

H. Silva
R. Nieto
C. Montes
A. Paredes
P. Rentería
A. Ramírez
S. Jérez

Diferencias de género en la exploración funcional del sistema serotoninérgico en jóvenes sanos

Clínica Psiquiátrica Universitaria
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Santiago (Chile)

Introducción. Las pruebas de estimulación de prolactina con agonistas serotoninérgicos han sido ampliamente utilizadas en el estudio de diversas patologías psiquiátricas; sin embargo, la caracterización de su respuesta en sujetos normales es aún incompleta.

Objetivo. Comparar la respuesta a la estimulación serotoninérgica utilizando dexfenfluramina, un agente serotoninérgico específico, en hombres y mujeres jóvenes sanos, controlando el ciclo menstrual en estas últimas.

Métodos. Se estudió a 10 mujeres y 9 hombres, a quienes se les administró 30 mg de dexfenfluramina por vía oral, midiendo los niveles de prolactina cada hora por un período de 5 h. El nivel basal, el nivel máximo y la variación de prolactina fueron comparados en ambos grupos.

Resultados. En los grupos etarios estudiados (edad promedio para los hombres: $19,9 \pm 2,5$ años; edad promedio para las mujeres: $20 \pm 1,5$ años), el nivel máximo de prolactina y la respuesta a prolactina (Δ PRL) fueron significativamente mayores en mujeres (valor p : 0,02 y 0,04, respectivamente).

Conclusiones. Las mujeres jóvenes sanas muestran una mayor respuesta a la estimulación con dexfenfluramina que los hombres jóvenes sanos. Las implicancias clínicas y biológicas de esta observación se discuten en el contexto de la literatura.

Palabras clave:

Serotonina. Estimulación. Prueba. Prolactina. Estrógeno. Género.

Actas Esp Psiquiatr 2008;36(4):218-222

Gender-related differences in functional assessment of serotonergic system in healthy young subjects

Introduction. Prolactin stimulation test with serotonergic stimulants has been widely used in the study of di-

verse psychiatric disorders. However, the characterization of this response in normal subjects is still incomplete.

Objective. To compare the response to serotonin stimulation using dexfenfluramine, a specific serotonergic agent, in young healthy men and women, controlling the menstrual cycle.

Methods. A total of 10 women and 9 men, who were given 30 mg of dexfenfluramine orally, were studied and their levels of prolactin were measured on an hourly basis for a five-hour period. Baseline, maximum and delta values of prolactin were compared for both groups.

Results. According to the age groups studied (mean age for men: 19.9 ± 2.5 years old; mean age for women: 20 ± 1.5 years old), the prolactin maximum level and the response to prolactin (Δ PRL) were significantly higher in women (p -values: 0.02 and 0.04, respectively).

Conclusions. Young healthy women show a greater response to stimulation with dexfenfluramine than young healthy men. Clinical and biological implications of this observation are discussed in the context of the currently available research papers.

Key words:

Serotonin. Stimulation. Challenge. Prolactin. Estrogen. Gender.

INTRODUCCIÓN

La función serotoninérgica se ha asociado a diversas funciones corporales como el sueño, la alimentación, la sexualidad y el control de impulsos. En psiquiatría se han identificado disfunciones serotoninérgicas en varios trastornos, tales como los del estado de ánimo, obsesivo-compulsivos, de la conducta alimentaria y de la personalidad¹⁻³. Los fármacos que aumentan la transmisión serotoninérgica, tales como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, son utilizados en el tratamiento de dichas patologías.

Distintas estrategias han sido utilizadas para explorar la función serotoninérgica en poblaciones clínicas. Por ejemplo, la medición de niveles de serotonina y sus metabolitos en algunos fluidos corporales (sangre, líquido cefalorraquí-

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 1931025.

Correspondencia:

Hernán Silva Ibarra
Clínica Psiquiátrica Universitaria
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Av. La Paz, 1003
Recoleta. Santiago (Chile)
Correo electrónico: hsilva@med.uchile.cl

deo, orina)^{4,5}. Una de las limitaciones de estos estudios es que representan una medición estática de la función serotoninérgica. Para lograr una forma de exploración dinámica se han desarrollado pruebas de estimulación con sustancias tales como piperazina metaclorofenilpiperazina (m-CPP), flexinoxan y fenfluramina⁶. Una de las más frecuentemente usadas es fenfluramina, mezcla racémica de D y L-fenfluramina. Sin embargo, los estudios han observado que la D-fenfluramina es más específica como agonista serotoninérgico^{7,8}.

A pesar de que las pruebas de estimulación serotoninérgica han sido ampliamente usadas en el estudio de diversas patologías psiquiátricas, la caracterización de su respuesta en sujetos normales es aún incompleta. Existe poca investigación en esta materia, y las conclusiones referidas a una diferencia en la respuesta de prolactina en relación al sexo son contradictorias. Algunos autores han observado una mayor respuesta de prolactina en mujeres en comparación con hombres⁹, mientras que para otros la diferencia no es significativa¹⁰. Los distintos métodos utilizados hacen difícil llegar a una conclusión acerca de este problema.

Una de las principales razones que explican las diferencias entre dichos estudios es el amplio rango de edades de los sujetos. Este punto es especialmente relevante porque al aumentar la edad decrece la capacidad de respuesta del sistema serotoninérgico^{9,10}.

Estudios recientes han utilizado grupos etarios más estrechos, enfocándose en los cambios relacionados con la edad en la función serotoninérgica descritos por McBride et al.⁹ y Muldoon et al.¹⁰ Estos estudios indican que el género no tiene un impacto en la respuesta de sujetos añosos a D-fenfluramina¹¹. Por otro lado, un estudio en adolescentes de $14,4 \pm 1,5$ años de edad mostró diferencias significativas según sexo en su respuesta a mCPP¹².

Asimismo, las diferentes conclusiones de las publicaciones previas^{9,10} acerca de una influencia del género en la respuesta de prolactina pueden deberse a las grandes variaciones en los niveles de estrógenos y a las variaciones de la respuesta de prolactina de acuerdo con la fase del ciclo menstrual¹³.

El objetivo de este estudio es comparar la respuesta de prolactina a la estimulación del sistema serotoninérgico usando dexfenfluramina, un agente serotoninérgico específico, en mujeres y hombres sanos y jóvenes (promedio de edad: 20 años; rango: 17-25 años), controlando el ciclo menstrual en las mujeres. Nuestra hipótesis, en base a la literatura, es que en este grupo etario las mujeres tienen una mayor respuesta de prolactina que los hombres.

Este estudio difiere de otros previos porque es el primero en enfocarse en este grupo de edad particular (17-25 años), para dilucidar si existe una diferencia por sexo ante la estimulación serotoninérgica. Adicionalmente, porque utiliza el agonista serotoninérgico más específico dexfenfluramina^{7,8} y porque controla el ciclo menstrual de acuerdo con los hallazgos de O'Keane et al.¹³.

MÉTODOS

Sujetos

Se estudió a 19 sujetos jóvenes (10 mujeres y 9 hombres) sanos, sin historia de patología médica ni psiquiátrica, que dieron su consentimiento y participaron de manera informada y voluntaria. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y respecta los principios enunciados en la Declaración de Helsinki. Se utilizó el cuestionario de Goldberg para descartar la presencia de patología psiquiátrica^{14,15}. Todas las mujeres fueron estudiadas dentro de sus primeros 10 días del ciclo menstrual para controlar las variaciones relacionadas con el ciclo. Este período corresponde al momento en el cual los niveles de estrógenos y la respuesta a D-fenfluramina son las menores¹³. Ninguna de ellas estaba embarazada ni tomaba anticonceptivos orales; asimismo, ninguno de los sujetos estudiados consumía ningún tipo de droga o fármaco.

Procedimientos

Los sujetos mantuvieron una dieta pobre en monoaminas durante 72 h y se encontraban en ayunas. La prueba comenzaba a las 8:30 de la mañana con una etapa de reposo de 30 min, tras la cual se instalaba el catéter intravenoso en el antebrazo. Se mantenían en reposo en cama durante 45 min y luego se extraían las dos primeras muestras de sangre separadas por 10 min, correspondientes al nivel basal. En ese momento, correspondiente al tiempo 0, se administraban 30 mg de dexfenfluramina por vía oral. A continuación se extraían muestras de sangre cada hora hasta completar cinco. Durante todo ese período los sujetos permanecían en reposo en cama y sólo se les permitía una comida ligera 4 h después de administrar fenfluramina. Las muestras de sangre fueron centrifugadas durante 10 min a 3.500 rpm. EL plasma fue almacenado a 20 °C. Los niveles de prolactina fueron determinados utilizando la técnica de enzimoanálisis de micropartículas (MEIA) de AxSYM, Abbot. El límite inferior de sensibilidad para la prueba de prolactina es 0,6 µg/ml y el coeficiente de variación interensayo fue del 4,5%.

Análisis estadístico

Se calcularon los valores promedio y la desviación estándar para cada variable significativa como la edad, la prolactina basal, el valor máximo de prolactina (el máximo obtenido en cualquiera de las cinco muestras) y la Δ-prolactina (la diferencia entre el valor máximo de prolactina y el valor basal de prolactina para cada sujeto correspondiente a la «respuesta de prolactina»).

Considerando el tamaño pequeño del grupo y que los valores de prolactina para cada tiempo no siguieron una distribución normal, los datos fueron analizados empleando pruebas no paramétricas. Se empleó el test de Kruskal-Wa-

lilis para determinar si había una variación significativa en el tiempo para cada grupo (hombres y mujeres). La función *t* de Wilcoxon fue usada para buscar diferencias significativas entre los grupos de hombres y mujeres para cada hora de medición, particularmente en los valores basal, máximo y de delta-prolactina.

RESULTADOS

Tanto el grupo de mujeres como el de hombres mostraron incrementos significativos en los valores de prolactina durante el seguimiento de 5 h de acuerdo con los resultados del test de Kruskal-Wallis aplicado a las mediciones seriadas (valor *p*:0,001 para mujeres y 0,001 para hombres).

El valor basal de prolactina no fue significativamente diferente entre hombres y mujeres (*p*: 0,59). Sin embargo, tal como se muestra en la tabla 1, de acuerdo a la función *t* de Wilcoxon el valor máximo de prolactina promedio fue significativamente mayor (*p*: 0,02) en mujeres (39,39 ng/ml) que en hombres (21,39 ng/ml), así como el valor de Δ -prolactina fue también significativamente mayor (*p*: 0,04) en mujeres (24,35 ng/ml) que en hombres (10,02 ng/dl). Para todos los valores de prolactina la desviación estándar fue mayor en mujeres que en hombres.

La figura 1 muestra el curso temporal de la respuesta de prolactina a la prueba de estimulación con D-fenfluramina. A pesar de las diferencias en los valores ya mencionadas, el patrón temporal que se observa fue similar para hombres y mujeres. Se alcanzó el valor máximo en la tercera y cuarta hora y después los niveles tendieron a estabilizarse. El gráfico ilustra una respuesta mayor en mujeres, que se hace evidente en la cuarta hora de medición.

Tabla 1

Valores promedio de prolactina basal, prolactina máxima y Δ -prolactina (expresados en ng/ml) y edad correspondientes a los grupos de hombres y mujeres con los valores de *p* obtenidos

	Hombres		Mujeres		p
	X	DE	X	DE	
Edad (años)	19,9	2,53	20	1,56	0,55
Prolactina basal	11,37	2,96	15,04	11,18	0,59
Prolactina máxima	21,39	4,79	39,39	16,46	0,02
Δ - prolactina	10,02	4,96	24,35	17,38	0,04

Se encuentran valores de *p* significativos (<0,05) para el máximo de prolactina y para Δ -prolactina. X: promedio; DE: desviación estándar.

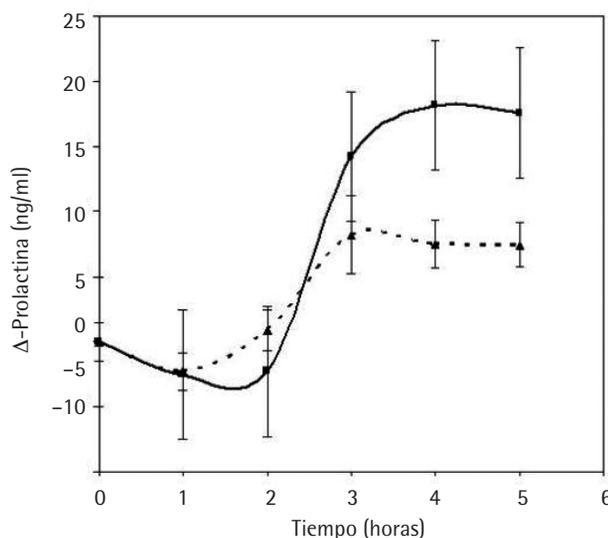


Figura 1 Variación de la respuesta de prolactina en relación al tiempo. La curva de línea sólida que une los cuadrados corresponde a Δ -prolactina (Δ PRL) de las mujeres; la línea punteada que une los triángulos corresponde al valor de Δ PRL de los hombres. Se muestran las desviaciones estándar en cada curva. Las mujeres tienen una respuesta de prolactina significativamente mayor que se hace evidente a la cuarta y quinta hora de seguimiento.

DISCUSIÓN

Se encontró una diferencia en la respuesta de prolactina a la estimulación con D-fenfluramina entre hombres y mujeres jóvenes sanos, y la respuesta fue significativamente mayor en mujeres. Esta diferencia estaría presente al menos hasta la edad de 20 años, y de acuerdo con otros autores parece disminuir en sujetos de mayor edad⁹⁻¹¹, probablemente por los efectos del envejecimiento en los transportadores y en los sitios de unión a serotonina¹⁶⁻¹⁸. Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con la evidencia de una diferencia relacionada con el género en el sistema serotoninérgico, lo que ha sido demostrado en estudios genéticos, bioquímicos y neuroendocrinos tanto en modelos animales como en humanos^{2,3,19-21}.

Hay factores genéticos que deben ser tomados en cuenta. Un estudio reciente que midió los niveles sanguíneos de serotonina es consistente con un dimorfismo sexual heredable, resultante de una combinación de *loci* dependientes del sexo y de otros independientes¹⁹. Por otro lado, el polimorfismo de la región promotora del transportador de serotonina (5HTTLPR) interactúa de manera especial con el género, de acuerdo con el estudio de Cadoret et al.²⁰. Este autor encontró que los hombres con la variante corta eran más propensos a tener una mayor sintomatología en relación con distintos trastornos del comportamiento; por el contrario, en las mujeres la presencia del alelo corto estaba asociada con menores niveles de sintomatología.

La influencia de los estrógenos en la función serotoninérgica es evidente ya en la vida intrauterina. Estudios en líneas celulares embriogénicas han demostrado expresión de receptores de estrógenos α y β en células serotoninérgicas prenatales y que los estrógenos reducen el crecimiento de las dendritas de dichas células. Este efecto puede tener un papel en la formación de un patrón sexualmente dimórfico en la inervación serotoninérgica²¹.

Como un ejemplo de estudios neuroendocrinos que apoyan una diferencia relacionada con el género en el sistema serotoninérgico, la sensación de saciedad inducida por D-fenfluramina es diferente entre ratas machos y hembras. La dosis mínima efectiva con efecto anorexígeno es menor en hembras, y en ellas la magnitud y duración de este efecto es mayor que en machos³. En humanos, Soloff et al.² observaron que los hombres con trastorno límite de personalidad mostraron una respuesta de prolactina disminuida, pero no las mujeres. Sólo en los hombres la impulsividad y la agresividad estaban inversamente relacionadas con la Δ -prolactina y con el valor máximo de prolactina.

Estos hallazgos coinciden con los obtenidos por McBride et al.⁹, quienes encontraron que la liberación de prolactina inducida por fenfluramina era mayor en mujeres que en hombres. Sin embargo, es importante destacar que en el estudio citado el paciente más joven tenía 21 años, mayor que la edad promedio del grupo de sujetos que participaron en nuestro estudio. En relación con el patrón temporal de liberación de prolactina, no encontramos el patrón descrito por estos autores (las mujeres alcanzando el valor máximo más temprano y disminuyendo más rápido que los hombres); en nuestro estudio los niveles de prolactina tendían a estabilizarse hacia el final de la prueba, lo que es concordante con los patrones descritos por otros autores⁶.

Nuestros resultados no concuerdan con los obtenidos por Muldoon et al.¹⁰, quienes no encontraron diferencias en la respuesta de prolactina entre hombres y mujeres. Sin embargo, las conclusiones pueden ser interpretadas como complementarias: el grupo etario analizado por Muldoon et al. es de entre 25 y 60 años y nuestro estudio analiza el grupo inmediatamente más joven, entre 17 y 25 años de edad. En este sentido es importante destacar que éste es el primer estudio que investiga directamente la situación en pacientes jóvenes de alrededor de 20 años de edad (con desviaciones estándar de 2,53 para hombres y de 1,56 para mujeres).

Una de las contribuciones de este estudio es que, a diferencia de otros, se utilizó D-fenfluramina en lugar de fenfluramina, lo que permite una estimulación más específica del sistema serotoninérgico. La liberación de prolactina por fenfluramina puede también ser mediada por el sistema catecolaminérgico, dado que se asocia a un incremento en los niveles de ácido homovanílico²². Esto puede llevar a confusión en la interpretación de potenciales diferencias en la función serotoninérgica entre mujeres y hombres^{7,8}.

Otra contribución de este estudio es que se controlaron los efectos del ciclo menstrual, ya que la concentración de estrógenos es variable a lo largo del ciclo e influye en la respuesta de prolactina a estimulantes como la D-fenfluramina. Otros trabajos han demostrado que la respuesta a D-fenfluramina es máxima a la mitad del ciclo, mínima durante la fase folicular temprana e intermedia en el período premenstrual, guardando una estricta relación con los niveles circulantes de estrógenos¹³. Una de las limitaciones de este estudio puede ser la falta de medición de niveles de estrógenos; sin embargo, dado que O'Keane et al.¹³ demostraron que la respuesta a D-fenfluramina era la menor durante la fase folicular temprana (que ocurre en los primeros días del ciclo), realizar la prueba de D-fenfluramina durante estos días permite controlar las variaciones fase-dependientes en la respuesta de prolactina.

Si bien McBride et al.⁹ encontraron un patrón de respuesta mayor en las mujeres, no se controló el ciclo menstrual, por tanto sus resultados podrían haberse visto afectados por el momento del ciclo en el cual las mujeres fueron estudiadas. El hecho de que nuestro estudio sólo haya considerado mujeres durante los días correspondientes a la menor respuesta de prolactina y que aun así se hayan encontrado diferencias significativas (respuesta mayor en mujeres que en hombres), sugiere fuertemente que en el grupo estudiado estas diferencias no son explicables por aumentos cíclicos de estrógenos dependientes del ciclo menstrual. Esto quiere decir que, presumiblemente, las mujeres jóvenes sanas de 20 años tienen de promedio un patrón de mayor respuesta de prolactina que los hombres sanos de 20 años, independientemente del momento del ciclo menstrual en que se encuentren.

Una de las limitaciones de este estudio es que no se controló el peso de los sujetos como una variable para ajustar la dosis de D-fenfluramina administrada a cada individuo. Algunos estudios señalan el peso como un factor inversamente relacionado con la respuesta de prolactina a fenfluramina¹⁰. Estudios que han analizado la farmacocinética de la D-fenfluramina y sus metabolitos han concluido que existe una diferencia significativa en el volumen de distribución entre sujetos obesos y no obesos, pero no en otras variables tales como la biodisponibilidad, el aclaramiento o la vida media²³. En relación a esto, el seguimiento más prolongado (5 h post-administración de la droga frente a 3,5 h en otros estudios)¹⁰ podría atenuar esta debilidad. Muldoon et al. determinaron que la concentración sanguínea de la droga es una variable independiente del peso corporal¹⁰, por tanto no medir los niveles de D-fenfluramina y sus metabolitos en la sangre puede representar una limitación adicional.

Finalmente podemos concluir que nuestros resultados apoyan que existe una diferencia por género en la estimulación de prolactina con dexfenfluramina en el grupo de 17 a 25 años de edad, y la literatura sugiere fuertemente que ésta corresponde a diferencias por género en el sistema serotoninérgico que deberían estar presentes al menos hasta esta edad. Futuras investigaciones pueden completar estos

hallazgos controlando el peso y midiendo los niveles de dexfenfluramina en la sangre. Sin embargo, este estudio será de utilidad al utilizar pruebas de estimulación con D-fenfluramina para investigar en pacientes jóvenes con diversos trastornos psiquiátricos tales como el trastorno límite de personalidad, contribuyendo a una adecuada interpretación de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- Sher L, Oquendo M, Li S, Ellis S, Brodsky BS, Malone KM, et al. Prolactin response to fenfluramine administration in patients with unipolar and bipolar depression and healthy controls. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28:559-73.
- Soloff PH, Kelly TM, Strotmeyer SJ, Malone KM, Mann JJ. Impulsivity, gender, and response to fenfluramine challenge in borderline personality disorder. *Psychiatry Res* 2003;119:11-24.
- Eckel LA, Rivera HM, Atchley DP. The anorectic effect of fenfluramine is influenced by sex and stage of the estrous cycle in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:1486-91.
- Coccaro E. Central serotonin and impulse aggression. *Br J Psychiatry* 1989;155(Suppl. 8):52-62.
- Oquendo M. The biology of impulsivity and suicidality. *Psychiatr Clin North Am* 2000;23:11-25.
- Coccaro E, Kavocessi R, Cooper T, Hauger R. Central serotonin activity and aggression: inverse relationship with prolactin response to D-fenfluramine but not CSF 5-HIAA concentration, in human subjects. *Am J Psychiatry* 1997;154:1430-5.
- Invernizzi R, Berettera C, Garattini S, Samanin R. D- and L-isomers of fenfluramine differ markedly in their interaction with brain serotonin and catecholamines in the rat. *Eur J Pharmacol* 1986;120:9-15.
- Garattini S, Mennini T, Samanin R. From fenfluramine racemate to D-fenfluramine. Specificity and potency of the effects on the serotonergic system and food intake. *Ann N Y Acad Sci* 1987;499:156-66.
- McBride PA, Tierney H, Demeo M, Chen J, Mann J. Effects of age and gender on CNS serotonergic responsivity on normal adults. *Biol Psychiatry* 1990;27:1143-55.
- Muldoon M, Manuck S, Jansma C, Moore A, Perel J, Mann JJ. D,L-Fenfluramine Challenge Test: experience in nonpatient sample. *Biol Psychiatry* 1996;39:761-8.
- Ramasubbu R, Flint A, Brown G, Awad G, Kennedy S. Neurohormonal responses to D-fenfluramine in healthy elderly subjects. A placebo-controlled study. *Psychoneuroendocrinology* 2000;25:139-50.
- Ghaziuddin N, Welch K, Greden J. Central serotonergic effects of m-chlorophenylpiperazine (mCPP) among normal control adolescents. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:133-9.
- O'Keane V, O'Hanlon M, Webb M, Dinant T. D-fenfluramine/prolactin response throughout the menstrual cycle: evidence for an oestrogen-induced alteration. *Clin Endocrinol* 1991;34:289-92.
- Goldberg DP. The detection of psychiatric illness by questionnaire. Oxford: Oxford University Press, 1972.
- Goldberg DP, Williams P. A user's guide to the General Health Questionnaire. Berkshire: Nfer-Nelson, 1991.
- Arranz B, Eriksson A, Mellerup E, Plenge P, Marcusson J. Effect of aging in human cortical pre and postsynaptic serotonin binding sites. *Brain Res* 1993;620:163-6.
- Van Amelsvoort TA, Abel KM, Robertson DM, Daly E, Critchley H, Whitehead M, et al. Prolactin response to D-fenfluramine in postmenopausal women on and off ERT: comparison with young women. *Psychoneuroendocrinology* 2001;26:493-502.
- Yamamoto M, Suhara T, Okubo Y, Ichimita T, Sudo Y, Inoue M, et al. Age-related decline of serotonin transporters in human brain of healthy males. *Life Sci* 2002;71:751-2.
- Weiss LA, Abney M, Cook EH Jr, Ober C. Sex-specific genetic architecture of whole blood serotonin levels. *Am J Hum Genet* 2005;76:33-41.
- Cadoret RJ, Langbehn D, Caspers K, Troughton EP, Yucuis R, Sandhu HK, et al. Associations of the serotonin transporter promoter polymorphism with aggressivity, attention deficit, and conduct disorder in an adoptee population. *Compr Psychiatry* 2003;44:88-101.
- Lu H, Nishi M, Matsuda K, Kawata M. Estrogen reduces the neurite growth of serotonergic cells expressing estrogen receptors. *Neurosci Res* 2004;50:23-8.
- Mitchell PB, Smythe GA. Endocrine and amine responses to D,L-fenfluramine in normal subjects. *Psychiatry Res* 1991;39:141-53.
- Cheymol G, Weissenburger J, Poirier JM, Gellee C. The pharmacokinetics of dexfenfluramine in obese and non-obese subjects. *Br J Clin Pharmacology* 1995;39:684-7.