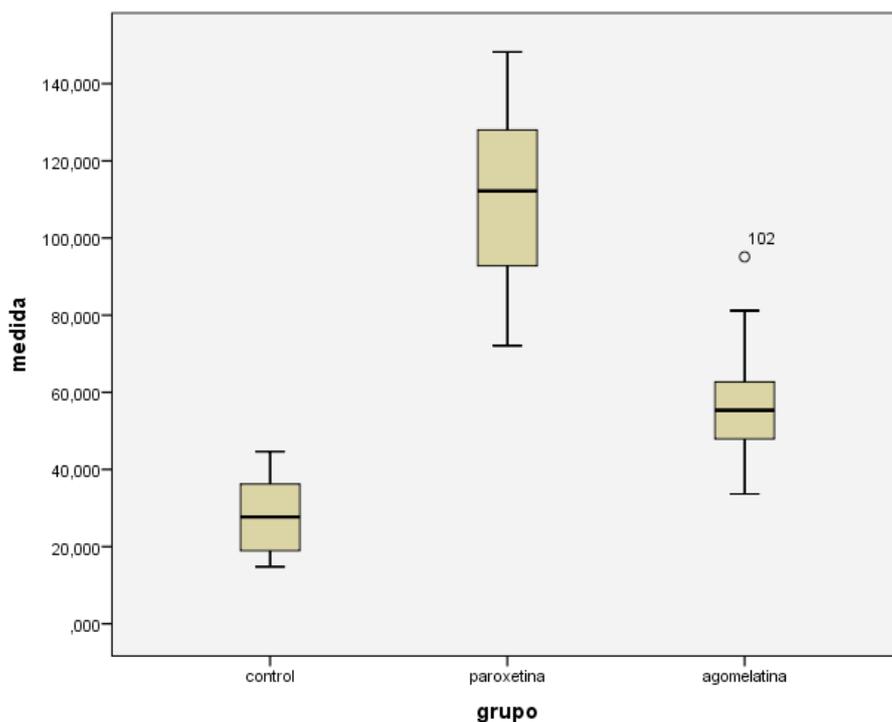
bien, en el grupo de la Agomelatina hay un valor que se aleja del resto (el valor 102) y que puede afectar el valor de la media.

Pruebas de normalidad

	grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
medida	control	,101	40	,200*
	paroxetina	,138	40	,052
	agomelatina	,154	40	,017

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors



Si calculamos las medianas y sus rangos intercuartílicos

Descriptivos

	grupo	Rango	
		Mediana	intercuartílico
medida	control	27,70000	17,825
	paroxetina	112,24500	35,423
	agomelatina	55,38500	15,205

Se observa como excepto en el grupo control, las medianas toman valores mayores que las medias lo que hace suponer que puede haber una pequeña asimetría a la izquierda.

Vamos a realizar un análisis de la varianza con la corrección de Welch debido a que no se cumple el supuesto fundamental de la varianza que es la homogeneidad de varianzas. El test de Levene para comprobar si las varianzas son iguales ha salido significativo.

Prueba de homogeneidad de varianzas

medida

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
18,521	2	117	,000

Además se puede ver en los box-plot como las amplitudes de las cajas son bastante diferentes. Los resultados del análisis de la varianza son:

ANOVA

medida

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	136977,561	2	68488,780	309,622	,000
Dentro de grupos	25880,541	117	221,201		
Total	162858,102	119			

Pruebas robustas de igualdad de medias

medida

	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch	289,803	2	71,949	,000

a. F distribuida de forma asintótica

Los análisis realizados demuestran que las diferencias son altamente significativas, por lo tanto al menos hay diferencia en una de las medias. Para ver entre que medias hay diferencias aplicamos el test de Tukey y los resultados son los siguientes:

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: medida

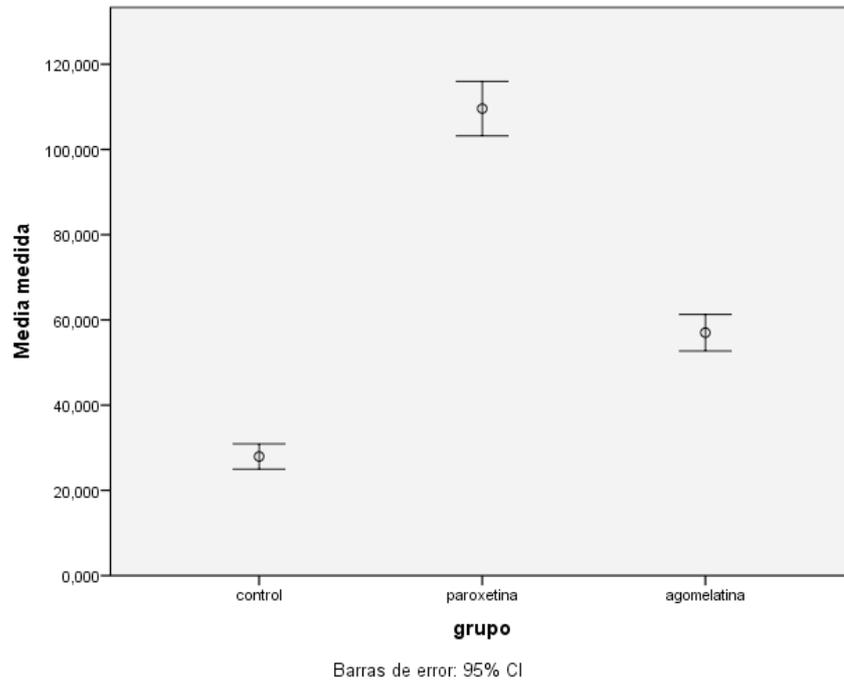
HSD Tukey

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
control	paroxetina	-81,636250*	3,325667	,000	-89,53109	-73,74141
	agomelatina	-29,058000*	3,325667	,000	-36,95284	-21,16316
paroxetina	control	81,636250*	3,325667	,000	73,74141	89,53109
	agomelatina	52,578250*	3,325667	,000	44,68341	60,47309
agomelatina	control	29,058000*	3,325667	,000	21,16316	36,95284
	paroxetina	-52,578250*	3,325667	,000	-60,47309	-44,68341

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

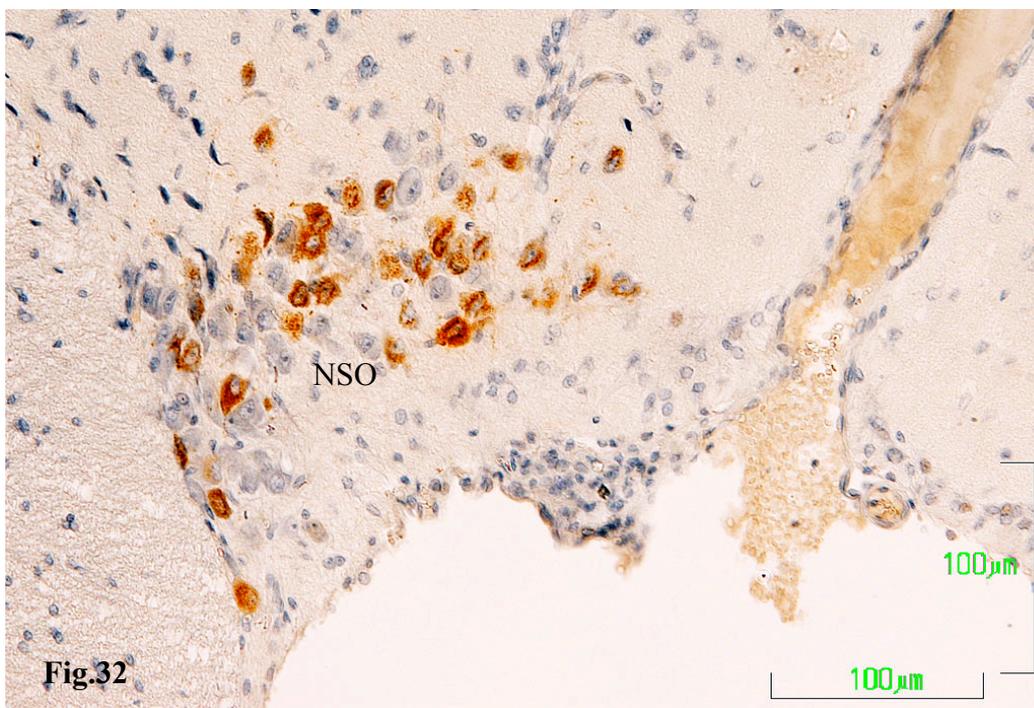
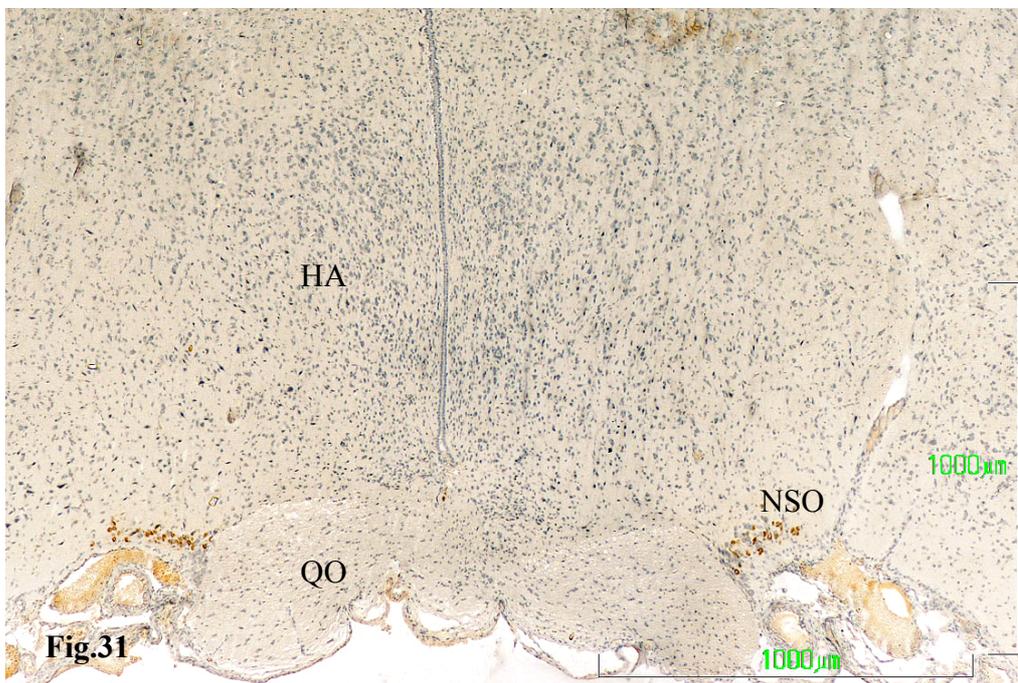
Así pues mediante el Test de Tukey se detecta que todos los grupos presentan diferencias significativas. La Paroxetina es el grupo que más se diferencia de los otros dos (color amarillo en la tabla), pero también son significativas las diferencias entre los grupos control y tratados con Agomelatina. Representamos las medias y los intervalos de confianza al 95%.

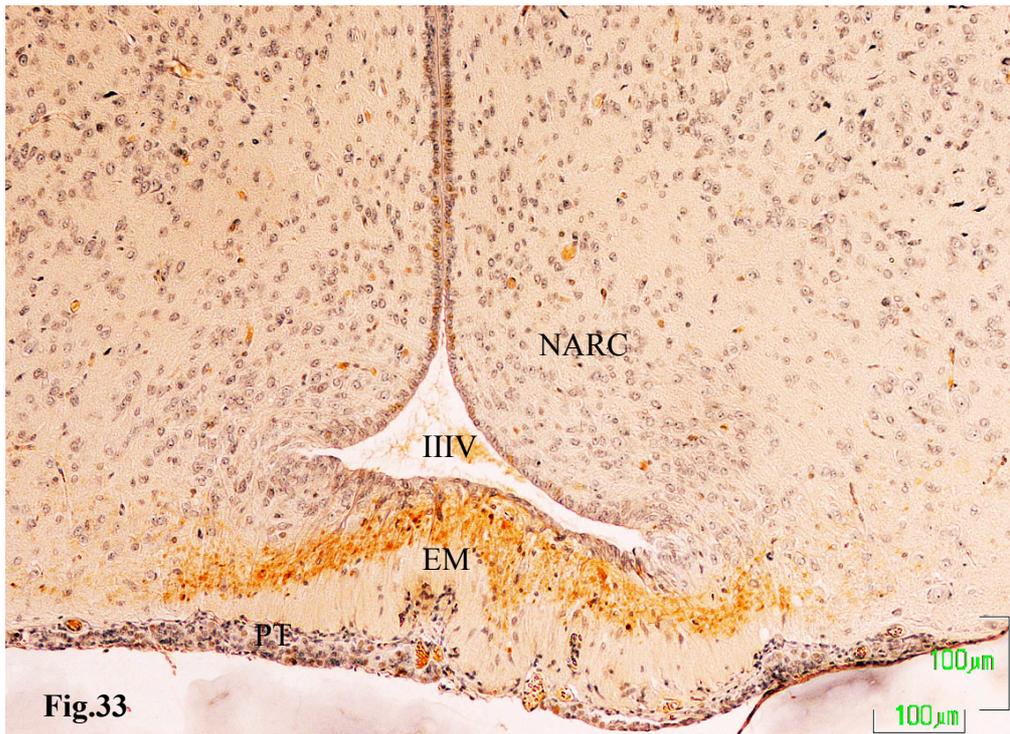
Alteraciones estructurales de las regiones cerebrales sexuales tras empleo de paroxetina versus agomelatina



5.2.2.- Estudio de la inmunorreactividad a oxitocina:

5.2.2.1.- Estudio de la inmunorreactividad a oxitocina en los animales controles:

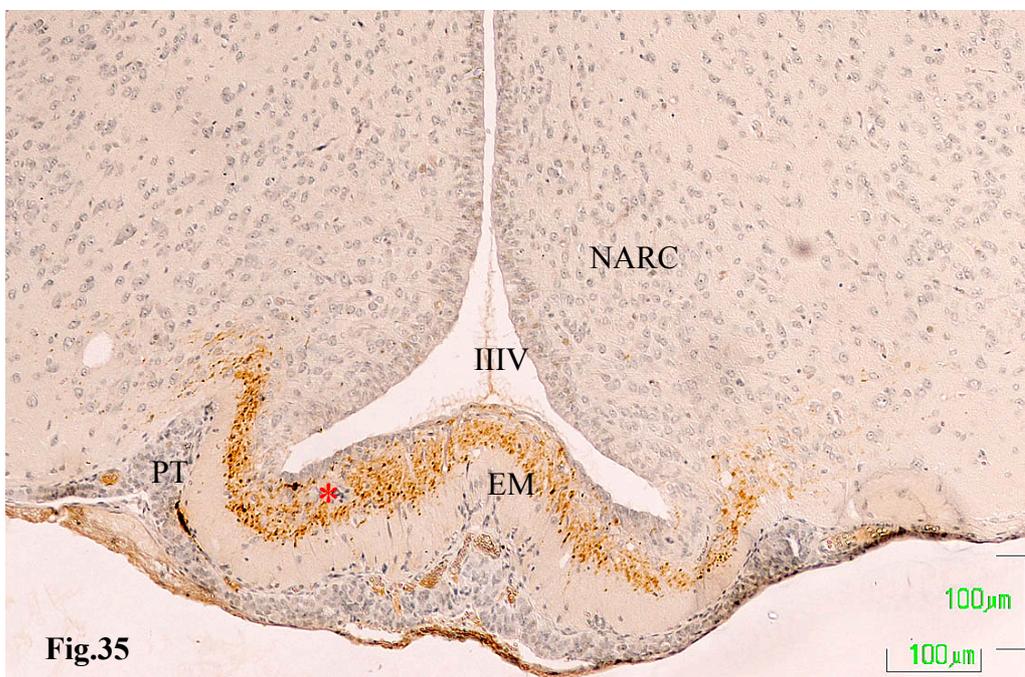
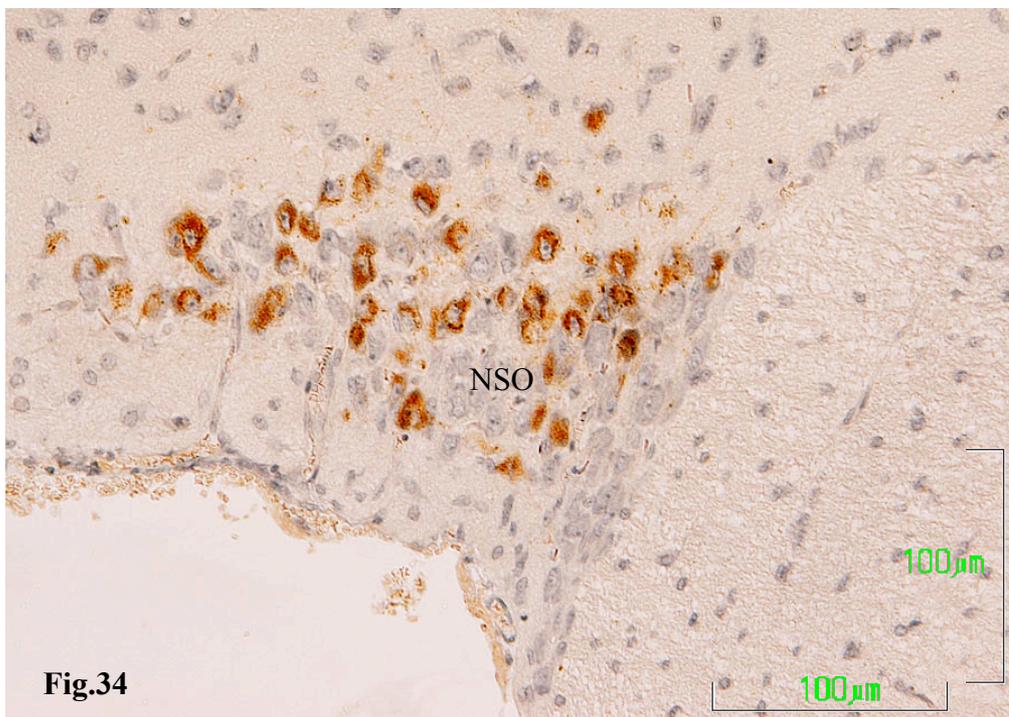




La reactividad para oxitocina en los animales controles se ha observado tan solo en los núcleos de origen, especialmente el Núcleo Supraóptico (NSO, figs. 31 y 32) y en la Eminencia Media (fig. 33). En el NSO se aprecia con nitidez el marcaje en las neuronas magnocelulares situadas a ambos lados y por encima del Quiasma Óptico (QO) en los planos anteriores del hipotálamo (fig. 31). A mayores aumentos (fig. 32) se evidencia que la reactividad en el citoplasma de las neuronas es desigual, más débil en unas y más intensa en otras.

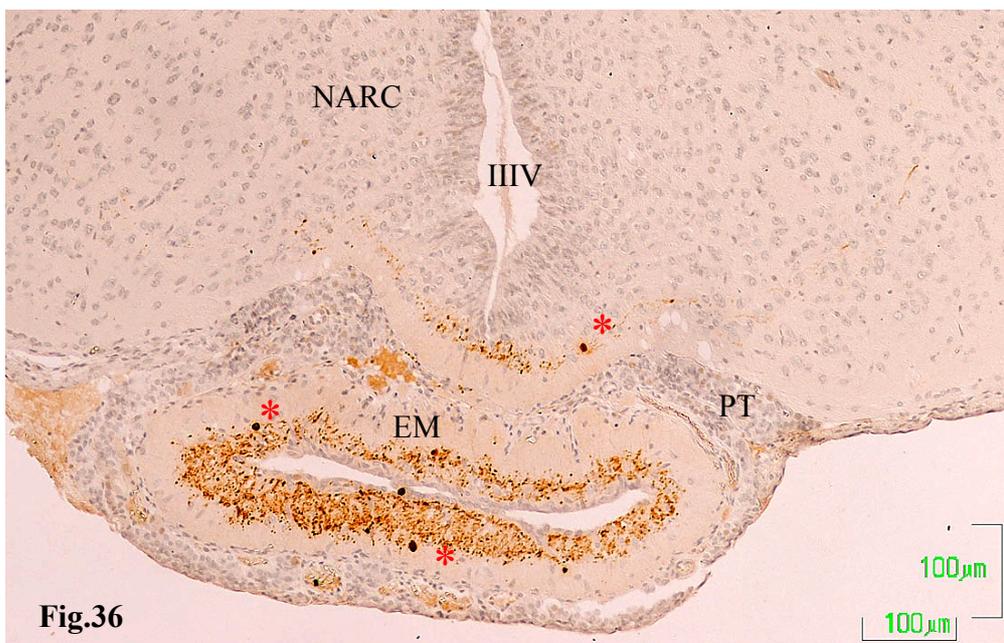
En la Eminencia Media la reacción se localiza en la zona interna (recuérdese que la TH se detectaba en la zona externa), que es la región que ocupa en haz hipotálamo-neurohipofisario, también llamado supraóptico hipofisario (fig. 33). El marcaje es moderado y no se aprecian dilataciones del haz (Cuerpos de Herring).

5.2.2.2.- Estudio de la inmunorreactividad a oxitocina en los animales tratados con Paroxetina:

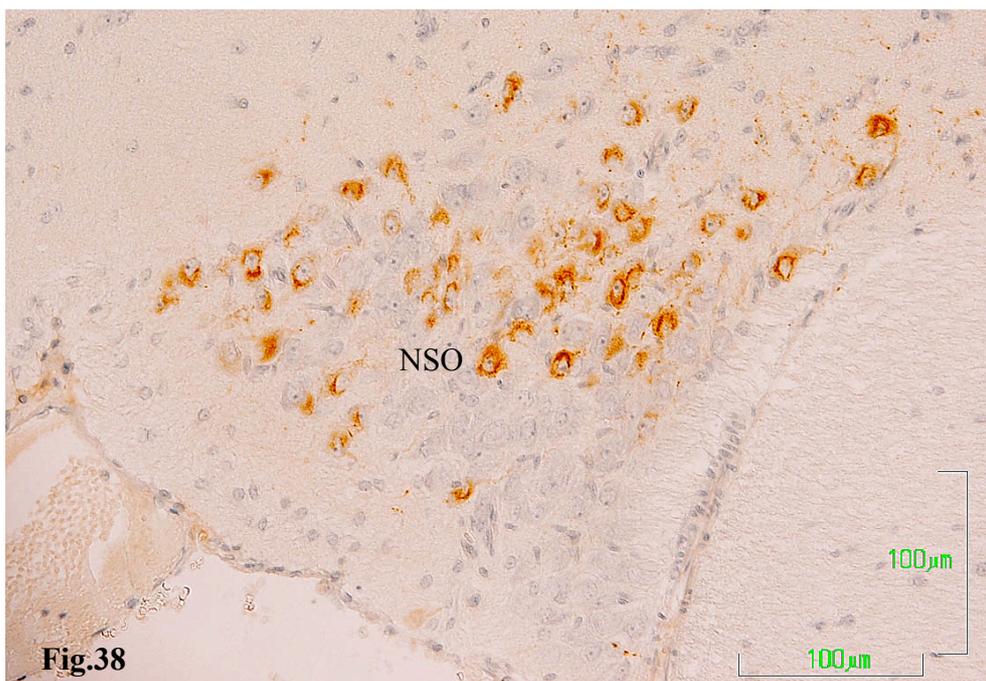
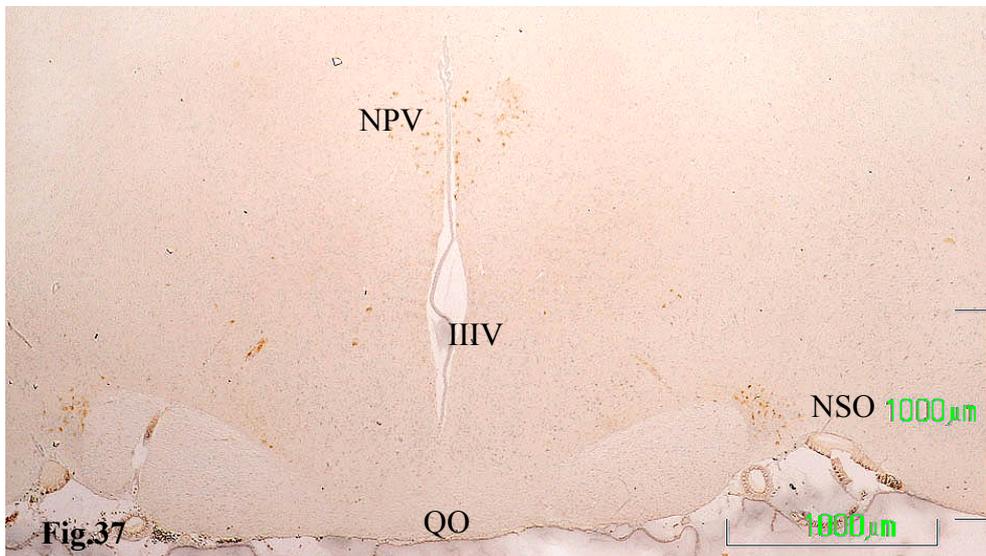


En las figuras 34 a 36 se resumen las observaciones realizadas en las ratas tratadas con Paroxetina y teñidas para estudiar el sistema oxitocinérgico. En el NSO (fig. 34) las neuronas marcadas presentan características idénticas a las que señalamos en el grupo de ratas control.

En el haz supraóptico-hipofisario tampoco se aprecian diferencias en cuanto a la intensidad del marcaje (figs. 35 y 36). Si acaso cabe mencionar que en esta circunstancia hemos visto con frecuencia dilataciones de los axones de oxitocina, que se ponen de manifiesto como grumos intensamente positivos (asteriscos rojos).

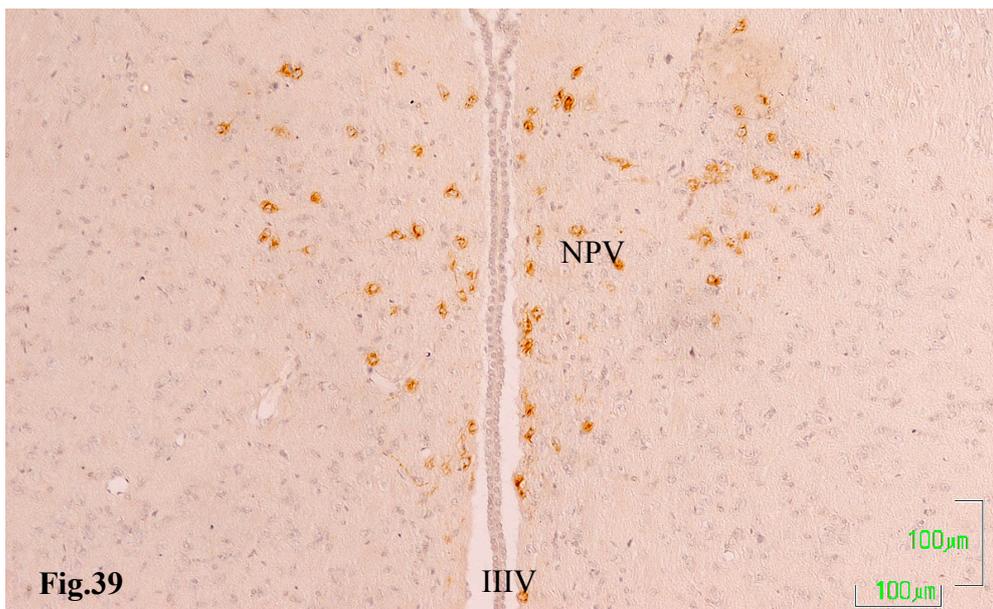


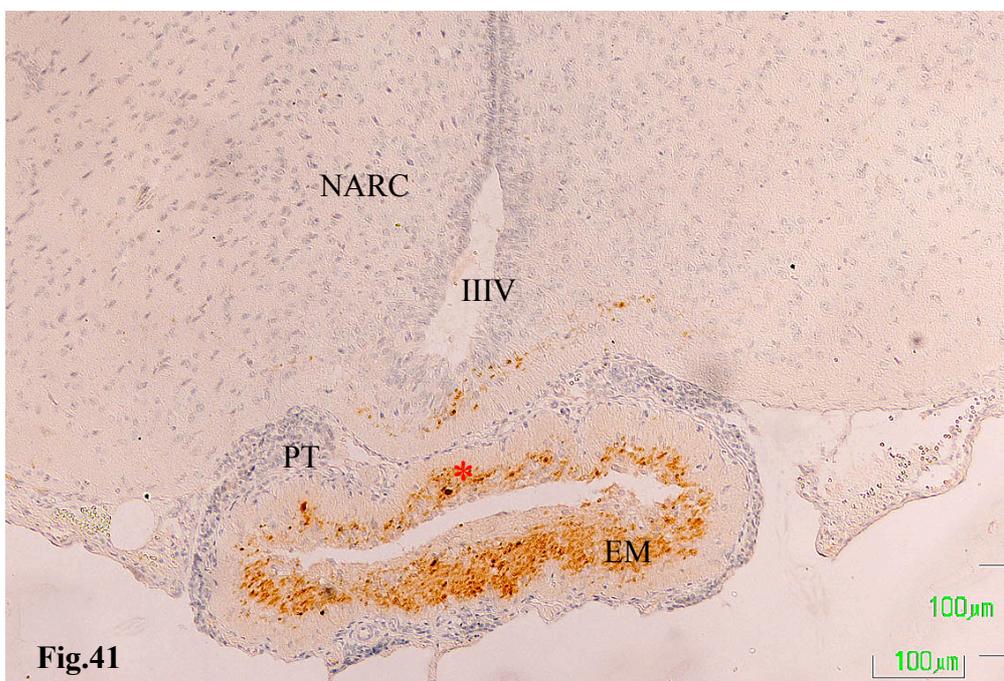
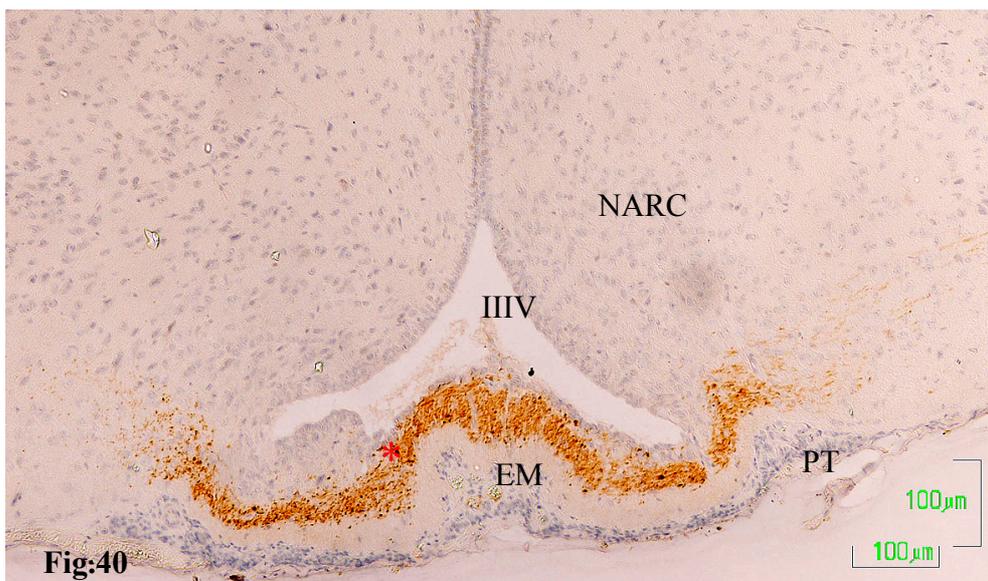
5.2.2.3.- Estudio de la inmunorreactividad a oxitocina en animales tratados con Agomelatina:



En las ratas tratadas con Agomelatina el sistema oxitocinérgico no presenta muchas diferencias con lo ya apuntado en los otros grupos (figs. 37 a 41). En la imagen panorámica podemos observar la presencia de neuronas reactivas en los dos núcleos magnocelulares, el Supraóptico (NSO) y el Paraventricular (NPV).

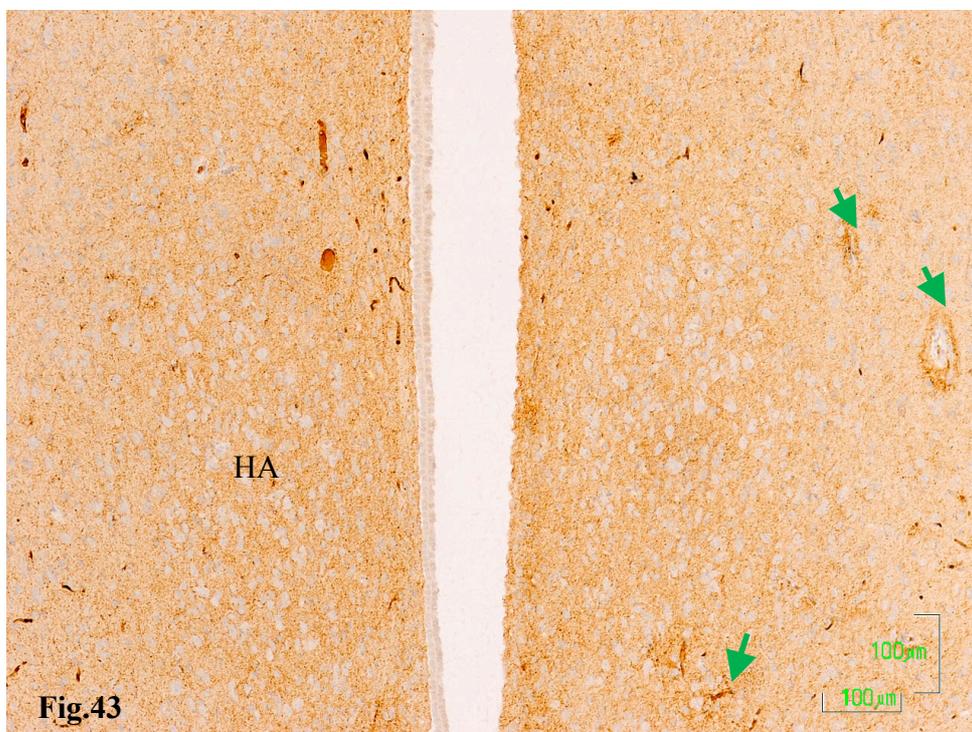
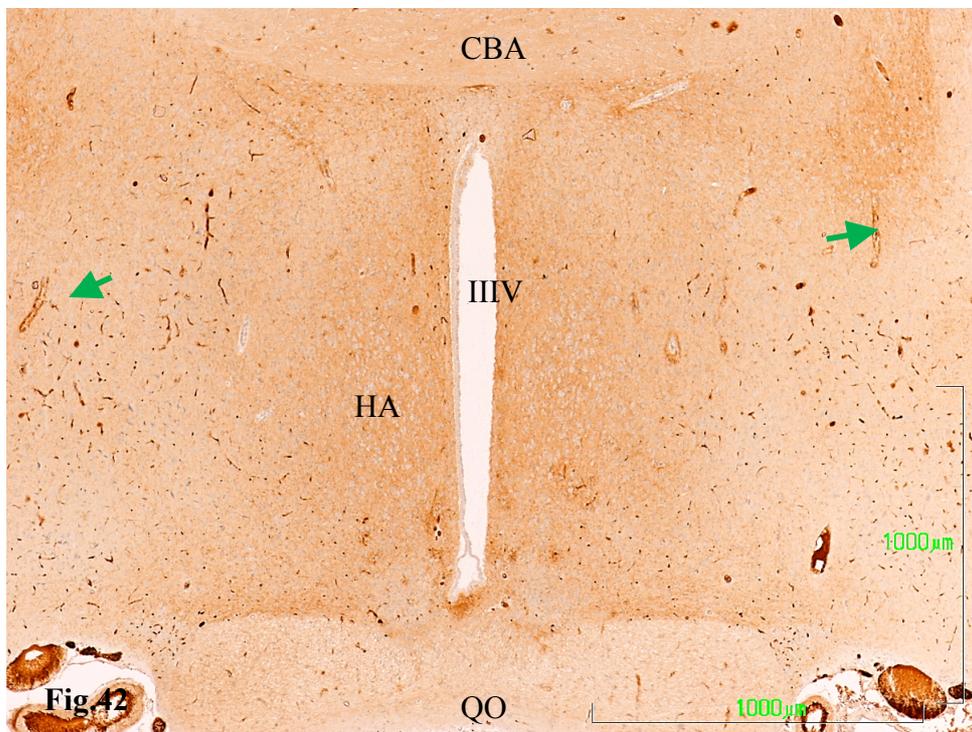
En los detalles de las figuras 38 y 39 se evidencia que las características de la reacción son en todo superponibles a las descritas en los animales de los otros dos grupos. Por lo que se refiere a la Eminencia Media tampoco apreciamos diferencias dignas de mención respecto de los animales controles y tratados con Paroxetina. También en esta circunstancia hemos observado algún cuerpo de Herring entre las fibras del haz transportador de la neurohormona (asteriscos rojos en las figuras 40 y 41). En resumen, se diría que no hay diferencias relevantes en cuanto a la respuesta del sistema de oxitocina tras ninguno de los tratamientos efectuados respecto de los animales del grupo control.



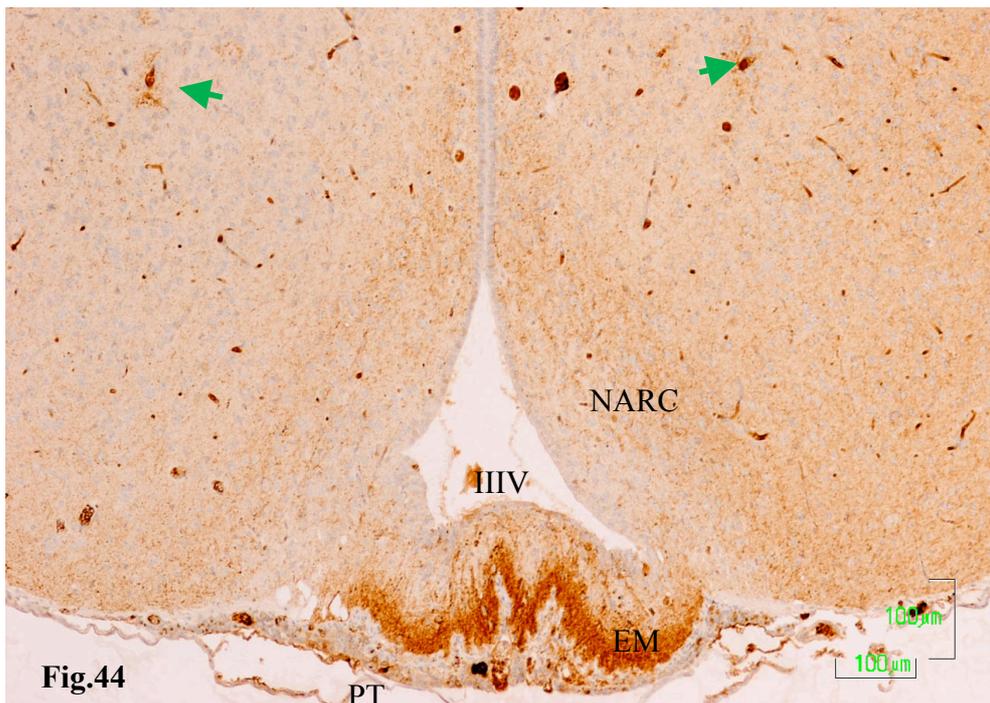


5.2.3.- Estudio de la inmunorreactividad al receptor alfa de estrógenos (RE- α):

5.2.3.1.- Estudio de la inmunorreactividad al RE- α en animales controles:

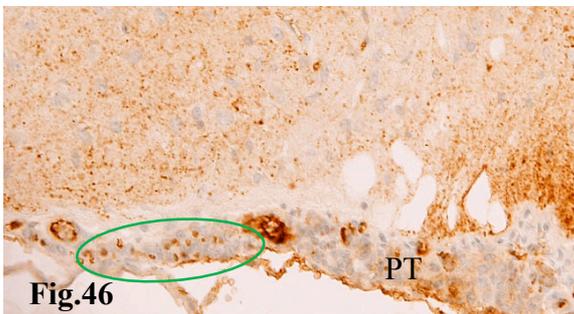
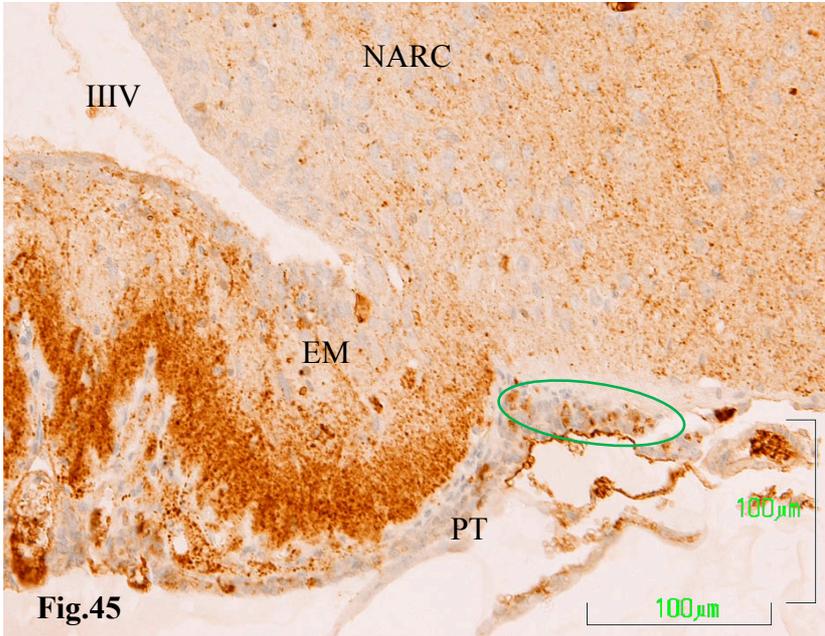


En las figuras 42-47 mostramos los resultados del estudio de la localización de los RE- α . Las imágenes corresponden al hipotálamo, desde su parte más anterior (fig. 42) a la región tuberal posterior (fig. 47). En todas ellas hay datos que nos han generado una notable confusión. Por un lado los RE- α son receptores que deberían localizarse preferentemente en el núcleo de neuronas de esta región y de otras como el complejo amigdalino. En este sentido, las imágenes dejan claro la ausencia de marcaje en dichos núcleos. Por otra parte existen multitud de elementos fuertemente reactivos que adoptan una forma redondeada o alargada (figs. 42, 43, 44 y 47). A nuestro juicio se trata de las paredes de vasos o elementos perivascuales que muestran una morfología u otra según hayan sido cortados transversal o longitudinalmente. Lógicamente también son muy positivos los vasos del sistema porta de la Eminencia Media (figs. 44-47).



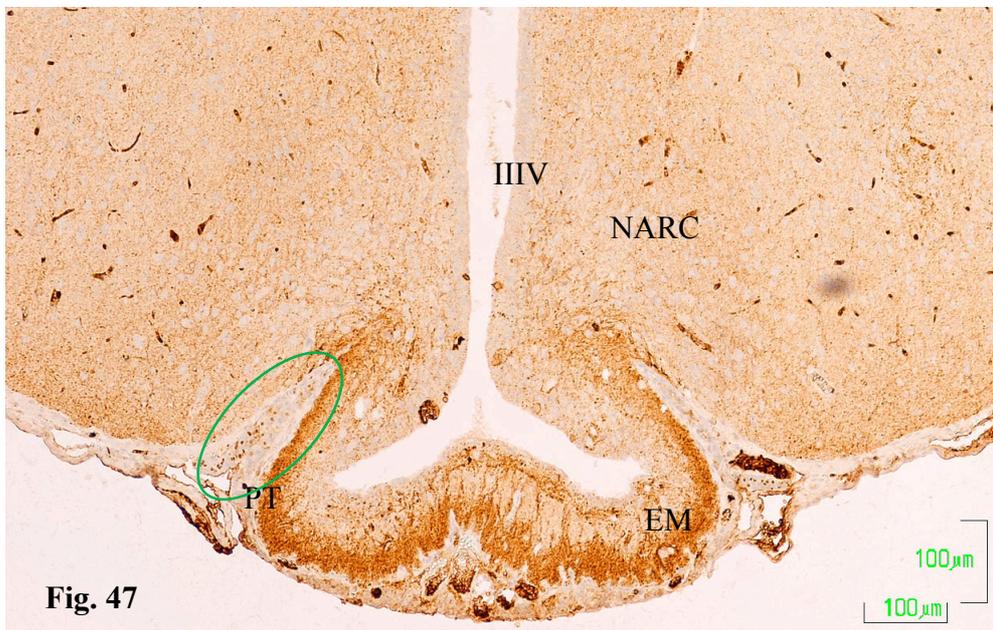
Otro tipo de marcaje es el que se ve como un punteado fino y difuso que se intensifica en algunas zonas y que es patente en todas las imágenes (42-47), dejando sin marca la capa endimaria y las neuronas, por lo que pensamos que se debe a prolongaciones gliales que reaccionan al antisuero (fig. 43). Como ya señalamos, la

reacción se intensifica alrededor de ciertos vasos (figs. 43 y 44, flechas verdes), lo que podría corresponder a los pies perivasculares de los astrocitos que pueden ser reactivos.

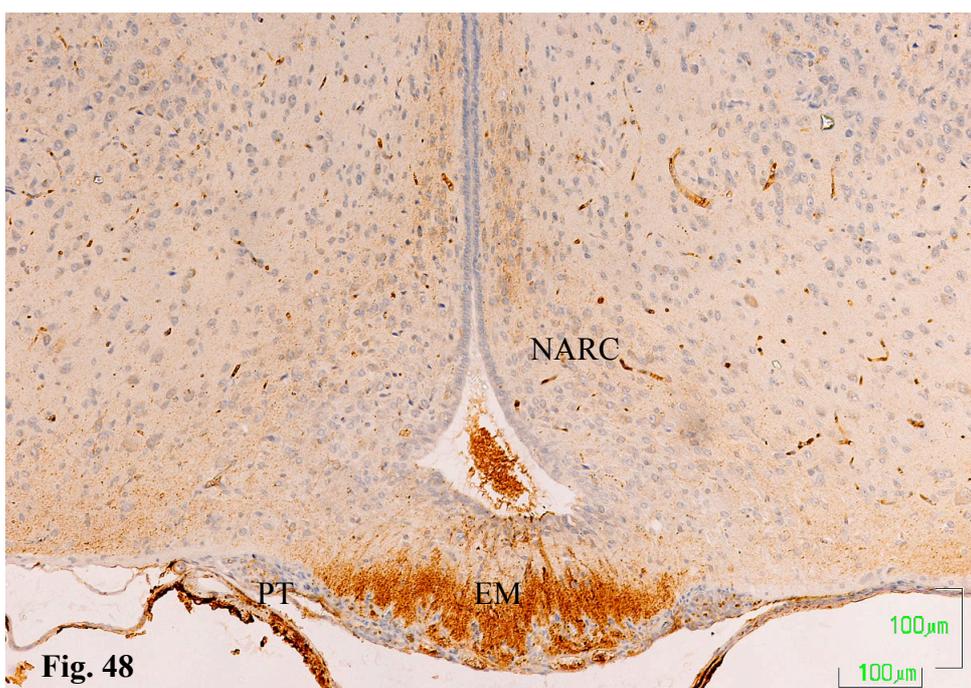


Los datos más interesantes del marcaje con RE- α son los que se aprecian en la Eminencia Media y en la vecina ParsTuberalis. (figs. 44 a 47). En la primera la reacción que detecta la presencia de RE- α es muy patente en la zona externa, donde terminan los pies de los tanicitos tipo beta (otro tipo de glía). En cuanto a las células de la ParsTuberalis de la adenohipófisis, se advierte con claridad que algunas de ellas tienen RE- α en los núcleos, que se muestran netamente positivos al anticuerpo (figs. 44-47), mientras que otras son negativas (enmarcado en verde en las figuras 45-47). Es

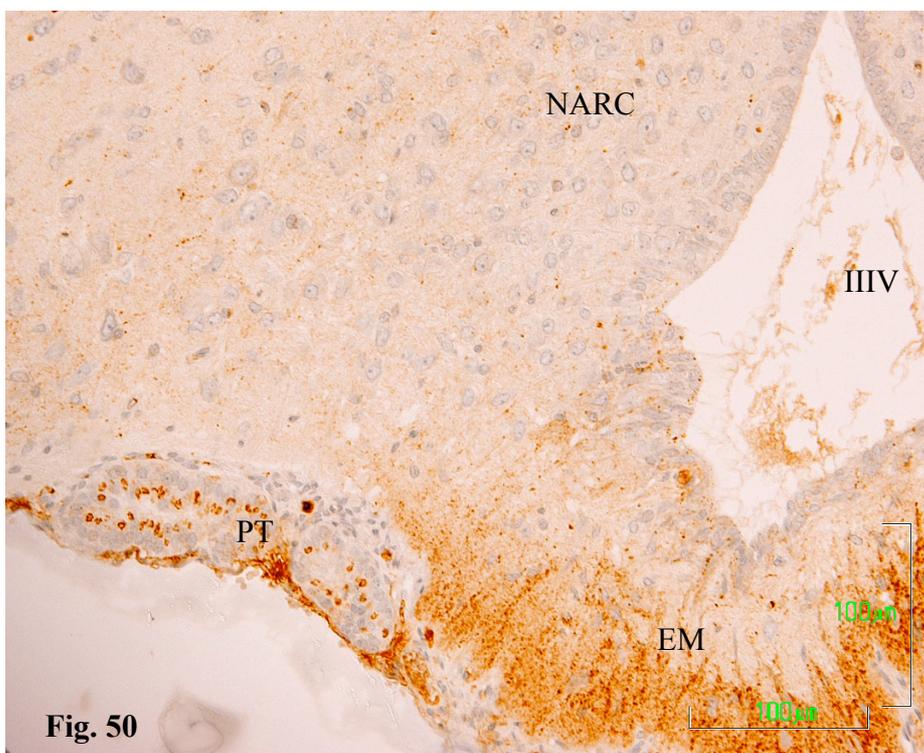
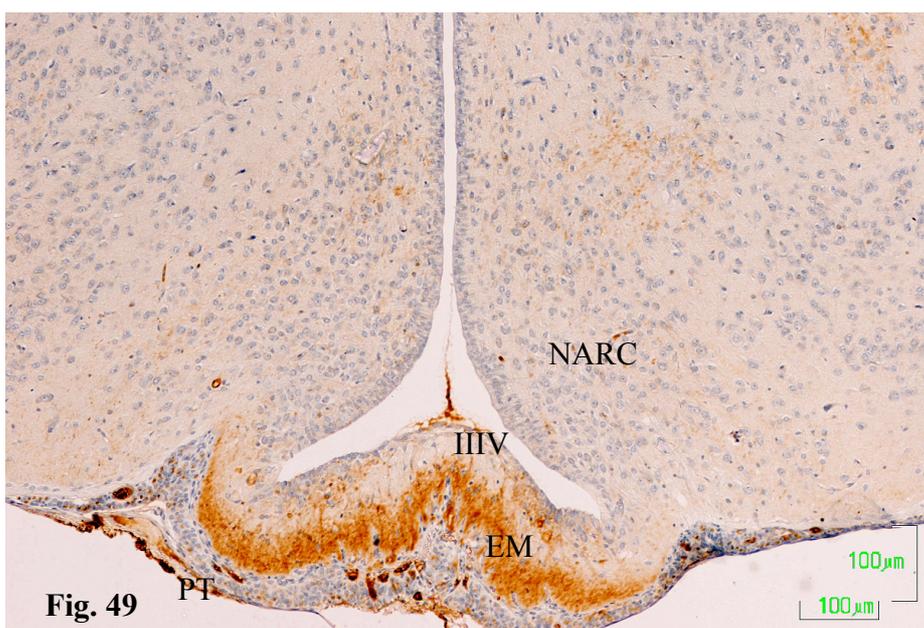
remarcable que solo en la ParsTuberalis el marcaje se encuentra en los núcleos de los adenocitos.



5.2.3.2.- Estudio de la inmunorreactividad al RE α en animales tratados con Paroxetina:

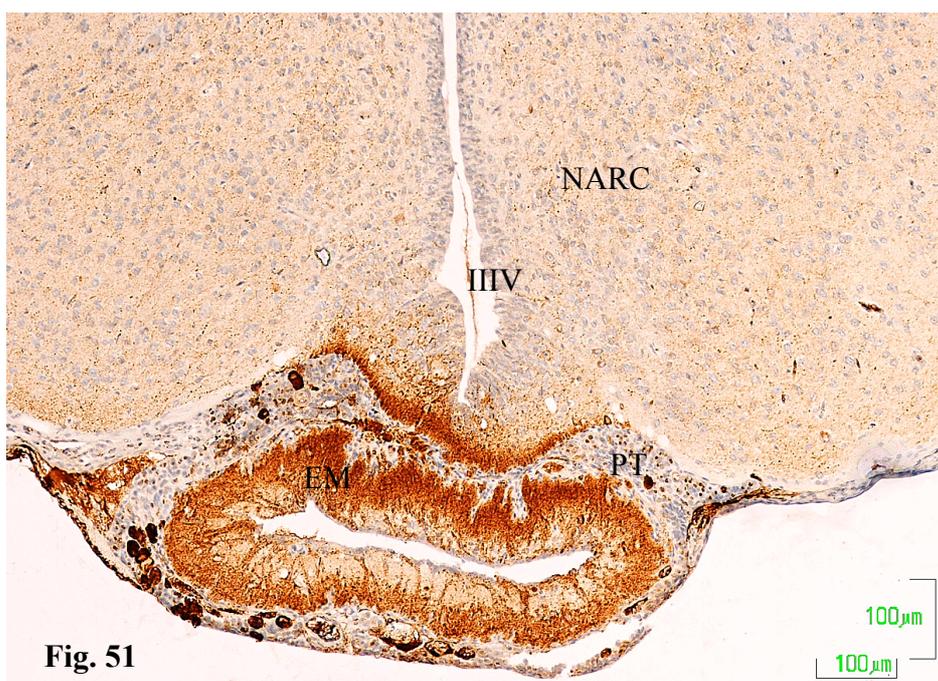


Después del tratamiento con Paroxetina, el marcaje para el RE- α mantiene las mismas características en cuanto a localización e intensidad de la reacción (figs. 48 a 51). Por lo que se refiere a la marca que puede representar presencia del receptor, es decir, la que aparece en la Eminencia Media y la ParsTuberalis, no se aprecian modificaciones, localizándose en los mismos elementos con parecida intensidad.

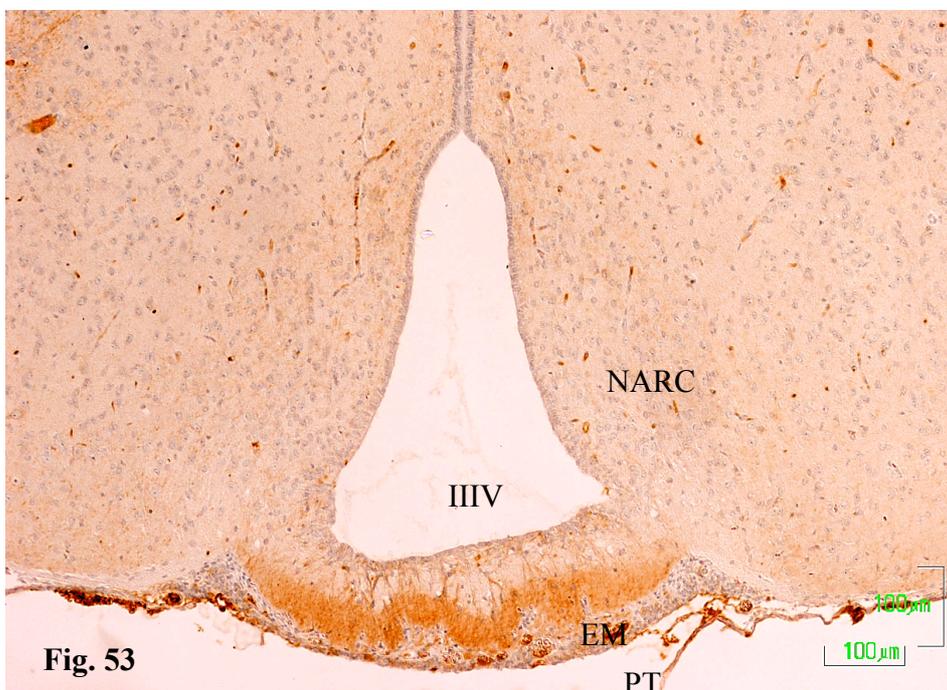
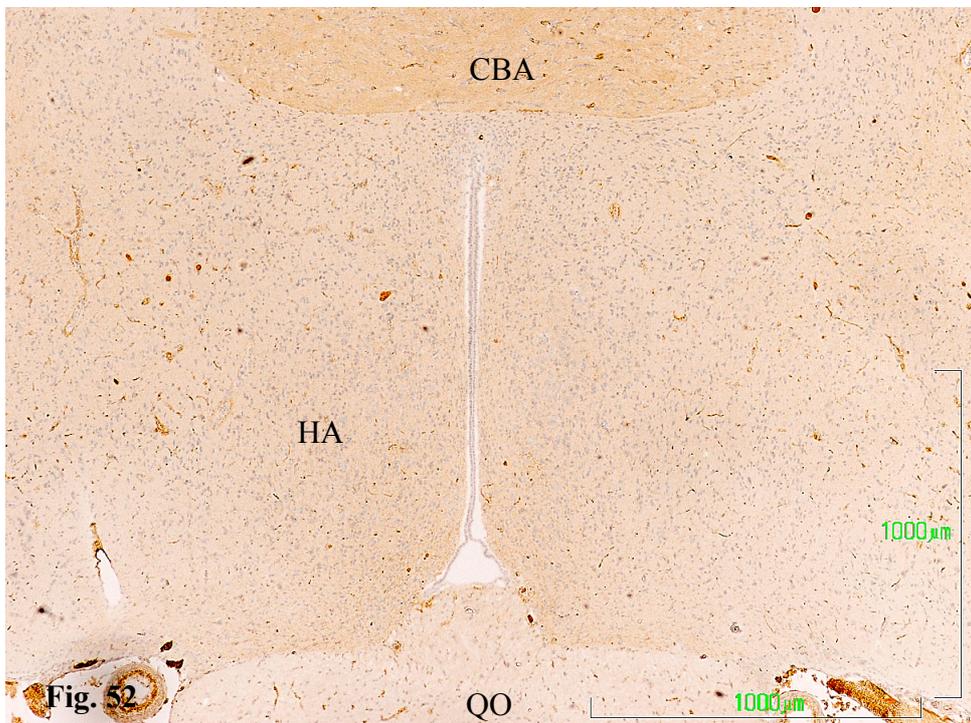


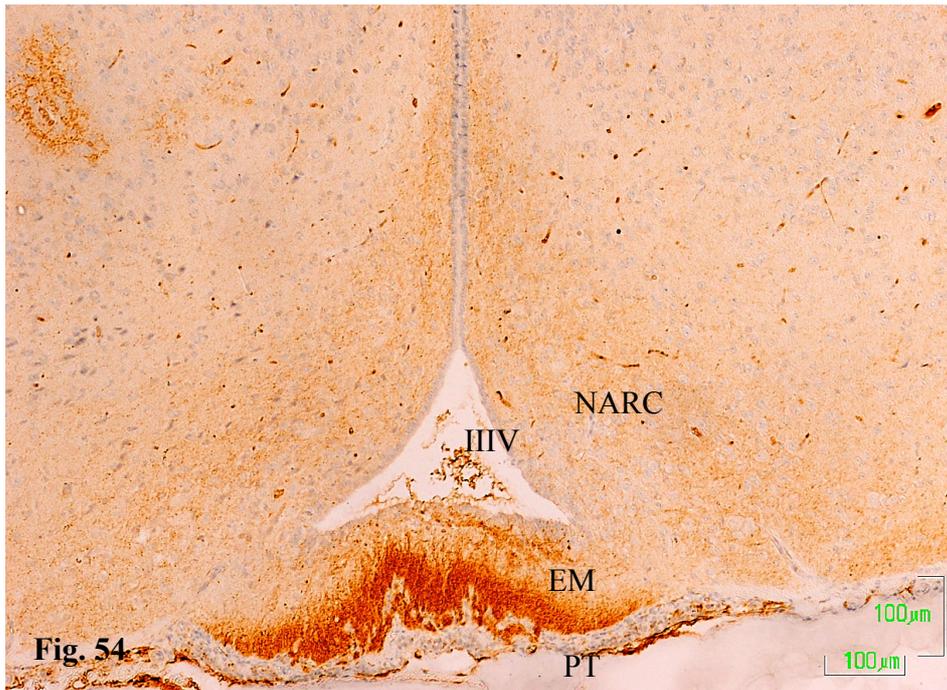
Resulta llamativa la positividad de las prolongaciones de los tanicitos beta, mientras que los otros son completamente negativos. Tampoco existe reacción en los núcleos de los tanicitos positivos (figs. 48, 49 y 51). Por otra parte también nos parece notable la presencia de los RE- α en las células de la ParsTuberalis que, en algunas localizaciones intermedias de la región tuberal, forman a modo de folículos, siendo negativos los núcleos de las células periféricas y positivos los de las células más próximas a la luz (fig. 50).

En la figura 51 la reacción más intensa se halla en los vasos porta de la Eminencia Media o en sus inmediaciones.



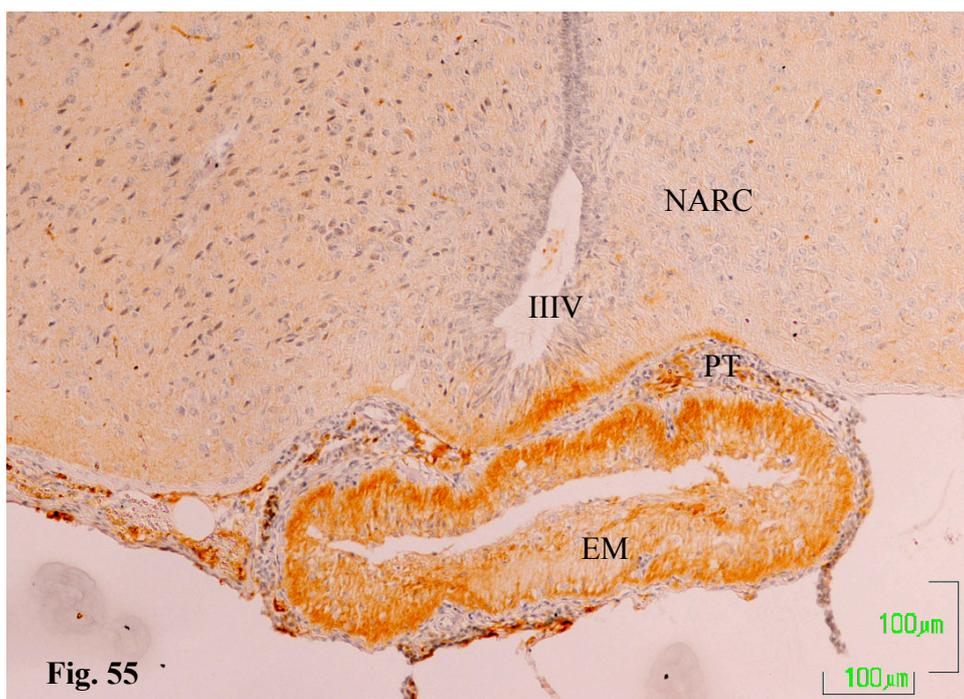
5.2.3.3.- Estudio de la inmunorreactividad al RE α en animales tratados con Agomelatina:





Si finalmente decidimos mostrar los resultados obtenidos con el suero anti RE- α se debe esencialmente a los datos obtenidos del grupo de ratas tratadas con Agomelatina (figs. 52 a 55). En estos animales el marcaje parece disminuir de forma casi universal (figs. 52, 53 y 55) en los elementos que pueden considerarse más o menos específicos, incluidas las prolongaciones gliales difusas e incluso la reacción de las prolongaciones de los tanicitos beta. Sin embargo decimos casi pues algunas de las secciones muestran el mismo aspecto que en los otros grupos (fig. 54).

Lo que sí resulta constante es la reducción o casi desaparición de la reactividad en las células de la ParsTuberalis, de manera que los elementos que parecen reactivos en esa localización pensamos que corresponden a vasos cortados de través (figs. 54 y 55). Que sea la región más rica en receptores de Melatonina la que muestra una respuesta más patente al tratamiento con agonistas de la misma no nos parece circunstancial y merece un estudio más detallado.



Discusión

6.- DISCUSIÓN

6.1.- Nuestro proyecto:

En la presente Tesis Doctoral hemos realizado un estudio experimental acerca de la funcionalidad de los sistemas dopaminérgico y oxitocinérgico, así como de las posibles modificaciones de los receptores de estrógenos tipo alfa, en animales machos tratados con Paroxetina y Agomelatina. Hemos intentado efectuar un estudio comparativo de los efectos que tienen dos fármacos ampliamente utilizados en el tratamiento de la depresión sobre algunos de los sistemas implicados en la regulación de la conducta sexual. Como es bien sabido, uno de los efectos secundarios más relevantes de ciertos antidepresivos es la disfunción sexual, y nuestro trabajo trata de profundizar en el conocimiento de los mecanismos que expliquen dicha disfunción.

Nuestra Tesis se enmarca dentro de una línea de trabajo que se desarrolla en el IBSAL y las áreas de Psiquiatría durante los últimos dos decenios (Montejo y col 1991, 2001, 2010, 2011).

En este caso, nos propusimos analizar la respuesta de los sistemas dopaminérgico y oxitocinérgico, así como las posibles modificaciones en los receptores alfa de estrógenos en el cerebro de ratas “*Wistar*” macho, mediante técnicas inmunohistoquímicas. Los grupos de estudio fueron dos grupos controles, uno de ellos inyectado con el vehículo empleado para disolver los fármacos antidepresivos (Hidroxi-metil-celulosa), un grupo de animales tratados con Paroxetina y otro con Agomelatina. Elegimos estos antidepresivos como representantes de dos modos de actuación bien diferentes que se han demostrado eficaces en el tratamiento de la depresión. Por un lado inhibiendo de forma selectiva la recaptación de serotonina (Paroxetina) y por otro actuando como agonista de los receptores de Melatonina al tiempo que se bloquean los receptores de serotonina tipo 2C (Agomelatina). Nuestra hipótesis de trabajo es que los

diferentes mecanismos de actuación de los fármacos empleados deben tener distintas repercusiones sobre los sistemas objeto de estudio, como lo tienen sobre la disfunción sexual, característica de los IRSS.

La utilización exclusiva de ratas macho trata de simplificar un campo muy complejo *per se*, que se volvería inabarcable si hubiéramos de incluir entre las variables a considerar las derivadas de la ciclicidad sexual de las hembras. En efecto, caso de incluir hembras habría que haber tenido en cuenta la etapa del ciclo estral en que se encontraban en el momento de la eutanasia, y haber multiplicado por cuatro el número de grupos experimentales.

6.2.- El sistema regulador dopaminérgico:

Las neuronas dopaminérgicas son grupos celulares morfológica y funcionalmente heterogéneos que se localizan sobre todo en el diencefalo y el mesencefalo. El grupo más destacado de células de dopamina (DA) se localiza en el mesencefalo ventral, y contiene aproximadamente el 90% del total de las células cerebrales de DA. (Los datos sobre el sistema dopaminérgico que reflejamos aquí están tomados de Chinta y Andersen, 2005).

El sistema dopaminérgico-mesencefálico se ha dividido en varios subsistemas, de los cuales el más conocido es el nigroestriado, que se origina en la zona compacta de la Sustancia Negra (SNc) y extiende sus fibras hacia los núcleos caudado y putamen (en la rata formando un solo núcleo), que también se conocen como estriado dorsal. La vía nigroestriada juega un papel esencial en el control del movimiento voluntario.

Medial a la SNc se encuentra el Área Tegmental Ventral (ATV), origen de las proyecciones mesolímbicas y mesocorticales. Estos sistemas dopaminérgicos guardan relación con la conducta basada en la emoción que incluye la motivación y el circuito de

la recompensa. Los axones mesolímbicos de las neuronas del ATV proyectan sobre todo al núcleo accumbens, pero también llegan al septum, la amígdala y el hipocampo. En la parte medial del ATV se origina la proyección mesocortical, que llega especialmente a la corteza prefrontal y cingular, donde participa en la cognición.

Otros grupos de neuronas dopaminérgicas se localizan en el diencefalo, concretamente tenemos las del núcleo arcuato (grupo A12) y el núcleo periventricular (grupo A14) del hipotálamo. De estas neuronas parte la vía tuberoinfundibular, que libera DA en los vasos porta de la Eminencia Media, desde donde alcanza la adenohipófisis para actuar sobre la secreción de Prolactina. En efecto, la Dopamina es el inhibidor primario de la secreción de prolactina de la adenohipófisis. Las células lactotropas, en ausencia de dopamina, están activas continuamente; la dopamina inhibe esta secreción. En la zona dorsal del tercer ventrículo tenemos el grupo A13 que corresponde a la zona incerta. Estas células proyectan a varias áreas del hipotálamo y participan en el control de la liberación de la hormona LH, la cual es necesaria para activar el desarrollo del aparato reproductor que se produce después de la pubertad en ambos sexos (Bregonzio y col., 2004).

6.3.- Importancia del estudio dopaminérgico en la esfera sexual:

La Dopamina tiene múltiples efectos facilitadores en la esfera sexual, estimulando la capacidad copuladora y los reflejos genitales. En la vía nigroestriada la Dopamina influye en la actividad motora; en la vía mesolímbica activa numerosas conductas motivadas, entre ellas la cópula; en el área preóptica medial (APOM) controla los reflejos genitales, los patrones de la cópula y la motivación específicamente sexual (Hull y col., 2004).

6.4.- Cómo interpretar la disminución de la inmunorreactividad para Tirosina Hidroxilasa (TH) en los animales tratados con Paroxetina:

6.4.1.- Sistema nigroestriado, mesolímbico y mesocortical:

Aunque la mera observación de nuestras imágenes evidencia una disminución muy patente en la densidad del marcaje para la TH, nos pareció que debíamos cuantificar las diferencias para poder precisar la significación de las mismas. El análisis cuantitativo se efectuó con el programa “*Image J*”, un programa de procesamiento de imagen digital de dominio público desarrollado en el NIH (Instituto Nacional de la Salud de EEUU). Cada uno de los datos numéricos que proporciona el programa tiene que ver con la intensidad de píxeles de una neurona dopaminérgica del conjunto Sustancia Negra-Área Tegmental Ventral.

De tal manera que el marcaje inmunorreactivo oscurece las neuronas siendo el valor máximo de intensidad de píxeles el blanco y el mínimo el negro, nos encontramos con que los valores numéricos más bajos del análisis cuantitativo corresponden a las reacciones más intensas de TH, es decir, a la mayor actividad del sistema dopaminérgico.

En dicho estudio cuantitativo se demuestra de manera inequívoca que las mayores diferencias se producen entre los grupos control y tratados con Paroxetina, entre los que las diferencias son muy significativas; es decir, el tratamiento con este antidepresivo reduce en gran medida el nivel de actividad del sistema fundamental de motivación y recompensa del organismo.

En todo caso nos parece relevante precisar qué nos dice el dato de los cambios en la inmunorreactividad a TH respecto de la Dopamina disponible y de la actividad del sistema dopaminérgico. Lo que nosotros ponemos de manifiesto mediante una tinción inmunohistoquímica son las moléculas de TH, que es el enzima limitante de la síntesis

de catecolaminas, pues cataliza la hidroxilación de tirosina a L-dopa, pudiendo ser el producto final no solo Dopamina sino también Adrenalina y Noradrenalina. No obstante, en los territorios que estudiamos está bien establecido que la TH es un buen marcador de las neuronas y fibras de dopamina. Así pues, en condiciones controladas de tinción como las llevadas a cabo en el presente estudio, más marcaje significa más moléculas de TH que conlleva mayor tasa de síntesis de Dopamina.

Por otro lado, que haya más dopamina disponible en las regiones diana de las diferentes vías supondrá normalmente un incremento de los efectos causados por esta/e neurohormona/transmisor, si bien los efectos finales tienen que ver con la liberación y los receptores existentes en las células diana. A este respecto se conocen cinco variedades de receptores de Dopamina (D1-D5) de los cuales D1 y D5 se comportan como estimuladores sobre las células diana, estando ligados a un incremento de los niveles intracelulares de AMP cíclico (cAMP), mientras que los otros son inhibidores, vinculándose a una disminución en los niveles de cAMP (Beaulieu y col., 2015).

Para completar una visión general sobre las posibles repercusiones de los cambios observados tras el tratamiento con Paroxetina, nos bastará con tener en cuenta que el receptor más abundante y de distribución más general es el tipo D1, que se encuentra prácticamente en todas las dianas de la Dopamina con excepción de las células lactotropas de la adenohipófisis, que contienen del tipo D2 inhibidor (Ben-Jonathan, 1985). También hay que tener en cuenta que los receptores estimuladores (tipo D1) y los inhibidores (tipo D2) coexisten en la mayoría de las regiones cerebrales, por lo que el efecto neto de este neurotransmisor en un sentido u otro dependerá de las terminaciones concretas (Missale y col., 1998). En general la Dopamina tiene un efecto estimulador sobre funciones como las cognitivas o de motivación y recompensa, así como la erección del pene (Beaulieu y col., 2015).

Tras revisar sintéticamente los receptores y posibles efectos de la Dopamina, estamos en condiciones de entender que una disminución general de la actividad de este sistema, como la que parece producirse por efecto del tratamiento con Paroxetina, se traduzca en una reducción de las conductas motivadas, entre ellas la cópula (vía mesolímbica) y una disfunción sexual general.

El que el tratamiento con ISRS, especialmente Paroxetina, sea causa de disfunción sexual es un hecho bien establecido. Que esta disfunción tenga que ver con una hipofunción del sistema dopaminérgico producida por el tratamiento tampoco es nuevo, pues ya se contempla en diversas publicaciones (Hull y col., 2004; Boureau y Dayan, 2010; Kranz y col., 2010; Bijlsma y col, 2014).

Para finalizar este apartado señalaremos que en los últimos años se ha investigado el problema de la disfunción sexual ligada al tratamiento con antidepresivos con técnicas de neuroimagen (Abler y col., 2010; Graf y col., 2014). Con esta nueva metodología se ha puesto de manifiesto que la Paroxetina y otros ISRS modulan (de manera inhibitoria) la actividad de las regiones del cerebro que contribuyen al procesamiento tanto de los aspectos motivacionales (sistema de circuito de la recompensa), como de los componentes emocionales (amígdala y corteza cingulada anterior) de la función sexual. Solo nos queda añadir que nuestros datos –en la rata macho- concuerdan plenamente con esta propuesta.

6.4.2.- Inhibición de las neuronas dopaminérgicas de la Zona Incerta (ZI):

La Zona Incerta (ZI) fue descrita por Forel en el siglo XIX como una región de la que no podía decirse nada con seguridad. Desde entonces hemos mejorado nuestra comprensión, aunque sigue siendo una región cuya función precisa continúa en la incertidumbre. En conjunto parece que la ZI serviría como interfaz entre aferencias

sensoriales diversas y las respuestas apropiadas de tipo visceral, en los niveles de atención o alerta (Mitrofanis, 2005).

En cuanto a su componente dopaminérgico, muy llamativo en nuestras imágenes, sabemos que corresponde al grupo aminérgico A13 de la clasificación de Dahlstrom y Fuxe (1964). De estas neuronas parte el haz incerto-hipotalámico, que inerva el hipotálamo anterior además de los núcleos paraventricular y dorsomedial, para el que se ha propuesto un papel estimulador en la liberación de LH (MacKenzie y col., 1984). Más recientemente otros autores han propuesto que la dopamina de la ZI estimula la liberación de LH y Prolactina actuando a través de receptores glutamatérgicos tipo NMDA (Bregonzio y col., 2004).

Teniendo en cuenta los estudios citados, la consecuencia de una importante reducción de la TH inmunorreactiva en la ZI, debe corresponderse con una disminución de la Dopamina disponible y de su efecto estimulador sobre la liberación de LH y la esfera sexual. En suma, a los argumentos referidos en las vías originadas en la SN y el ATV, se suma la inhibición funcional del grupo dopaminérgico de la Zona Incerta, dato que no hemos visto publicado hasta la fecha.

6.4.3.- Inhibición del sistema Tuberoinfundibular dopaminérgico (TIDA):

Freeman M. (2000) define la prolactina como, hormona polipeptídica sintetizada principalmente por las células lactotropas de la adenohipófisis. El nombre le fue dado en 1477 basado en el hecho de que un extracto de glándula pituitaria de bovinos podría estimular la elaboración de leche en las palomas o promover la lactancia en conejos (Freeman, 2000). En la actualidad sabemos que ejerce más de 300 funciones en distintos sistemas (órganos y tejidos) del cuerpo, por lo que podríamos denominarla como una hormona pleotrópica. Además de su acción reguladora de la secreción láctea, la

prolactina modula múltiples funciones en el organismo que pueden agruparse en grandes categorías: agua y balance electrolítico, crecimiento y desarrollo, endocrino y metabólico, cerebro y conducta, reproducción, e inmunorregulación y protección.

Su lugar principal de síntesis y secreción son las células lactotropas, también llamadas mamotropas, de la adenohipófisis que representan entre el 20 y el 50% de las células de esta glándula.

Respecto a la regulación de la Prolactina, se produce a través de estímulos fisiológicos (la succión del pezón durante la lactancia, el estrés, el aumento de los esteroides del ovario, en especial los estrógenos, etc.), a través de neurotransmisores que modulan su secreción (histamina, adrenalina, noradrenalina y acetilcolina), neuropéptidos (Péptido intestinal vasoactivo, hormona estimuladora del tiroides, etc.) y la que nos ocupa en nuestro proyecto, la regulación a través de la dopamina.

La dopamina es el mayor inhibidor de la síntesis y secreción de prolactina. Las neuronas dopaminérgicas del periventriculo y del núcleo arcuato del hipotálamo son las que a través del tallo hipotálamo-hipofisario secretan dopamina hacia las células lactotropas de la adenohipófisis. La dopamina tras interactuar con los receptores dopaminérgicos tipo 2 (D2) en la membrana de las células lactotropas ejerce su función inhibidora. De hecho, se ha demostrado que en ratones con disrupción génica del receptor dopaminérgico D2 se produce la hiperplasia del lóbulo lactotrofo, que termina por generar adenomas, y en consecuencia hiperprolactinemia.

Como es sabido la prolactina, a diferencia de otras hormonas hipofisarias, tienen una gran actividad constitutiva y se encuentran, casi siempre, bajo inhibición hipotalámica, tarea que realizan las neuronas dopaminérgicas del núcleo arcuato (grupo A 12).

En nuestro estudio se advierte que la reactividad de la TH es muy escasa en las neuronas del sistema TIDA y que las fibras marcadas en la EM desaparecen tras el tratamiento con Paroxetina lo que puede interpretarse como una hipofunción del sistema inhibidor dopaminérgico que se acompañará de hiperprolactinemia, como sucede en otros tratamientos con antipsicóticos. Entre las consecuencias de la hiperprolactinemia en varones se encuentran la disfunción eréctil, con reducción del deseo sexual y, en ocasiones, alteración eyaculatoria y orgásmica (Buvat, 2003).

6.5.- El tratamiento con Agomelatina disminuye la actividad dopaminérgica pero en menor grado que la Paroxetina:

Del presente estudio se desprende que el tratamiento con Agomelatina también reduce la reactividad a la TH en el sistema dopaminérgico, si bien este efecto es mucho menos intenso que tras el tratamiento con Paroxetina y no afecta de la misma manera a todo el sistema. Veamos algunas puntualizaciones necesarias y los posibles mecanismos que pueden explicarlas.

En primer lugar hay que señalar que la cuantificación se realizó sobre los somas de las neuronas de dopamina de la SN y el ATV, no sobre los otros grupos de neuronas (A12 y A13) ni sobre los lugares de destino de los axones. Recordamos este dato porque los efectos de la Agomelatina sobre el sistema dopaminérgico son, a buen seguro, complejos y contradictorios.

De acuerdo con la literatura, la Agomelatina tendría, por un lado, una acción antidopaminérgica similar a la demostrada para la Melatonina, mediada por receptores de GABA y benzodiazepinas. El mecanismo propuesto sería que se rompe el equilibrio entre Dopamina, Melatonina y GABA en el Sistema Nervioso, lo que conlleva cierto embotamiento emocional (Fornaro y col., 2010). A este respecto hay que decir que en la

regulación de la actividad dopaminérgica la inhibición producida por la Melatonina (o su agonista Agomelatina en este estudio) no es comparable a la que produce la serotonina, siendo esta segunda más intensa y determinante del nivel funcional del conjunto del sistema dopaminérgico.

Por otro lado se afirma que este fármaco aumenta los niveles de Dopamina y Noradrenalina en la corteza frontal (vía mesocortical) por su acción de bloqueo 5-Ht_{2C}, pero no afecta a la Dopamina en estriado y Accumbens (vías nigroestriada y mesolímbica) (Millán, 2003; Alex y Pehek, 2007). En este sentido hemos de decir que nuestras imágenes muestran una importante reactividad de los axones dopaminérgicos en el estriado, así como una intensa reacción a TH en la parte medial de la cápsula interna (véase la figura 21). Este marcaje podría corresponder a las fibras de la vía mesocortical, en cuyo caso nuestros datos corroborarían lo que se afirma en la literatura.

Otros efectos estudiados de la Agomelatina serían la reducción de la erección peneana inducida por agonistas 5-Ht_{2C}, la estimulación de las neuronas TIDA, inhibiendo así la actividad de las células lactotropas, y la regulación a la baja de los receptores de Melatonina en la ParsTuberalis (Fornaro y col., 2010). En nuestras imágenes la intensidad del marcaje inmunohistoquímico en el sistema tuberoinfundibular dopaminérgico (TIDA) no muestra diferencias entre las ratas control y las tratadas con Agomelatina, ni en los somas localizados en el núcleo arcuato ni en las fibras de la Eminencia Media. No podemos por tanto confirmar ni rechazar esta afirmación.

Los receptores 5-Ht_{2C} guardan una estrecha relación con la vía dopaminérgica pues se localizan en los núcleos mesencefálicos de origen (SN y ATV) así como en los territorios donde terminan los axones de las vías nigroestriada, mesolímbica y mesocortical (corteza frontal y cingular). En general estos receptores actúan inhibiendo

la liberación de DA tanto en estriado como en Accumbens y corteza (Alex y Pehek, 2007). Sin embargo en la literatura se refiere que tras el tratamiento con Agomelatina se incrementa la Dopamina en corteza, y no en los otros territorios dopaminérgicos. ¿Cuál es la diferencia entre las vías nigroestriada, mesolímbica y mesocortical? Al parecer en las dos primeras los receptores modulan directamente en los axones Dopamina de las regiones diana, mientras que en la última la regulación tiene lugar en el ATV por medio de neuronas GABA. El incremento de Dopamina en corteza que produce el tratamiento con Agomelatina se debería pues a un bloqueo de la inhibición GABA sobre las neuronas dopaminérgicas del ATV.

Que la Agomelatina tenga efectos sobre el sistema dopaminérgico no debe resultar extraño puesto que se han descrito receptores MT1 en las vías dopaminérgicas centrales, incluyendo SN y ATV, así como en Accumbens y estriado (Uz y col., 2005). Como es sabido este receptor está acoplado a vías de señalización generalmente inhibitoras, si bien la señalización de Melatonina no suele ser la vía determinante en la regulación de los niveles de Dopamina. Podemos no obstante inferir que la disminución discreta de la actividad del sistema dopaminérgico (que se deduce de la reducción en la reactividad a TH) puede ser producida directamente vía activación de los receptores MT1.

En hipocampo también se ha descrito la existencia de receptores MT1 y MT2, y también hemos apreciado una notable reducción del marcaje a TH en esta región.

6.6.- Datos de estudios realizados con otras metodologías y en humanos:

Tanto la depresión como los antidepresivos pueden alterar todas las fases de la actividad sexual, desde el deseo a la excitación, el orgasmo y la eyaculación. Centrándonos en los ISRS, la disfunción sexual en varones se traduce en incapacidad para lograr erección o alcanzar el orgasmo, mientras que en las mujeres el problema suele ser una disminución del deseo sexual así como el retraso o la dificultad de alcanzar el orgasmo (Montejo y col., 1997, 2001, 2011).

El comportamiento sexual se inhibe principalmente por los antidepresivos que aumentan la transmisión del sistema de serotonina bloqueando los transportadores de serotonina, mientras que los que aumentan principalmente los niveles de dopamina y noradrenalina carecen de efectos secundarios sexuales. Esas perturbaciones sexuales no se pueden normalizar aumentando simultáneamente la neurotransmisión de noradrenalina, pero se normalizan mediante el aumento tanto de noradrenalina como de dopamina. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que los efectos secundarios sexuales de los ISRS, son mediados por sus efectos inhibitorios sobre la señalización de dopamina en los circuitos cerebrales sexuales (Bijlsma y col, 2014).

Las proyecciones serotoninérgicas al hipotálamo, como el área preóptica medial (MPOA) y el área lateral hipotalámica (LHA), y los territorios mesolímbicos, como el núcleo accumbens, pueden mediar los efectos inhibidores de los ISRS por interferir de manera inhibidora con la señalización de la dopamina en dichas regiones (Hull et al., 2004; Lorrain et al., 1999; Domínguez y Hull, 2001).

6.7.- El tratamiento con Agomelatina reduce la reactividad a los receptores alfa de estrógenos en la ParsTuberalis de la Hipófisis:

De acuerdo con la información proporcionada por el fabricante del antisuero empleado (GeneTex), el receptor de estrógenos es un factor de transcripción integrado por varios dominios que es importante para la unión de la hormona, unión al ADN y activación de la transcripción en las células que lo contienen. La proteína que detecta el antisuero que utilizamos se localiza en el núcleo y su actividad es esencial para el desarrollo sexual y la función reproductora. Además, si bien se empleó como antígeno una fracción de la molécula del receptor de origen humano, la reactividad cruzada con la molécula homóloga de la rata es del 92%.

Tal vez lo primero que hemos de señalar es que los resultados que hemos obtenido no concuerdan con la información que ofrece la literatura científica sobre este problema. De hecho no observamos marcaje para el receptor alfa de estrógenos en algunas regiones hipotalámicas (área preóptica, núcleo arcuato, núcleo ventromedial) en cuyas neuronas abundan si se estudian los datos publicados. Por otro lado en nuestras imágenes es muy patente la reacción en estructuras vasculares o perivasculares donde no debería existir.

Basándonos en las consideraciones efectuadas en el párrafo anterior podríamos haber rechazado los datos que ofrece este estudio, pero hay algunas observaciones que nos parecen relevantes y merecen nuestra consideración. Nos referimos al marcaje que se aprecia de manera sistemática en la región de la Eminencia Media y en la vecina ParsTuberalis de la adenohipófisis. Para centrar el problema haremos un breve resumen de la relación entre la Melatonina, la ParsTuberalis y los receptores de estrógenos.

La Melatonina es para el organismo, entre otras cosas, una hormona que señala la duración de la fase de oscuridad, por lo que es importante para la regulación de

funciones estacionales tales como la reproducción, el peso corporal, el sueño o el cambio de pelaje. Estos cambios estacionales son mediados por la acción de la Melatonina sobre la ParsTuberalis, que es la porción de la hipófisis que contiene receptores para la Melatonina (Korf y von Gall, 2013). Mediante la activación de estos receptores, la Agomelatina puede afectar a las citadas funciones estacionales, entre ellas la esfera sexual y la regulación de la secreción de LH y PRL, en el mismo sentido que lo hacen los fotoperiodos cortos, es decir, inhibiendo discretamente la producción y liberación de estas hormonas.

En suma, existen múltiples estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares que han identificado los núcleos hipotalámicos ricos en receptores de estrógenos como los lugares que median los efectos de dichos estrógenos en el SNC. Entre estos núcleos tenemos el área preóptica medial, el núcleo arcuato y el núcleo ventromedial. En todos ellos los receptores que más contribuyen a la regulación metabólica y la conducta sexual son los receptores de estrógenos tipo alfa (ER- α), de ahí el interés que este estudio tenía en nuestro trabajo de Tesis Doctoral. En relación con estas regiones nuestros datos no aportan nada pues ni siquiera hemos obtenido reacción en las neuronas que deberían ser positivas. No tenemos una explicación para este hecho puesto que los aspectos técnicos deben descartarse al ser la reacción positiva en otras regiones y estructuras.

Los RE- α son receptores nucleares típicos que, sin embargo, también se localizan en membranas, si bien preferentemente en células gliales como astrocitos y tanicitos del hipotálamo (Langub y Watson, 1992; Chaban y col., 2004; Mong y Blutstein, 2006). De hecho los tanicitos del hipotálamo mediobasal se han relacionado con la liberación de LHRH (Rodríguez y col., 2005).

En nuestro estudio el marcaje de la Eminencia Media es intenso en los animales de los grupos control y los tratados con Paroxetina, sin que podamos advertir

diferencias entre ellos. Muy recientemente se ha estudiado la repercusión del tratamiento con Paroxetina en la actividad transcripcional mediada por estradiol, notando que esta aumenta (Pop y col., 2015). Nuestros datos no pueden discriminar si este efecto puede ser mediado por un incremento en los receptores tipo alfa de los estrógenos.

Por otro lado la Melatonina, y por lo tanto sus agonistas como la Agomelatina, regulan a la baja los receptores alfa de estrógenos e inhiben la unión del complejo estrógeno-receptor a los elementos de unión en el ADN; en suma, la Agomelatina, como agonista MEL, tendría una actividad antiestrogénica. Esta acción no se había descrito en las células de la ParsTuberalis, sino en el hipotálamo (Lawson y col., 1992) y en células tumorales de mama (Molis y col., 1994), efectos de los que puede depender una supuesta actividad oncostática de la Melatonina (Kiefer y col., 2002).

En nuestras observaciones queda claro que las células reactivas de la ParsTuberalis, que contienen un marcaje nuclear para los receptores estrogénicos, desaparecen prácticamente en el grupo de ratas tratadas con Agomelatina. De este efecto podría depender alguna repercusión sobre el nivel estacional de la respuesta sexual que está regulada por la ParsTuberalis. Creemos que este punto merece ser estudiado con más detenimiento y con otras herramientas en un futuro.

6.8.- El sistema oxitocinérgico no muestra alteraciones estructurales en las circunstancias de nuestro estudio:

El estudio del sistema oxitocinérgico tenía cierto significado pues su participación en la conducta sexual parece indudable. Como es sabido la oxitocina (OXT) es un neuropéptido que se ha identificado como la "hormona del apego", tanto en la conducta sexual como parental (Carter y col., 1992; Young y Wang, 2004). Los somas de las

neuronas de OXT se encuentran en los núcleos paraventricular (PVN) y supraóptico (SON) del hipotálamo. Estas neuronas son magnocelulares y proyectan al lóbulo posterior de la hipófisis, mientras que otras neuronas oxitocinérgicas, parvocelulares proyectan difusamente hacia el hipotálamo y el sistema límbico. La infusión de OXT al área preóptica medial al núcleo ventromedial del hipotálamo facilita la conducta de lordosis en ratas hembras (Schulze y Gorzalka, 1991), mientras que en el núcleo paraventricular de ratas macho estimula la erección del pene (Kita y col., 2006). Por otro lado la administración sistémica de OXT facilita la eyaculación en ratas macho tratadas crónicamente con fluoxetina (Cantor y col., 1999).

En una publicación bastante reciente se afirma que la oxitocina influye positivamente en varios aspectos de la función sexual entre los que se incluyen la libido, la erección y el orgasmo.

A pesar de todo, nuestros resultados relativos a la reactividad a oxitocina en las tres circunstancias examinadas no ofrecen datos dignos de mención. En efecto, tanto en las ratas control como en las tratadas con Paroxetina o Agomelatina, la reacción a la oxitocina se encuentra en el sistema magnocelular, tanto en las neuronas de los núcleos como en las fibras del haz supraóptico hipofisario que van al lóbulo posterior. En todo caso no hemos advertido modificaciones como consecuencia de los tratamientos administrados, por lo que nuestro estudio debe concluir que los tratamientos antidepresivos no modifican la actividad del sistema oxitocinérgico tal como se aprecia mediante la tinción inmunohistoquímica del neuropéptido.

6.9.- Perspectivas futuras:

Podríamos afirmar que a partir de nuestra investigación se abre el camino al estudio de las bases neuroanatómicas de la disfunción sexual secundaria a ISRS. No obstante nuestros resultados se basan en las imágenes (con tinción por inmunohistoquímica) de microscopía óptica. Sería muy interesante evaluar a nivel analítico a los animales, medir niveles hormonales del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal; así como niveles de prolactina (PRL), de forma simultánea al estudio anatómico. Otra variable que podría aportar mucha información es reproducir nuestro proyecto en ratas hembra y hacer posteriormente una comparativa.

Conclusiones

7.- CONCLUSIONES:

Primera.- En relación con los animales controles, los tratados con Paroxetina muestran una intensa reducción de la tinción para el enzima Tirosina Hidroxilasa en el conjunto del sistema dopaminérgico mesencefálico, desde sus orígenes en los somas neuronales de la Sustancia Negra y el Área Tegmental Ventral, hasta la terminación de sus axones en el estriado, Accumbens, Hipocampo y Corteza.

Segunda.- La cuantificación de esta disminución en intensidad de píxeles resulta altamente significativa. Entendemos que esta reducción del marcaje del enzima limitante de la síntesis de Dopamina, se corresponde con una importante inhibición funcional del sistema de Dopamina consecutiva al bloqueo en la recaptación de Serotonina, y que de tal inhibición se derivan consecuencias en los aspectos conductuales, cognitivos, motivacionales y de recompensa del sistema.

Tercera.- El tratamiento con Paroxetina también reduce de manera importante la reactividad a Tirosina Hidroxilasa de los grupos dopaminérgicos A12 y A13. El efecto de esta inhibición de los sistemas incertohipotalámico y tuberoinfundibular sería la reducción en la liberación de la hormona luteinizante y la liberación de las células lactotropas, con la consiguiente hiperprolactinemia, es decir una alteración de la regulación endocrina de la esfera sexual en sentido inhibitorio, lo que vendría a sumarse a los efectos ya consignados.

Cuarta.- Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos en humanos mediante otras metodologías (neuroimagen) y nos ayudan a comprender mejor los efectos colaterales de los inhibidores de la recaptación de Serotonina sobre la esfera sexual.

Quinta.- Tras el tratamiento con Agomelatina se constata un descenso moderado de la actividad dopaminérgica. Este efecto es concordante con los datos que ofrece la

literatura respecto de un efecto antidopaminérgico de la Melatonina (o su agonista en el presente estudio). No obstante el efecto de la Agomelatina es más leve que el de la Paroxetina y además parece respetar las vías mesocortical y tuberoinfundibular.

Sexta.- El tratamiento con Agomelatina reduce la reactividad a los receptores de estrógenos tipo alfa en una población celular de la ParsTuberalis de la adenohipófisis. Esta acción antiestrogénica se ha demostrado para la Melatonina en el hipotálamo, pero no en la adenohipófisis, si bien su efecto sobre la esfera sexual debería evaluarse en ulteriores estudios.

Séptima.- Este trabajo de Tesis Doctoral subraya la utilidad de los estudios de investigación básica junto a los realizados en la clínica, con objeto de lograr una visión integral de los problemas planteados y complementar las observaciones que no pueden efectuarse en humanos.

Referencias Bibliográficas

8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Abler, B. Seeringer, A. Hartmann, A. Gron, G. Metzger, C. Walter, M. et al.** (2011).. Neural correlates of antidepressant-related sexual dysfunction: a placebo controlled fMRI study on healthy males under subchronic paroxetine and bupropion. *Neuropsychopharmacology*; 36:1837-47
- Agmo, A. Villalpando, A.** (1995). Central nervous stimulants facilitate sexual behavior in male rats with medial prefrontal cortex lesions. *Brain Research*; 696, 187-193
- Agmo, A. Villalpando, A. Picker, Z. Fernández, H.** (1995). Lesions of the medial prefrontal cortex and sexual behavior in the male rat. *Brain Research*; 696, 177-186
- Agmo, A.** (2007). Capítulo 5: Endocrine control of sexual behavior.
En: *Functional and Dysfunctional Sexual Behavior. A Synthesis of Neuroscience and Comparative Psychology* Ed. Academic Press; primera edición 191-230
- Agmo, A.** (2007). Capítulo 6: Neural control of sexual behavior
En: *Functional and Dysfunctional Sexual Behavior. A Synthesis of Neuroscience and Comparative Psychology* Ed. Academic Press; primera edición 231-256
- Aizenberg, D. Zemishlany, Z. Weizman, A.** (1995). Cyproheptadine treatment of sexual dysfunction induced by serotonin reuptake inhibitors. *Clinical Neuropharmacology*; 18:320-4.
- Alan-Frazer, A.** (1999). Effects of Chronic Antidepressant Treatments on Serotonin Transporter Function, Density, and mRNA Level. *The Journal of Neuroscience*; 19(23):10494-10501
- Alex, KD. Pehek, EA.** (2007). Pharmacological mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacology Therapeutics*; 113, 296-320

- Aransay, A.** (2015). Long-range projection neurons of the mouse ventral tegmental area: a single-cell axon tracing analysis. *Frontiers in Neuroanatomy*; Volume 9/Article 59
- Arias, F. et al,** (2000). Disfunciones sexuales inducidas por los inhibidores de la recaptación de serotonina. *Atención Primaria*; Vol. 26. Núm. 6
- Balon, R.** (2006). Disfunción sexual asociada a los ISRS. *Journal of Psychiatry* (Ed Esp); 9:10
- Balon, R.** (2006). SSRI-Associated Sexual Dysfunction. *Journal of Psychiatry*; 163:9
- Balthazart, J. Surlemont, C.** (1990). Androgen and estrogen action in the preoptic area and activation of copulatory behavior in quail. *Physiological Behavior* 48, 599-609
- Bancroft, J.** (2010). Sexual desire and the brain revisited *Sexual and Relationship Therapy*; Vol. 25, No. 2, 166-171
- Baum, MJ. Vreeburg, JTM.** (1973). Copulation in castrated male rats following combined treatment with estradiol and dihydrotestosterone. *Science*; 182, 283-284
- Beach, FA. Westbrook, WH.** (1968). Morphological and behavioural effects of an 'antiandrogen' in male rats. *Journal of Endocrinology*; 42, 379-382
- Beach, FA.** (1940). Copulatory behavior in castrated male rats and its modification by estrogen administration. *Endocrinology* 31, 679-683
- Beach, FA.** (1942). Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*; 51, 369-371
- Beach, FA.** (1948). Hormones and behavior; a survey of interrelationships between endocrine secretions and patterns of overt response. *Paul B. Hoeber: New York*
- Beaulieu, JM. Espinoza, S. Gainetdinov, RR.** (2015). Dopamine receptors. IUPHAR Review 13. *Brain Journal Pharmacology*; 172: 1-23

Benmansour, S. Cecchi, M. Morilak, DA. Gerhardt, GA. Javors, MA. Gould, GG.

Ben-Jonathan, N. (1985). Dopamine: a prolactin-inhibiting hormone. *Endocrinology Review*; 6: 564-589

Bergman, B. Damber, JE, Littbrand, B. Sjogren, K. Tomic, R. (1984). Sexual function in prostatic cancer patients treated with radiotherapy, orchiectomy or estrogens. *Brain Journal Urology*; 56, 64-69

Berridge, KC. Robinson, TE. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Review*; 28, 309-369.

Berthold, AA. (1849). Transplantation der Hoden. *Arch. Anat. Physiol. Wissensch Med.* 16, 42–46

Ben-Jonathan, N. Hnasko, R. (2001). Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocrinology Review*; 22:724-763

Bertrand, P. (1998). *Estudio electrofisiológico de las neuronas de la Sustancia Negra y el núcleo mesencefálico profundo en ratas.* Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de la Laguna

Beyer, C. Moralí, G. Naftolin, F. Larsson, K. Pérez-Palacios, G. (1976). Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats. *Horm. Behavior*; 7, 353-363

Bijlsma, EY. Chan, JSW. Olivier, B. Veening, JG. Millan, MJ. Waldinger, MD.

Oosting, RS. (2014). Sexual side effects of serotonergic antidepressants: Mediated by inhibition of serotonin on central dopamine release? *Pharmacology Biochem Behavior*; 121 88-101

Blier, P. et al (1994). Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacology Science*;15:220-226

- Bouchet, C. Cazauvieilh, M.** (1825). De l'épilepsie considérée dans ses rapports avec l'aliénation mentale. *Arch. Gen. Med*; 9: 510-42
- Boureau, YL. Dayan, P.** (2010). Opponency revisited: competition and cooperation between dopamine and serotonin. *Neuropsychopharmacology*; 36:74-97
- Bregonzio, C. et al** (2004). NMDA Receptors in the Medial Zona Incerta Stimulate Luteinizing Hormone and Prolactin Release. *Cellular and Molecular Neurobiology*, Vol. 24, N° 3
- Bremer, J.** (1958). Asexualization: a follow-up study of 244 cases. *Oslo University Press: Oslo*
- Buvat, J. et al** (1978). Prolactin and human sexual behavior. *Progress in Prolactin Physiology and Pathology*; 258-264
- Buvat, J. et al** (2003). Hyperprolactinemia and sexual function in men: A short review. *Int. J. Impot. Res.*; 15:373-7
- Calama, J.** (2014). *Detección y patrones de intervención en la disfunción sexual secundaria al uso de antidepresivos*. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- Cantor, JM. Binik, YM. Pfaus, JG.** (1999). Chronic fluoxetine inhibits sexual behavior in the male rat: Reversal with oxytocin. *Psychopharmacology (Berl)*; 144:355-62
- Carpenter, M.B.** (1981). Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating systems. En V. B Brooks (ed.). *Handbook of Physiology* Vol 2. Part 2. *American Physiological Society, Bethesda*; 947-995.

- Carter, CS. Williams, JR. Witt, DM. Insel, TR.** (1992). Oxytocin and social bonding. *Annals of the New York Academy of Sciences*; 652:204-11
- Casadiejo, A.** (2012). *Antipsicóticos y plasticidad neuroglial. Estudio inmunohistoquímico.* Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- Chateau, D. Chabli, A. Aron, C.** (1987). Effects of ventromedial nucleus lesions on the display of lordosis behavior in the male rat. Interactions with facilitatory effects of male urine. *Physiology Behavior*; 39, 341–345
- Chaban, VV. Lakhter, AJ. Micevych, P.** (2004). A membrane estrogen receptor mediates intracellular calcium release in astrocytes, *Endocrinology*, 145, 8: 3788-3795
- Chinchilla Moreno, A.** (2013). *Tratamientos Psiquiátricos.* Ed. Ediveramérica.
- Chinta, SJ. Andersen, JK.** (2005). Dopaminergic neurons. *The International Journal of Biochemistry and cell biology*; 37, 942-946
- Christensen, LW. Nance, DM. Gorski, RA.** (1977). Effects of hypothalamic and preoptic lesions on reproductive behavior in male rats. *Brain Research Bulletin*; 2, 137-171
- CIE-10** (1992). World Health Organization
- Clayton, AH. McGarvey, EL. Warnock, JK. et al.** (2000). Bupropion SR as an antidote to SSRI-induced sexual dysfunction. *Presented at the 40th annual meeting of the New Clinical Drug Evaluation Unit*; Boca Raton, Fla.
- Clayton, AH. et al.** (2002). Prevalence of sexual dysfunction among newer antidepressants. *Journal Clinic of Psychiatry*; 63: 357-366.
- Clayton, A. Montejo, AL.** (2006). Major depressive disorder, antidepressants, and sexual dysfunction; *Journal Clinic of Psychiatry*; 67 (suppl 6)

- Clayton, A. et al.** (2007). Changes in sexual functioning associated with duloxetine, escitalopram and placebo in the treatment of patients with major depressive disorder. *Journal Sexual of Medice*; 4 (4 Pt 1): 917-929.
- Conde, H.** (1992). Organization and physiology of the substancia nigra. *Exp. Brain Research*; 88: 233- 248.
- Davidson, JM.** (1966). Activation of the male rat's sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. *Endocrinology*; 79, 783-794
- Davidson, JM.** (1969). Effects of estrogen on the sexual behavior of male rats. *Endocrinology*; 84, 1365-1372
- Dechant, K. Clissold, S.** (1991). Paroxetina: Una revisión de sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas y su potencial terapéutico en la enfermedad depresiva. *Drugs*; 41 (2): 225-253
- Delgado, PL. et al.** (2005). Sexual functioning assessed in four double- blind placebo andparoxetine controlled trials of duloxetine for major depressive disorder. *Journal Clinic of Psychiatry*; 66: 686- 692
- Dominguez, JM. Hull EM.** (2001). Estimulation of the medial amígdala enhances medial preoptic dopamine realase: implications for male rat sexual bahavior. *Brain Research*; 917; 225-9
- DSM-IV** (1994). American Psychiatric Assosiation
- DSM-V** (2013). American Psychiatric Assosiation
- Eddy, EM. Washburn, TF. Bunch, DO. et al.** (1996). Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alterations of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology*; 137, 4796-4805
- Edwards, DA. Einhorn, LC.** (1986). Preoptic and midbrain control of sexual motivation. *Physiology Behavior*; 37, 329-335

- Everitt, BJ. Stacey, P.** (1987). Studies of instrumental behavior with sexual reinforcement in male rats (*Rattus norvegicus*): II. Effects of preoptic area lesions, castration, and testosterone. *J. Comp. Psychology*; 101, 407-419
- Fallon, JH. Loughlin, SE.** (1985). Substantia nigra. En G. Paxinos (ed.) *The rat nervous system*. Vol. 1 *Academic Press, Sydney*, 353-374.
- Everitt, BJ.** (1990). Sexual motivation: a neural and behavioral analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neuroscience Biobehavior Revision*; 14, 217-232
- Fernández-Guasti, A. Larsson, K. Beyer, C.** (1986). GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacology Biochemistry Behavior*; 24, 1065–1070
- Finkel, MS. et al.** (1996). Laghrissi-Thode F, Pollock BG, Rong J. Paroxetine is a novel nitric oxide synthase inhibitor. *Psychopharmacology Bulletin*; 1996; 32:653-8.
- Fleischhacker, WW. et al.** (1994). Compliance with antipsychotic drug treatment: influence of side effects. *Acta Psychiatry Scand. Suppl.*; 382; 11-5
- Foreman, MM. Hall, JL. Love, RL.** (1989). The role of the 5-HT₂ receptor in the regulation of sexual performance of male rats. *Life Science*; 45:1263-70.
- Fornaro, M. Prestia, D. Colicchio, S. Perugi, G.** (2010). A Systematic, Updated Review on the Antidepressant Agomelatine Focusing on its Melatonergic Modulation. *Current Neuropharmacology*; 8, 287-304
- Freeman, M.** (2000). Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion. *Physiological Reviews* Vol. 80, No. 4
- Friedman, A. et al** (2009). Programed acute electrical stimulation of ventral tegmental area alleviates depressive-like behavior. *Neuropsychopharmacology*; 34, 1057-1066

- Fu, Y. et al.** (2012). A cytoarchitectonic and chemoarchitectonic analysis of the dopamine cell groups in the substantia nigra, ventral tegmental area, and retrorubral field in the mouse. *Brain Structure Function*; 217, 591-612.
- Georgiadis, JR. Krigelbach, ML. Pfaus, JG.** (2012). Sex for fun: a synthesis of human and animal neurobiology. *Natural review, urology*; vol 9, pág: 486-498
- Giuliano, FA. et al.** (1995). A. Neural control of penile erection. *Urology Clinical North Am.*; 22:747-66.
- Goldstein, I. et al.** (2002). Circuitos nerviosos de la sexualidad masculina. *Investigación y Ciencia (Edición Española)*. Temas 28. La Consciencia.
- Graf, H. Walter, M. Metzger, CD. Abler, B.** (2014). Antidepressant-related sexual dysfunction: perspectives from neuroimaging *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; 121: 138-145
- Hansen, S. Köhler, C. Goldstein, M. Steinbusch, HVM.** (1982). Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat. *Brain Research*; 239, 213-232
- Harding, SM. McGinnis, MY.** (2005). Microlesions of the ventromedial nucleus of the hypothalamus: effects on sociosexual behaviors in male rats. *Behavior Neuroscience*; 119, 1227–1234
- Heim, N. Hirsch, CJ.** (1979). Castration of sex offenders: treatment or punishment? A review and critique of recent European literature. *Arch. Sexual Behavior*; 8, 281-306
- Heim, N.** (1981). Sexual behavior of castrated sex offenders. *Arch. Sexual Behavior*; 10, 11-19

- Heimer, L. Larsson, K.** (1966). Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Brain Research*; 3, 248-263
- Heimer, L. Alheid, GF. Zaborsky, L.** (1985). Basal ganglia. En G. Paxinos (ed.) *The rat nervous system*. Vol. 1 *Academic Press, Sydney*, 37-86.
- Hennessey, AC. Wallen, K. Edwards, DA.** (1986). Preoptic lesions increase the display of lordosis by male rats. *Brain Research*; 370, 21-28
- Hillarp, NA. Olivecrona, H. Silfverskiöld, W.** (1954). Evidence for the participation of the preoptic area in male mating behavior. *Experientia*; 10, 224-225
- Hiller, J.** (2004). Speculations on the links between feelings, emotions and sexual behaviour: are vasopressin and oxytocin involved? Psychological Services in Sexual Health, Redbridge Psychological Services, UK. *Sexual and Relationship Therapy*; Vol 19, No. 4
- Hull, EM. Lorrain, DS. Du, J. et al.** (1999). Hormone–neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavior Brain Research*; 105, 105-116
- Hull, EM. Meisel, RL. Sachs, B.D.** (2002). Male sexual behavior. In *Hormones, brain and behavior*, vol. 1 (D.W. Pfaff, A.P. Arnold, A.M. Etgen, S.E. Fahrback and R.T. Rubin, eds), pp. 3-137. *Academic Press: New York*
- Hull, EM. Muschamp, JW. Sato, S.** (2004). Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiology Behavior*; 83:291-307
- Humana, C.** (1973). The keeper of the bed: the story of the eunuch. *Arlington Books: London*
- Hurtazo, HA. Paredes, RG. Agmo, A.** (2003). Inactivation of the medial preoptic area/anterior hypothalamus (MPOA/AH) reduces sexual incentive motivation in male rats. *Sociology Neuroscience Abstract*; 404.6

- Ikemoto, S.** (2007). Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Review*; 56, 27-78.
- Kadioglu, M. Mucia, E. Ozyavuzb, R. Yarisa, E. Kesima, M. Kalyoncua, NI.** (2009). Paroxetine inhibited the relaxations induced by EFS in mice corpus cavernosum: is it a NOS inhibition? *Fundamental & Clinical Pharmacology*; 24, 55-61
- Kandel, ER. et al.** (2001). *Principios de Neurociencia*. Kandel, Schwartz y Jessell, ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid.
- Kaplan, Sadock, B. Sadock, V.** (2009). *Sinopsis de Psiquiatría*. 10ª edición.
- Kasper, S. Laigle, L. Baylé, F.** (2008) Superior antidepressant efficacy of agomelatine vs sertraline: a randomised, double-blind study. *Journal Clinic of Psychopharmacology*; 28: 329-333.
- Kawano, M. et al.** (2006). Particular subpopulations of midbrain and hypothalamic dopamine neurons express vesicular glutamate transporter 2 in the rat brain. *Journal Comp. Neurology*; 498, 581-592.
- Keast, JR. Gleeson, RJ.** (1998). Androgen receptor immunoreactivity is present in primary sensory neurons of male rats. *Neuroreport*; 9, 4137-4140
- Keast, JR. Saunders, RJ.** (1998). Testosterone has potent, selective effects on the morphology of pelvic autonomic neurons which control the bladder, lower bowel and internal reproductive organs of the male rat. *Neuroscience*; 85, 543-556
- Keast, JR.** (1999). The autonomous nerve supply of male sex organs – an important target of circulating androgens. *Behavior Brain Research*; 105, 81-92
- Kennedy, SH. et al** (1996). The effects of moclobemida on sexual desire and function in healthy volunteers. *Eur. Neuropsychopharmacol*; 6(3): 177-181.

- Kennedy, SH. et al** (2006). Sexual function during bupropion or paroxetine treatment of major depressive disorder. *Can. Journal Psychiatry*; 51:234-42.
- Kennedy, SH. et al** (2006). Favorable sexual profile of agomelatine in depressed patients. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 16; S319.
- Kennedy, SH. et al** (2008). A double-blind comparison of sexual function antidepressant efficacy, and tolerability between agomelatina and venlafaxien XR. *Journal Clinical of Psychopharmacology*. Volume 28, number 3.
- Kennedy, SH. Rizvi, S.** (2009). Sexual dysfunction, depression and the impact of antidepressants. *Journal Clinical of Psychopharmacology*; 29(2): 157-64.
- Kiefer, T. Ram, PT. Yuan, L. Hill, SM.** (2002). Melatonin inhibits estrogen receptor transactivation and cAMP levels in breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*; 71: 37-45
- Kita, I. Yoshida, Y. Nishino, S.** (2006). An activation of parvocellular oxytocinergic neurons in the paraventricular nucleus in oxytocin-induced yawning and penile erection. *Neuroscience Research*; 54:269-75
- Korf, HW. von Gall, Ch.** (2013) Circadian Physiology.
En: Neuroscience in the 21st Century. Ed. Springer 1813-1845
- Koyama, Y. Satou, M. Oka, Y. Ueda, K.** (1984). Involvement of the telencephalic hemispheres and the preoptic area in sexual behavior of the male goldfish, *Carassius auratus*: A brain lesion study. *Behavior Neural Biology*; 40, 70-86
- Kranz, GS. Kasper, S. Lanzenberger, R.** (2010). Reward and the serotonergic system. *Neuroscience*; 166:1023-35
- Kuefler, M.** (2001). The manly eunuch: masculinity, gender ambiguity, and Christian ideology in late antiquity. *University of Chicago Press: Chicago*

- Langub, MC. Watson, RE.** (1992). Estrogen receptor-immunoreactive glia, endothelia, and ependyma in guinea pig preoptic area and median eminence: electron microscopy, *Endocrinology*; 130: 364-372
- Larsson, K.** (1962). Mating behavior in male rats after cerebral cortex ablation. I. Effects of lesions in the dorsolateral and the median cortex. *J. Exp. Zool*; 151, 167-176
- Larsson, K.** (1964). Mating behavior in male rats after cerebral cortex ablation. II. Effects of lesions of the frontal lobes compared to lesions in the posterior half of the hemispheres. *J. Exp. Zool*; 155, 203-214
- Larsson, K. Södersten, P. Beyer, C.** (1973). Sexual behavior in male rats treated with estrogen in combination with dihydrotestosterone. *Horm. Behavior*; 4, 289-299
- Lau, CI. et al.** (2013). Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? *Review Neuroscience*; 24, 389-400.
- Lavolette, SR.** (2007). Dopamine modulation of emotional processing in cortical and subcortical neural circuits: evidence for a final common pathway in schizophrenia? *Schizophrenia Bulletin*; 33, 971-981
- Lawson, NO. Wee, BE. Blask, DE. Castles, CG. Spriggs, LL. Hill, SM.** (1992). Melatonin decreases estrogen receptor expression in the medial preoptic area of inbred (LSH/SsLak) golden hamsters. *Biology of Reproduction*; 47, 1082-1090
- Lemoine, P. et al.** (2007). Improvement in subjective sleep in major depressive disorder with a novel antidepressant, agomelatine: randomised, doubleblind comparison with venlafaxine. *Journal Clinical of Psychiatry*; 68: 1723- 1732.
- Lerner, A. et al** (1958). Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *Journal of American Chemical Society*; 80, 2587

- Lisk, RD. Bezier, JL.** (1980). Intrahypothalamic hormone implantation and activation of sexual behavior in the male hamster. *Neuroendocrinology*; 30, 220-227
- Liu, X. Shi, H.** (2015). Regulation of Estrogen Receptor α Expression in the Hypothalamus by Sex Steroids: Implication in the Regulation of Energy Homeostasis. *International Journal Endocrinology*; ID 949085
- LLorca, G.** (2004). *Estudios ultraestructurales realizados con antipsicóticos en animales. Implicaciones en psiquiatría. Ed. Europa Artes Gráficas s.a.*
- Lloyd, SC. Dixon, AF.** (1988). Effects of hypothalamic lesions upon the sexual and social behaviour of the male common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Brain Research*; 463, 317-329
- Lorrain, DS.** (1999) Lateral hypothalamic serotonin inhibits nucleus accumbens dopamine: implications for sexual satiety. *Journal of Neuroscience*; 19; 7648-52
- Luttge, WG. Hall, NR.** (1973). Differential effectiveness of testosterone and its metabolites in the induction of male sexual behavior in two strains of albino mice. *Horm. Behavior*; 4, 31-43
- MacKenzie, FJ. Hunter, AJ. Daly, C. Wilson, CA.** (1984). Evidence that the dopaminergic incerto-hypothalamic tract has a stimulatory effect on ovulation and gonadotrophin release, *Neuroendocrinology*; 39: 289-295
- Martínez-Mota, L. Herrera-Pérez, JJ. Olivares, M. Fernández-Guasti, A.** (2012). Participación de las hormonas gonadales en el efecto de los fármacos antidepresivos en la rata macho. *Salud Mental*; 35:359-366
- Mas, M.** (2000). Neurofisiología de la respuesta sexual humana. En: *Psicofármacos y función sexual*. Bobes J, Dexeus S, Gibert J. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Master, WW. Johnson, VE.** (1996). *Human Sexual Response, Boston, Little Brown and company.*

- McDonald, P. Beyer, C. Newton, F. et al.** (1970). Failure of 5-alpha-dihydrotestosterone to initiate sexual behaviour in the castrated male rat. *Nature*; 227, 964-965
- Merari, A. Ginton, A.** (1975). Characteristics of exaggerated sexual behavior induced by electrical stimulation of the medial preoptic area in male rats. *Brain Research*; 86, 97-108
- MacDonald, K. Feifel, D.** (2012). Dramatic Improvement in Sexual Function Induced by Intranasal Oxytocin. *Journal Sexual of Medicine*; 9: 1407-1410
- Merino, MJ. Plazaola, M.** (1995). Antidepresivos y disfunciones sexuales: biología, clasificación y tratamiento. Originales y revisiones. *Rev. Asociación Española Neltropsiquiatría* vol. XV. Nº. 54. pp. 431-442
- Michael, RP. Zumpe, D. Bonsall, RW.** (1986). Comparison of the effects of testosterone and dihydrotestosterone on the behavior of male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Physiology Behavior*; 36, 349-355
- Michael, RP. Zumpe, D. Bonsall, RW.** (1990). Estradiol administration and the sexual activity of castrated male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Horm. Behavior*; 24, 71-88
- Micó Segura, J.** (2003). capítulo 3: Bases Farmacológicas de la disfunción sexual provocada por psicofármacos.. En: *Sexualidad y salud mental de Montejo y cols.* Ed. Glosa. 49-57
- Millan, MJ. et al.** (2003). The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*; 306, 954-964

- Mingazzi, G.** (1888). Sulla fina struttura della sunstantia nigra. *Atti. R. Acad. Lincei.*
Vol. 5
- Missale, C. Nash, SR. Robinson, SW. Jaber, M. Caron, MG.** (1998). Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiology Review*; 78: 189-225
- Mitrofanis, J.** (2005). Review: Some certainty for the “zone of unceranty”? Exploring the function of the zona incerta. *Neuroscience*; 130, 1-15
- Molis, TM. Spriggs, LL. Hill, SM.** (1994). Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol. Endocrinology*; 8, 1681-1690
- Mong, JA. Blutstein, T.** (2006). Estradiol modulation of astrocytic form and function: implications for hormonal control of synaptic communication. *Neuroscience*; 138, 3: 967-975
- Montejo, AL. Llorca, G. Izquierdo, JA. et al.** (1997). SSRI- induced sexual dysfunction: fluoxetine, sertraline, paroxetine and fluvoxamine in a prospective, multicenter and descriptive clinical study of 344 patients. *Journal Sexual Marital Therapy*; 23: 176-194.
- Montejo, AL. Llorca, G. Izquierdo, JA** (1999). Sexual Dysfunction with antidepressive agents. Effect of the change to Amineptine in patients with sexual dysfunction secondary to SSRI. *Actas Españolas de Psiquiatría*; 27: 23-34.
- Montejo, AL. Llorca, G. Izquierdo, JA. Rico-Villademoros, F.** (2001). for the Spanish working group for study psychotropic-related sexual dysfunction. Incidence of sexual disfunction associate with antidepressants agents: a prospective multicenter study of 1022 outpatients. *Journal Clinic Psychiatry*; 62 (suppl 3)

- Montejo, AL. et al** (2010). Better sexual acceptability of agomelatine (25 and 50 mg) compared with paroxetine (20 mg) in healthy male volunteers. An 8-week, placebocontrolled study using the PRSEXDQSALSEX scale. *Journal of Psychopharmacology*; 24(1); 111-120
- Montejo, AL. y grupo español de trabajo para el estudio de las disfunciones sexuales secundarias a psicofármacos.** (2010). Recomendaciones de tratamiento ante disfunciones sexuales provocadas por antidepresivos. *Asociación Española de Sexualidad y Salud Mental (AESEXSAME)*.
- Montejo, AL. Majadas, S. Rico-Villademoros, F. LLorca, G. de la Gándara, J. Franco, M. Martín-Carrasco, M. Aguera, L. Prieto, N.** (2010). Frequency of sexual dysfunction in patients with a psychotic disorder receiving antipsychotics. *Journal Sexual Medicine*; 7(10): 3404-13
- Montejo, AL. Perahia, DGS. Spann, ME. Wang, F. Walker, DJ. Yang, CR. Detke, MJ.** (2011). Sexual function during long-term duloxetine treatment in patients with recurrent major depressive disorder. *Journal Sexual Medicine*; 8:773-782
- Montgomery, SA. et al.** (2002). Baldwin DS, Riley A. Antidepressant medications: a review of the evidence for drug-induced sexual dysfunction. *Journal Affect Disorder*; 69:119-40
- Montgomery, SA.** (2006). Major depressive disorders: Clinical efficacy and tolerability of agomelatine, a new melatonergic agonist. *European Neuropsychopharmacology*; 16, S633-S638.
- Moore, CR. Price, D.** (1938). Some effects of testosterone and testosterone propionate in the rat. *Anat. Rec*; 71, 59-78

- Moralí, G. Larsson, K. Beyer, C.** (1977). Inhibition of testosterone-induced sexual behavior in the castrated male rat by aromatase blockers. *Hormones Behavior*; 9, 203-213
- Morgantaler, A. Crews, D.** (1978). Role of the anterior hypothalamus-preoptic area in the regulation of reproductive behavior in the lizard, *Anolis carolinensis*: Implantation studies. *Hormones Behavior*; 11, 61-73
- Nissen, HW.** (1929). The effects of gonadectomy, vasotomy, and injections of placental and orchic extracts on the sex behavior of the white rat. *Genet. Psychol. Monogr*; 5, 455-547
- Nair-Roberts, RG. et al.** (2008). Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*; 152, 1024-1031.
- Nestler, EJ. Carlezon, WA.** (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biology Psychiatry*; 59, 1151-1159.
- Ogawa, S. Washburn, TF. Taylor, J. Lubahn, DB. Korach, KS. Pfaff, DW.** (1998). Modifications of testosterone-dependent behaviors by estrogen receptor- α gene disruption in male mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*; 139, 5058-5069
- Ogawa, S. Chan, J. Gustafsson, JA. Korach, KS. Pfaff, DW.** (1999). Survival of reproductive behaviors in estrogen receptor β gene-deficient (β ERKO) male and female mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*; 96, 12887-12892
- Oliver, B. et al.** (2011). Differences in Sexual Behaviour in Male and Female Rodents: Role of Serotonin. *Biological Basis of Sex Differences in Psychopharmacology*; 16-32.
- Olsen, KL. Whalen, RE.** (1984). Dihydrotestosterone activates male mating behavior in castrated King-Holtzman rats. *Horm. Behavior*; 18, 380-392

- Olster, DH.** (1993). Ibotenic acid-induced lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus enhance the display of progesterone-facilitated lordosis in male rats. *Brain Research*; 626, 99-105
- Oorschot, DE.** (1996). Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic and substantia nigra nigral nuclei of the rat basal ganglia. A stereological study using the Cavalieri and optical disector methods. *J. Comp. Neurology*; 366(4): 580-599.
- Ortmann, J.** (1980). The treatment of sex offenders. Castration and antihormone therapy. *Int. J. Law Psychiatry*; 3, 443-451
- Osterlund, M. Kuiper, G. Gustafsson, J-A. Hurd, Y.** (1998). Interactive report Differential distribution and regulation of estrogen receptor-alfa and beta mRNA within the female rat brain. *Molecular Brain Research*; 54; 175-180
- Paredes, RG. Highland, L. Karam, P.** (1993). Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the medial preoptic area: evidence for reduced sexual motivation. *Brain Research*; 618, 271-276
- Paredes, RG. Tzschentke, T. Nakach, N.** (1998). Lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus (MPOA/AH) modify partner preference in male rats. *Brain Research*; 813, 1-8
- Paredes, RG. Agmo, A.** (1992). Facilitation of sexual behavior shortly after electrolytic lesion of the medial preoptic area. What does it mean? *Brain Research Bulletin*; 29, 125-128
- Paredes, RG. Baum, MJ.** (1995). Altered sexual partner preference in male ferrets given excitotoxic lesions of the preoptic area anterior hypothalamus. *Journal of Neuroscience*; 15, 6630

- Paredes, R.G. Baum, M.J.** (1997). Role of the medial preoptic area/anterior hypothalamus in the control of masculine sexual behavior. *In Annual Review of Sex Research* (R.C. Rosen, C.R. Davis and H.J. Ruppel Jr, eds), pp. 68-101. Society for the Scientific Study of Sexuality: Allentown
- Paredes, RG.** (2003). Medial preoptic area/anterior hypothalamus and sexual motivation. *Scand. J. Psychol.*; 44, 203-212
- Parent, A.** (1986) Comparative neurobiology of the basal ganglia. John Wiley & Sons, N. York.
- Paxinos & Watson (2004).** The rat brain atlas. 5º Edición.
- Phoenix, C.H.** (1974). Effects of dihydrotestosterone on sexual behavior of castrated male rhesus monkeys. *Physiology Behavior*; 12, 1045-1055
- Pop, A. Lupu, DI. Cherfan, J. Kiss, B. Loghin, F.** (2015). Estrogenic/Antiestrogenic activity of selected selective Serotonin reuptake inhibitors. *Clujul Medical*; Vol. 88 3: 381-385
- Prabhakar, D. Balon, R.** (2010). How do SSRIs cause sexual dysfunction? *Current Psychiatry*; Vol. 9, No. 12.
- Purves, D. et al.** (2007). Neurociencia. 3ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid.
- Ranaldi, R.** (2014). Dopamine and reward seeking: the role of ventral tegmental area. *Revision Neuroscience*; 25(5): 621-30
- Reynaert, C. Zdanowicz, N. Janne, P. Jacques, D.** (2010). Depression and sexuality. *Cliniques Universitaires de Mont-Godinne – 5530 Yvoir, Psychosomatic Unit, University of Louvain, Belgium Psychiatria Danubina*; Vol. 22, Suppl. 1, pp 111-113
- Rico-Villademoros, F. García, M.** (2003). capítulo 5: Depresión y Disfunción Sexual. En: *Sexualidad y salud mental de Montejo y cols. Ed. Glosa.* 73-81

- Rissman, EF, Wersinger, SR, Taylor, JA, Lubahn, D.B.** (1997). Estrogen receptor function as revealed by knockout studies: neuroendocrine and behavioral aspects. *Horm. Behavior*; 31, 232-243
- Rodríguez, EM, Blázquez, JL, Pastor, FE, et al** (2005). Hypothalamic tanycytes: a key component of brain-endocrine interaction. *Int. Rev. Cytol*; 247:89-164
- Rosen, RC, et al.** (1999). Effects of SSRIs on sexual function: a critical review. *Journal Clinical of Psychopharmacology*; 19: 67-85.
- Rothschild, AJ.** (2000). Sexual side effects of antidepressants. *Journal Clinical of Psychiatry*; 61 (suppl 11): 28-36
- Rouillon, F.** (2009). Agomelatina: Innovación para el beneficio de los pacientes deprimidos. *CNS Drugs*; 23 Suppl 2:1-2.
- Russo, SJ, Nestler, EJ.** (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Natural Review of Neuroscience*; 14, 609–625.
- Ryan, KJ, Naftolin, F, Reddy, V, Flores, F, Petro, Z.** (1972). Estrogen formation in the brain. *Am. J. Obstet. Gynecol*; 114, 454-460
- Salazar, M, Peralta, C, Pastor, J.** (2004). *Tratado de Psicofarmacología: bases y aplicación clínica*. Ed. Médica Panamericana
- Sano, T.** (1910). Beitrag zur vergleichenden Anatomie der Substantia nigra, des Corpus Luysii und der Zona incerta. *Msschr. Psychiat. Neurol.*; 27 (110-127)
- Satou, M.** (1984). Telencephalic and preoptic areas integrate sexual behavior in hime salmon (landlocked red salmon, *Oncorhynchus nerka*): Results of electrical brain stimulation experiments. *Physiology Behavior*; 33, 441-447
- Schmidt, RS.** (1968). Preoptic activation of frog mating behavior. *Behaviour*; 30, 239-257

- Scholten, H.** (1995). Der Eunuch in Kaisernähe: zur politischen und sozialen Bedeutung des Præpositus sacri cubiculi im 4. und 5. *Jahrhundert n. Chr. P. Lang: Frankfurt am Main*
- Schulze, HG. Gorzalka, BB.** (1991). Oxytocin effects on lordosis frequency and lordosis duration following infusion into the medial pre-optic area and ventromedial hypothalamus of female rats. *Neuropeptides*; 18:99-106
- Sesack, SR. Carr, DB.** (2002). Selective prefrontal cortex inputs to dopamine cells: implications for schizophrenia. *Physiology Behavior*; 77, 513-517.
- Secin Diep, R. et al** (2012). Disfunción sexual asociada a antidepresivos. *Acta Médica Grupo Ángeles*. Volumen 10, No. 1
- Shapiro, HA.** (1937). Effect of testosterone propionate upon mating. *Nature*; 139, 588-589
- Shimura, T. Yamamoto, T. Shimokochi, M.** (1994). The medial preoptic area is involved in both sexual arousal and performance in male rats: re-evaluation of neuron activity in freely moving animals. *Brain Research*; 640, 215-222
- Shughrue, PJ. Lane, M. Merchenthaler, I.** (1997). Comparative Distribution of Estrogen Receptor- α and - β mRNA in the Rat Central Nervous System. The Women's Health Research Institute, Wyeth-Ayerst Research, Radnor, Pennsylvania 19087. *The journal of comparative neurology*; 388:507-525
- Slimp, JC. Hart, BL. Goy, RW.** (1978). Heterosexual, autosexual and social behavior of adult male rhesus monkeys with medial preoptic-anterior hypothalamic lesions. *Brain Research*; 142, 105-122
- Södersten, P.** (1973). Estrogen-activated sexual behavior in male rats. *Horm. Behavior*; 4, 247-256

- Södersten, P.** (1974). Lordosis behavior in intact male rats: Absence of correlation with mounting behavior or testicular secretion of estradiol-17 β and testosterone. *Physiology Behavior*; 13, 803-808
- Södersten, P. Larsson, K.** (1975). Lordosis behavior and mounting in male rats: Effects of castration and treatment with estradiol benzoate or testosterone propionate. *Physiology Behavior*; 14, 159-164
- Soulairac, A. Soulairac, ML.** (1972). Action des substances neurostimulantes sur le comportement sexual du rat mâle après lésions du cortex cérébral. *Journal of Physiology*; (Paris) 65, Suppl. 3, 504
- Spiteri, T. Musatov, S. Ogawa, S. Ribeiro, A. Pfaff, DW. Agno, A.** (2010). The role of the strogen receptor alfa in the medial amígdala and ventromedial nucleus of the hypothalamus in social rcognition, anxiety and aggresion. *Behavioural Brain Research*; 210; 211-220
- Stone, CP.** (1939). Copulatory activity in male rats following castration and injections of testosterone propionate. *Endocrinology*; 24, 165-174
- Stürup, GK.** (1972). Castration: The total treatment. *In Sexual behaviors: social, clinical, and legal aspects* (H.L.P. Resnik and M.E. Wolfgang, eds), pp. 361-382. Little, Brown and Co.: Boston
- Swanson, L.** (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin*; 9, 321-353.
- Truitt, WA. et al** (2003). Activation of a subset of lumbar spinothalamic neurons after copulatory behavior in male but not female rats. *Journal of Neuroscience*; 23, 325-331

- Truitt, WA. Coolen, LM.** (2002). Identification of a potential ejaculation generator in the spinal cord. *Science*; 297, 1566-1569
- Ungless, MA.** (2004). Dopamine: the salient issue. *Trends Neuroscience*; 27, 702-706.
- Uz, T. Arslan, AD. Kurtuncu, M. Imbesi, M. Akhisaroglu, M. Dwivedi, Y. Pandey, GN. Manev, H.** (2005). The regional and cellular expression profile of the melatonin receptor MT1 in the central dopaminergic system. *Molecular Brain Research*; 136: 45-53
- Vagell, ME. McGinnis, MY.** (1997). The role of aromatization in the restoration of male rat reproductive behavior. *Journal of Neuroendocrinology*; 9, 415-421
- Vázquez, SP. Sexín, R.** (2012). Disfunción sexual asociada a antidepresivos. *Acta médica grupo ángeles*; Volumen 10, No. 1, 20
- Waldinger, MD. et al.** (1994). Hengeveld MW, Zwinderman AH. Paroxetine treatment of premature ejaculation: a double blind, randomized, placebo-controlled study. *Am. Journal of Psychiatry*; 151: 1377-1379.
- Wantoch, H.** (1935). Die bisher in Schweiz gesammelten Erfahrungen über die Kastration von Sexualverbrechern. *Arch. Kriminol*; 96, 78-80
- Wersinger, SR. Sannen, K. Villalba, C. Lubahn, DB. Rissman, EF. DeVries, GJ.** (1997). Masculine sexual behavior is disrupted in male and female mice lacking a functional estrogen receptor α gene. *Hormones Behavior*; 32, 176-183
- Whalen, RE. Edwards, DA.** (1969). Effects of the antiandrogen cyproterone acetate on mating behavior and seminal vesicle tissue in male rats. *Endocrinology*; 84, 155-156
- Wille, R. Beler, K.** (1989). Castration in Germany. *Annales Sexual Research*; 2, 103-133

- Wilson, JD. Gloyna, RE.** (1970). The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction. *Rec. Progr. Horm. Res*; 26, 306-339
- Wise, RA.** (1978). Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Research*; 152, 215-247.
- Wise, RA.** (2002). Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron*; 36, 229-240.
- Wise, RA.** (2009). Roles for nigrostriatal—not just mesocorticolimbic—dopamine in reward and addiction. *Trends. Neuroscience*; 32, 517-524.
- Yamaguchi, T. et al.** (2011). Mesocorticolimbic glutamatergic pathway. *Journal of Neuroscience*; 31, 8476-8490. 1
- Young, LJ. Wang, Z.** (2004). The neurobiology of pair bonding. *Natural Neuroscience*; 7:1048-54
- Zajacka, JM.** (2000). Clinical issues in long term treatment with antidepressants. *Journal Clinical of Psychiatry*; 61 (suppl 2) 20:25