

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20268> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Aubert, Yves

Title: Sex, aggression and pair-bond : a study on the serotonergic regulation of female sexual function in the marmoset monkey

Date: 2012-12-11

SAMENVATTING

SAMENVATTING

Sexueel dysfunctioneren komt bij vrouwen veel voor. Bij ongeveer 1 op de 10 vrouwen is er sprake van “Hypoactive sexual desire disorder (HSDD)”, een aandoening waarbij het libido regelmatig of aanhoudend sterk verlaagd is, hetgeen voor problemen zorgt in de persoonlijke en relationele sfeer. Hoe HSDD ontstaat en wat de onderliggende neurobiologische mechanismen zijn, is nog grotendeels onbekend, maar mogelijk speelt dysfunctie van de excitatoire neurotransmitters dopamine en norepinephrine en de inhibitoire neurotransmitter serotonine (5-HT) een rol. Doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was om de rol te onderzoeken van het serotonine systeem in de regulatie van vrouwelijk sexueel gedrag. Hierbij werd gebruik gemaakt van het penseelaapje (*Callithrix jacchus*) als diermodel, omdat de paarvorming in penseelaapjes sociaal gezien veel lijkt op die van de mens. Penseelaapjes vormen namelijk stabiele man-vrouw koppels waarin sociaal gedrag tussen de partners, zoals bijvoorbeeld elkaar vlooien, een belangrijke rol speelt. Vrouwtjes geven hun interesse in seksuele interactie aan en reguleren ook wanneer dit plaatsvindt door actief seksuele avances te accepteren of af te wijzen.

Een gedragstest is ontwikkeld waarmee de belangstelling van het vrouwtje voor en het toelaten of afwijzen van de seksuele avances van het mannetje kwantitatief bepaald kan worden. Daarnaast meet deze gedragstest ook andere parameters die informatie geven over de interactie tussen beide partners van een koppel en de kwaliteit van deze interacties. Deze gedragstest werd vervolgens gebruikt om de chronische effecten te bepalen van twee verschillende serotonerge stoffen: flibanserin (een 5-HT_{1A} agonist en 5-HT_{2A} antagonist) en 8-OH-DPAT (een 5-HT_{1A} agonist). Momenteel is flibanserin in ontwikkeling als potentieel geneesmiddel voor de behandeling van HSDD in vrouwen.

Hoofdstuk 1 gaf een inleiding in vrouwelijke sexualiteit en een overzicht van de indeling van vrouwelijk sexueel dysfunctioneren. De huidige stand van zaken van kennis van de neurobiologie van sexueel functioneren en dysfunctioneren in vrouwen, zowel in de mens als in diermodellen, kwam aan bod. Sexueel gedrag wordt centraal gereguleerd door zowel excitatoire en inhibitoire factoren, o.a. steroïd hormonen, neuropeptiden en neurotransmitters. Aan de excitatoire kant van de balans spelen oestrogenen, testosteron, oxytocine, melanocortine, dopamine en norepinephrine een belangrijke rol, terwijl aan de inhibitoire kant opioïden, cannabinoïden en serotonine een onderdrukkend effect hebben. Het centrale serotonine neurotransmitter systeem werd in meer detail besproken en de stimulerende en remmende werking van de verschillende serotonine receptor subtypes werd benadrukt. De werking

van flibanserin en 8-OH-DPAT op vrouwelijk seksueel gedrag in knaagdieren (8-OH-DPAT) en in de mens (flibanserin, 8-OH-DPAT) werd beschreven. In Hoofdstuk 1 kwam ook aan bod waarom het penseelaapje een zeer geschikt diermodel is voor het bestuderen van vrouwelijke sexualiteit en voor het testen van de chronische effecten van flibanserin en 8-OH-DPAT m.b.t. gedrag en de onderliggende neurobiologische substraten.

De doelstelling van **Hoofdstuk 2** was om de effecten te bestuderen van chronische behandeling met flibanserin en 8-OH-DPAT op seksuele en sociale interacties tussen behandelde vrouwtjes en hun onbehandelde partners. Er waren opvallende verschillen en tegengestelde effecten waarneembaar van flibanserin enerzijds en 8-OH-DPAT anderzijds op de interacties tussen het vrouwtje en mannetje van een koppel bij hun weerzien na een scheidingsperiode van 90 minuten, ondanks het feit dat beide stoffen 5-HT_{1A} agonist eigenschappen gemeen hebben. Terwijl koppels met daarin flibanserin-behandelde vrouwtjes vaker seksueel-gerelateerde en toenaderende, pro-sociale interacties vertoonden, was de band tussen 8-OH-DPAT-behandelde vrouwtjes en hun partner verstoord. Dit was zichtbaar als een toename van afwijzing van seksuele avances door het vrouwtje, verminderde aantrekkelijkheid van het vrouwtje, minder toenaderende interacties en een toename van agonistische interacties. Dit suggereert dat beide stoffen (flibanserin en 8-OH-DPAT) een belangrijke rol spelen in het bepalen van vrouwelijk seksueel gedrag van het penseelaapje. Verder werd in Hoofdstuk 2 de farmacokinetische 24-uurs profielen beschreven van flibanserin en 8-OH-DPAT spiegels in de circulatie tijdens chronische toediening. Dit toonde aan dat flibanserin en 8-OH-DPAT spiegels in het bloed laag of afwezig waren op het moment dat de gedragstesten werden uitgevoerd, en ook tijdens de endocriene studies, hersen imaging en gen expressie experimenten die hieronder worden beschreven.

In **Hoofdstuk 3** werd de impact van chronische flibanserin en 8-OH-DPAT behandeling op HPA-as functie onderzocht en gekeken of de HPA-as een rol speelde in de serotonerge regulatie van vrouwelijk seksueel gedrag. Zowel chronische flibanserin als 8-OH-DPAT behandeling gaven geen verandering in basale ochtend cortisol spiegels, en hadden ook geen effect op de ACTH en cortisol respons in reactie op een acute 5-HT_{1A} agonist challenge. Activatie van hypothalamische 5-HT_{1A} receptoren stimuleerden de HPA-as, en een neuroendocriene 5-HT_{1A} challenge kan dus dienst doen als een perifere indicator van centrale 5-HT_{1A} receptor functie. Blootstelling aan 30 minuten immobilisatie stress resulteerde in een verhoogd ACTH respons na flibanserin en 8-OH-DPAT behandeling, wat wijst op een sensitisatie van HPA-as reactiviteit op stress na chronische flibanserin en 8-OH-DPAT

behandeling. Cortisol was verhoogd na 8-OH-DPAT, maar niet na flibanserin behandeling. Er bleek een correlatie te zijn tussen toename van de ACTH respons op immobilisatie en toegenomen agressie en verminderde seksuele ontvankelijkheid in 8-OH-DPAT behandelde vrouwtjes, wat consistent is met de hypothese dat toegenomen stress reactiviteit bijdraagt aan de inhibitie van seksueel gedrag. Dergelijke correlaties waren afwezig in flibanserin-behandelde vrouwtjes, wat suggereert dat er geen remmend effect is van HPA-as reactiviteit op vrouwelijk seksueel gedrag na flibanserin behandeling.

In **Hoofdstuk 4** werden de resultaten beschreven van een PET/MRI functionele imaging experiment gericht op het meten van cerebrale glucose metabolisme, een indicator van neurale activiteit, in chronische 8-OH-DPAT of vehicle-behandelde vrouwelijke penseelaapjes tijdens seksuele en sociale interacties met hun mannelijke partners. Radioactief gelabeld [^{18}F]fluorodeoxyglucose (FDG) werd aan de vrouwtjes toegediend direct voorafgaand aan een 30 minuten durende interactie na hereniging met hun partner, waarna de vrouwtjes onder isofluorane narcose een PET scan ondergingen. Structurele MRI scans werden met de PET beelden gecombineerd om de visualisatie van anatomische structuren te verbeteren. In vooraf bepaalde hersengebieden, gekozen op basis van hun rol in vrouwelijk seksueel gedrag en een hoge 5-HT_{1A} dichtheid (mPFC, mPOA, VMH, CA1 en DRN), bleek chronische 8-OH-DPAT geen effect te hebben op FDG opname. Echter, voxel-wise mapping van de gehele hersenen liet een significante afname van neurale activiteit zien in een cluster gelegen in de mediale occipitale cortex (mOCC). Deze cluster vertoonde overlap met een cluster verkregen uit correlaties van scores van vrouwelijk afwijzingsgedrag en FDG signalen. Dit resultaat wijst erop dat verminderde neurale activiteit in de mOCC mogelijk ten grondslag ligt aan de 8-OH-DPAT geïnduceerde afname in vrouwelijke seksuele ontvankelijkheid.

In **Hoofdstuk 5** werden de resultaten van een grootschalig genexpressie experiment beschreven waarbij gebruik gemaakt werd van een microarray met specifieke sequenties afkomstig van het penseelaapje (marmoset-specific microarray EUMAMA). Daarnaast werd de expressie van diverse kandidaat-genen van het serotonine systeem gemeten m.b.v. real-time kwantitatieve PCR, namelijk 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₇ en 5-HTT. Dezelfde hersengebieden als in de PET imaging studie (Hoofdstuk 4) werden onderzocht, met uitzondering van de VMH.

Clustering van microarray data op basis van functionele annotatie liet zien dat chronische 8-OH-DPAT in de mPOA specifiek de expressie van genen geassocieerd met neurotransmissie beïnvloedde, terwijl de expressie van gen clusters geassocieerd met ion kanaal activiteit en leren en geheugen in

het CA1 gebied veranderd was. Expressie van genen die een rol spelen in intracellulaire signaal overdracht was met name in de DRN veranderd. Gen clusters betrokken bij neurale ontwikkeling waren veranderd in de mPFC, mPOA and DRN, gen clusters betrokken bij energie productie in de mPFC en mPOA, gen clusters voor mitochondriële functie in de CA1 en DRN, en tenslotte gen clusters voor eiwit transport in de mPOA en DRN. Op basis hiervan postuleerden wij dat transcriptoom veranderingen gekoppeld aan neurale plasticiteit, energie productie en leren en geheugen processen in corticale, hippocampale en hypothalamische hersengebieden mogelijk bijgedragen hebben aan de seksuele remming door chronische 8-OH-DPAT toediening. De microarray analyse detecteerde ook een meer dan 10-voudige toename in oxytocine (OXT) expressie in de mPOA van 8-OH-DPAT-behandelde vrouwtjes. Deze vondst is van belang, aangezien hypothalamische OXT functie in nauw verband gebracht is met sociaal en seksueel gedrag in knaagdieren, primaten en mensen. Serotonerge regulatie van seksueel en sociaal gedrag van het penseelaapje wordt dus mogelijk gemedieerd door hypothalamische OXT. Echter, doorgaans wordt aan een toename van hypothalamische oxytocine een pro-seksuele en pro-sociale werking toegeschreven, wat in tegenstelling is met de waarneming in Hoofdstuk 5. Verder onderzoek naar de expressie van oxytocine receptoren en signalering is essentieel om meer inzicht te verschaffen in deze ogenschijnlijke paradox.

De kandidaat-gen aanpak liet een sterkte toename zien van expressie van het serotonine transporter gen (5-HTT) in de DRN. De expressie van 5-HT_{1A} autoreceptoren in de DRN was niet veranderd door chronische 8-OH-DPAT toediening, maar er was wel een trend in de richting van toegenomen HT_{1A} expressie in de mPFC. Expressie van 5-HT_{2A} werd niet beïnvloed door 8-OH-DPAT in alle onderzochte hersengebieden, maar er was wel een trend waarneembaar richting een afname van 5-HT₇ expressie in het CA1 gebied van de hippocampus. Mogelijk resulteert activatie van 5-HT_{1A} autoreceptoren in de DRN door 8-OH-DPAT in een onderdrukking van serotonerge activiteit, wat een compensatoire upregulatie induceert van 5-HTT in de DRN en van 5-HT_{1A} in de mPFC om de serotonerge tonus te herstellen.

In **Hoofdstuk 6** werd een synthese gegeven van de experimentele bevindingen beschreven in Hoofdstukken 2-5. Contrasterende effecten van flibanserine en 8-OH-DPAT op vrouwelijk seksueel en sociaal gedrag (Hoofdstuk 2) werden besproken in de context van toegenomen HPA-as responsiviteit op stress (Hoofdstuk 3), en hersengebied-specifieke veranderingen in glucose metabolisme (Hoofdstuk 4) en genexpressie (Hoofdstuk 5). In het licht van de discipline-overstijgende data set beschreven in dit proefschrift en de multifactoriële etiologie van seksuele dysfunctie in vrouwen (Hoofdstuk

1), postuleren wij dat flibanserin en 8-OH-DPAT vrouwelijk sexueel gedrag reguleren via een viertal individuele maar interactieve modules.

In de monoamine regulatoire module (i), veranderen flibanserin en 8-OH-DPAT serotonerge, dopaminerge en noradrenerge neurotransmissie, resulterend in een verandering in excitatoir of inhibitorisch input op vrouwelijk sexueel gedrag. Via deze module zou flibanserin zowel een excitatoire en disinhibitoire invloed hebben op vrouwelijk sexueel gedrag. De HPA-as module (ii) is verantwoordelijk voor sexueel remmende effecten vanwege verhoogde activatie van het endocriene stress systeem. Deze module speelt mogelijk een rol in de toegenomen sexuele afwijzing van de partner door chronisch 8-OH-DPAT behandelde vrouwelijke penseelaapjes. De paarvorming, ervaring en geheugen module (iii) werd voorgesteld als mechanisme via welk flibanserin en 8-OH-DPAT mogelijk hun pro-sexuele and pro-sociale (flibanserin), of anti-sexuele en anti-sociale (8-OH-DPAT) werking uitoefenen. Oxytocine speelt mogelijk een sleutelrol bij het verbinden van deze module aan een regulatoire module voor vrouwelijk sexueel en sociaal gedrag (iv), die input ontvangt van modules (i)-(iii), deze integreert en uiteindelijk vertaalt naar vrouwelijk sexueel en sociaal gedrag.

Concluderend, uit de experimenten beschreven in dit proefschrift komt het belang van de kwaliteit van de band tussen de twee partners van een koppel voor de expressie van vrouwelijk sexueel gedrag sterk naar voren. De rol van oxytocine in de serotonerge regulatie van vrouwelijk sexueel gedrag moet verder onderzocht worden. Het therapeutisch effect van flibanserin voor vrouwen met HSDD zou kunnen berusten op verbeteringen in de sexuele, sociale en emotionele band tussen partners. Bij het extrapoleren van de bevindingen in het penseelaapje, beschreven in dit proefschrift, naar de mens zouden toekomstige klinische studies op het terrein van HSDD er goed aan doen als klinische uitleesparameters maten voor de intimiteit van een relatie en de rol van de partner mee te nemen.



