



# UNIVERSIDAD DE VALENCIA

## FACULTAD DE MEDICINA

### DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

PROGRAMA DE DOCTORADO: CIRUGIA Y SUS ESPECIALIDADES

**"EVALUACION DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO  
CON TADALAFILO SOBRE LAS FUNCIONES  
CEREBRALES, NEUROLOGICAS Y BIOQUIMICAS EN  
PACIENTES CON HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA  
Y DISFUNCION ERECTIL."**

**PRESENTADA POR:** FELIPE ORDOÑO DOMINGUEZ

#### **DIRECTORES:**

El Dr/a. Juan Fermin Ordoño Dominguez

El Dr/a. Carmina Montoliu Felix

El Dr/a. Cristina Domenech Pérez

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE VALENCIA

**TESIS DOCTORAL:** EVALUACION DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TADALAFILO SOBRE LAS FUNCIONES CEREBRALES, NEUROLOGICAS Y BIOQUIMICAS EN PACIENTES CON HIPERPLASIA PROSTATICA BENIGNA Y DISFUNCION ERECTIL.

**PRESENTADA POR:** FELIPE ORDOÑO DOMINGUEZ, LICENCIADO EN MEDICINA Y CIRUGIA, ESPECIALISTA EN UROLOGIA

**DIRECTORES:**

DR. JUAN FERMIN ORDOÑO DOMINGUEZ

DRA. CARMINA MONTOLIU FELIX

DRA. CRISTINA DOMENECH PEREZ

DR. Don JUAN FERMIN ORDOÑO DOMINGUEZ, jefe de servicio de Neurofisiología clínica del Hospital Arnau de Vilanova de Valencia,

**CERTIFICA:** Que el trabajo presentado por Don FELIPE ORDOÑO DOMINGUEZ con el título "EVALUACION DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TADALAFILO SOBRE LAS FUNCIONES CEREBRALES, NEUROLOGICAS Y BIOQUIMICAS EN PACIENTES CON HBP Y DISFUNCION ERECTIL, ha sido realizado bajo mi dirección y supervisión.

EN VALENCIA A 5 DE OCTUBRE DE 2015

FIRMADO: JUAN FERMIN ORDOÑO DOMINGUEZ

Dra. Doña CARMINA MONTILIU FELIX, profesora asociada del departamento de Patología de la Universidad de Valencia e investigadora del INCLIVA.

**CERTIFICA:** Que el trabajo presentado por Don FELIPE ORDOÑO DOMINGUEZ con el título "EVALUACION DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TADALAFILO SOBRE LAS FUNCIONES CEREBRALES, NEUROLOGICAS Y BIOQUIMICAS EN PACIENTES CON HBP Y DISFUNCION ERECTIL, ha sido realizado bajo mi dirección y supervisión.

EN VALENCIA A 5 DE OCTUBRE DE 2015

FIRMADO: CARMINA MONTOLIU FELIX

Dra. Doña CRISTINA DOMENECH PEREZ, profesora titular del departamento de Cirugía de la Universidad de Valencia.

**CERTIFICA:** Que el trabajo presentado por Don FELIPE ORDOÑO DOMINGUEZ con el título "EVALUACION DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON TADALAFILO SOBRE LAS FUNCIONES CEREBRALES, NEUROLOGICAS Y BIOQUIMICAS EN PACIENTES CON HBP Y DISFUNCION ERECTIL, ha sido realizado bajo mi dirección y supervisión.

EN VALENCIA A 5 DE OCTUBRE DE 2015

FIRMADO: CRISTINA DOMENECH PEREZ

## AGRADECIMIENTOS:

A Paula y Sandra, mis hijas, por ser la luz que ilumina mis días.

A mis padres por su tesón y su cariño, sin ellos nada de esto hubiese sido posible.

A mis hermanos por haber estado siempre a mi lado, en los buenos momentos, pero sobre todo en los malos.

A mis directores de tesis por la comprensión, paciencia y apoyo sin ellos esta trabajo no sería posible.

A toda mi familia en general.

A Gloria por su apoyo en los últimos tiempos.

Y por supuesto, a todos los que de alguna manera han hecho posible la realización de este trabajo.

GRACIAS.

# **INDICE GENERAL**

## **I. INTRODUCCION**

### **I.1. CONSIDERACIONES ANATOMICAS**

#### **I.1.1. ANATOMIA PROSTATICA**

#### **I.1.2. ANATOMIA PENEANA**

### **I.2. CONSIDERACIONES FISIOPATOLOGICAS**

#### **I.2.1. FISIOPATOLOGIA PROSTATICA**

**RECUERDO HISTORICO**

**ETIOLOGIA Y FISIOPATOLOGIA DE LA HBP (STUI)**

#### **I.2.2. FISIOPATOLOGIA DE LA DISFUNCION ERECTIL**

**RECUERDO HISTORICO**

**MECANISMOS DE LA ERECCION**

**NEUROFISIOLOGIA DE LA ERECCION**

**FISIOPATOLOGIA DE LA DISFUNCION ERECTIL**

### I.3. TECNICAS ESPECIALES DE VALORACION COGNITIVA

#### I.3.1. CARTOGRAFIA CEREBRAL

#### I.3.2. P 50

#### I.3.3. P 300

#### I.3.4. MISSMATCH NEGATIVITY (MMN)

### II. OBJETIVOS

### III. MATERIAL Y METODO

### IV. RESULTADOS

### V. DISCUSION

### VI. CONCLUSIONES

### VII. BIBLIOGRAFIA.



# I.INTRODUCCION

## INTRODUCCION:

La hiperplasia benigna de próstata es una de las enfermedades más comunes en el varón, pudiendo derivar en una hipertrofia de la próstata condicionando una obstrucción del tracto urinario inferior y en síntomas de tracto urinario inferior (STUI) y en su evolución acabar en una insuficiencia renal.

La disfunción eréctil (DE), es uno de los problemas de salud más frecuentes en varones mayores de 40 años, afectando enormemente a su calidad de vida condicionando problemas de pareja, inseguridades y disminución de la autoestima.

### I.1: CONSIDERACIONES ANATOMICAS:

#### I.1.1: ANATOMIA PROSTATICA:

El crecimiento y desarrollo de la glándula prostática comienza en la vida fetal y se desarrolla a partir del seno urogenital, que es una estructura

en la línea media formada por epitelio derivado del endodermo y rodeado de epitelio mesenquimal derivado del mesodermo. Hasta la 10-12 semanas de gestación es indistinguible del femenino a partir de las cuales comienza un proceso dependiente de los andrógenos producidos en los testículos.

A los 20 años la próstata adopta una disposición de cono invertido con base en el cuello de la vejiga. Durante la tercera década el epitelio glandular está aumentado por una disposición irregular del epitelio dentro de la luz glandular. Entre los treinta y los cincuenta años, el tamaño permanece estable observando una pérdida discreta y progresiva de las proyecciones glandulares. A partir de los cincuenta puede adoptar un crecimiento progresivo de la misma (hiperplasia nodular).

La próstata está compuesta aproximadamente por un 70% de elementos glandulares y un 30% de estroma fibromuscular, la uretra discurre a lo largo de la próstata y habitualmente se encuentra más próxima a la superficie anterior y está revestida de epitelio transicional.

Hoy sabemos que la próstata mide aproximadamente 3 cm en su eje vertical, 2 cm en el anteroposterior y 4 cm en su eje transversal, con un

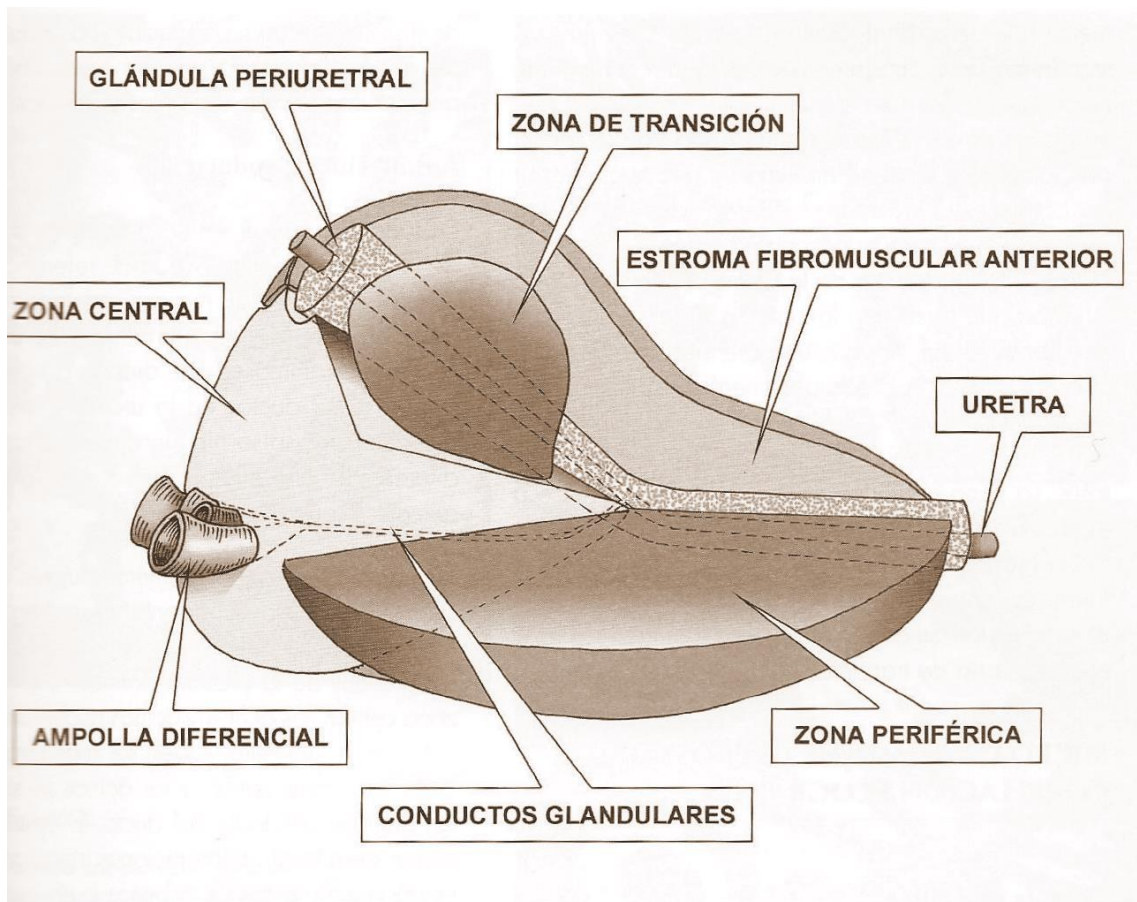
peso aproximado de unos 20 gr. Pero el conocimiento de la misma se ha adquirido muy recientemente, la medicina grecorromana sabía de la patología obstructiva del tracto urinario inferior, pero se desconocía la causa. La primera vez que aparece el término *próstata* es en los textos de Herophilus, término que despreció Galeno en la Edad Media. Avicena y Abulcasis mencionan la existencia de unas *carosidades* en la uretra. El término *próstata* será rescatado por Vesalio en el Renacimiento.

Leonhard Jores (1894) fue el primero en destacar su distribución zonal que junto a las observaciones de Albarrán abrieron una nueva aproximación.

En 1953 Salvador Gil Vernet concluyó que había tres próstatas la caudal, la infundibular con dos lóbulos posterolaterales y uno anterior y la craneal encajada en la anterior, quedando clara la heterogeneidad de la *próstata*, que posteriormente McNeal reafirmó la división en lóbulos o zonas.

Este modelo de distribución zonal de McNeal se desarrolló entre 1968-78 y es actualmente el más arraigado. El punto de referencia es la uretra que angulada en el *veru montanum* se divide en dos porciones la

proximal y la distal. En este modelo existe un componente no glandular compuesto por el tejido de los esfínteres, el cuello y la zona fibromuscular anterior. El componente glandular (aproximadamente el 70% de la glándula) se distribuye en tres zonas, la zona de transición, la zona central y la zona periférica. La zona central que podría corresponder al lóbulo medio de Gil Vernet es el 25% de la glándula y está cruzada por los conductos eyaculadores y podría tener un origen wolfiano. La zona de transición se sitúa alrededor de la uretra proximal y se distribuye en dos partes laterales pudiendo corresponder a la próstata craneal de Gil Vernet y su origen podría ser el seno urogenital. La zona periférica que podría corresponder a la próstata caudal de Gil Vernet que representa el 70% del componente glandular y constituiría el apex prostático, su origen sería también el seno urogenital al igual que la zona transicional.



### I.1.2: ANATOMIA PENEANA:

El pene se encuentra compuesto por tres estructuras cilíndricas, un par de cuerpos cavernosos y un cuerpo esponjoso donde alberga la uretra.

En un estudio se midió la longitud del pene desde la unión pubopeneana

hasta el meato uretral con valores de 7,5-10,5 cm en estado de flaccidez y de 12-18 cm en estado de erección, sin que ni la edad ni el tamaño del pene flácido pudieran predecir la longitud final.

Es un órgano con una triple función: conduce la salida de orina durante la micción, conduce asimismo el esperma durante la eyaculación y permite la realización del coito durante la erección (miccional, reproductiva y sexual). Existe una porción posterior del pene o subpública (raíz), y una porción anterior o libre (cuerpo).

La *raíz* se localiza en el espacio perineal superficial, comprendido entre la fascia perineal superficial o de Colles y la fascia inferior del diafragma urogenital o membrana perineal. Contiene los extremos proximales de ambos cuerpos cavernosos, el bulbo esponjoso (adherido a la membrana perineal) y los músculos isquiocavernoso y bulboesponjoso (inervados por el nervio pudendo y que contribuyen a la rigidez de la erección).

El *cuerpo* es la porción pendular libre formada por ambos cuerpos cavernosos y el cuerpo esponjoso, se originan bajo la sínfisis del pubis al converger las tres raíces y discurre por delante de la bolsa escrotal y se sustenta con dos ligamentos que se continúan con la fascia del pene. El

*ligamento fundiforme* que nace de la parte inferior de la línea alba y se divide en dos partes a cada lado del pene. El *ligamento suspensorio* condensación de fascia superficial, que nace de la superficie anterior pubiana en forma de horquilla insertándose en la fascia profunda del dorso y lado del cuerpo del pene.

Los cuerpos cavernosos van disminuyendo de tamaño en sentido distal, mientras que el esponjoso desarrolla una formación en forma de cúpula denominado glande.

Los cuerpos eréctiles están recubiertos por una serie de capas concéntricas. LA PIEL, se caracteriza por su finura, movilidad y pigmentación, está desprovista de células musculares y adiposas, principalmente constituida de colágeno y fibras elásticas a nivel del surco balanoprepucial se transforma en mucosa y se encuentran las glándulas de Tyson (productoras de esmegma). LA FASCIA DE COLLES o DARTOS, Formada por fibras musculares lisas, por su interior circula la vena dorsal superficial y está separada de la siguiente capa por una capa de tejido laxo rica en fibras elásticas. LA FASCIA PROFUNDA O DE BUCK, forma una vaina común y fuerte que rodea a los tres cuerpos eréctiles sin llegar



al glande, en la parte proximal fija los cuerpos eréctiles en el pubis, isquion y fascia inferior del diafragma urogenital. LA TUNICA ALBUGINEA, constituye la pared externa de los cuerpos cavernosos y esponjoso, es la responsable de la extensibilidad del pene durante la erección, tiene a su vez dos capas (interna y externa), la interna circular emite prolongaciones al interior formando el esqueleto del cuerpo cavernoso y la externa es longitudinal, las áreas perforadas por arterias y nervios se rodean de una vaina que impide la compresión durante la erección, lo cual no ocurre con las vena emisarias.

Las arterias que van hacia los cuerpos eréctiles proceden de la arteria pudenda interna rama de la íliaca interna. Se dirige hacia las fosas isquiorrectales de ambos lados, atraviesa el canal pudendo y pasa a denominarse arteria común del pene que a su vez se divide en sus ramas terminales: arteria dorsal del pene (discurre hacia el glande por el dorso del pene, bajo la fascia de Buck, entre la vena dorsal profunda y los nervios dorsales de pene. Puede emitir ramas perforantes hacia los cuerpos cavernosos), arterias cavernosas o profundas del pene (se introducen en el tejido cavernoso a través del hilio del pene, cursando

en trayecto ondulado en situación de flaccidez ramificándose en arteriolas helicoidales o arterias helicitas cuya repleción se produce al relajarse el músculo liso sinusoidal, son las que interesan en la erección) y arterias bulbouretrales (a veces nacen independientes una arteria bulbar y una uretral).

El drenaje venoso se compone de tres sistemas comunicados entre sí: superficial (múltiples venas superficiales que recogen la sangre de la piel y tejido celular subcutáneo por encima de la fascia de Buck, se unen para formar la vena dorsal superficial del pene que drena en la pudenda externa rama de la safena interna), intermedio (se localiza debajo de la fascia de Buck y por encima de la túnica albugínea, de él depende el drenaje del glande, cuerpo esponjoso y dos tercios distales de los cuerpos cavernosos, del glande emergen de seis a quince venas para formar el plexo retrocoronal que converge en la vena dorsal profunda del pene que recorre la línea media entre los dos cuerpos cavernosos vaciándose en el plexo venoso pudiendo ser de Santorini, tributario de la ilíaca interna) y profundo (constituido por las venas cavernosas que

discurren entre la raíz del cuerpo cavernoso y el bulbo uretral drenando en la pudenda interna.

En el proceso de la erección intervienen los tres tipos de fibras nerviosas del organismo: simpáticas, parasimpáticas y somáticas a varios niveles, vías periféricas, centros medulares y centros superiores.

**VÍAS PERIFÉRICAS Y CENTROS MEDULARES:** los impulsos nerviosos de naturaleza somática son conducidos por los nervios pudendos (tanto sensitivo como motores), los estímulos sensoriales aferentes provienen de los genitales y cuerpos cavernosos por el nervio dorsal del pene, que abandona el pene acompañado de la arteria pudenda, hasta conectar con el nervio pudendo en la fosa isquiorectal y transmitido a los centros medulares S2-S4 en el núcleo pudendo sensitivo en las astas dorsales. Existen conexiones con motoneuronas de las astas anteriores, se envían estímulos a centros superiores mediante fascículos espinotalámicos a centros superiores y otras conexiones con motoneuronas simpáticas y terminaciones aferentes pudendas que son la base de las erecciones reflejas. Las ramas motoras nacen en segmentos sacros S2-S4 (núcleo de Onuf) y se unen para formar el nervio pudendo, la primera rama es el

nervio dorsal del pene (sensitivo), el resto de ramas continúan por la fosa isquiorrectal formando el nervio rectal inferior y el perineal, ayudando su inervación motora en conseguir una buena erección por contracción de los músculos perineales participando, además, en la eyaculación. El centro de la inervación parasimpática se encuentra en las astas intermediolaterales de las metámeras S2-S4 formando el nervio pélvico o erector y se une al nervio hipogástrico (simpático) para formar el plexo pélvico. Estos nervios discurren por las caras laterales del recto y posterolateralmente a las vesículas seminales hasta llegar al ápex prostático. El centro medular simpático se localiza en las astas intermediolaterales a nivel D10-L2 y desde aquí pueden establecer tres vías: no hacer sinapsis y descender con el nervio esplácnico inferior hasta el plexo hipogástrico superior donde se continúan con el nervio hipogástrico donde sinaptan y junto a fibras parasimpáticas forman los nervios cavernosos. Hacer sinapsis en las cadenas paravertebrales y desde aquí hasta el plexo pélvico. Y, fibras que llegan al pene sin integrarse en el plexo pélvico a través del nervio dorsal del pene.

CENTROS SUPERIORES: a éste nivel tiene lugar la modulación de las erecciones reflejas y el control de las psicógenas, que tienen como centro anatómico el sistema límbico, que está formado por dos estructuras que rodean al hipotálamo. Los núcleos subcorticales (núcleos anteriores del tálamo, ganglios basales, hipocampo, amígdalas) y la corteza límbica. Éste sistema actúa como centro integrador de los diferentes estímulos sexuales, tanto táctiles y visuales (núcleos talámicos e hipotálamo), olfatorios (riencéfalo) y de la memoria (hipocampo), la información viaja al hipotálamo en cuya zona medial preóptica está el centro integrador de la erección. La estimulación de las diferentes áreas motoras y sensitivas de la corteza no producen erecciones, a pesar de haberse demostrado su representación cortical. En algunas especies se ha visto que las lesiones corticales producen estado de hipersexualidad, por lo que es de suponer que esta región inhibiría la conducta sexual.

## I.2: CONSIDERACIONES FISIOPATOLOGICAS:

### I.2.1: FISIOPATOLOGIA PROSTÁTICA:

RECUERDO HISTORICO DE LA HBP (STUI síntomas de tracto urinario inferior): La hipertrofia benigna de próstata es un proceso patológico que contribuye al desarrollo de síntomas de tracto urinario inferior (STUI), aunque no es la única causa que contribuye al desarrollo de dichos síntomas.

Desde la medicina egipcia se hace referencia, en el papiro de Ebers, a los problemas relacionados con las vías urinarias, mencionando la hematuria así como los trastornos de la micción y la retención de orina, con numerosos remedios a lo que denominan *acumulación de orina*, encontrándose los síntomas correctamente definidos.

Numerosos textos mesopotámicos hacen referencia a las dolencias de los órganos genitales y en concreto de la retención de orina, con prescripción de pociones y frecuentes inyecciones en la uretra con un tubo de bronce por el que el médico soplabá con su boca.

En la antigua Roma se sabe de los problemas prostáticos del emperador Nerón que le ocasionaban dolorosas retenciones, según se cuenta el emperador obligaba a sus esclavos a ingerir grandes cantidades de líquidos atándoles posteriormente el pene para que no pudiesen evacuar la orina y produciéndoles unos terribles dolores.

También Carlos I de España y V de Alemania aquejaba molestias vesicales en relación con la estrechez uretral, la hipertrofia prostática y las carnosidades de la vejiga urinaria, fue tratado por su cirujano Lorenzo Alderete con caústicos colocados en el extremo de unas sonda. Pero fue Andrés Laguna quien publicara: *Methodus cognoscendi in vesicas colo carunculas* donde aconseja el tratamiento de las excrecencias de la uretra con la cauterización seguida del paso de una sonda y es considerada la primera contribución al tratamiento en Europa.

El monarca francés Enrique IV también padeció problemas prostáticos y fue Theodore Turquet de Mayerne quien le practicó una uretrotomía.

El filósofo francés Jean Jacques Rousseau aquejó de dolores en la micción debidos a una hipertrofia prostática así como, su acérrimo enemigo, Voltaire.

El emperador Napoleón III (casado con Eugenia de Montijo), aquejó problemas prostáticos que le causaban fuertes dolores, el urólogo inglés Sir Henry Thompson le hizo varias sesiones de litotripsia por una gran litiasis vesical que tenía.

ETIOLOGIA Y FISIOPATOLOGIA DE LA HBP: la hipertrofia benigna de próstata es un proceso patológico que contribuye al desarrollo de síntomas de tracto urinario inferior (STUI), se pensaba que los síntomas clínicos de la HBP se debían sólo al aumento de la resistencia uretral por el efecto masa, pero una gran parte se deben a una disfunción del detrusor. Los andrógenos no son la causa de la HBP, pero en su desarrollo se requiere la presencia de andrógenos testiculares durante la formación de la próstata, la pubertad y el envejecimiento. En la próstata la 5 $\alpha$ -reductasa (enzima ligada a la membrana nuclear), convierte la testosterona en DHT, que es el andrógeno prostático principal. Los andrógenos y los factores de crecimiento celular no son los únicos responsables de la HBP, ya que todas las próstatas de los mamíferos contienen DHT y receptores androgénicos, pero únicamente el perro y el



hombre desarrollan HBP. La fisiopatología es compleja, la hiperplasia determina un aumento de la resistencia uretral que conduce a alteraciones compensadoras de la función vesical. La disfunción del detrusor inducida por la obstrucción, junto con las alteraciones de la función del sistema nervioso y la vejiga relacionadas con el envejecimiento, determinan la instalación de polaquiuria, sensación de micción inminente y nocturia, es decir los síntomas más preocupantes del tracto urinario inferior.

Más allá de las proporciones entre células epiteliales y el estroma, es indudable que el músculo liso prostático explica gran parte del volumen glandular, las fuerzas activas como las pasivas desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la HBP, la estimulación del sistema nervioso adrenérgico sin duda determina un incremento dinámico de la resistencia de la uretra prostática. La inhibición de esta estimulación mediante la administración de agentes bloqueantes de los receptores alfa atenúa de modo significativo esta respuesta. El tono activo del músculo liso en la próstata del ser humano está regulado por el sistema nervioso adrenérgico; en los ensayos para evaluar la fijación a receptores se

demonstró con claridad que el subtipo alfa1A es el subtipo de receptores suprarrenales predominantes en la próstata del ser humano, además éstos receptores median la tensión activa del músculo liso prostático humano.

Las evidencias disponibles en la actualidad sugieren que la respuesta vesical a la obstrucción es en esencia de adaptación y son de dos tipos:

1) las que conducen a la inestabilidad del detrusor o disminución de la distensibilidad vesical y se asocian clínicamente con polaquiuria y urgencia miccional y 2) las asociadas con una reducción de la contractilidad del detrusor que se asocian clínicamente con la sintomatología de vaciado.

La próstata es estimulada en su crecimiento, mantenimiento y función secretora por la presencia continua de ciertas hormonas y factores de crecimiento. El principal entre ellos es la testosterona, secretada casi en exclusividad por las células de Leydig del testículo, y que dentro de la próstata se convierte en el andrógeno más activo la dihidrotestosterona (DHT). Existen múltiples niveles de regulación del crecimiento prostático: factores endocrinos (hormonas esteroides, testosterona, prolactina,

gonadotropinas), señales neuroendocrinas (por estimulación neural como la serotonina y acetilcolina), factores paracrinicos (factores de crecimiento tisular, factores de crecimiento fibroblástico y epidérmico), factores autocrinos (que son factores producidos por una célula y que actúan sobre la membrana de dicha célula como el factor de motilidad autocrina), factores intracrinicos (similares a los autocrinos), factores de matriz extracelular (establecen el contacto directo a través de integrinas y moléculas de adhesión de membrana basal como los glucosaminoglucanos y el heparansulfato) e interacciones entre las células epiteliales o del estroma (como las moléculas de adhesión celular como la E-cadherina).

**FISIOPATOLOGIA DE LA DISFUNCIÓN MICCIONAL:** Las vías urinarias inferiores actúan como un grupo de estructuras interrelacionadas cuya función conjunta consiste en lograr un llenado vesical eficiente y a baja presión, el almacenamiento de la orina, una continencia perfecta y la eliminación periódica, completa y voluntaria de la orina también a baja presión.

El ciclo de la micción implica dos procesos relativamente distintos, el llenado y almacenamiento de la orina y el vaciado de la vejiga o micción.

**PAPEL DEL OXIDO NITRICO (NO):** el oxido nítrico ha sido identificado como un transmisor inhibitor importante que media la relajación del músculo liso uretral durante la micción. En la rata, el NO es liberado por los nervios posganglionares que se originan en neuronas de los ganglios pelvianos mayores, estas neuronas tienen oxido nítrico sintetasa (NOS), la enzima que sintetiza el NO así como una nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-diaforasa como un marcador para la NOS. Estudios electrofisiológicos en ratas mostraron que la estimulación eléctrica de las raíces espinales lumbosacras produce contracción vesical y relajación uretral simultánea. La relajación uretral fue inhibida por los inhibidores de la NOS, que no alteraron las respuestas vesicales. La inhibición fue revertida por la l-arginina un precursor del NO.

El NO también participa en el control de la actividad de los nervios aferentes vesicales. Los inhibidores de la NOS, no afectan la micción normal en ratas conscientes o anestesiadas. Sin embargo, la hiperactividad del detrusor que acompaña la irritación con esencia de

trementina o ácido acético mejora con la aplicación espinal de inhibidores de la NOS. Se cree que el NO participa en la mediación de los efectos dependientes de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) pero no en los que involucran receptores de neurocinina 2. Otro estudio indica que la aplicación intravesical de NO puede suprimir la hiperactividad de detrusor debida a irritación vesical inducida por ciclofosfamida en ratas. Se sugiere que estos efectos son por la supresión de la actividad aferente vesical.

La relajación del músculo liso mediada por NO se debe a un aumento de la producción de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) intracelular. Los segundos mensajeros cAMP y cGMP son sintetizados a partir de los trifosfatos de nucleósidos correspondientes por sus adenilato o guanilato ciclasa ligadas a la membrana o solubles respectivas. cAMP y cGMP son inactivados por PDE mediante una separación hidrolítica del enlace 3' ribosa fosfato. Por lo tanto, el nivel de segundos mensajeros intracelulares puede estar arreglado por las isoenzimas de PDE.

Las PDE se han convertido en un sitio diana atractivo para el desarrollo de fármacos. Hasta ahora, se han definido 7 familias de PDE, 16 genes y

33 proteínas enzimáticas individuales. Se han comunicado estudios que las PDE 1 a 5 existen en el músculo liso detrusor humano.

### I.2.2: FISIOPATOLOGIA DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL:

RECUERDO HISTORICO DE LA DISFUNCION ERECTIL: la Humanidad a lo largo de su historia ha dado gran importancia a los atributos masculinos ocupando un lugar de primera línea en la cultura y religión de diversos pueblos, el culto al falo se relacionaba con la fertilidad y la reproducción, se han hallado diversos menhires fálicos en excavaciones arqueológicas con diversos significados según autores.

En el antiguo Egipto se veneraba al dios Bes, un dios enano con un pene colgante de extraordinarias dimensiones, unas veces protector de la vida conyugal y familiar, y otras veces encargado de los placeres libertinos. Su culto pasó a los fenicios y a cartagineses que fundaron un asentamiento comercial en la isla de Bes, que sería la que después los romanos la llamaron Ebusus (Ibiza).

El dios Priapo, un dios menor procedente de Anatolia, que posteriormente pasó al panteón griego y luego al romano, era protector de huertos y jardines y de la vida agropecuaria en general. Se le representaba vestido de modo rústico y campestre en ocasiones con gorro frigio y con un gran pene en erección, en Roma su culto derivó en lo más licencioso, se diferencia del dios Bes en la erección de su falo y estaría más próximo a Min un dios egipcio de la fuerza generativa de la naturaleza, también fálico. De Priapo deriva el término médico priapismo o erección sostenida y dolorosa.

La primera descripción de disfunción eréctil data del año 2000 a. C. y se encuentra en un papiro egipcio, se describían dos tipos la natural y la sobrenatural (por maleficios y hechizos nocivos). Más adelante, Hipócrates informa casos de impotencia masculina entre los habitantes ricos de Escitia y los considera resultado de las largas cabalgatas. Aristóteles afirmó que habían tres ramos nerviosos que transportaban energía y espíritu al pene y que la erección era por entrada de aire, esta teoría se aceptó hasta que Leonardo da Vinci observó gran cantidad de sangre en los penes de hombres ahorcados. Ambroise Paré explicó la

anatomía peneana. En el siglo XIX se creía que el factor principal era la oclusión venosa, posteriormente se señaló la importancia del aumento del flujo sanguíneo.

Gran parte de los conocimientos actuales sobre la erección se obtuvieron en la década de los 80-90 del siglo XX, donde además de la función del músculo liso en la regulación del flujo arterial y el venoso, se definió la estructura de la albugínea y su papel en la oclusión venosa. Un aspecto importante en la comprensión de las influencias nerviosas fue la identificación del óxido nítrico (NO) como el neurotransmisor principal en la erección y de la fosfodiesterasa en la detumescencia. También se descubrió la función del endotelio en la regulación del músculo liso y las comunicaciones intercelulares por medio de uniones en hendidura, así como, el papel de los canales iónicos.

**MECANISMO DE LA ERECCIÓN Y LA DETUMESCENCIA:** El tejido eréctil del pene, el músculo liso de los cuerpos cavernosos y de las paredes arteriolares, cumple un papel fundamental. Durante la flaccidez



presentan una contracción tónica que permite un flujo escaso para permitir la nutrición.

La estimulación sexual desencadena la liberación de neurotransmisores en las terminaciones de los nervios cavernosos, promoviendo la relajación de los músculos lisos, dilatación de las arteriolas por aumento del flujo sanguíneo, captura de la sangre que ingresa en los sinusoides, compresión de los plexos venosos que transcurren debajo entre túnica albugínea y los sinusoides periféricos, estiramiento de la albugínea hasta su capacidad máxima, lo cual ocluye las venas emisarias disminuyendo el flujo venoso, aumento de la PO<sub>2</sub> y de la presión intracavernosa y aumento adicional de la presión con contracción de los músculos isquiocavernosos hasta la erección completa.

La detumescencia tiene varias fases, primero un aumento transitorio de la presión intracorpórea que indica el comienzo de la contracción del músculo liso contra un sistema venoso cerrado, posteriormente un descenso lento de la presión que supone una reapertura lenta de los conductos venosos con recuperación del nivel basal del flujo arterial y por último un descenso rápido de la presión con una restitución completa

del flujo venoso. En el glande y cuerpo cavernoso durante la erección la presión es una tercera parte que en los cuerpos esponjosos.

#### NEUROFISIOLOGIA DE LA ERECCION:

**VIAS PERIFERICAS:** La inervación del pene es tanto autónoma (simpática y parasimpática) como somática (sensitiva y motora). La vía simpática se origina entre T11 y L2, algunas fibras transcurren a través de los nervios espláncnicos lumbares hacia los nervios hipogástricos y el plexo pelviano, los ganglios de los nervios suelen ser el sacro y el caudal. Las fibras parasimpáticas se originan en neuronas de las columnas intermediolaterales de S2, S3 y S4, las fibras preganglionares dentro de los nervios pelvianos donde se unen a las fibras simpáticas del plexo hipogástrico superior, formando los nervios cavernosos que inervan el pene y se lesionan fácilmente durante diversos actos quirúrgicos. La vía parasimpática sacra se ocupa de la erección y la simpática toracolumbar de la detumescencia.

Las vías somatosensitivas se originan en la piel del pene, el glande, uretra y dentro de los cuerpos cavernosos, las distintas fibras convergen

formando el nervio dorsal del pene, y éste a su vez se une a otros nervios formando el nervio pudendo que entra en la médula a través de S2-S4. El nervio dorsal del pene presenta fibras nerviosas positivas para óxido nítrico sintetasa (NOS) de origen autónomo que permite regular tanto la erección como la eyaculación. El núcleo de Onuf S2-S4 es el centro de la inervación vasomotora del pene, que van con los nervios sacros hasta el pudendo para inervar los músculos isquio y bulbocavernosos. La contracción de los isquiocavernosos permite la erección rígida, y los bulbocavernosos son necesarios para la eyaculación.

**VIAS Y CENTROS SUPRAESPINALES:** en estudios animales se han identificado el área preóptica medial y núcleo paraventricular del hipotálamo y el hipocampo como centros de integración importantes para la función sexual y la erección peniana. En el hombre existen diversos centros encefálicos encargados de la función sexual. Prosencéfalo (amígdala medial, hipocampo, ínsula derecha y corteza frontal, corteza cingulada anterior izquierda), hipotálamo (área preóptica y núcleo paraventricular), tronco encefálico (núcleo paragigantocelular,

células catecolaminérgicas A5 del locus ceruleus) mesencéfalo (la sustancia gris periacueductal).

NEUROTRANSMISORES: La noradrenalina parece ser el neurotransmisor principal que controla la flacidez y la detumescencia, el número de receptores alfa-adrenérgicos es 10 veces mayor que el de beta-adrenérgicos y se acepta que la contracción simpática depende de receptores alfa1a y alfa1d-adrenérgicos y es modulada por receptores alfa2 presinápticos. La endotelina potencia los efectos vasoconstrictores de las catecolaminas durante la detumescencia. El tejido cavernoso sintetiza prostaglandinas y tromboxanos, y se liberan simultáneamente con el NO, atenuando el efecto dilatador del NO. La angiotensina II también parece facilitar la detumescencia peniana. La detumescencia después de la erección podría ser el resultado del cese de liberación de NO, la degradación del monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) por fosfodiesterasas o la descarga simpática durante la eyaculación.

La mayoría de las investigaciones actuales concuerda con que el NO liberado por la neurotransmisión no adrenérgica y no colinérgica y del endotelio es el neurotransmisor principal que media la erección peniana

aumentando la producción de cGMP, que a su vez relaja el músculo liso cavernoso. El NO producido por la NOS neuronal iniciaría la erección y el NO producido por la NOS endotelial contribuiría al mantenimiento de la erección.

Existen también diversos neurotransmisores centrales (dopamina, noradrenalina, oxitocina, prolactina, 5-hidroxitriptamina), que se han vinculado con la función sexual. El óxido nítrico NO se produce fundamentalmente en el endotelio y en las neuronas su función a nivel central sería mediar la erección del pene en el núcleo paraventricular y en otros niveles que mantiene la respuesta sexual. La testosterona y la dihidrotestosterona regulan la actividad de la NOS, la manipulación de las concentraciones de NO o de cGMP alteró la respuesta de la presión intracavernosa desencadenada por el área preóptica medial a través de mecanismos nerviosos centrales y no periféricos.

OXIDO NITRICO Y MUSCULO LISO: el receptor más importante para el NO es la guanilato ciclasa y la vía NO-cGMP que es responsable del efecto vasorrelajador de muchos vasodilatadores dependientes del endotelio, esta vía es también uno de los responsables fundamentales de

la erección. La NOS sintetiza NO y existen tres isoformas y se identificaron en el cuerpo cavernoso, parece ser que la isoforma neuronal y la endotelial intervendrían en el inicio y el mantenimiento de la erección.

La guanilato ciclasa (sGC) tiene un papel central en la función eréctil porque establece una conexión entre NO y cGMP que representan las moléculas de señalización extracelular e intracelular en la erección fisiológica. La señal mediada por cAMP y cGMP en cada episodio sube de dos a tres veces su valor basal, y su descenso se produce con rapidez mediado por la presencia de fosfodiesterasas que es una familia de 11 fosfodiesterasas. La fosfodiesterasa 5 (PDE5) es la más importante para el cese de señal de cGMP en el cuerpo cavernoso.

El oxígeno molecular también es un modulador de la erección, durante el estado flácido, el nivel de PO<sub>2</sub> en el cuerpo cavernoso es similar al de la sangre venosa, durante la erección se aumenta la PO<sub>2</sub> hasta alrededor de 90 mmHg, el oxígeno es sustrato junto con la l-arginina, para la síntesis de NO, asimismo se demostró que también interviene en la

síntesis de prostaglandinas y de endotelina, ambas relacionadas con la erección.

#### FISIOPATOLOGIA DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL:

Existen múltiples clasificaciones de la disfunción eréctil.

**PSICOGENA:** la conducta sexual y la erección peneana está sujeta al control del hipotálamo, el sistema límbico y la corteza cerebral, la disfunción psicógena podría estar en relación con una inhibición directa del centro de erección medular por el cerebro o una descarga simpática excesiva o aumento de las catecolaminas que impediría la relajación del músculo liso del pene.

**NEUROGENA:** el área preóptica medial, el núcleo paraventricular y el hipocampo se consideran centros para la excitación y la erección, los procesos patológicos de estas regiones suelen asociar disfunción eréctil.

En pacientes con lesión de la médula espinal, la función eréctil depende de su localización y su extensión. La erección refleja se conserva en el 95% de las lesiones medulares altas, pero sólo en el 25% de los pacientes con lesiones completas bajas.

ENDOCRINOLÓGICA: el hipogonadismo no es infrecuente en la población de pacientes con disfunción eréctil. La testosterona aumenta el interés sexual, la frecuencia de las relaciones sexuales y la frecuencia de las erecciones nocturnas, aunque tiene escaso efecto sobre las erecciones inducidas por estímulos visuales o fantasías. La hiperprolactinemia produce disfunciones reproductivas y sexuales como pérdida de la libido y disfunción eréctil, y se asocia a concentraciones bajas de testosterona por inhibición de la hormona liberadora de gonadotropinas.

La diabetes mellitus que es el trastorno endocrinológico más frecuente, causa disfunción eréctil a través de sus complicaciones vasculares, neurológicas, endoteliales y psicógenas más que por una deficiencia hormonal propiamente dicha.

ARTERIAL: La enfermedad oclusiva o traumática del árbol arterial hipogástrico-cavernoso-helicino puede disminuir la presión de perfusión y el flujo a los espacios sinusoidales lo cual disminuye la rigidez, los factores asociados son la hipertensión, la hiperlipidemia, el tabaquismo, la diabetes, los traumatismos, la irradiación pélvica. Se producen tanto cambios estructurales (aumento de las resistencias periféricas y



disminución de la luz arteriolar, así como, una alteración endotelial mediado por la síntesis de prostaglandinas), vasoconstricción (aumento de la constricción de los vasos penianos) y una alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio.

**CAVERNOSA (VENOSA):** La disfunción venooclusiva se puede deber a varios factores fisiopatológicos, cambios degenerativos en la túnica, alteraciones de la estructura fibroelástica, relajación insuficiente del músculo liso trabecular y cortocircuitos venosos. La alteración de la túnica albugínea del pene puede alterar la compresión de las venas que transcurren por debajo de la túnica y de las venas emisarias, la relajación insuficiente del músculo liso trabecular causa una expansión inadecuada de los sinusoides y una compresión insuficiente de las vénulas que transcurren debajo de la túnica

**DISFUNCIÓN ERÉCTIL INDUCIDA POR FARMACOS:** La disfunción eréctil es frecuente en personas mayores y puede coexistir con otras enfermedades que a su vez constituyen factores de riesgo para la propia disfunción eréctil como la depresión, la diabetes, enfermedad cardiovascular, etc., muchos de los fármacos usados para estas

afecciones pueden producir disfunción eréctil. Antihipertensivos (tanto diuréticos tiacídicos como los bloqueadores beta-adrenérgicos pueden producir disfunción eréctil, los bloqueadores alfa-adrenérgicos, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los bloqueadores de los canales de calcio, no parecen tener efectos secundarios sobre la función eréctil). Fármacos psicotrópicos (actúan sobre receptores del SNC y en receptores periféricos, pero el efecto sobre la disfunción eréctil parece más probable por la enfermedad subyacente que por el propio fármaco administrado). Fármacos antiandrógenos, que proveocan un bloqueo parcial o casi total de la acción de los andrógenos, los inhibidores de la 5 alfa-reductasa son los que menos efectos tendrían sobre la testosterona circulante y por lo tanto sobre la función eréctil.

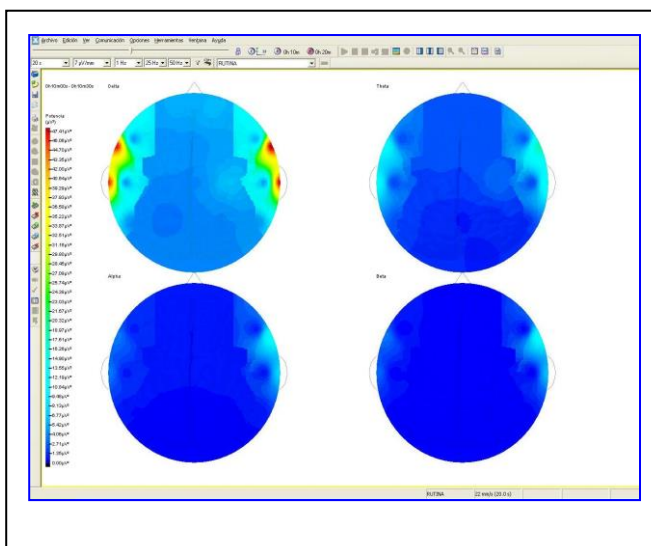
### I.3: TÉCNICAS ESPECIALES DE VALORACIÓN COGNITIVA:

Dentro del grupo de técnicas especiales, vamos a describir las más utilizadas en valoración cognitiva, nos centraremos en la cartografía

cerebral, el potencial P50, la onda P300 y el potencial de disparidad (MMN)

### I.3.1: CARTOGRAFIA CEREBRAL:

La cartografía cerebral (CGC), es una técnica de neuroimagen funcional que permite profundizar en la fisiopatología del sistema nervioso central (SNC). Su fundamento



teórico es el registro de la actividad eléctrica generada por las estructuras cerebrales, que muestra distintas características según su situación funcional.

La cartografía cerebral aporta datos que no es posible obtener con otras técnicas de neuroimagen, al tiempo que presenta restricciones que exigen la búsqueda de más información por otras vías.

Entre las restricciones de la cartografía cerebral encontramos, sin duda, su baja resolución espacial y la limitación al plan biaxial de superficie de los datos obtenidos, lo que condiciona la información que aporta y la incapacita para la valoración de determinados trastornos.

Sin embargo, entre sus se encuentra su altísima resolución temporal (los datos se obtienen en tiempo cuasi-real) y las características de la información que aporta, tanto por su naturaleza, que es reflejo directo de la actividad neuronal, como por el modo de obtenerla, que es absolutamente cuantitativo en sus valores.

## **BASES NEUROFISIOLÓGICAS**

El substrato biológico sobre el que se construyen los mapas que caracterizan a la cartografía cerebral es la actividad eléctrica generada por las neuronas.

Los cambios temporo-espaciales de estos campos eléctricos, recogidos en la superficie craneal, constituyen el registro electroencefalográfico (EEG) y éste es, a su vez, el substrato técnico de la cartografía cerebral.

Los cambios en las concentraciones de iones, a través de la membrana citoplasmática de la neurona, son los responsables de los potenciales postsinápticos. Además, las células gliales juegan un papel de amplificación en la génesis de los potenciales de campo.

La actividad EEG representa, pues, la suma algebraica, espacial y a lo largo del tiempo, de corrientes locales asociadas a los potenciales postsinápticos de excitación e inhibición (despolarización e hiperpolarización) de una gran población de neuronas, especialmente de las neuronas piramidales. Al mismo tiempo, esta actividad cortical está notablemente influida por la actividad de las neuronas subcorticales. De este modo, la actividad EEG sería el resultado de la interacción de neuronas corticales moduladas por la actividad de neuronas de estructuras profundas.

Por otra parte, se sabe que la actividad EEG presenta una gran variabilidad según las situaciones y estados en los que se encuentre el

sujeto (reposo, alerta, sueño, etc.) y notables diferencias a lo largo de la trayectoria vital de cada individuo. Igualmente, existen factores externos e internos que pueden modificar la electrogénesis cerebral.

La actividad bioeléctrica cerebral clásicamente se ha diferenciado en ritmos específicos, caracterizados principalmente por su frecuencia que ya se ha tratado en el capítulo de la electroencefalografía.

En la línea de encontrar, en la actividad bioeléctrica registrada, una significación funcional más precisa, se ha postulado el modelo teórico de dipolos que está orientado a tratar de conocer la distribución de los potenciales en la superficie cerebral y, de este modo, localizar la fuente-origen de estos potenciales.

Sin embargo, este modelo es aún imperfecto y requiere estudios más profundos.

En un plano distinto, partiendo de la teoría del caos, se ha intentado aplicar las leyes de la dinámica no lineal para explicar la irregularidad de las oscilaciones recogidas en el EEG. De este modo, se subraya la idea que toda la actividad EEG es susceptible de ser analizada, interpretada y

explicada. Sin embargo, hasta la fecha los resultados son parciales y controvertidos.

De lo anterior, surge el interés por cuantificar y estudiar dinámicamente la actividad bioeléctrica cerebral. En esta línea, la cartografía cerebral es la técnica que permite realizar este tipo de estudio sobre la electrogénesis cerebral, que se escapa de las posibilidades del EEG, aportando un conocimiento más preciso del comportamiento bioeléctrico cerebral.

## **METODOLOGÍA**

Desde los primeros registros de la actividad eléctrica cerebral en humanos, efectuados por Berger en 1929, se ha intentado obtener más información de la que a simple vista se puede conseguir con la observación del trazado. Las diferentes ondas que constituyen el registro EEG son una manifestación de la actividad cerebral, de sus características y de sus cambios. Sin embargo, la valoración exclusivamente visual del registro limita gran parte de las posibilidades

de información que aporta el EEG acerca del estado funcional del sistema nervioso central.

Con el apoyo de diferentes instrumentos matemáticos que permiten un análisis más fino de las señales eléctricas, diversos autores intentaron profundizar en el significado biofísico de las ondas registrables en la superficie craneal. Así, en 1932, Dietsch fue uno de los primeros en aplicar el análisis de Fourier al EEG, lo cual representó un paso importante en el estudio de la actividad bioeléctrica cerebral.

En la actualidad, los sistemas de adquisición de las señales EEG, de la mayor parte de los equipos de cartografía cerebral, poseen conversores analógico-digitales adecuados que realizan muestreos óptimos, los cuales aseguran una buena adquisición y evitan la parasitación del espectro final. Por otra parte, la posibilidad de almacenar la actividad bioeléctrica cerebral en sistemas de almacenamientos físicos o en red, permite una mayor fiabilidad y estabilidad de las señales obtenidas.

Sin embargo, la parte más importante, desde el punto de vista de utilización de la cartografía cerebral, es el procesamiento y manejo de la información adquirida. Es decir, poder determinar las características de



la actividad recogida en cada electrodo y verificar si se encuentra dentro de los límites normales para cada paciente y situación. Así, una vez digitalizada, la señal bioeléctrica debe procesarse matemáticamente para evaluar distintos parámetros de interés en la metodología de la cartografía cerebral. En este sentido, los parámetros básicos que deben estudiarse son la potencia absoluta y relativa de las diferentes bandas de frecuencia, la coherencia interhemisférica y la asimetría interhemisférica. Igualmente, en los diferentes canales es necesario poder disponer de espectros de frecuencia de épocas de registro, aisladas y acumuladas.

A la hora de abordar la cartografía cerebral hay que tener en cuenta que:

- La potencia absoluta es un índice de la cantidad de energía existente en una banda de frecuencia determinada y en un punto concreto de la superficie craneal.
- La potencia relativa indica el porcentaje de actividad de una banda de frecuencia y su distribución topográfica.

- La coherencia interhemisférica señala el grado de sincronismo entre ambos hemisferios cerebrales, mientras que la asimetría interhemisférica se refiere a la diferencia de energía entre ambos.
- Los espectros de frecuencia ponen de manifiesto la distribución de la potencia a lo largo de la dimensión frecuencia.

Cada uno de estos parámetros describe aspectos independientes de la actividad bioeléctrica cerebral y son sensibles a los cambios psicofísicos del sujeto y a la presencia de diferentes enfermedades.

Junto a estos parámetros, considerados básicos en cualquier exploración de cartografía cerebral, resulta muy interesante poder disponer de otros adicionales, como son la potencia absoluta total en cada punto de registro, la asimetría y coherencia interhemisférica, la frecuencia media global y en cada banda, la combinación y relación entre diferentes parámetros, los estudios de grupos de ondas aisladas y la posibilidad de obtener datos desde registros bipolares. Evidentemente, cada uno de estos parámetros aporta información, más o menos específica, de las características de la actividad neuronal registrada, la cual posee –como

se comentó con anterioridad– una determinada significación fisiopatológica.

Sin embargo, para la práctica clínica habitual, el manejo de toda esta información, que en algunos equipos puede ser muy abundante, exige poder realizar estudios de comparación individuales y con grupos control para ayudar a definir los valores normales de cada parámetro estudiado.

Sin la posibilidad de efectuar estudios estadísticos comparativos, la mayoría de los datos obtenidos, mediante el análisis de los diferentes parámetros comentados, serían de imposible manejo y difícil significación. Por tanto, después de obtener la máxima información posible sobre las características de la actividad bioeléctrica cerebral, estos datos deben compararse estadísticamente (con métodos paramétricos y no paramétricos, y controlando la variable edad) a fin de construir mapas de significación o de probabilidad con cada uno de los parámetros estudiados, que señalen las desviaciones estándar y su significación estadística entre un individuo y un grupo, entre dos grupos o entre un individuo consigo mismo.

No obstante, como en la mayoría de las pruebas funcionales, estos resultados casi nunca serán diagnósticos, aunque sí de gran valor en el diagnóstico.

La combinación de los diferentes datos cuantitativos de la actividad bioeléctrica cerebral con las distintas herramientas estadísticas, con medidas mono y multivariantes, constituye el denominado análisis neurométrico. Este análisis calcula las diferencias entre los valores de los parámetros estudiados en cada sujeto y el promedio de los valores teóricos, adecuados a la edad, que se extraen por el desarrollo de ecuaciones específicas.

De ahí se obtienen las puntuaciones Z que definen la probabilidad de que un valor observado se encuentre dentro de la normalidad, teniendo en cuenta la dispersión de la población normal y las diferencias en función de la edad. Por todo ello, la metodología de las exploraciones con cartografía cerebral exige la creación de grupos control de diferentes edades, de sujetos sanos y con distintas patologías.

Igualmente, con la aplicación de herramientas estadísticas, se pueden cuantificar los cambios de la electrogénesis cerebral en diferentes

momentos, en distintas situaciones psicofísicas y ante la presencia de determinadas sustancias neuropsicotropas.

Por último, sobre los datos obtenidos en el análisis neurométrico, la realización de un análisis multivarianza permite también efectuar estudios de discriminantes, que tienen como objeto escoger un subconjunto de variables bioeléctricas que permitan una asignación óptima de los sujetos a un grupo determinado, definido por variables externas. De este modo, se señala el grado de semejanza estadística con un grupo concreto y se identifican los parámetros más relevantes en la conclusión de ese estudio. Sin embargo, los resultados de este tipo de estudio estadístico deben interpretarse con precaución por la frecuencia de falsos positivos que pueden obtenerse.

## **APLICACIONES CLÍNICAS**

Esta técnica realiza los estudios funcionales en tiempo real –con resolución de submilisegundo– y sin limitación temporal.

En este sentido, la cartografía cerebral es una técnica de neuroimagen cerebral dinámica que permite valoraciones funcionales de lesiones

cerebrales y de zonas no lesionadas con funcionalismo anómalo. Asimismo, se pueden estudiar los cambios de la actividad cerebral en diferentes situaciones psicofísicas o ante distintos estímulos y tareas cognitivas. Del mismo modo, la cartografía cerebral permite conocer los estados funcionales del sueño y evaluar los efectos de fármacos sobre el SNC. Así pues, se trata de una técnica de valoración funcional que aporta información sobre la actividad bioeléctrica cerebral y, en este sentido, puede orientar sobre la etiopatogenia de determinadas disfunciones del SNC, aunque no sea estrictamente una técnica diagnóstica.

Es decir, la cartografía cerebral puede poner de manifiesto cambios funcionales sobre el patrón normal y valorar la evolución de los mismos a lo largo del tiempo, datos de interés tanto en el diagnóstico como en el tratamiento y el pronóstico de diferentes enfermedades.

Teniendo en cuenta todo lo dicho, la cartografía cerebral se muestra como una técnica útil y válida en un número cada vez mayor de situaciones.

### ***Valoración neuromadurativa***

Existen diferentes paradigmas de estudio de los cambios bioeléctricos durante el proceso de maduración cerebral. La correlación entre la edad cronológica y los parámetros bioeléctricos es un índice del proceso neuromadurativo. En esta línea, resulta útil la descripción de los parámetros básicos, en cada banda de frecuencia, mediante el empleo de ecuaciones de regresión con la edad como variable independiente. Con el análisis neurométrico, efectuado con la cartografía cerebral, es posible realizar una valoración de los ritmos básicos cerebrales y de su organización y distribución topográfica, durante los períodos de maduración y desarrollo.

Aun cuando no parecen existir patrones específicos de los diferentes trastornos neuromadurativos, sí es posible detectar algunas características bioeléctricas asociadas a estos problemas. Así, por ejemplo, en los niños con déficit de atención, el análisis neurométrico señala la existencia de dos perfiles bioeléctricos diferentes, preferentemente en relación con la potencia lenta frontal y su coherencia.

De este modo, se puede conocer mejor el estado funcional del sistema

nervioso de estos pacientes y disponer de datos cuantificados comparables que muestren su evolución.

Dentro de este apartado se podría incluir el grupo de los trastornos generalizados del desarrollo y los diferentes problemas de aprendizaje que se presentan en la infancia, y en los que la cartografía cerebral aporta información interesante para su evaluación y seguimiento.

### ***Trastornos del nivel de conciencia***

Entre otros parámetros, la cuantificación y distribución de la actividad alfa y de los ritmos lentos, y su grado de organización, así como los cambios cuantificables a lo largo del tiempo de estos parámetros, son datos prácticos en la valoración funcional de estos problemas. De igual modo, la cuantificación de la reactividad de los ritmos cerebrales ante diferentes estímulos es una información de gran valor sobre la situación funcional del sistema nervioso en los trastornos del nivel de conciencia.



### ***Muerte cerebral***

Hoy en día no es una técnica de elección en el diagnóstico de muerte cerebral, pero dentro de los protocolos actuales para el diagnóstico de muerte cerebral, la introducción de técnicas de cuantificación de la actividad bioeléctrica puede permitir una mejor objetivación del problema y, de este modo, una toma de decisiones más fundamentada.

### ***Epilepsia***

En el diagnóstico y el control evolutivo de los diferentes tipos de epilepsias, el estudio EEG es, hoy por hoy, el único e imprescindible método disponible; de ahí que la cartografía cerebral tenga una particular indicación.

La cartografía cerebral se utiliza tanto para la evaluación de la actividad paroxística como para el estudio de la actividad de fondo. En este sentido, los mapas de distribución topográfica de los elementos paroxísticos, su comportamiento en el tiempo y en el espacio, y la cuantificación de sus características biofísicas (potencia absoluta, valores del área bajo la curva de cada elemento paroxístico, correlación con otros

grafoelementos, etc.) permiten conocer mejor el trastorno funcional y valorar objetivamente su evolución a lo largo del tiempo y bajo tratamiento específico .

Por otro lado, la cuantificación de la actividad de fondo y de sus cambios bajo el tratamiento farmacológico es una información útil, que tiene un especial interés ante la aparición de algunos efectos secundarios de la medicación.

### ***Patología vascular***

Esta técnica aporta información interesante sobre el estado funcional del SNC tras el accidente vascular y, lo que puede ser más significativo, sobre la evolución funcional de las lesiones, aunque existen otras técnicas de neuroimagen de mayor resolución.

En pacientes con ACV isquémicos, el análisis neurométrico es capaz de detectar anomalías en el 84% de los EEG informados visualmente como normales y en el 94% del total de estos pacientes. Se ha demostrado una elevada correlación ( $r > 0,7$ ) entre los datos aportados por la cartografía

cerebral y los estudio de flujo sanguíneo en áreas isquémicas y no isquémicas.

Dentro de los cuadros vasculares isquémicos, la cartografía cerebral tiene un lugar destacado en los accidentes isquémicos transitorios (AIT) donde, en ausencia de alteraciones estructurales, es posible demostrar cambios sutiles en algunos de los parámetros básicos estudiados con esta técnica.

En este tipo de enfermedad es muy conveniente realizar un estudio de cartografía cerebral en el período agudo y controles posteriores en las siguientes 72 horas.

Por otra parte, la monitorización con EEG cuantificado en la cirugía carotídea se ha demostrado útil para asegurar un menor grado de morbilidad en estas intervenciones. De igual modo, es aplicable esta metodología en las técnicas de embolización y en los abordajes quirúrgicos de malformaciones vasculares y aneurismas.

### ***Traumatismos craneales***

La cartografía cerebral es una técnica complementaria que informa sobre el estado funcional del cerebro tras un traumatismo y señala su

evolución. Los cambios en el espectro de potencia y las correlaciones entre distintos puntos de registro se asocian con la intensidad de la afección funcional.

### ***Cefaleas***

El diagnóstico de las cefaleas es fundamentalmente clínico y las pruebas complementarias están justificadas sólo ante las dudas diagnósticas. Sin embargo, algunos tipos de cefaleas o algunas manifestaciones individuales de una cefalea– pueden hacer conveniente un estudio funcional tanto para el diagnóstico diferencial con cuadros ictales, como para la objetivación de la situación funcional.

### ***Procesos degenerativos***

En estos procesos, el tipo de actividad cerebral, su grado de organización y la presencia de actividad lesiva son algunos parámetros objetivables con la cartografía cerebral y que presentan una cierta relación con la clínica; además, son claros indicadores de la evolución.

Se han asociado algunos cambios neurométricos en la banda delta, en la región temporal, con indicadores de deterioro en la actividad diaria. También, se ha encontrado una estrecha correlación entre parámetros obtenidos con SPECT y la cartografía cerebral, especialmente entre la disminución del flujo temporoparietal y el enlentecimiento de la actividad bioeléctrica en esta región. Del mismo modo, se ha objetivado una correlación positiva entre datos medidos con la cartografía cerebral (disminución de los ritmos dominantes e incremento de la actividad lenta) y el descenso del metabolismo cortical valorado con PET.

En la demencia multiinfarto es frecuente encontrar un patrón neurométrico en la cartografía cerebral caracterizado por aumento de la potencia central en las cuatro bandas de frecuencia, asimetría delta anterior, asimetría posterior global, aumento de la potencia delta y theta y coherencia normal.

Por otra parte, la cartografía cerebral es también un buen instrumento en el diagnóstico diferencial con otras entidades que pueden cursar con afectación cognitiva, como son los cuadros depresivos en el anciano, y que tienen un pronóstico y tratamiento claramente distintos.

### ***Trastornos metabólicos y endocrinológicos***

La monitorización de las encefalopatías hepáticas, con registros repetidos de larga duración, donde se valoran los cambios en las bandas alfa y theta y la organización bioeléctrica global, constituyen una valiosa herramienta para el tratamiento de estos trastornos.

### ***Infecciones del SNC***

Tanto los cuadros agudos como subagudos y crónicos, y las diferentes etiologías de los procesos infecciosos cerebrales, son entidades clínicas en las que la cartografía cerebral aporta datos relevantes para objetivar la afectación funcional y valorar su evolución.

### ***Encefalopatías tóxicas***

En las enfermedades cerebrales de etiología tóxica (insecticidas, metales, alcohol, drogas de abuso, etc.), la cartografía cerebral es útil tanto como prueba complementaria de ayuda al diagnóstico, como para el seguimiento del proceso. El sincronismo interhemisférico global, los valores de potencia relativa en las bandas lentas y la relación alfa/theta

son los parámetros más útiles para valorar la neurotoxicidad y controlar su evolución.

### **Neuropsicofarmacología**

En este campo es necesario controlar de modo correcto las diferentes variables que intervienen en la biodisponibilidad central de los fármacos.

Teniendo en cuenta estas exigencias, la cartografía cerebral es lo suficientemente fina como para evaluar el efecto sobre el SNC de diferentes fármacos. Esta técnica permite medir los cambios inducidos por los fármacos sobre las frecuencias básicas y su distribución topográfica. Así, por ejemplo, el efecto vasoconstrictor central inducido por la indometacina se correlaciona muy estrechamente con una disminución de la potencia absoluta alfa y un descenso de la frecuencia media alfa.

Por otra parte, la cartografía cerebral presenta la enorme ventaja sobre otras técnicas de exploración funcional de poder obtener datos en tiempo real y sin limitaciones temporales.

### I.3.2: P50:

#### **Características neurofisiológicas de la P50**

La P50 es un potencial evocado con respuesta de latencia media que se origina en el lóbulo temporal medio, en el hipocampo y cerca de éste. Se denomina P50 por ser de polaridad positiva y por aparecer en el registro electroencefalográfico 50 mseg después de que se presenta el estímulo auditivo. Mediante estudios realizados con magnetoencefalografía, se ha propuesto que las células piramidales situadas en el giro temporal son la fuente más probable de la P50 en el registro electroencefalográfico. La onda principal para la obtención de la P50 corresponde al electrodo CZ situado en el vértex de acuerdo con el sistema internacional 10-20. En este paradigma se presentan ensayos con dos estímulos auditivos con sonido de clic.: el primero es condicionante (E1) y el segundo, de prueba (E2), los cuales generan la onda P50. Cada par de estímulos constituye un ensayo. Se pueden elegir parámetros variables de duración e intensidad del estímulo, intervalo interestímulo e intervalo interensayo. En la respuesta normal, E2 debe tener menor amplitud que E1; en la anormal no se observa tal disminución en la amplitud de E2. Los



principales parámetros empleados van de 0.04 mseg a 0.05 mseg de duración, con 70, 90 y 110 dB de intensidad, con un intervalo interestímulo entre 500 y 1000 mseg, y con intervalos interensayo de 6-11 seg. La variación en estos parámetros da como resultado una respuesta facilitada o suprimida al segundo estímulo auditivo. Algunos ejemplos los brindan los estudios en que pacientes con esquizofrenia presentan una disminución de la respuesta E2, con un intervalo interestímulo de 75 mseg no ocurre lo mismo cuando el intervalo interestímulo tiene una duración que va de 500 mseg a 1000 mseg.

Se sabe que la disminución en el tiempo del intervalo interestímulo e interensayo facilita la supresión de la respuesta a E2 en los pacientes con esquizofrenia. El filtrado sensorial que resulta de intervalos interestímulo mayores a 500 mseg puede atribuirse a cambios en la activación de aferencias no específicas, provenientes de la formación reticular y del tálamo. Se piensa que en respuesta al primer estímulo, dichas aferencias se desactivan, lo que lleva a una disminución en la respuesta del segundo estímulo; esto se conoce como fenómeno de habituación. En la respuesta normal lo anterior se observa cuando el efecto del estímulo

condicionante incide sobre neuronas que activan los mecanismos de filtrado inhibitorio que provocan una disminución de la respuesta al estímulo de prueba del mismo grupo de neuronas. En el registro electroencefalográfico, este mecanismo inhibitorio se traduce en que la onda evocada por E1 tenga una amplitud 60% mayor que la evocada por E2.

### **Selección y análisis de la P50**

La P50 es una onda con amplitud no mayor a 50  $\mu\text{V}$  ni menor a 0.5  $\mu\text{V}$ .

La P50 de E1 es la cresta más prominente que aparece entre los 25 y 90 mseg posteriores al estímulo condicionante; el valle que lo precede se utiliza para calcular la amplitud. La P50 de E2 es la cresta con la latencia más cercana a la cresta seleccionada como E1. Para el análisis, se hacen en promedio entre 30 y 180 ensayos de E1 y E2 por separado. Una vez obtenido el promedio, la supresión de la onda puede cuantificarse de varias maneras:

1. la comparación del porcentaje de disminución de la amplitud de E1 y de E2;

2. la diferencia de E1 menos E2, y
3. el porcentaje de disminución en el área de la P50 de E2 comparada con la disminución de E1.

### **Ensayos farmacológicos y P50**

No son concluyentes los estudios que documentan la eficacia de los antipsicóticos para normalizar el defecto en el filtrado sensorial. Existen reportes en que se ha observado que los pacientes con esquizofrenia que no toman antipsicóticos no presentan supresión de la respuesta a E2, o bien presentan una supresión muy pobre. En cambio, los pacientes con antipsicóticos suprimen la respuesta, toda vez que el intervalo interestímulo es menor a 500 mseg. No obstante, la corrección del déficit en el filtrado sensorial que produce la medicación antipsicótica desaparece cuando el intervalo interestímulo es mayor o igual a 500 mseg.

A pesar de la falta de consenso en torno a los efectos directos de los antipsicóticos sobre la supresión de la P50, se ha descrito que la normalización en la amplitud de la P50 en esquizofrénicos bajo tratamiento antipsicótico crónico se debe al bloqueo de la transmisión dopaminérgica.

Algunas teorías fisiopatológicas recientes indican que la dopamina, la norepinefrina, la serotonina y la adenosina (a partir de su acción sobre los receptores A2a) se relacionan con la amplitud de E1, y que las alteraciones en estos neurotransmisores originan una desregulación o hiperactividad en el sistema, lo que a su vez provoca una mayor variabilidad en la latencia de esta onda y, en consecuencia, una menor amplitud.

Otra línea de investigación trata de explicar la acción de los fármacos sobre la respuesta al potencial por medio de la actividad neuronal catecolaminérgica, la cual disminuye el filtrado sensorial. Uno de los estudios que se propuso comprobar lo anterior lo condujeron Johnson y cols., quienes sometieron a sujetos sanos a una prueba en que se les pedía sumergir una mano por dos minutos en agua helada. Al final de la prueba se obtuvieron registros de la P50 que se repitieron a los 15 y 25 minutos. De este modo se observó una disminución en el filtrado sensorial en nueve de los diez participantes. El incremento transitorio en la neurotransmisión noradrenérgica es un posible mecanismo por el cual los efectos agudos de la prueba de presión fría modifican la P50, ya que esta prueba aumenta la liberación de noradrenalina, así como sus niveles séricos.

Sobre lo anterior, Nagamoto y cols., observaron que la disminución en el filtrado sensorial se relaciona con un aumento en los niveles plasmáticos del 3 metoxi-4 hidroxifeniletlen glicol, principal metabolito de la noradrenalina.

### **Alteraciones en esquizofrénicos y sus familiares**

En un esfuerzo por identificar factores que permitan pronosticar el inicio de la esquizofrenia, se realizan diversos estudios en sujetos muy propensos a desarrollar esquizofrenia. El objetivo principal de estos estudios es identificar factores de riesgo conductuales, cognitivos y neurobiológicos de la esquizofrenia. Los endofenotipos son de particular interés para determinar una susceptibilidad genética a la esquizofrenia, y son rasgos que representan expresiones fenotípicas de genes candidatos para la enfermedad.

Se ha considerado que las alteraciones en el filtrado sensorial, evaluadas mediante la P50, pueden servir como un endofenotipo en los estudios de la esquizofrenia. Diversos estudios han reportado que aproximadamente 50% de los familiares en primer grado de los pacientes con esquizofrenia muestra alteraciones en la inhibición del segundo estímulo auditivo del paradigma

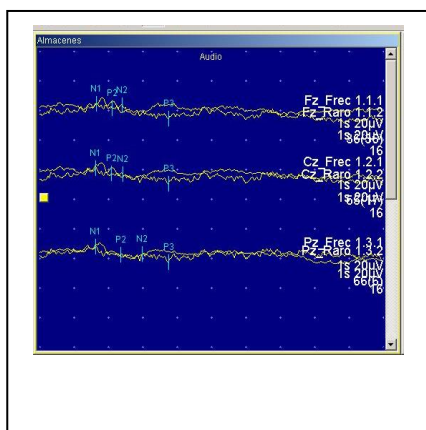
P50, lo que sugiere una transmisión dominante de este rasgo neurobiológico. Así, los miembros de la familia que presentan registros anormales de la P50 han reportado puntuaciones más altas de la subescala de esquizofrenia del Inventario Multifásico de la Personalidad de Minesota, rasgo que puede interpretarse como una tendencia importante hacia el aislamiento y la fantasía. En un estudio realizado en adolescentes con síntomas prodrómicos, reclutados de familias con varios sujetos que padecen esquizofrenia, se encontró evidencia de alteraciones en la P50 en aquellos que presentaban síntomas prodrómicos. Los resultados de este estudio sugieren una asociación entre este déficit neurobiológico y los síntomas tempranos de la enfermedad. Por otro lado, se ha observado una normalización transitoria del déficit sensorial en familiares sanos y no fumadores de esquizofrénicos, tras la dosificación de nicotina mediante goma de mascar. Estos resultados no sólo señalan la presencia de un importante elemento genético en la falla del filtrado sensorial, sino que apoyan la hipótesis de que este defecto familiar puede estar mediado por la neurotransmisión colinérgica nicotínica.

## **P50 y la subunidad alfa-7 del receptor nicotínico**

Si bien la medición neurofisiológica de la P50 brinda un camino alternativo en la búsqueda de respuestas acerca de sus causas y su fisiopatología, así como para el tratamiento de la esquizofrenia, hasta ahora no se ha demostrado la solidez de este rasgo electrofisiológico por sí mismo. De ahí la necesidad de correlacionarlo con elementos genéticos y farmacológicos que permitan su utilización como un marcador que aporte datos confiables. Así, con base en los hallazgos que involucran las alteraciones de la subunidad alfa-7 en sujetos con esquizofrenia, aunados a la relación que dicha subunidad guarda con el déficit en el filtrado auditivo, el empleo de agonistas selectivos para receptores nicotínicos alfa-7, como el DMXBA, se ha convertido en una propuesta alternativa para tratar los trastornos cognoscitivos con que cursa la esquizofrenia. La información con que se cuenta actualmente permite utilizar la P50 como un elemento de ayuda en la detección temprana de la esquizofrenia entre los familiares de pacientes esquizofrénicos, que constituyen una población de riesgo por la carga genética, e incluso entre aquellos que presenten síntomas prodrómicos.

Los avances en esta línea de investigación quizá permitan justificar en un futuro las ventajas que ofrece el estudio del filtrado sensorial con la P50, por su relativo bajo costo y por su no invasividad, en el diagnóstico de la esquizofrenia. Para lograrlo, es de gran importancia continuar con los ensayos farmacológicos en el nivel básico y llevarlos hasta el nivel preclínico y clínico, para esclarecer así el papel de los antipsicóticos y los agonistas nicotínicos alfa-7 en los procesos cognoscitivos a corto y largo plazo en la esquizofrenia.

### I.3.3: P300:



La onda **P300** (EP300, P3) es un potencial evocado que puede ser registrado mediante electroencefalografía como una deflexión positiva de voltaje con una latencia de unos 300ms en el EEG. La presencia, magnitud,

topografía y duración de esta señal se utiliza a veces en la medición de la función cognitiva de los procesos de toma de decisiones. Mientras los correlatos neuronales de este potencial aún están poco claros, la



reproductibilidad de esta señal hace que sea una opción común para los test psicológicos tanto clínicos como de laboratorio.

## **METODOLOGIA**

Aunque la señal del EEG se adquiere con más fuerza en torno a los electrodos parietales, se ha sugerido que existen interacciones entre las regiones frontales y temporales, así como con algunos lugares del encéfalo profundo. Se piensa que la misma onda p300 está compuesta por dos ondas secundarias conocidas como "señales P3a y P3b". Estos componentes responden individualmente a diferentes estímulos y se ha sugerido que la onda P3a "se origina en los mecanismos de atención frontal dirigidos por estímulo durante el procesamiento de tareas, mientras que la P3b se origina en la actividad parietal-temporal asociada con la atención y parece estar relacionada con el consiguiente procesamiento en la memoria". Algunas veces se denomina potencial evocado "diana (target)" a la P3b, mientras que la P3a sería el potencial "no diana (non-target)".

En la práctica, la forma de onda de la P300 se debe obtener utilizando un estímulo provisto por alguna de las modalidades sensoriales.

Habitualmente utilizamos el paradigma odd-ball, en el que un estímulo raro o no frecuente se presenta entre estímulos de fondo más frecuentes. El paradigma odd-ball clásico ha sufrido muchas variaciones, pero al final la mayor parte de los protocolos utilizados para evocar la P300 implica alguna forma de hacer consciente una situación o una toma de decisiones.

## **ANATOMIA.**

Como con cualquier estímulo evocado la P300 se produce mediante corrientes eléctricas en el cerebro. Los distintos potenciales inhibidores y excitadores postsinápticos de múltiples neuronas crean estas corrientes y de ese modo se puede discutir el origen de un potencial con respecto a los efectos de los neurotransmisores que provocan los potencial postsináptico y los dominios anatómicos en los que funcionan. La onda se genera directamente como resultado de potenciales postsinápticos a través de las

vías glutamatérgicas, en la que los receptores de tipo NMDA desempeñan un papel importante. También modulan la actividad P300 influencias acetilcolinérgicas y GABAérgicas, actuando el GABA mediante la producción de potenciales inhibitorios post-sinápticos (PIPS) que tienden a disminuir la amplitud de onda e incrementar la latencia y la acetilcolina actuando como modulador con efectos opuestos al GABA. La Norepinefrina, dopamina y serotonina han sido implicadas en la modulación de la P300, pero los resultados son inconsistentes y estas influencias pueden ser menores.

No se conoce con seguridad la localización anatómica del generador de P300. Entre las áreas candidatas estarían estructuras profundas y cercanas del cerebro en el sistema límbico, como la amígdala, hipocampo y giro parahipocampal, así como regiones más dispersas (p.ej. las cortezas parietales superior y posterior, el giro cingulado y la corteza temporoparietal). Los registros intracraneales han dado credibilidad a la teoría de contribuciones ampliamente distribuidas. Una hipótesis vincula la activación de la P300 al locus coeruleus un centro noradrenérgico del tallo cerebral que se encuentra en el puente de Varolio. Desde esta perspectiva el

papel del circuito noradrenérgico es potenciar los estímulos significativos para la toma de decisiones ejecutivas. Los orígenes de las ondas componentes (P3a and P3b) aún no están claras. Los estudios mediante fMRI sugieren que estos componentes se pueden localizar en diferentes regiones, en el que la P3a es principalmente un fenómeno de las cortezas frontales e insulares y la P3b se origina de las regiones parietal inferior y temporal. Se ha propuesto que las diferentes regiones también son lugares de procesamiento diferentes para los estímulos "diana" y "distractor" en el paradigma odd-ball.

La explicación más aceptada para el comportamiento a grandes rasgos de la P300, es la hipótesis de actualización de contexto. Se piensa que la P300 representa en este modelo el cambio físico que subyace al hecho de que las probabilidades ligadas a ciertos resultados se refrescan a la luz de la información contextual más reciente para el sujeto.

## **OBTENCION DE LA ONDA.**

Se ha implicado a muchos factores en la modulación de la P300. Los trastornos neurológicos muestran típicamente una reducción de la amplitud de la P300 en su conjunto.

Los descensos en la amplitud e incrementos en el tiempo de latencia también se observan en el envejecimiento normal. Se acepta generalmente que los cambios en la amplitud de la P300 están relacionados con incrementos o bajadas en la intensidad, energía requerida o nivel de excitación ligada a una tarea específica. Los cambios en la latencia han sido peor caracterizados pero aún dan una correlación fuerte con el tiempo de procesamiento necesario para el desempeño de tareas. Las medidas de la onda P300 también pueden variar dependiendo del tiempo de medición. Se han señalado variaciones significativas de la amplitud y latencia, basados en el ritmo diurno de los sujetos. Estas variaciones precisan de gran cuidado con el uso del P300 como medida diagnóstica.

Un punto de partida interesante sería medir las P300 cuando se piensa que se va a alterar la toma de decisiones conscientes. Se piensa que los estados hipnóticos y de sueño proporcionan buenas vías para la explicación de este campo. Las personas que son más receptivas a la hipnosis muestran cambios en la amplitud de los potenciales evocados entre los estados normales y los estados llamados de "alucinación obstructiva positivo/negativa". Esto parece estar en línea con la idea de que la P300 está regulada para transmitir decisiones a la conciencia y por ellos parecen sugerir la plausibilidad de una conciencia alterada en los estados hipnóticos.

El alcoholismo también tiende a correlacionarse con una reducción de la amplitud de la P300. Se pueden efectuar comparaciones en las características de la P300 entre sujetos alcohólicos y los que tienen lesiones en el lóbulo frontal, sugiriendo una afectación a largo plazo de las funciones frontales relacionadas con el control ejecutivo. Se requieren más investigaciones para asegurar si este tipo de cambio en la P300 es específico del alcoholismo en lugar de una característica de la conducta adictiva en general. Las adicciones relacionadas con el tabaco han sido a

menudo relacionadas con la conducta alcohólica y esto es una variable de confusión que aún no ha sido eliminada.

También se ha visto que los subcomponentes de la P300 varían con el género, mostrando las mujeres una amplitud y latencia mayores que los varones. No obstante existe una cantidad significativa de variación entre géneros en ambos subcomponentes y en la misma P300.

### **INDICACIONES.**

Desde mediados de los años 1980 uno de los usos más discutidos de los potenciales evocados ha sido la detección de mentiras. En una propuesta de prueba para la detección de "conocimientos inculpatorios" se interroga a un sujeto a través de un paradigma odd-ball de un modo similar a como lo sería bajo un típico detector de mentiras. Esta práctica ha recibido recientemente una mayor permisibilidad legal, mientras que la poligrafía ha visto como se reduce su uso, en parte debido a aspectos inconscientes e incontrolables de la P300. La técnica se basa en la provocación reproducible de la onda P300,

lo cual es un aspecto central en la idea de la Respuesta Encefalográfica Relacionada con la Memoria y la Codificación (RERMCT) desarrollada por el Dr. Lawrence Farwell.

Hay un amplio rango de usos para la P300 en la investigación científica, que va desde el estudio de la depresión y la drogadicción a los trastornos de ansiedad (Trastorno obsesivo-compulsivo, Trastorno por estrés postraumático, etc).

También se ha propuesto su uso en interfaces computadora-cerebro. La P300 tiene un cierto número de cualidades deseables que ayudan a la implementación de tales sistemas:

- Primero, la forma de onda es consistentemente detectable y se puede provocar en respuesta a estímulos precisos.
- También puede evocarse en casi todos los sujetos con poca variación en las técnicas de medida, lo que podría simplificar los diseños de interfaz y permitir un mayor rango de uso.

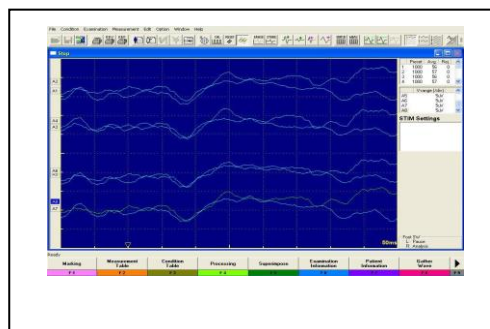


La velocidad a la que la interfaz puede operar depende de cómo sea de detectable la señal sin que esto dependa del "ruido". Una característica negativa de la P300 es que la amplitud de la forma de onda necesita el cálculo de la media de muchos registros para aislar la señal.

Otra vez construido a partir del paradigma odd-ball, el reconocimiento de pautas de habla o sonido es un método bien documentado para suscitar la respuesta P300. Por esto se ha sugerido que la forma de onda puede ser usada en otro campo del diseño de interfaces, la audiología. Se puede usar la P300 como medida de la calidad de los implantes cocleares, puesto que el sonido diana no registrará un potencial relacionado con eventos si se transfiere pobremente por el aparato auditivo externo.

#### I.3.4: MISSMATCH NEGATIVITY (MMN):

El Potencial de Disparidad, o mismatch negativity (MMN), es un



potencial evocado auditivo endógeno que se obtiene cuando se escuchan pasivamente estímulos sonoros extraños (de baja probabilidad) entremezclados aleatoriamente en una secuencia de estímulos repetitivos. A diferencia de otros componentes endógenos de los potenciales evocados, como P300, entre las principales características de MMN destacan que su obtención no depende del nivel atencional del sujeto, siendo de especial interés para la exploración de la patología auditiva y cerebral en sujetos que no pueden -o no quieren- colaborar, y que se han localizado con precisión sus generadores cerebrales, en la corteza temporal y frontal (Figura 3).

### **Obtención de MMN**

El Potencial de Disparidad fue descrito por primera vez por Naatanen et al., como un potencial que se obtenía cuando estímulos auditivos extraños (de baja probabilidad) eran presentados aleatoriamente en una serie de estímulos sonoros o repetitivos que el sujeto no debía atender activamente.

El hecho de que el sujeto ignorara la estimulación auditiva fue, precisamente, el que permitió diferenciar este componente (MMNd) el

componente N2, que en condiciones de discriminación activa acompaña al complejo P300 (Squires et al., 1975). Por ejemplo, Sams et al., presentaron a sus sujetos series de estímulos estándar de 1000 Hz de frecuencia, que fueron ocasionalmente reemplazados por estímulos de 1002, 1004, 1008, 1016 o 1032 Hz, respectivamente.

Para desviar la atención de los sujetos de la estimulación auditiva, se pidió a éstos que se concentraran en la lectura de un libro e ignoraran los sonidos. Los resultados evidenciaron que los potenciales evocados por los estímulos extraños de 1002, 1004 y 1008 Hz eran idénticos a los evocados por los estímulos estándar, mientras que los potenciales evocados por los estímulos extraños de 1016 y 1032 Hz presentaban un segundo pico negativo situado sobre los 200ms. Puesto que tanto los estímulos estándar como los extraños eran de características físicas idénticas: misma duración, intensidad, y prácticamente misma frecuencia, los autores substrajeron el potencial evocado por el estímulo estándar del potencial evocado por el estímulo extraño, de tal manera que los componentes exógenos (PI, NI y P2), de características similares, se cancelaban, mientras que el componente MMN,

solamente evocado por el estímulo extraño, podía ser representado y analizado con mayor claridad en la curva diferencia, resultante .

**Significado funcional de MMN: memoria sensorial y atención involuntaria.**

La generación de MMN se ha relacionado con al menos tres procesos cerebrales distintos:

- la memoria sensorial,
- la discriminación pasiva de sucesos auditivos novedosos o extraños
- y la atención involuntaria, además de su evidente relación con la percepción auditiva.

En primer lugar, se ha sugerido que, si MMN aparece cuando se presentan al sujeto estímulos extraños que difieren ligeramente en algún atributo físico de los estímulos repetitivos, su generación se produce cuando la aferencia sensorial causada por este estímulo no coincide con una huella mnésica presumiblemente desarrollada por los estímulos estándar. Es decir, de acuerdo con la teoría sobre MMN, este componente se generaría por un proceso de comparación, con resultado de disparidad, entre el estímulo

aferente y una representación neuronal de las características físicas de los estímulos estándar, desarrollada en la memoria sensorial.

En consecuencia, cuando se registra MMN se está obteniendo un indicador neurofisiológico de la representación del estímulo estándar en la memoria sensorial, y, por lo tanto, mediante el uso de MMN se abre la puerta a la valoración fisiológica de las funciones mnésicas.

El componente MMN se ha relacionado también con la discriminación pasiva o automática, al ser su generación independiente de la atención, de estímulos extraños. En efecto, si MMN se genera cuando un estímulo aferente no coincide con la representación de las características físicas del estímulo estándar mantenida en la memoria sensorial, el proceso implicado comporta al menos dos elementos diferenciados: el ya aludido de memoria sensorial, y otro de discriminación o detección de la disparidad entre el estímulo extraño y la memoria de los que predominan en la estimulación (estímulos estándar).

Por otro lado, se ha postulado también que el significado funcional del proceso generador de MMN estaría asociado a la cadena de acontecimientos cerebrales que acabarían desencadenando una respuesta de reorientación

de la atención voluntaria hacia ese suceso (auditivo) novedoso inesperado (estimulo extraño). Según esta propuesta, la generación de MMN actuaría de señal de aviso encargada de disparar un proceso de conmutación atencional. Además, la implicación de MMN en los mecanismos de la atención (involuntaria) se vería confirmada por la participación del lóbulo frontal en su generación neuroeléctrica.

### **Indicaciones de MMN**

Desde luego, una aplicación clínica ideal para MMN sería aquella en que la obtención de este potencial evocado y su cuantificación, de acuerdo con un procedimiento estandarizado, permitiera establecer o descartar un diagnóstico certero, si no de un síndrome o trastorno definido, por lo menos de una alteración funcional con etiopatología y tratamiento diferenciados. Es decir, que tras la obtención y valoración de MMN se estuviera en condiciones de aseverar un diagnóstico, aventurar un pronóstico y prescribir un tratamiento eficaz. Lamentablemente, la realidad se halla aún lejos de esta situación ideal, pero a pesar de ello, los conocimientos actuales sobre MMN y, los resultados experimentales, tanto en voluntarios sanos como en

pacientes de diferentes grupos diagnósticos, permiten augurar un futuro muy prometedor para este componente de los potenciales evocados auditivos en audiología, neurología y psiquiatría (Escera, 1996).

Entre los posibles campos de aplicación en los que MMN ha empezado ya a utilizarse, y puede acabar consolidándose como instrumento de rutina, se encuentra el de la patología auditiva. Efectivamente, los resultados obtenidos en numerosos trabajos han empezado a mostrar la sensibilidad de MMN para la valoración de las capacidades perceptivas del habla en pacientes con diferentes trastornos auditivos.

Este tipo de aplicaciones se fundamenta en la obtención de MMN mediante diferentes secuencias de estímulos, los cuales pueden ser desde muy simples (tonos puros) hasta muy complejos, tales como patrones de sonido, fonemas o sílabas, valorándose la capacidad del paciente para la discriminación pasiva o automática de los diferentes atributos sonoros de los estímulos utilizados a partir de las características de las ondas MMN obtenidas.

Otro ámbito de aplicación en el que MMN podría convertirse en un instrumento imprescindible de exploración rutinaria es el de la monitorización de la profundidad del coma y su pronóstico.

La implicación de MMN en la memoria sensorial sugiere que su obtención estandarizada podría utilizarse para la valoración fisiológica de las funciones mnésicas, en especial en algunos trastornos neurodegenerativos, tales como la enfermedad de Alzheimer.

En efecto, Pekkonen *et al.*, utilizaron un paradigma para la obtención de MMN en el que, en bloques separados, los estímulos fueron presentados a intervalos de uno o tres segundos a un grupo de enfermos de Alzheimer y a sus controles respectivos. Los resultados pusieron de manifiesto una disminución de la amplitud de MMN en función del intervalo entre estímulo mayor en el grupo de enfermos que en el de control. Puesto que con el intervalo menor el componente MMN fue similar en ambos grupos, los autores descartaron que la función de discriminación pasiva o automática asociada a MMN se hallase afectada *per se* en la enfermedad de Alzheimer, interpretándose un desvanecimiento más rápido de la huella mnésica de los



estímulos estándar en el grupo de enfermos, al observarse una atenuación de MMN en este grupo con el intervalo de tres segundos.

Otro ámbito de aplicación en el que MMN podría acabar introduciéndose es el de la valoración fisiológica de las alteraciones atencionales causadas por diferentes lesiones cerebrales o por la hiperactividad infantil. La relación de MMN con los mecanismos atencionales, en particular con los de la atención automática, ha sido sugerida por los resultados de Schroger y Escera *et al.*, y en general por la implicación del lóbulo frontal en su generación neuroeléctrica, resultados estos últimos apoyados por la atenuación de este componente observada en pacientes con lesiones en el lóbulo frontal. A pesar de ello, la posible utilización rutinaria de MMN para la valoración de la atención parece aún algo lejana, aunque el hecho de que este componente pueda obtenerse sin la participación voluntaria del sujeto resulta extraordinariamente interesante, pues podría permitir la valoración de la integridad funcional de los mecanismos atencionales automáticos iniciales, necesarios para una función atencional voluntaria superior, en pacientes que no pudieran colaborar.

No podría finalizarse esta sección sobre los posibles desarrollos aplicados de MMN sin mencionar los trabajos en los que se sugiere la utilidad de este componente para el estudio de las alteraciones de la función frontal en la esquizofrenia, de la maduración cerebral en recién nacidos prematuros, de la plasticidad cortical en la ceguera, o para la valoración de los efectos cognitivos del alcohol o de sustancias potencialmente psicoactivas, y, entre otras prometedoras aplicaciones últimamente se está utilizando en la discriminación del componente encefalopático en pacientes cirróticos, debido a su posibilidad de obtención sin la colaboración del paciente.

## II. OBJETIVOS

## **Tratamiento con Tadalafilo en pacientes con hiperplasia benigna de próstata (HBP) y disfunción eréctil**

La hiperplasia prostática benigna (HBP) es una de las enfermedades benignas más comunes en el hombre y puede derivar en una hipertrofia benigna de la próstata, en una obstrucción benigna de la próstata y/o en síntomas del tracto urinario inferior (STUI). La hiperplasia benigna de próstata suele estar asociada habitualmente con disfunción eréctil. La fisiopatología de esta enfermedad es compleja y no se conoce bien. HBP está asociada a una deficiencia en la vía de señalización NO/GMPc, inflamación y estrés oxidativo. Esta enfermedad también ha sido relacionada con trastornos del sueño en estos pacientes. Aunque todavía no se conocen bien los mecanismos, el tratamiento con inhibidores de PDE5, como el Tadalafilo, tiene un efecto beneficioso sobre los síntomas de la enfermedad y parece mejorar las funciones cognitivas y la depresión, además de la disfunción eréctil. Los pacientes con HBP que presentan también disfunción eréctil, reciben habitualmente tratamiento con Tadalafilo, que es un inhibidor de fosfodiesterasa 5 (PDE5), para

esta disfunción. En este proyecto se van a analizar las alteraciones neurológicas y cerebrales en HBP y se evaluará si el tratamiento con Tadalafilo es capaz de revertir total o parcialmente estas alteraciones. También se analizarán posibles mecanismos por los que el tratamiento podría contribuir a mejorar la función cognitiva y motora. También se evaluará el efecto del tratamiento con Tadalafilo sobre las alteraciones del sueño y sobre parámetros periféricos (en sangre) relacionados con la patogénesis de la HBP, función de la vía NO/GMPc, inflamación y marcadores de estrés oxidativo (nitrotirosina).

### **Hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil**

La hiperplasia prostática benigna o adenoma de próstata es una de las enfermedades benignas más comunes en el hombre y puede derivar en una hipertrofia benigna de la próstata, en una obstrucción benigna de la próstata y/o en síntomas del tracto urinario inferior (STUI). Estos síntomas pueden ser bastante molestos hasta en el 30% de los hombres mayores de 65 años. La etiología de esta enfermedad es multifactorial y los factores reales asociados a su desarrollo son la edad y el volumen de

la próstata. Estos factores específicos de riesgo pueden identificar al grupo de pacientes con un riesgo aumentado de progresión y en los conviene iniciar un tratamiento precoz.

Los tratamientos estándar para la HBP incluyen alfa-bloqueantes e inhibidores de la 5 alfa-reductasa, solos o en terapia combinada. Aunque efectivas, estas drogas pueden estar asociadas a efectos secundarios no deseados, que incluyen mareos, hipotensión y disfunción sexual, que pueden ser más acusados en terapias combinadas.

Entre los mecanismos implicados en la patología de la hiperplasia benigna de próstata la vía de señalización NO/cGMP tiene un papel funcional importante, y todas las enzimas clave de esta vía, óxido nítrico sintasa, PKG-1 y fosfodiesterasa 5 (PDE5) se expresan en el tejido prostático. El óxido nítrico (NO) ejerce un efecto inhibitor general del tono muscular sobre el tracto urinario inferior. Una disminución en la relajación mediada por NO del músculo prostático liso podría estar implicada en la patología de la HBP. El aumento de la actividad de la vía NO/cGMP mediante la inhibición de la PDE5, se consigue con tratamientos con inhibidores de PDE5, como el Tadalafilo, que se utiliza

en la clínica diaria para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata y de la disfunción eréctil. El Tadalafilo es un fármaco análogo al sildenafil pero se diferencia de este último en que el efecto del Tadalafilo es más prolongado, llegando a ser funcional hasta las 36 horas, mientras que el sildenafil mantiene su efecto durante 4 ó 5 horas. Al igual que el sildenafil, el Tadalafilo es un fármaco inhibidor de la enzima PDE-5 (fosfodiesterasa 5), encargada de degradar al GMPc. Este fármaco se está utilizando actualmente para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, de la hiperplasia benigna de próstata y de la disfunción eréctil.

### **Inflamación asociada a la hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil**

La inflamación en la próstata se considera una de las etiologías de la hiperplasia prostática. La cantidad de la inflamación podría ser proporcional al agrandamiento de la próstata. La mayoría de las próstatas hiperplásicas extirpadas contienen células inflamatorias. Un gran número de citoquinas se produce a partir de estos infiltrados, las

cuales podrían desempeñar un papel en el crecimiento de células de próstata y el cambio hiperplásico. Trabajos recientes sugieren que una inflamación crónica sistémica de bajo grado podría estar implicada en la etiología de la hiperplasia benigna de próstata. Hay estudios que demuestran que el Tadalafilo, pero no el sildenafil ni el vardenafilo, reduce la expresión de factores pro-inflamatorios en células endoteliales en cultivo y en arterias pulmonares aisladas de rata.

### **Estrés oxidativo asociado a la hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil.**

Aunque la inflamación ha sido implicada como un estímulo primario para el cáncer de próstata, es posible que HBP represente una vía alternativa, no maligna, de crecimiento de próstata no regulado, inducido por estrés oxidativo y mediadores inflamatorios. Estudios recientes muestran que pacientes con HBP presentan niveles de estrés oxidativo y daño al ADN significativamente más altos que controles sanos (Ahmad et al. 2012), y sugieren que la causa de este aumento en estrés oxidativo podría ser el



aumento en la producción de radicales libres del oxígeno o una disminución en las actividades antioxidantes.

### **Trastornos del sueño asociados a la hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil.**

La hiperplasia benigna de próstata se asocia comúnmente con los síntomas del tracto urinario inferior (STUI), que han sido relacionados con trastornos del sueño en estos pacientes. En un estudio reciente de Shim et al, muestran que en pacientes con disfunción eréctil, el tratamiento con un inhibidor de la PDE5 parece mejorar las funciones cognitivas y la depresión, además de la disfunción eréctil. Por lo tanto, el tratamiento de la HBP con Tadalafilo podría mejorar la calidad de vida de los pacientes y mejorar sus funciones cognitivas.

**En este proyecto se va a estudiar en pacientes con HBP y disfunción eréctil el efecto del tratamiento con Tadalafilo sobre:**

- 1) la función cognitiva y motora;
- 2) la inflamación y nitrotirosina (como marcador de estrés oxidativo) en sangre y
- 3) las alteraciones cerebrales, analizadas mediante:
  - 3.a) resonancia magnética,
  - 3.b) electroencefalografía (potencial evocado "mismatch negativity").

#### HIPÓTESIS

Partimos de la hipótesis de que en pacientes con hiperplasia benigna de próstata el tratamiento con Tadalafilo mejorará los tests psicométricos y la calidad de vida de los pacientes. Hipotetizamos que el Tadalafilo debe ejercer en los pacientes efectos beneficiosos sobre la función cognitiva, similares a los que ejerce el sildenafil en modelos animales. También partimos de la hipótesis de que el Tadalafilo debe mejorar las alteraciones cerebrales implicadas en el deterioro cognitivo y alguno de los mecanismos moleculares responsables de las mismas.

La hiperplasia benigna de próstata se asocia comúnmente con los síntomas del tracto urinario inferior (STUI), que han sido relacionados con trastornos del sueño en estos pacientes.

## OBJETIVOS

Los objetivos generales de este proyecto son los siguientes:

1. Estudiar en pacientes con hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil el efecto de los tratamientos elegidos sobre:

1.1. La función cognitiva y motora;

1.2. Los mecanismos moleculares implicados en las alteraciones cognitivas (hiperamonemia, inflamación, nitrotirosina y endotoxemia en sangre) y

1.3. Las alteraciones cerebrales, analizadas mediante:

1.3.1. Resonancia nuclear magnética,

1.3.2. Electroencefalografía (potencial evocado "mismatch negativity").

Para alcanzar estos objetivos generales se abordarán los siguientes objetivos concretos:

1. Tratamientos en pacientes con hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil. Se evaluarán los efectos del Tadalafilo en pacientes del Servicio de Urología del Hospital Arnau de Vilanova, con hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil. Los grupos de estudio serán:

1.1. Tadalafilo

1.2. Sin Tratamiento específico

2. La duración de todos los tratamientos será de 6 meses. Antes del inicio y al final de los tratamientos, se realizarán las siguientes pruebas en todos los grupos de sujetos:

2.1. Caracterización de las alteraciones cognitivas y motoras en los pacientes: realización de tests psicométricos, evaluación de la atención selectiva y sostenida, y de la coordinación motora. Se estudiará el efecto del tratamiento sobre estas funciones cognitivas.

2.2. Determinación de parámetros bioquímicos en sangre (amonio, parámetros de inflamación, nitrotirosina...) antes y después del tratamiento. Se analizará si el tratamiento elegido reduce la inflamación, la hiperamonemia o los niveles de nitrotirosina.

2.3. Realización de Resonancia magnética con Tensor de difusión (DTI) para analizar las alteraciones cerebrales que pudieran existir y se analizará si el tratamiento elegido las mejora.

2.4. Evaluación de la atención involuntaria mediante electroencefalografía (potencial evocado "mismatch negativity"), tanto en pacientes cirróticos como en el grupo de pacientes con hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil.

# III. MATERIAL Y METODO

## 1. PACIENTES Y CONTROLES

En el presente estudio se seleccionaron 4 pacientes con HBP-DE por combinación de criterios clínicos, analíticos y radiológicos, y que eran controlados en consultas externas del Hospital Arnau de Vilanova de Valencia. Todos los individuos participaron en el estudio después de dar su consentimiento informado. El proyecto fue aprobado por los Comités Éticos del hospital, y se desarrolló de acuerdo con la Declaración de Helsinki (1975).

Los criterios de exclusión para los pacientes fueron:

- Presentar niveles de PSA elevados (>4 ng/ml)
- Presentar un tacto rectal sospechoso para cáncer de próstata.
- Presentar alguna otra patología diagnosticada.
- Estar tomando cualquier otra medicación.

Los criterios de inclusión fueron:

- Varones entre 50-70 años que acudieron a la consulta del ambulatorio

- Se realizó el diagnóstico de HBP (STUI), mediante la realización de un test validado (IPSS), con un puntaje leve o moderado.
- Se realizó el diagnóstico de Disfunción eréctil mediante otro test validado de salud sexual (IIEF-5).
- Se descartó mediante ecografía abdominal la existencia de otras patologías urológicas (tumores vesicales, litiasis, etc.), que pudieran producir la sintomatología del tracto urinario inferior.

En el grupo de sujetos sanos y en el grupo de casos se descartó cualquier enfermedad hepática mediante análisis clínico, serológico y ecográfico.

- Protocolo del estudio:

En primer lugar, se revisó la historia clínica de los pacientes y, se analizaron y registraron las siguientes variables:

- datos demográficos: edad, género y nivel de formación
- presencia de otras patologías (cáncer, diabetes, EPOC, insuficiencia renal, hipertensión arterial, etc)



- parámetros séricos de laboratorio (enzimas indicadoras de la función hepática, bilirrubina, albúmina, hemograma, marcadores tumorales...)
- tratamiento farmacológico del paciente.

Se citó a los pacientes y los controles para que acudieran en ayunas, se les tomó una muestra de sangre y realizaron, el mismo día, la batería de tests psicométricos descrita a continuación.

#### 1.1. EXTRACCIÓN DE LA SANGRE

Las muestras de plasma (5 ml) se extrajeron en tubos BD Vacutainer con EDTA como agente anticoagulante. Dichas muestras se centrifugaron a 3000 x g, 10 minutos a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante y se conservó a -80°C en alícuotas de 200 µl.

Las muestras de suero (5 ml) se extrajeron con tubos BD Vacutainer sin EDTA y se centrifugaron a 3000 x g, 10 minutos a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante y se conservó a -80°C en alícuotas de 200 µl.

Otra muestra de sangre (5 ml) se tomó en tubos BD Vacutainer con EDTA y no se centrifugó, para la posterior obtención células mononucleares, medición instantánea del amonio (como se describirá más adelante) y toma de una alícuota para medir el GSH.

Finalmente, obtuvimos otros dos tubos de sangre (2-2,5 ml) con citrato como agente anticoagulante: uno para el aislamiento de eritrocitos y otro para el estudio parámetros de estrés oxidativo mediante citometría de flujo.

## 1.2. REALIZACIÓN DE LOS TESTS PSICOMÉTRICOS

Los tests psicométricos se realizaron el mismo día de la extracción de la sangre, en una habitación tranquila y con la luz adecuada para favorecer la concentración de los sujetos.

## 2. ESTUDIO DE ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN PACIENTES CON HIPERPLASIA BENIGNA DE PRÓSTATA Y DISFUNCIÓN ERÉCTIL (HBP-DE)

## 2.1. PHES

Para el diagnóstico del deterioro neurológico se utilizó la batería de tests psicométricos PHES (Psychometric Hepatic Encephalopathy Score), considerada como 'gold standard' para el diagnóstico en otras patologías con deterioro neurológico leve como es en la encefalopatía hepática mínima (EHM) (Weissenborn et al, 2001; Ferenci et al, 2002). Esta batería está compuesta por cinco tests psicométricos (Figura 1):

1. Test de Dígitos y Símbolos (DST): evalúa la velocidad de procesamiento y la memoria de trabajo. Consiste en una serie de números (1-9) cada uno de los cuales lleva asociado un símbolo diferente (Figura A). El sujeto debe escribir debajo de cada número, el símbolo que le corresponde, en un tiempo de 90 segundos. El test se puntúa con el número de aciertos realizados en dicho tiempo.
2. Test de conexión numérica A (NCT-A): evalúa la velocidad de procesamiento y la atención. Consiste en un conjunto de números (1-25) colocados de forma desordenada y el sujeto los tiene que unir trazando líneas en orden ascendente (1-2-3...-25) (Figura B). Se puntúa con el tiempo, en segundos, que se tarda en realizar la tarea.

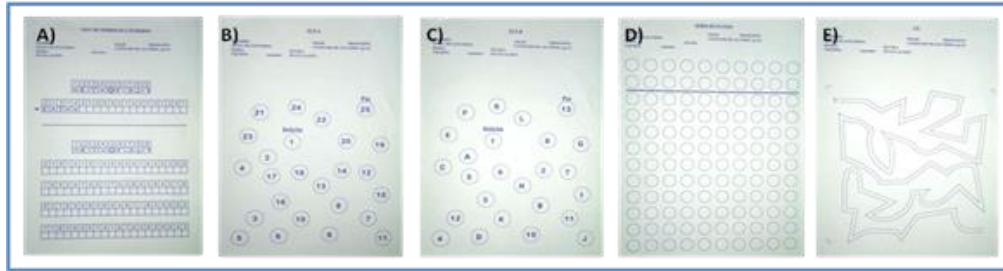


Figura 1. Batería de tests psicométricos PHES: DST (A), NCT-A (B), NCT-B (C), SD (D), LTT (E)

3. Test de conexión numérica B (NCT-B): evalúa la velocidad de procesamiento y la atención. Consiste en un conjunto de números (1-13) y letras (A-L), colocados de forma desordenada y el sujeto tiene que unir con líneas los números y las letras de forma alterna por orden ascendente (1-A-2-B-3...-L-13) (Figura C). Se puntúa con el tiempo (segundos) que se tarda en realizar la tarea.

4. Test de puntos seriados (SD): evalúa la coordinación visuoespacial. Consiste en un conjunto de círculos en donde el sujeto tiene que marcar con el rotulador un punto en el centro (Figura D). Se puntúa con el tiempo (segundos) que se tarda en realizar la tarea.

5. Test de línea quebrada (LTT): evalúa la coordinación visuoespacial. Consiste en realizar un recorrido con un rotulador entre

dos líneas con tramos rectos y curvos, que el sujeto debe evitar tocar y salirse de ellas (Figura E). Se puntúa con el tiempo que se tarda en realizar la tarea. Para su corrección se utiliza una plantilla con el tramo recorrido dividido en cuadros para penalizar con segundos de más el número de cuadros en los que el sujeto toca o se sale del recorrido.

- Cálculo del PHES:

Para el cálculo numérico del PHES se utiliza una aplicación informática que calcula el PHES utilizando los valores de referencia obtenidos para la población española por la Red Española de Encefalopatía Hepática (Romero-Gómez et al, 2006). La aplicación se encuentra en la página web <http://www.redeh.org> . Se introducen los siguientes parámetros:

- edad del sujeto
- nivel de estudios (años estudiados)
- puntuación de cada subtest: número de aciertos en el DST y tiempo de realización de la tarea en el resto de subtests.

Una vez introducidos estos datos, el programa mediante un ajuste con la edad y el nivel de estudios, puntúa cada subtest con un valor numérico (número entero) positivo o negativo dependiendo de si el sujeto ha

realizado la tarea mejor o peor de lo esperado respectivamente y, suma todos los subtests, puntuando de manera global el PHES. Se considera que un paciente tiene EHM cuando la puntuación global es -4 o menor.

## 2.2. FRECUENCIA CRÍTICA DE PARPADEO (FCP)

La frecuencia crítica de parpadeo ha sido propuesta como método alternativo para el diagnóstico de EHM en pacientes cirróticos (Kircheis et al, 2002).

Se determina la frecuencia de parpadeo máxima a la que el sujeto es capaz de identificar visualmente el parpadeo de la luz.

Se realiza en una habitación tranquila y con poca luz utilizando el aparato Hepatonorm™ Analyzer (R&R Medi-Business Freiburg GmbH, Freiburg, Germany). Consiste en unas 'gafas' en las que se muestra al sujeto un estímulo visual que consiste en un punto de luz rojo sobre un fondo blanco a una distancia virtual de 12 metros (Figura 2). Este punto comienza a parpadear a una frecuencia máxima de 60 Hz (parece una luz fija) que va disminuyendo con el tiempo hasta que el sujeto indica que percibe el parpadeo mediante un control remoto que da por

finalizado el ensayo. Primero se realiza una prueba sin paro manual para que el sujeto perciba la disminución de la frecuencia de parpadeo sin interferencia, y luego se procede a realizar 3 o 4 ensayos de prueba para que se familiarice con la prueba. Para la realización del test se efectúan 10 ensayos seguidos por sujeto apuntando los valores. El valor de FCP corresponde al valor medio de los 10 ensayos, expresado en Hz.



Figura 2. HepatoNorm: equipo y estímulo visual

### 3. ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES COGNITIVAS EN PACIENTES CON EHM

#### 3.1. TEST STROOP DE COLORES Y PALABRAS

- Fundamento:

El test de Stroop de Colores y Palabras (Stroop, 1935) es una prueba de velocidad psicomotora y flexibilidad cognitiva que evalúa el

funcionamiento del sistema de atención anterior. Este test ha sido utilizado para el estudio de múltiples patologías relacionadas con procesos cognitivos, como la dislexia, esquizofrenia, lesiones cerebrales, etc (Golden CJ, Stroop Color and Word Test, Adaptación de TEA Ediciones, 2001).

Se ha utilizado este test en esta tesis porque existen estudios que indican que los pacientes con EHM muestran déficits de atención (Amodio et al, 2005; Felipo et al, 2012; Bajaj et al, 2013).

- Realización del test:

La prueba consta de tres hojas (Figura 3), en las cuales se muestran diferentes estímulos:

- En la primera hoja hay una matriz de 10 filas de cinco palabras cada una con nombres de cuatro colores (AZUL, ROJO, AMARILLO, VERDE) impresos en tinta de color negro: tarea congruente (Figura A).
- En la segunda hoja hay una matriz de 10 filas de cinco círculos impresos en diferentes colores (AZUL, ROJO, AMARILLO o VERDE): tarea neutra (Figura B).



- En la tercera hoja hay una matriz de 10 filas de cinco palabras cada una con nombres de los cuatro colores utilizados en las anteriores (AZUL, ROJO, AMARILLO, VERDE) impresas en tinta de diferente color al correspondiente a la palabra escrita: tarea incongruente (Figura C).

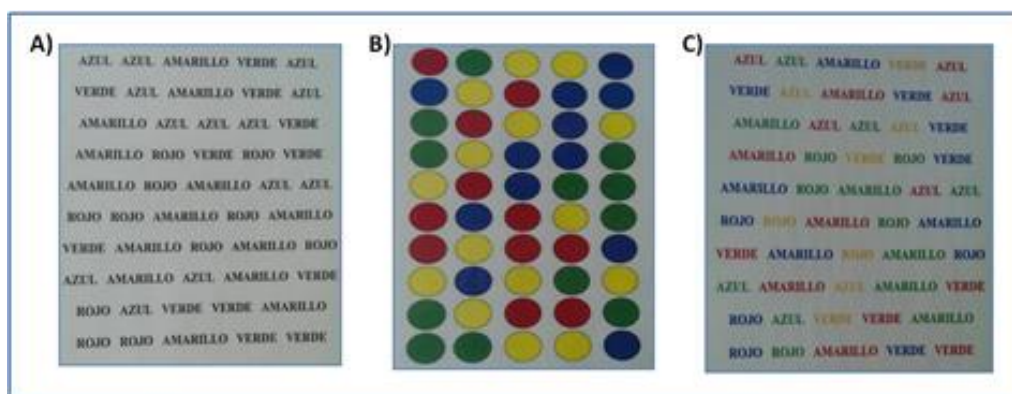


Figura 3. Test de Stroop: tarea congruente (A), neutra (B) e incongruente (C)

El individuo dispone de 45 segundos para leer las palabras de la hoja 1, otros 45 segundos para nombrar los colores de la hoja 2 y otros 45 para nombrar el color de la tinta en la que están escritas las palabras de la hoja 3. Si cuando acaba la matriz aún no ha finalizado el tiempo, la vuelve a empezar hasta que se cumplan los 45 segundos, nombrando el número máximo de ítems.

- Puntuación:

En este test obtenemos tres puntuaciones directas principales: número de palabras (P), número de colores (C) y número de palabras-colores (PC). Los errores no se tienen en cuenta pero producen una puntuación directa menor, ya que el sujeto es detenido para que repita el elemento.

Una vez obtenidos los valores de P, C y PC, se corrigen según la edad del individuo si ésta supera los 44 años (Golberg, 2001):

<b>Parámetro corregido</b>	<b>Adultos de 45-64 años</b>	<b>Adultos de 65-80 años</b>
<b>PALABRAS (P)</b>	<b>P + 8</b>	<b>P + 14</b>
<b>COLORES (C)</b>	<b>C + 4</b>	<b>C + 11</b>
<b>PAL-COL (PC)</b>	<b>PC + 5</b>	<b>PC + 15</b>

A partir de estos parámetros corregidos (P, C, PC) se calcula un parámetro denominado Interferencia, que mide básicamente la capacidad del individuo para separar los estímulos de nombrar colores y palabras, suprimiendo la respuesta de lectura y concentrándose en la tarea de nombrar los colores. Para determinar la puntuación de la

interferencia pura se calcula la diferencia entre PC y la PC estimada (PC').

<b><math>PC' = (C \times P) / (C + P)</math></b>
<b>INTERFERENCIA = PC – PC'</b>

Una vez tenemos la puntuación directa (corregida) de P, C, PC y el valor de la INTERFERENCIA, la interpolamos en una tabla normalizada para la población española (Golden, 2001) con los valores correspondientes a la puntuación definitiva del test (puntuación T).

### 3.2. TEST d2:

- Fundamento:

El test d2 proporciona una medida concisa de la atención selectiva/sostenida y de la concentración mental, ya que evalúa la capacidad de atender selectivamente a ciertos aspectos relevantes de la tarea mientras se ignoran los irrelevantes de una forma rápida y precisa. Requiere una actividad de concentración en estímulos visuales.

En este test se reflejan tres componentes de la conducta atencional: velocidad o cantidad de trabajo realizado en un determinado tiempo; calidad de dicho trabajo (precisión) y relación entre velocidad y precisión (Brickenkamp R, Test d2, Adaptación de TEA Ediciones, 2009).

- Realización del test:

El test consiste en una hoja compuesta por 14 líneas con 47 caracteres cada una, las cuales contienen como estímulo visual las letras 'd' y 'p' acompañadas de una o dos pequeñas rallitas en la parte superior de cada letra, en la inferior, o en ambas. El individuo tiene 20 segundos por línea para revisar atentamente, de izquierda a derecha, el contenido y marcar sólo las 'd' que contengan dos rallitas en total (las dos arriba, las dos debajo o una arriba y otra debajo), siendo éstos los estímulos correctos o relevantes. Las demás combinaciones ('p' con o sin rallitas y 'd' con una, tres o cuatro rallitas) se consideran irrelevantes y no deben ser marcadas (Figura 4).

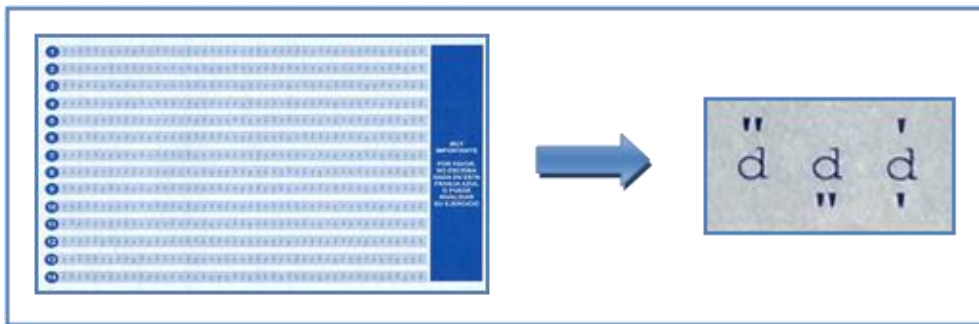


Figura 4. Test d2

- Puntuación:

Las puntuaciones que podemos obtener de este test son múltiples:

- Total de respuestas (TR): es el número de casilla al que corresponde la última marca de cada línea. La suma de la TR de las 14 líneas nos proporciona una medida de la velocidad de procesamiento y cantidad de trabajo realizado
- Total de aciertos (TA): es el número de elementos relevantes que han sido marcados. La suma de la TA de las 14 líneas es una medida de la precisión del procesamiento.

## ERRORES:

- Omisiones (O): número de errores por omisión, es decir, elementos relevantes no marcados hasta el último elemento marcado. Se suman las O de las 14 líneas.

- Comisiones (C): número de errores por comisión, es decir, elementos irrelevantes marcados hasta el último elemento marcado. La suma de C de las 14 líneas nos proporciona una medida de la precisión del procesamiento y del control inhibitorio.

- Efectividad total en la prueba (TOT): Se calcula como la diferencia de TR total y los errores totales de las 14 líneas ( $TOT = TR - (O+C)$ ).

- Índice de concentración (CON): Se calcula como la diferencia de total de aciertos y errores por comisión ( $CON = TA - C$ ) de las 14 líneas.

Este parámetro es una medida de concentración.

Una vez obtenidos todos los parámetros descritos, consultamos en los baremos (según el grupo de edad del sujeto) para anotar la puntuación centil (indica el tanto por ciento de sujetos de la población normativa a que dicho sujeto es superior en el test) que corresponde a cada variable.

### 3.3. TEST ORAL DE CLAVES:

Esta prueba mide la velocidad de procesamiento y atención selectiva y activa el área fronto-parietal del cerebro.

La tarea es muy similar al subtest de 'Símbolos y Dígitos' de la batería PHES, pero en este caso, se le muestran al sujeto símbolos asociados a números y éste tiene que, verbalmente, relacionar en 90 segundos todos los símbolos posibles con sus números correspondientes (Figura 5).

La puntuación de la prueba es el número de aciertos que el sujeto realiza.

Figure 5 displays four oral tests (A, B, C, D) used for cognitive assessment. Each test includes a list of items and a corresponding table for recording scores.

**A) CLAVE** (Key): A grid of symbols (circles, triangles, squares) with numbers 1-8. Below it, a list of symbols to be matched.

**B) ORDEN DIRECTO** (Direct Order): A table with 8 rows and 4 columns: Item, Points, Correct, and Total.

Item	Punt. ítem	Puntuación elemento	Total
1	1.57	0/1	0/1/2
2	1.662	0/1	0/1/2
3	1.664	0/1	0/1/2
4	1.6438	0/1	0/1/2
5	1.7086	0/1	0/1/2
6	1.42737	0/1	0/1/2
7	1.70856	0/1	0/1/2
8	1.818473	0/1	0/1/2
9	1.392487	0/1	0/1/2
10	1.5877420	0/1	0/1/2
11	1.4173368	0/1	0/1/2
12	1.58150847	0/1	0/1/2
13	1.38886174	0/1	0/1/2
14	1.275882684	0/1	0/1/2
15	1.715842564	0/1	0/1/2

**C) ORDEN INVERSO** (Inverse Order): A table with 7 rows and 4 columns: Item, Points, Correct, and Total.

Item	Punt. ítem	Puntuación elemento	Total
1	1.24	0/1	0/1/2
2	1.57	0/1	0/1/2
3	1.615	0/1	0/1/2
4	1.3379	0/1	0/1/2
5	1.4588	0/1	0/1/2
6	1.16284	0/1	0/1/2
7	1.31849	0/1	0/1/2
8	1.558419	0/1	0/1/2
9	1.74884	0/1	0/1/2
10	1.378368	0/1	0/1/2
11	1.478368	0/1	0/1/2
12	1.478368	0/1	0/1/2

**D) Letras y Números** (Letters and Numbers): A table with 15 rows and 5 columns: Item, Element, Response, Points, and Puntuación elemento.

Item	Elemento	Respuesta correcta	Punt. ítem	Puntuación elemento
1	1.24	0/1	0/1	0/1/2
2	1.57	0/1	0/1	0/1/2
3	1.615	0/1	0/1	0/1/2
4	1.3379	0/1	0/1	0/1/2
5	1.4588	0/1	0/1	0/1/2
6	1.16284	0/1	0/1	0/1/2
7	1.31849	0/1	0/1	0/1/2
8	1.558419	0/1	0/1	0/1/2
9	1.74884	0/1	0/1	0/1/2
10	1.378368	0/1	0/1	0/1/2
11	1.478368	0/1	0/1	0/1/2
12	1.478368	0/1	0/1	0/1/2
13	1.275882684	0/1	0/1	0/1/2
14	1.715842564	0/1	0/1	0/1/2
15	1.275882684	0/1	0/1	0/1/2

Fig 5. tests orales: Claves (A), Dígitos Directo (B), Dígitos Inverso (C), Letras y Números (D)

### 3.4. TEST ORAL DE DÍGITOS:

Esta tarea es un subtest de la batería Wais y, está compuesta por dos subtests:

3.4.1. DÍGITOS DIRECTO: Mide la atención selectiva y activa la zona fronto-parietal del cerebro. La prueba consiste en bloques de dos series de números, empezando primero por series cortas que se van alargando conforme pasamos de bloque (Figura B). La tarea se realiza leyéndole al sujeto los números de la serie, los cuáles tiene que repetir seguidamente (p.e 3-7-2 sería 3-7-2). Cuando el sujeto acierta la serie se le puntúa con un '1', y cuando la falla con un '0', de manera que la prueba acaba cuando la puntuación de todas las series del mismo bloque es igual a '0'. La puntuación del test es la suma de series que se ha acertado.

3.4.2. DÍGITOS INVERSO: Mide la memoria de trabajo y activa la zona frontal del cerebro. La prueba es similar a la de 'Dígitos Directo', pero en este caso el sujeto tiene que memorizar la serie de números que se le lee y repetirlos ordenadamente de manera inversa (p.e. 1-5-8-4 sería 4-8-5-1) (Figura C). Se corrige de la misma manera que la anterior.



Obtenemos una puntuación global del test de Dígitos sumando las dos puntuaciones.

### 3.5. TEST ORAL DE LETRAS Y NÚMEROS:

Este test mide la memoria de trabajo, teniendo más carga de memoria de trabajo que el de Dígitos, ya que es más complicado. Se basa en bloques de tres series que contienen letras y números mezclados, y que van aumentando el número de elementos conforme avanza la prueba. Leemos al sujeto la serie y éste debe ordenar los elementos de manera que primero diga los números ordenados de forma ascendente y a continuación las letras ordenadas alfabéticamente (p.e W-3-1-J sería 1-3-J-W) (Figura D). La corrección se realiza igual que en 'Digitos' (3.4) y la prueba no acaba hasta que no se fallen las tres series de un mismo bloque.

#### 4. ESTUDIO DE ALTERACIONES EN LA COORDINACIÓN MOTORA EN PACIENTES CON EHM

Para el estudio de alteraciones en la coordinación motora, se escogieron dos tests de fácil realización y corta duración.

##### 4.1. TEST DE COORDINACIÓN BIMANUAL:

Este test consiste en un tablero perforado con dos matrices de 4 filas con 10 agujeros cada una (Figura 6). La prueba consiste en pasar unas clavijas metálicas de una matriz a la otra del tablero. Las clavijas se han de pasar con ambas manos simultánea y simétricamente, por filas, de fuera hacia dentro. Esta tarea se realiza 2 veces en cada dirección y se puntúa con el tiempo que se tarda en pasar las clavijas de una matriz a otra. Se suman las centésimas de minuto de los cuatro intentos y mediante una tabla estandarizada para el test se le da un valor de percentil al tiempo de realización, según el sexo del individuo, puesto que la tipificación del test mostró que las mujeres necesitan más tiempo para realizar la tarea.

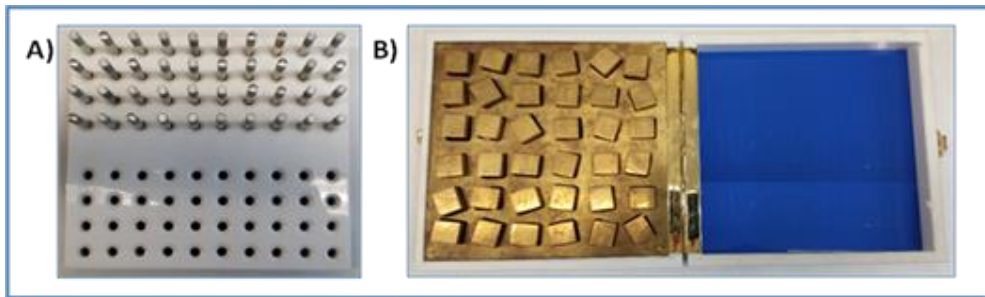


Figura 6. Test de coordinación Bimanual (A) y Visuomotora (B)

#### 4.2. TESTS DE COORDINACIÓN VISUOMOTORA:

Este test consiste en un tablero con una matriz de 6 filas y 6 columnas de perforaciones rectangulares, con diferente orientación, en las cuales se tienen que encajar unas piezas metálicas utilizando solo la mano dominante. Se realiza por filas, de izquierda a derecha y todas las piezas caben en cualquier agujero, siempre que se coloquen en la orientación correcta. La prueba se realiza dos veces y, se puntúa según el tiempo que se tarda en colocar todas las piezas. Se suma el tiempo en centésimas de minuto de los dos intentos y mediante una tabla estandarizada para el test se le da un valor de percentil al tiempo de realización, según el sexo del individuo, por el mismo motivo que el test anterior.

## 5. AISLAMIENTO DE CÉLULAS MONONUCLEARES

Las células mononucleares obtenidas son mayoritariamente la mezcla de monocitos y linfocitos.

- Fundamento:

Las células mononucleares se aíslan por centrifugación en un gradiente de densidad en el reactivo Lympho separación medium (MP Biomedicals, LLC, USA). Los eritrocitos quedan en el fondo del tubo, separadas, por el reactivo de aislamiento, de un halo formado por las células mononucleares. El plasma queda en la parte superior del tubo.

- Reactivos:

- Tampón fosfato salino: PBS (NaCl 123 mM, KCl 2,68 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6,4 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,47 mM a pH 7, filtrado en campana)
- Lympho separation médium

- Protocolo:

Para el aislamiento de las células mononucleares, se mezclaron los 5 ml de sangre (recogida en tubos heparinizados con EDTA) extraídos para este procedimiento, con la sangre sobrante del tubo extraído para la obtención del plasma después de ser retirado éste. Con este volumen de partida, se realizó el siguiente protocolo:

1. Diluir la sangre en PBS en una proporción 1:1
2. Depositar la sangre diluida sobre Lympho separation medium en tubos corning de 15 ml con 1 volumen de Lympho separation por 1 volumen de sangre
3. Centrifugar a 800 x g, 18 minutos a 16-18°C
4. Recoger la fase blanquecina (halo) y el plasma y pasarlos a un tubo corning de 50 ml y rellenar hasta 45-50 ml con PBS para lavar el exceso de Lympho separation medium que pudiese quedar
5. Centrifugar a 1000 x g, 10 minutos a temperatura ambiente
6. Retirar el sobrenadante y desechar
7. Resuspender el pellet en 6 ml de PBS, y pasarlo a un tubo corning de 15 ml para lavarlo

8. Centrifugar a 1000 x g, 5 minutos a temperatura ambiente
9. Retirar el sobrenadante y desechar
  - si el pellet queda rojo, significa que contiene eritrocitos, por lo que añadimos un paso de lisado: añadir 1 ml de Ortho-immune Lysing Reagent® (Ortho Diagnostic Systems, Raritan, USA), dejar actuar 30-60 segundos y centrifugar a 1000 x g, 5 minutos a temperatura ambiente (desechar el sobrenadante)
10. Resuspender el pellet en 3 ml de PBS
11. Alicuotar los 3 ml en tubos eppendorf en alícuotas de 200 µl de PBS conteniendo las células mononucleares
12. Centrifugar a 1500 x g, 5 minutos a 4°C
13. Eliminar el PBS y guardar el pellet seco a -80°C

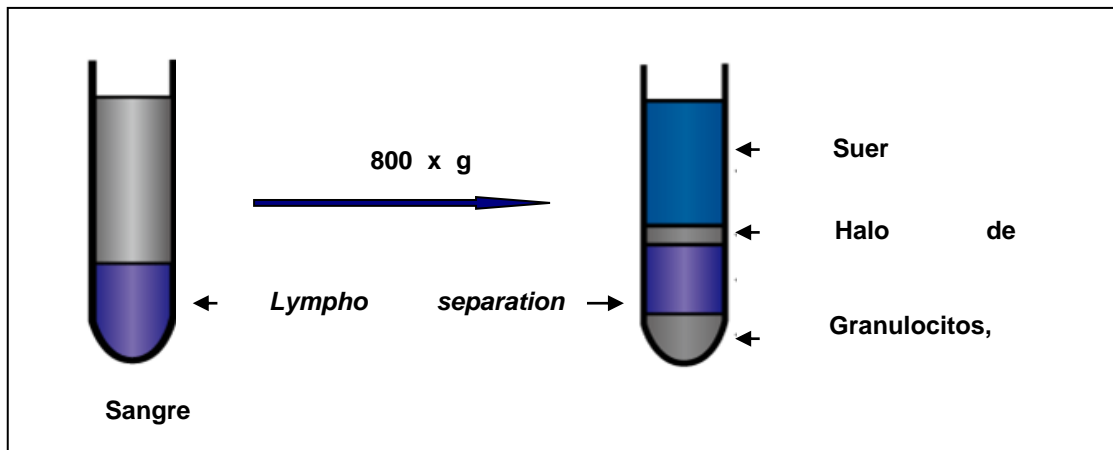


Figura. Extracción de células mononucleares antes (A) y después (B) de centrifugar

## 6. DETERMINACIÓN DE CITOCINAS PRO-INFLAMATORIAS

### 6.1 DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-18 (IL-18) EN SUERO

Los niveles de interleucina-18 en suero se midieron mediante un kit ELISA (Bender MedSystems, Austria) cuyo límite de detección es de 9 pg/ml. Se utilizan 50 µl de suero sin diluir para la realización del ensayo.

El ensayo se realizó según el protocolo proporcionado por el fabricante.

El kit consta de una placa tapizada con el anticuerpo frente a la IL-18 humana a la que se añaden 50 µl de muestra (suero) y 50 µl de diluyente de muestra. La curva patrón abarca un rango de concentraciones de 0-5000 pg/ml. Posteriormente se añade el anticuerpo

secundario conjugado con biotina a todos los pocillos y se incuba en agitación, 2 h a temperatura ambiente. Una vez finalizada la incubación, se lava y se adiciona estreptavidina marcada con peroxidasa de rábano (HRP) y se vuelve a incubar en agitación, 1 h a temperatura ambiente. Finalmente, se añade el reactivo revelador TMB (tetrametil-bencidina). La reacción se detiene por adición de reactivo 'Stop solution' (ácido) y leemos la absorbancia a 450 nm en un lector de placas.

## 6.2. DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 (IL-6) EN SUERO

La medida de IL-6 en suero también se realizó mediante un kit ELISA (Thermo Scientific, USA) cuyo límite de detección es de 1 pg/ml. La cantidad de suero utilizado para el ensayo es de 50  $\mu$ l (sin diluir).

El ensayo se realizó siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante del kit. El experimento comienza con la adición del anticuerpo biotinilado a todos los pocillos, seguido de la adición de 50  $\mu$ l de la curva patrón (0-400 pg/ml) y de muestra a los pocillos correspondientes y se incuba 2 h a temperatura ambiente. Una vez incubada, se añade una solución de estreptavidina marcada con peroxidasa de rábano (HRP) y se



incuba de nuevo 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, añadimos la solución de revelado (TMB) incubamos. Finalmente se detiene la reacción por adición de la solución 'Stop' (ácido) y leemos la absorbancia a 450 nm en un lector de placas.

La concentración de IL-18 e IL-6 se calcula a partir de su curva estándar correspondiente.

## 7. DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS

El óxido nítrico (NO) es muy inestable y reacciona rápidamente con el O<sub>2</sub> en solución para formar otros óxidos de nitrógeno: dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), anhídrido nitroso (N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), tetraóxido de nitrógeno (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) y, sus productos estables, nitratos (NO<sub>3</sub>) y nitritos (NO<sub>2</sub>). La determinación de nitratos y nitritos en plasma es un método utilizado habitualmente como medida de producción del radical NO.

- Fundamento:

El ensayo se basa en la detección colorimétrica de nitrito con el reactivo de Griess, antes y después de la conversión de nitrato a nitrito mediante la enzima nitrato reductasa de *Aspergillus*. El nitrito reacciona con ácido

sulfanílico y con naftilamina en medio ácido, formando un compuesto diazoico (p-sulfobenceno-azoalfanaftil-amina) de color rosa, cuya intensidad se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 540 nm.

La nitrato reductasa requiere FAD y NADPH para su actividad. El exceso de NADPH, que interfiere con la coloración posterior, se elimina mediante la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) que lo utiliza para la conversión de piruvato en lactato.

- Reactivos:
  - Nitrato de sodio 1 mM y Nitrito de sodio 1 mM
  - Tampón fosfato potásico 0,5 M, pH 7,5 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5 M y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 M)
  - Nitrato Reductasa 10 U/ml
  - NADPH 1 mM
  - FAD 0,1 mM
  - LDH 0,2 mg/ml
  - Piruvato sódico 0,2 M
  - Sulfato de zinc 300 g/l

- Reactivo de Griess: sulfonilamida 2g/l (en ácido fosfórico 50 g/l) + N-naftiletilamina 0,2 g/l (1:1)

- Protocolo:

La medida de nitratos y nitritos se realiza mediante el método de Moshage et al (1995) adaptado a placa de 96 pocillos:

Preparamos en tubos eppendorf 100  $\mu$ l de curva estandar (0-1,5  $\mu$ M) y de muestras. Añadimos 100  $\mu$ l de mezcla de reacción (Nitrato Reductasa 10 U/ml, FAD 0,1 mM, NADPH 1 mM y Tampón fosfato 0,5 M) y dejamos incubar 20 minutos a 37°C. Añadimos 16  $\mu$ l de una mezcla de LDH 0,2 mg/ml y Piruvato sódico 0,2 M e incubamos 5 minutos a 37°C. Entonces añadimos 12  $\mu$ l de Sulfato de zinc 300 g/l (desproteiniza la muestra), dejamos en hielo, 5 minutos y centrifugamos a 20000 x g, 10 minutos a 4°C.

Cargamos en una placa Costar de 96 pocillos, 100  $\mu$ l del sobrenadante obtenido después de precipitar las proteínas y añadimos 100  $\mu$ l de Reactivo de Griess, dejando incubar 15 minutos a temperatura ambiente, y leemos la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro.

La concentración de nitratos y nitritos se calcula a partir de la curva estandar.

## 8. DETERMINACIÓN DE GUANOSIN MONOFOSFATO CÍCLICO (GMPc)

- Fundamento:

El GMPc se midió utilizando un kit de enzimo-inmunoensayo (Amersham Biotrak de GE Healthcare). Se emplearon 50  $\mu$ l de las muestras de plasma.

- Protocolo:

El fabricante nos proporciona varios protocolos, según la muestra utilizada. En nuestro caso, seguimos el protocolo de acetilación que consiste en acetilar las muestras y las soluciones estándar (2-512 fmol) con una mezcla de un volumen de anhídrido acético y dos de trietanolamina. Una vez acetiladas las muestras y la curva patrón las cargamos en la placa tapizada con un anticuerpo específico que reconoce el anticuerpo frente a GMPc. A continuación, añadimos el anticuerpo frente a GMPc y después de 2 h de incubación a 4°C, añadimos un conjugado de GMPc marcado con peroxidasa, el cuál competirá con el GMPc por los sitios de unión del GMPc en el anticuerpo. Tras una nueva

incubación de 1 h a 4°C, lavamos, y ponemos la solución sustrato (TMB) dejándola actuar unos 30 minutos a temperatura ambiente hasta que la curva estándar desarrolle color y, entonces detenemos la reacción con ácido sulfúrico 1 M y leemos la absorbancia a 450 nm.

La concentración de GMPc se calcula a partir de la curva estandar. Los resultados se expresan en pg/ml.

#### 9. ANÁLISIS DEL MISMATCH NEGATIVITY (MMN)

Los estudios se realizaron en 4 pacientes con HBP-DE y 12 controles sanos. Para la realización de la prueba el sujeto acude al Servicio de Neurofisiología en condiciones habituales. Se realiza una exploración neurológica previa y se le colocan unos electrodos en cuero cabelludo siguiendo el sistema internacional 10-20. Se utiliza un distractor visual y auditivo mientras se está haciendo la prueba, recogiendo los datos mediante un electromiógrafo marca Nihon-Khoden y promediando un mínimo de 200 respuestas provocadas por el estímulo generado por un software informático diseñado para tal fin, siguiendo la metodología descrita por Torsten Baldeweg (Baldeweg et al, 2004).

La respuesta generada por el estímulo frecuente se resta, mediante resta digital y a la onda resultante se le calcula la latencia (ms), la amplitud ( $\mu\text{V}$ ) y el área ( $\mu\text{V}\cdot\text{ms}$ ), en cada electrodo colocado.

Para cada individuo se analizó el MMN dos veces, la primera vez antes del tratamiento y 6 meses después del tratamiento con Tadalafilo para valorar la evolución.

Como variables se analizaron la latencia, amplitud y área de la onda de mismatch negativity generada.

## 10. RESONANCIA NUCLEAR MAGNETICA

Se realizó resonancia nuclear magnética (RNM) a todos los pacientes del estudio a fin de descartar patología orgánica a nivel cerebral, tanto al principio del estudio como tras la intervención con el tratamiento de tadalafilo 5 mg,

## 11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM (error estándar de las media) del número de sujetos indicados en cada caso. Se realizó un

análisis One-way ANOVA de medidas repetidas, seguido de test de Tukey, para analizar el efecto del tratamiento y los valores obtenidos en los distintos tiempos de tratamiento. Para las comparaciones entre los pacientes antes del tratamiento y los controles sanos se utilizó la prueba t-Student. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico Graphpad Prism 6. Se consideraron valores de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativos.

# IV.RESULTADOS

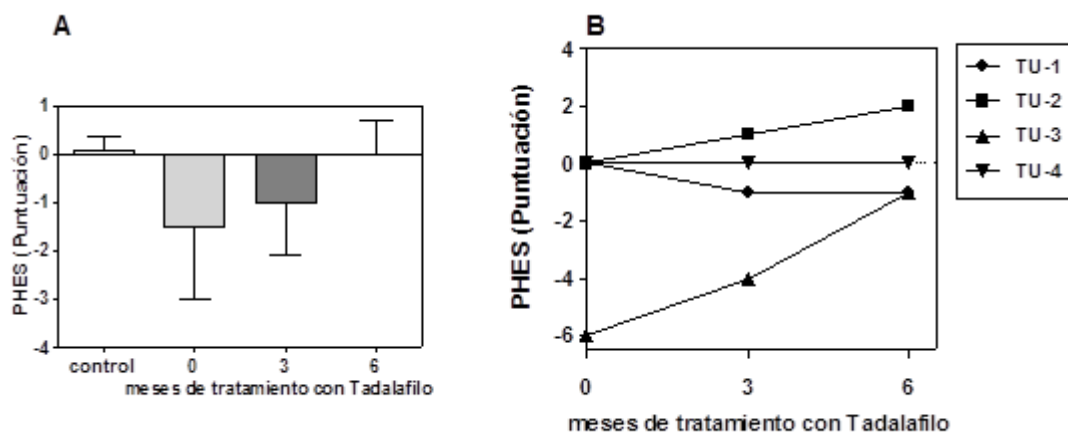


## **1. Estudio de alteraciones neurológicas en pacientes con Hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil (HBP-DE)**

### 1.1. Diagnóstico de deterioro neurológico leve en pacientes con HBP-DE

Para evaluar si los pacientes con BP-DE presentaban deterioro neurológico se utilizó la batería de cinco tests psicométricos PHES (Psychometric Hepatic Encephalopathy Score). Para obtener una puntuación global del PHES se introduce la puntuación de cada test, la edad y nivel de estudios del sujeto en una aplicación informática disponible en [www.redeh.org](http://www.redeh.org), que proporciona una puntuación global del PHES. Se consideran pacientes con deterioro neurológico leve los que obtienen una puntuación menor o igual a -4. Los pacientes con HBP-DE presentaban una puntuación menor en el PHES ( $-1.5 \pm 1.50$ ) que los controles ( $0.1 \pm 0,2$ ) antes del tratamiento (Figura R1. A Y Tabla R1). A los 3 meses de tratamiento con Cialis 5mg las medias de las puntuaciones en el PHES se acercaban más a los niveles normales ( $-1 \pm 1$ ), y al final del tratamiento (6 meses) los resultados del PHES se normalizaron totalmente ( $0 \pm 0.7$ ) (Figura R1.A y tabla R1). Uno de los

pacientes (TU-3) obtuvo una puntuación de -6 antes del tratamiento (Figura R1.B), por lo que este paciente presentaba un leve deterioro neurológico según esta batería de tests psicométricos. Después de 3 meses de tratamiento con Cialis 5mg este paciente mejoró este resultado (PHES = -4) y a los 6 meses de tratamiento obtuvo valores normales (PHES = -1). En cuanto a los otros 3 pacientes, todos ellos presentaban valores normales antes del tratamiento, llegando a mejorar la puntuación en el PHES en uno de ellos (TU-2) no observándose cambios significativos en los otros dos casos (Figura R1.B)



**Figura R1. Puntuación global en la batería de tests psicométricos PHES para el diagnóstico de deterioro neurológico leve. A.** Valores de la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12, HBP=4), antes del tratamiento (0) y tras 3 y 6 meses de tratamiento con Tadalafilo. **B.** Valores individuales de cada paciente antes del tratamiento (0) y tras 3 y 6 meses de tratamiento con Tadalafilo.

Como se ha mencionado en el apartado de Material y métodos, la batería PHES consta de 5 sub-tests que evalúan diferentes dominios cognitivos. Además de la puntuación global en el PHES, también consideramos las puntuaciones obtenidas en cada sub-test de esta batería con el fin de estudiar si algún dominio cognitivo en particular podría estar más afectado en los pacientes y si el tratamiento podría estar mejorando el deterioro observado.

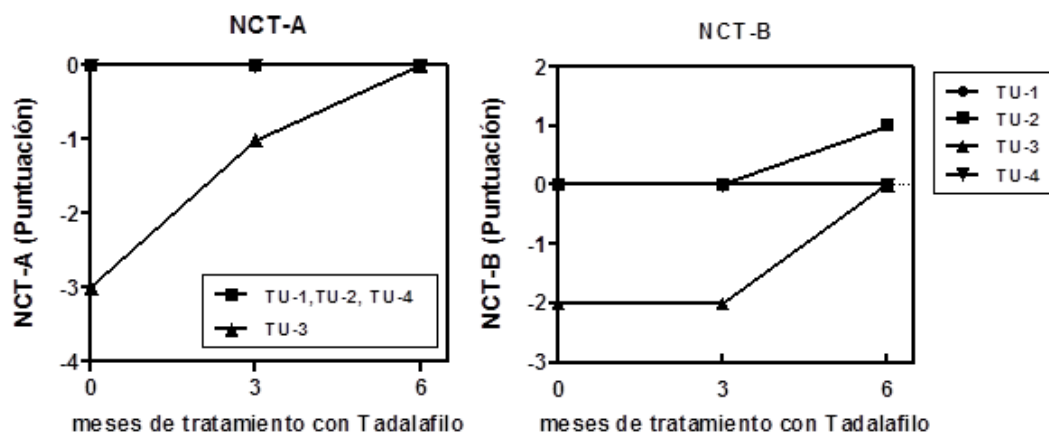
En la Tabla R1 se muestra la puntuación global del PHES, así como las obtenidas en cada uno de los tests de esta batería de tests psicométricos. Las medias de los tests de Conexión numérica A y B (NCT-A y NCT-B) así como del test de Línea quebrada en los pacientes HBP-DE antes del tratamiento eran más bajas que las de los controles, indicando un leve deterioro en funciones como la atención y coordinación. Los valores de NCT-A y NCT-B se normalizaron después del tratamiento, indicando una mejoría en la atención, mientras que la coordinación no parece afectada (Tabla R1).

**Tabla R1. Puntuación global en el PHES y puntuación de cada uno de los tests de la batería PHES en controles y en pacientes HBP-DE antes y después del tratamiento con Tadalafilo**

<b>GRUPO/TEST</b>	<b>CONTROL</b>	<b>HBP-DE (antes del tratamiento)</b>	<b>HBP-DE (3 meses)</b>	<b>HBP-DE (6 meses)</b>
<b>PHES (puntuación global)</b>	0,1 ± 0,2	-1,5 ± 1,50	-1 ± 1	0 ± 0,7
<b>SÍMBOLOS Y DÍGITOS</b>	-0,16 ± 0,16	0,00 ± 0,00	-0,25 ± 0,25	0,00 ± 0,00
<b>CONEXIÓN NUMÉRICA A</b>	0,16 ± 0,11	-0,75 ± 0,75	-0,25 ± 0,25	0,00 ± 0,00
<b>CONEXIÓN NUMÉRICA B</b>	0,08 ± 0,08	-0,50 ± 0,50	-0,50 ± 0,50	0,25 ± 0,25
<b>PUNTOS SERIADOS</b>	-0,08 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<b>LÍNEA QUEBRADA</b>	0,08 ± 0,08	-0,25 ± 0,25	0,00 ± 0,40	-0,25 ± 0,4

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE antes del tratamiento con Cialis 5mg y a los 3 y 6 meses de tratamiento.

El paciente (TU-3) que obtuvo una puntuación en el PHES de -6 antes del tratamiento (Figura R1.B), presentaba peores puntuaciones en los tests NCT-A (-3) y NCT-B (-2) que en los demás sub-tests del PHES. Después de 6 meses de tratamiento con Cialis 5mg este paciente mejoró notablemente estos resultados llegando a presentar valores normales (NCT-A = 0 y NCT-B = 0) indicando una mejora en las funciones de atención (Figura R2), mientras que los sub-tests que evalúan coordinación (Test de puntos seriados y de Línea quebrada) no cambiaban con el tratamiento.



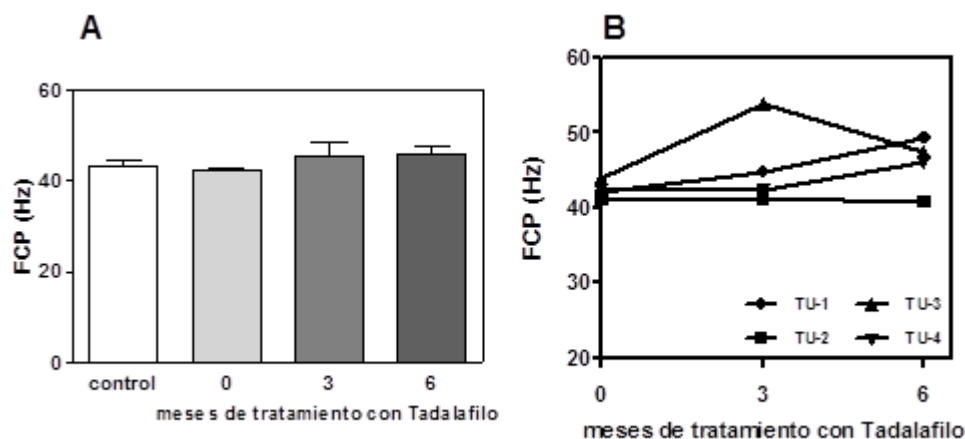
**Figura R2. Puntuación de los tests psicométricos NCT-A (Test de conexión numérica A) y NCT-B (Test de conexión numérica B) del PHES. Se muestran los valores individuales de los pacientes con HBP-DE antes del tratamiento (0) y tras 3 y 6 meses de tratamiento con Tadalafilo.**

En base a los resultados obtenidos en la batería PHES, podemos decir que los pacientes con HBP van mejorando tomando el Cialis de 5mg. A lo largo de la tesis vamos a presentar los resultados de estos pacientes y los de los controles sanos sin enfermedad HBP-DE.

También se determinó la frecuencia crítica de parpadeo (FCP) con el Hepatonorm®, que mide la frecuencia (Hz) a la que el sujeto detecta el cambio de continua a parpadeante de una luz de frecuencia decreciente.

La frecuencia crítica de parpadeo en los pacientes con HBP-DE era igual

que en los controles antes del tratamiento, y mejoraba ligeramente con el tratamiento, aunque no era estadísticamente significativa esta mejora.



**Figura R3.** Los pacientes con HBP-DE presentan una ligera mejora de la Frecuencia Crítica de Parpadeo (Hz) con el tratamiento. **A.** Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles  $n=10$ , con HBP  $n=4$ ). **B.** Valores individuales de cada paciente antes del tratamiento (0) y tras 3 y 6 meses de tratamiento con Tadalafilo.

## 1.2. Evaluación de la coordinación motora en controles y pacientes con

### HBP-DE: Coordinación Bimanual y Visuomotora

Se analizó la coordinación motora en pacientes y sujetos control utilizando los Tests de coordinación Bimanual y de coordinación Visuomotora.

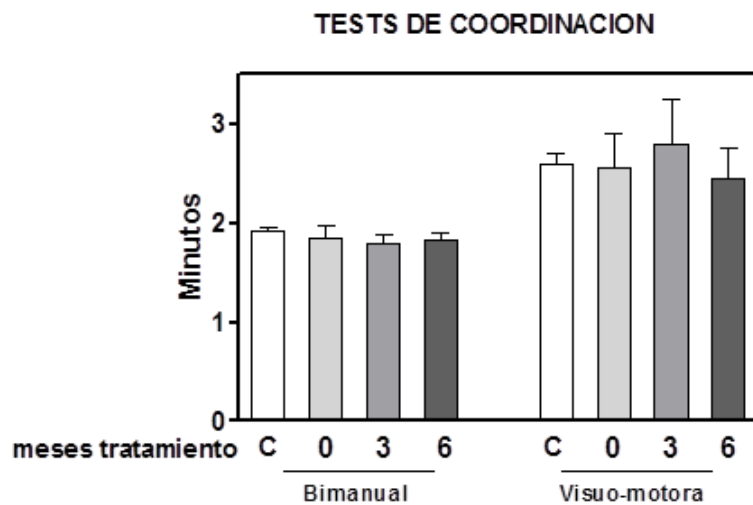
En el test de coordinación Bimanual los pacientes con HBP-DE emplearon un tiempo similar (expresado en minutos) al de los sujetos

control (Tabla R2 y Figura R3). Un resultado similar se observa en el caso del test de coordinación Visuo-motora, no observándose en ninguno de los dos casos un efecto estadísticamente significativo del tratamiento en los pacientes con HBP-DE (Tabla R2 y Figura R3).

**Tabla R2. Evaluación de la coordinación Bimanual y la Visuomotora en controles y pacientes con HBP-DE**

<b>GRUPO/TEST</b>	<b>CONTROL</b>	<b>HBP-DE (antes del tratamiento)</b>	<b>HBP-DE (3 meses)</b>	<b>HBP-DE (6 meses)</b>	<b>ANOVA (P)</b>
<b>Coord. Bimanual (Tiempo en min)</b>	1,90 ± 0,05	1,86 ± 0,11	1,80 ± 0,08	1,83 ± 0,08	ns
<b>Coord. Visuomotora (Tiempo en min)</b>	2,59 ± 0,11	2,57 ± 0,33	2,79 ± 0,45	2,44 ± 0,3	ns

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE en los tests de coordinación Bimanual y Visuomotora. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way* ANOVA de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. ns, no significativo.



**Figura R3. Los pacientes con HBP-DE no presentan cambios en la coordinación Bimanual y Visuomotora con respecto a los controles ni tras tratamiento con Tadalafilo.** Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados: 12 controles (C) y 4 pacientes con BHP-DE (0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses. El resultado se expresa en minutos que emplean los sujetos en realizar la tarea.

### 1.3. Estudio de alteraciones cognitivas en pacientes con HBP-DE

#### 1.3.1. Atención selectiva: Test de STROOP

En este test se evaluó la atención selectiva de los pacientes y sujetos control. Los pacientes con HBP-DE antes del tratamiento presentaban medias ligeramente inferiores en las tres tareas que componen el Test Stroop (Congruente:  $106 \pm 13$ ; Neutra:  $77 \pm 10$ ; Incongruente:  $41 \pm 2$ ) con respecto a los controles sanos (Congruente:  $110 \pm 4$ ; Neutra:  $79 \pm$



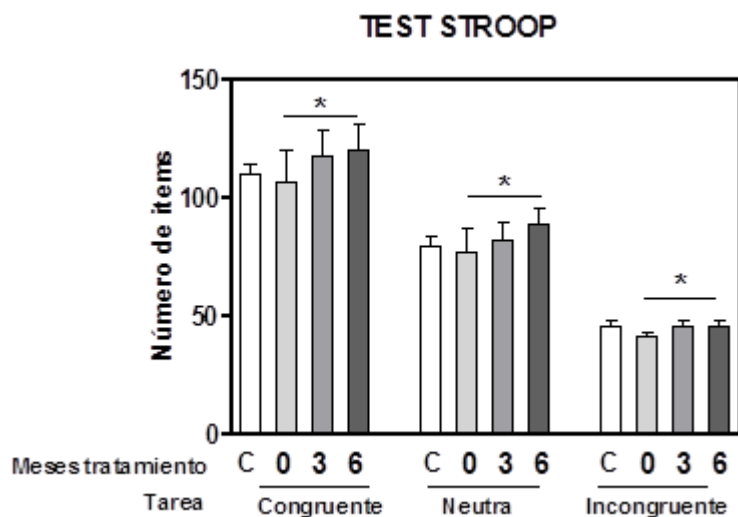
4; Incongruente:  $45 \pm 2$ ) aunque estas disminuciones no llegaban a ser estadísticamente significativas (Tabla R3 y Figura R4).

Se analizó el efecto del tratamiento con Tadalafilo mediante un análisis One-way ANOVA de medidas repetidas y observamos que el tratamiento con Tadalafilo mejoró significativamente los resultados obtenidos en las tareas Neutra ( $p=0.016$ ) e Incongruente ( $p=0.04$ ), llegando a ser casi significativos los resultados con Tadalafilo en la tarea Congruente ( $p=0.05$ ) (Tabla R3 y Figura R4). Además, al realizar un análisis post-hoc de Tukey para comparar los resultados obtenidos en cada tiempo de tratamiento con los anteriores al tratamiento se encontró que en la tarea Neutra del Test Stroop los resultados obtenidos al final del tratamiento con Tadalafilo (6 meses) eran significativamente más altos que antes del tratamiento ( $p<0.05$ ) (Tabla R3).

GRUPO/TEST	CONTROL	HBP-DE (antes del tratamiento)	HBP-DE (3 meses)	HBP-DE (6 meses)	ANOVA (P)
Tarea Congruente	110 ± 4	106 ± 13	117 ± 11	119 ± 11	0,05
Tarea Neutra	79 ± 4	77 ± 10	81 ± 8	88 ± 7*	0,016
Tarea Incongruente	45 ± 2	41 ± 2	45 ± 3	45 ± 3	0,04

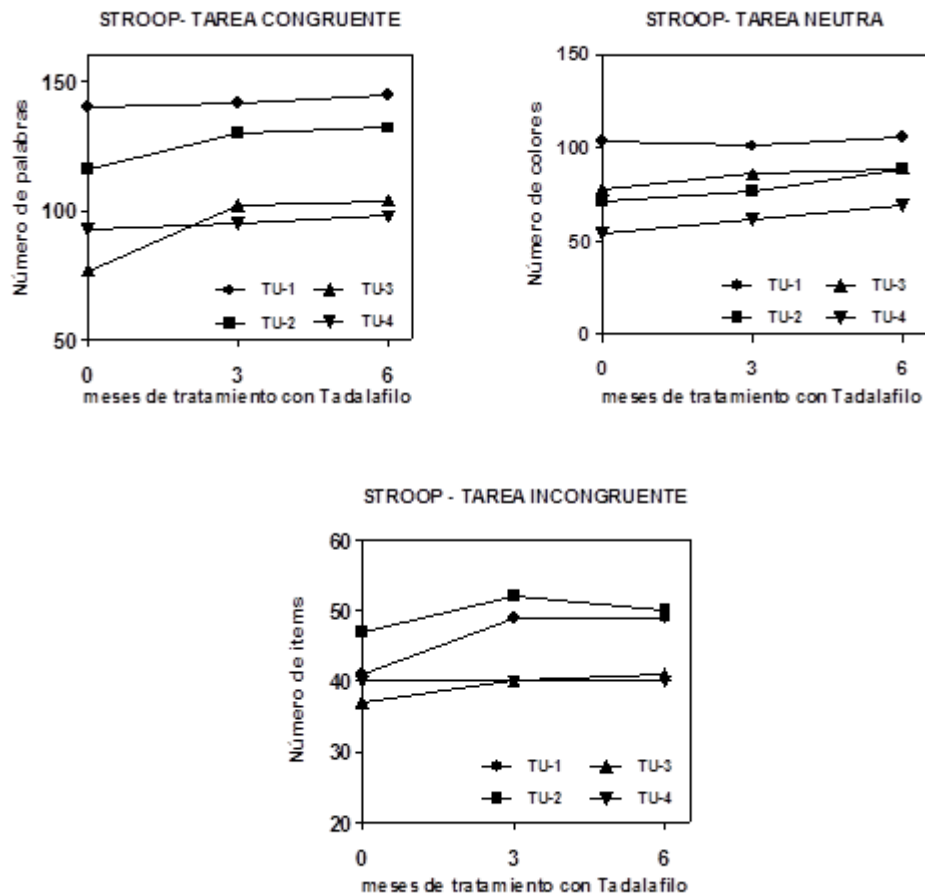
**Tabla R3. Evaluación de la atención selectiva mediante el test Stroop en controles y pacientes con HBP-DE**

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE en las tres tareas del Test Stroop, y se expresan como número de palabras leídas (Tarea Congruente), número de colores nombrados (Tarea Neutra) y número de ítems realizados (Tarea Incongruente) en 45 segundos. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way* ANOVA de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. Los valores significativamente diferentes obtenidos al final del tratamiento (6 meses) con respecto a los de antes del tratamiento se indican con asteriscos (\* $p < 0,05$ ).



**Figura R4. Los pacientes con BHP-DE presentan una mejora significativa en las tareas del Test Stroop tras el tratamiento con Tadalafilo.** Los valores son la media ± SEM del número de sujetos estudiados: 12 controles sanos, (C) y 4 pacientes con BHP-DE (0: antes del tratamiento; 3: después

de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses). Los valores se expresan como número de palabras leídas (Tarea Congruente), número de colores nombrados (Tarea Neutra) y número de ítems realizados (Tarea Incongruente) en 45 segundos. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba de *One-way* ANOVA de medidas repetidas. La *P* global se indica con asteriscos (\* $P < 0.05$ ).



**Figura R5. Valores individuales de las tareas del Test Stroop de los pacientes con HBP-DE y efecto del tratamiento con Tadalafilo.** 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses. Los valores se expresan como número de palabras leídas (Tarea Congruente), número de colores nombrados (Tarea Neutra) y número de ítems realizados (Tarea Incongruente) en 45 segundos.

Considerando los pacientes con HBP-DE de forma individual (Figura R5) observamos que el paciente TU-3, que obtuvo el peor resultado en la batería PHES realizó peor la tarea congruente (77 palabras), leyendo menos palabras que los controles ( $110 \pm 4$ ) y que los otros pacientes. En la tarea Neutra obtuvo un resultado similar al de los demás pacientes mientras que en la tarea Incongruente, que es una medida de la inhibición de la respuesta involuntaria, fue el que presentó los peores resultados con respecto a los demás pacientes. Sin embargo, el tratamiento con Tadalafilo mejoró notablemente los resultados en este test, indicando una mejora en la atención selectiva con respecto a la de antes del tratamiento.

### 1.3.2. Atención selectiva/sostenida y concentración: Test d2

El test d2 evalúa la atención selectiva y sostenida y el grado de concentración y flexibilidad mental de un sujeto.

En todos los parámetros analizados el resultado fue similar: no hay diferencias significativas entre los pacientes con HBP-DE antes del tratamiento con Tadalafilo con respecto a los controles sanos, pero se

observa una mejor realización del test después del tratamiento con Tadalafilo (Tabla R4 y Figura R6).

En el total de respuestas (TR) los pacientes con HBP-DE marcan menos ítems antes del tratamiento ( $435 \pm 45$ ) que al finalizar éste ( $464 \pm 39$ ;  $p < 0.05$ ). Al finalizar el tratamiento, los pacientes realizaron un mayor número de aciertos (TA) ( $181 \pm 18$ ) que antes de ser tratados ( $169 \pm 20$ ), siendo este aumento estadísticamente significativo ( $p < 0.01$ ). Además, el número de aciertos al finalizar el tratamiento era también significativamente mayor que a los tres meses de tratamiento ( $p < 0.05$ ) (Tabla R4 y Figura R6).

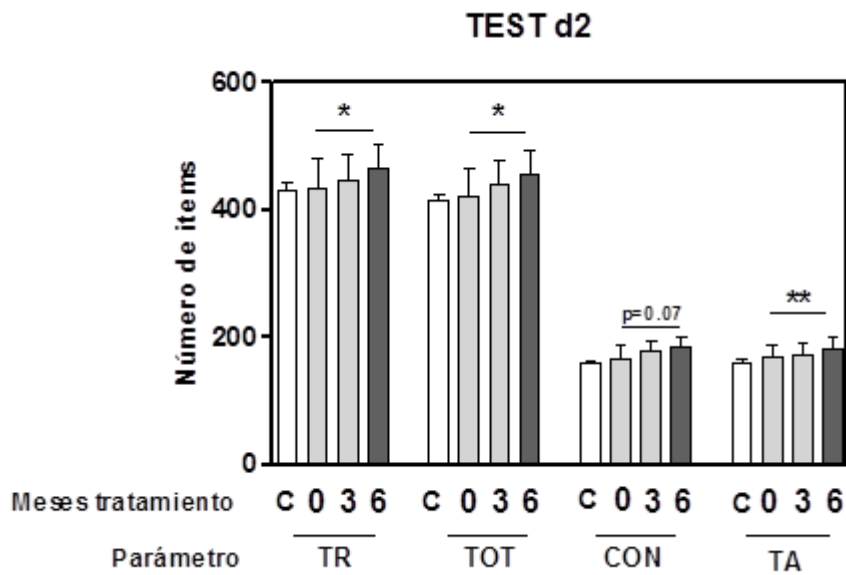
En cuanto a la efectividad de la tarea (TOT) también había un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de la efectividad para realizar la tarea d2 en los pacientes después del tratamiento ( $455 \pm 38$  vs  $421 \pm 45$ ).

El parámetro CON es una medida de la concentración. Los pacientes no llegan a tener un aumento significativo en la concentración después del tratamiento, pero presentaban una tendencia al aumento ( $p = 0.07$ ) (Tabla R4 y Figura R6).

**Tabla R4. Evaluación de la atención selectiva/sostenida y concentración mediante el test d2 en controles y pacientes con HBP-DE**

GRUPO/PARAMETRO	CONTROL	HBP-DE (antes del tratamiento)	HBP-DE (3 meses)	HBP-DE (6 meses)	ANOVA (P)
TR	431 ± 11	435 ± 45	447 ± 40	464 ± 39*	0,046
TOT	414 ± 11	421 ± 45	440 ± 40	455 ± 38*	0,05
CON	159 ± 6	166 ± 21	178 ± 16	184 ± 16	0,07
TA	162 ± 5	169 ± 20	173 ± 18	181 ± 18** <sup>a</sup>	0,004

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE en los cuatro parámetros del Test d2 considerados. TR (Total de respuestas marcadas) es una medida de la velocidad de procesamiento y cantidad de trabajo realizado; TA (Total de aciertos); TOT (Total de ítems realizados menos los errores) mide la efectividad en la realización de la tarea; CON es una medida de la concentración. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way* ANOVA de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. Los valores significativamente diferentes obtenidos al final del tratamiento (6 meses) con respecto a los de antes del tratamiento se indican con asteriscos (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0.01$ ) y con respecto a los 3 meses de tratamiento se indican con <sup>a</sup>  $p < 0.05$ .



**Figura R6. Los pacientes con BHP-DE presentan una mejora en la atención sostenida y concentración evaluadas mediante la realización del test d2.** Los pacientes con HBP-DE presentan un mayor número de respuestas realizadas (TR), una mayor efectividad total en la tarea (TOT), una mayor capacidad de concentración (CON) y mayor número de aciertos (TA) después del tratamiento con Tadalafilo. Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (C, Control n=12, HBP-DE n=4). 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba de *One-way* ANOVA de medidas repetidas. La *P* global se indica con asteriscos (\* $P$ <0.05; \*\* $P$ <0.01). TR (Total de respuestas marcadas) es una medida de la velocidad de procesamiento y cantidad de trabajo realizado; TA (Total de aciertos); TOT (Total de ítems realizados menos los errores) mide la efectividad en la realización de la tarea; CON es una medida de la concentración.

### 1.3.3. Test Oral de Claves

En este test se evaluó la capacidad de asociar un símbolo a un número, requiriendo funciones cognitivas como atención, velocidad de procesamiento mental y, en menor medida, memoria.

Considerando las medias de símbolos asociados en el tests (Totales) y el número de aciertos, los pacientes con HBP-DE no se diferenciaban significativamente los controles ( $45 \pm 9$  vs  $50 \pm 1$ ) (Tabla R5). Tampoco se observaba un efecto significativo del tratamiento (Tabla R5 y Figura R7).

Hay que destacar los resultados obtenidos con el paciente TU-3, que presentaba peores resultados en la batería PHES: este paciente presentaba una velocidad de procesamiento claramente disminuida, pues antes del tratamiento solo consiguió asociar 22 símbolos, con un 87% de aciertos, mientras que los demás pacientes asociaban una media de  $54 \pm 2$  símbolos, con un 100% de aciertos. Aunque este paciente mejoró el resultado tras el tratamiento (27 símbolos y 89% de aciertos) no llega a recuperar los niveles normales de un control sano (Figura R8).



Tabla R5. Evaluación de la velocidad de procesamiento mental mediante el test Oral de Claves en controles y pacientes con HBP-DE

GRUPO/PARAMETRO	CONTROL	HBP-DE (antes del tratamiento)	HBP-DE (3 meses)	HBP-DE (6 meses)	ANOVA (P)
Símbolos Totales	50 ± 1	46 ± 8	47 ± 7	46 ± 7	ns
Aciertos	49 ± 2	45 ± 9	45 ± 8	45 ± 7	ns

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE en los dos parámetros del Test Oral de Claves considerados. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way ANOVA* de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. ns, no significativo.

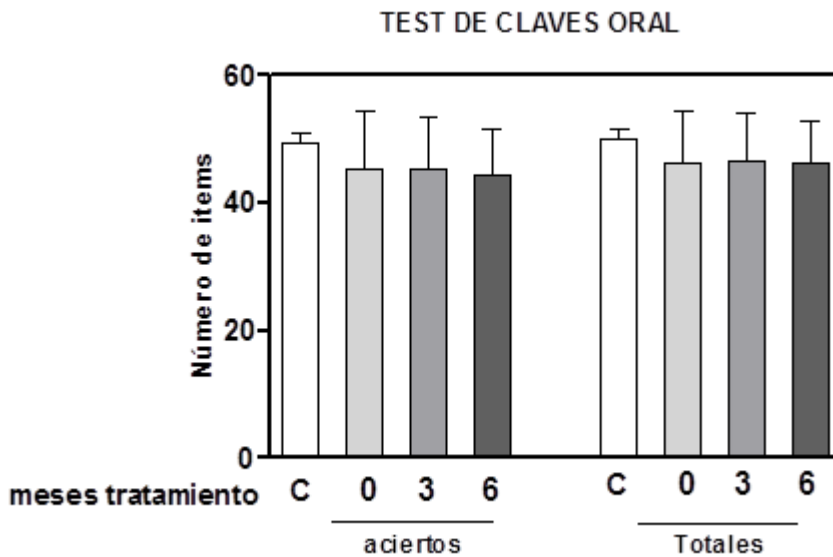


Figura R7. Los pacientes con HBP-DE no presentan alteraciones en la velocidad de procesamiento evaluada con el Test Oral de Claves. Los valores son la media ± SEM del número total de símbolos asociados en el test (Totales) y del número de aciertos. C: controles sanos (n=12); pacientes con HBP-DE (n=4) antes del tratamiento (0), a los tres meses de Tadalafilo (3) y al final del tratamiento de 6 meses (6).

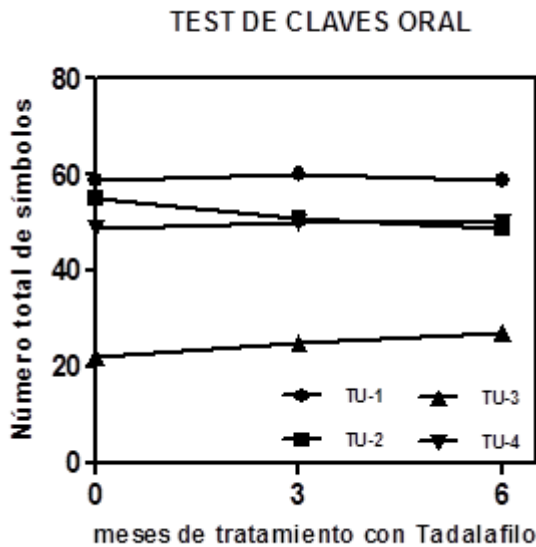


Figura R8. Uno de los pacientes con HBP-DE muestran un déficit de atención y velocidad de procesamiento evaluados con el Test Oral de Claves que no llega a recuperarse con el tratamiento.

#### 1.3.4. Test Oral de Dígitos (Directo e Inverso)

Esta prueba mide la memoria a corto plazo. Se basa en la memorización de una serie de números y su posterior repetición, por lo que también requiere atención.

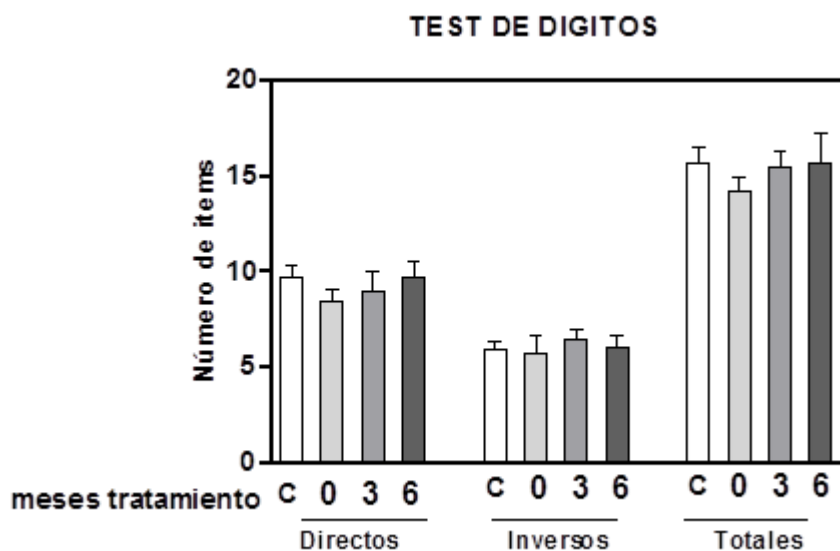
El resultado global del test es la suma de series completadas en las dos pruebas (Dígitos Directos e Inversos) y no mostró disminución significativa en el número de series totales memorizadas correctamente en los pacientes con HBP-DE ( $14.2 \pm 0.7$ ) en comparación con los controles ( $15.7 \pm 0.9$ ) (Tabla R6 y Figura R9).

En la prueba de Dígitos Directos hubo una disminución no significativa en el número de series que los pacientes con HBP-DE ( $8.5 \pm 0.4$ ) fueron capaces de memorizar y repetir correctamente comparado con los controles ( $9,7 \pm 0,6$ ), siendo no significativas las diferencias al finalizar el tratamiento con Tadalafilo (Tabla R6 y Figura R9). En la prueba de Dígitos Inversos, que presenta un mayor grado de dificultad, tampoco se observaron diferencias significativas de los pacientes con respecto a los controles no tampoco se observó efecto significativo del tratamiento.

Tabla R6. Evaluación de la memoria a corto plazo mediante el test Oral de Dígitos directos e Inversos y el test Oral de Letras y Números en controles y pacientes con HBP-DE

GRUPO/PARAMETRO	CONTROL	HBP-DE (antes del tratamiento)	HBP-DE (3 meses)	HBP-DE (6 meses)	ANOVA (P)
<b>Test Oral de Dígitos</b>					
Dígitos Directos	$9,7 \pm 0,6$	$8,5 \pm 0,6$	$9 \pm 1$	$9,8 \pm 0,8$	ns
Dígitos Inversos	$5,9 \pm 0,4$	$5,7 \pm 1$	$6,5 \pm 0,5$	$6 \pm 1$	ns
Dígitos Totales	$15,7 \pm 0,9$	$14,2 \pm 0,7$	$15,5 \pm 0,8$	$15,7 \pm 1,5$	ns
<b>Test Oral de Letras y Números</b>					
Nº de Dígitos correctos	$10,2 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,8^{**}$	$9,2 \pm 0,8$	$8,7 \pm 0,6$	ns

Los valores son la media  $\pm$  SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE en los parámetros de los Test Orales de Dígitos Directos/Inversos y de Letras y Números. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way* ANOVA de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. ns, no significativo. Los valores estadísticamente significativos con respecto al grupo control se analizaron mediante *t-Student*, y se indican con asteriscos: (\*\* $p < 0.01$ ).



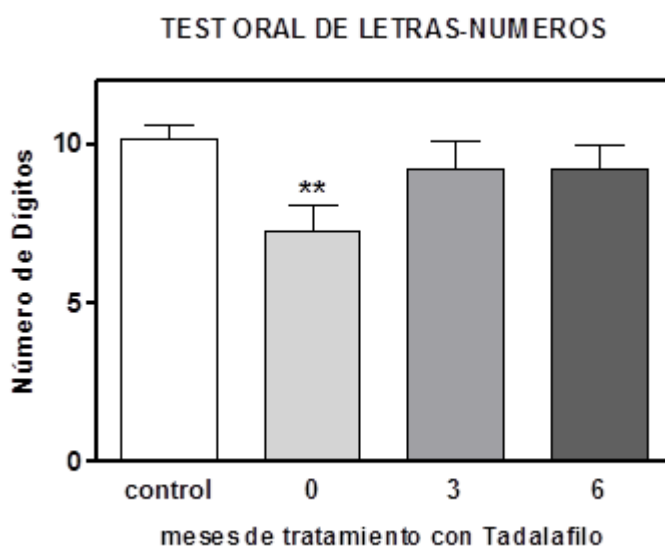
**Figura R9. Evaluación del tratamiento con Tadalafilo sobre la memoria a corto plazo evaluada con el Test Oral de Dígitos.** Los pacientes con HBP memorizan un menor número de series numéricas, tanto en la prueba directa como en el número total de Dígitos con respecto a los controles, aunque no llega a ser estadísticamente significativo. Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12, pacientes HBP-DE n=4). 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses.

### 1.3.5. Test Oral de Letras y Números

Esta prueba es una variante del test Oral de Dígitos, en la que aumenta el nivel de complejidad, ya que las series contienen números y letras, que se deben memorizar y a su vez ordenar las letras por orden

alfabético y los números de menor a mayor, requiriendo mayor atención y concentración. El resultado fue un menor número de series memorizadas correctamente por los pacientes con HBP-DE ( $7.2 \pm 0,8$ ;  $p < 0.001$ ) comparado con los controles ( $10.2 \pm 0.4$ ) (Tabla R6 y Figura R10).

Esta disminución parece reestablecerse cuando los pacientes son tratados con tadalafilo (tabla R6 y figura R10).



**Figura R10.** Los pacientes con HBP-DE presentan un déficit en atención y concentración evaluada con el Test Oral de Letras y Números que se restablece con el tratamiento con Tadalafilo. Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles  $n=12$ , pacientes HBP-DE  $n=4$ ). 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses. Los valores significativamente diferentes con respecto al grupo control se indican con asteriscos (\*\* $p < 0.01$ ).

## 2. Análisis de las alteraciones bioquímicas en pacientes con Hiperplasia Benigna de Próstata y disfunción eréctil

### 2.1. Nitratos/Nitritos en plasma

Los niveles de Nitratos + Nitritos en plasma presentan una tendencia al aumento en los pacientes con HBP-DE ( $39.5 \pm 8 \mu\text{M}$ ) frente a los controles ( $30 \pm 2 \mu\text{M}$ ), aunque no llegan a ser estadísticamente significativos. A los tres meses de tratamiento con Tadalafilo estos niveles se restablecen hasta llegar a los valores de los sujetos control y se mantuvieron hasta finalizar el tratamiento a los seis meses. (Figura R11 y Tabla R7)

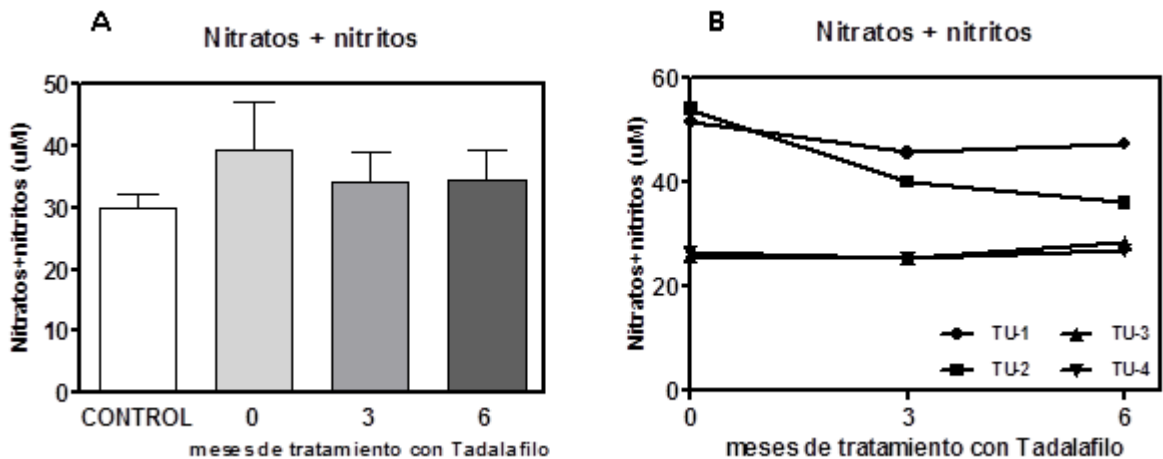


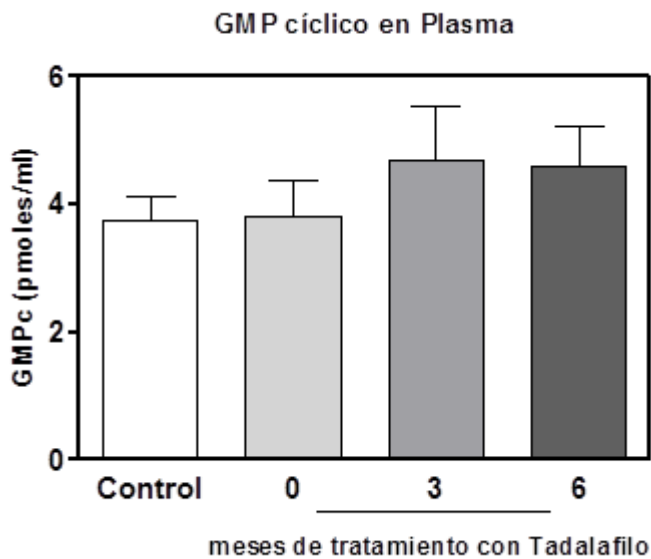
Figura R11. Los niveles de Nitratos+nitritos en plasma están aumentados en los pacientes con HBP-DE pero se normalizan con el tratamiento con Tadalafilo. **A.** Valores de la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12; pacientes con HBP-DE n=4). **B.** Valores individuales de Nitratos + nitritos de los pacientes con HBP-DE. 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses.

Si consideramos los valores individuales de Nitratos + Nitritos en plasma de cada paciente (Figura R11-B) se observa que dos de ellos presentaban niveles altos de Nitratos + Nitritos en plasma que disminuían al ser tratados con Tadalafilo. Los pacientes que presentaban niveles normales de estos metabolitos no presentaban cambios en estos niveles con el tratamiento.

## **2.2. GMPc plasmático**

Los niveles de GMPc en plasma en los pacientes HBP-DE antes del tratamiento eran de  $3.8 \pm 0.6$  pmoles/ml, no diferenciándose de los valores obtenidos para los controles sanos, que eran de  $3.7 \pm 0.4$  pmoles/ml (Tabla R7 y Figura R12).

Aunque los cambios no llegan a ser significativos, el tratamiento con Tadalafilo tiende a aumentar el nivel de GMPc en plasma ya a los tres meses de tratamiento ( $4.7 \pm 0.8$  pmoles/ml). Este aumento parece mantenerse al finalizar los 6 meses de tratamiento con Tadalafilo ( $4.5 \pm 0.8$  pmoles/ml) (Tabla R7 y Figura R12).



**Figura R12.** Los niveles de GMPc en plasma están aumentados en los pacientes con HBP-DE después del tratamiento con Tadalafilo. Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12; pacientes con BHP-DE n=4). 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con Tadalafilo; 6: al finalizar el tratamiento de 6 meses.

### 2.3. Niveles de GMPc linfocitos

Los niveles de GMPc en linfocitos de pacientes HBP-DE antes del tratamiento eran de  $0.186 \pm 0.024$  pmol/mg de proteína, siendo estos valores menores que los controles ( $0.286 \pm 0.06$  pmol/mg de prot.) aunque no llegaban a diferenciarse significativamente (Tabla R7 y Figura R13). A los tres meses de tratamiento el nivel basal de GMPc en

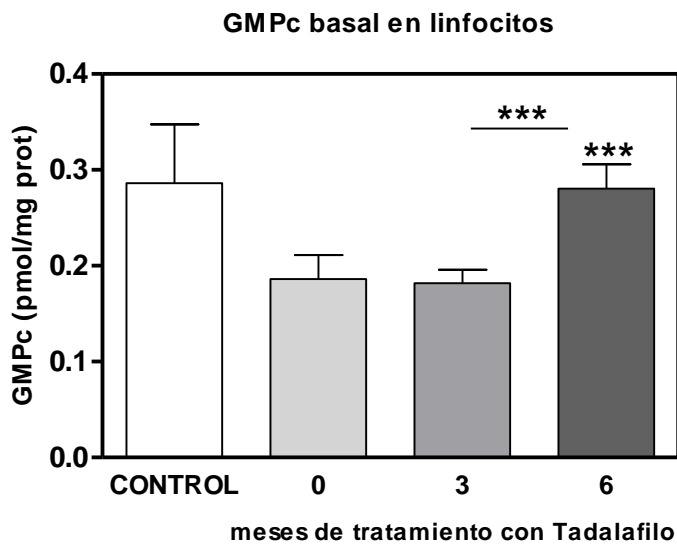


linfocitos de pacientes HBP-DE no cambió ( $0.182 \pm 0.014$  pmol/mg de prot.) pero al finalizar el tratamiento de 6 meses con Tadafilo los niveles se recuperaron significativamente ( $0.280 \pm 0.025$  pmol/mg de prot.) llegando a alcanzar los niveles de los controles sanos (Tabla R7 y Figura R13).

GRUPO/PARAMETRO	CONTROL	HBP-DE (antes del tratamiento)	HBP-DE (3 meses)	HBP-DE (6 meses)	ANOVA (P)
Nitratos + Nitritos	$30 \pm 2$	$39 \pm 7$	$34 \pm 5$	$35 \pm 5$	ns
GMP cíclico en plasma (pmoles/ml)	$3,7 \pm 0,4$	$3,8 \pm 0,6$	$4,7 \pm 0,8$	$4,5 \pm 0,8$	ns
GMP cíclico en linfocitos (pmoles/mg prot.)	$0,286 \pm 0,06$	$0,186 \pm 0,024$	$0,182 \pm 0,014$	$0,280 \pm 0,025$ <sub>a,b</sub>	$P < 0.001$
IL-6 en suero (pg/ml)	$5,5 \pm 0,3$	$5,7 \pm 0,1$	$5,6 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,2$	ns
IL-18 en suero (pg/ml)	$191 \pm 16$	$189 \pm 11$	$150 \pm 17$	$144 \pm 23$	ns

**Tabla R7. Evaluación de parámetros relacionados con el metabolismo del nitrógeno (nitratos y nitritos, GMP cíclico) y de parámetros de inflamación (Interleuquinas IL-6 e IL-18) en controles y pacientes con HBP-DE.**

Los valores son la media  $\pm$  SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba *One-way* ANOVA de medidas repetidas con análisis *post-hoc* Tukey para comparar los diferentes tiempos del tratamiento con Tadalafilo. ns, no significativ Los valores significativamente diferentes con respecto a antes del tratamiento se indican <sup>a</sup> $p < 0,001$ . Los valores significativamente diferentes con respecto a los 3 meses se indican con <sup>b</sup> $p < 0,001$



**Figura R13. Los niveles de GMPc en plasma están aumentados en los pacientes con HBP-DE después del tratamiento con Tadalafilo.** Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12; pacientes con BHP-DE n=4). 0: antes del tratamiento; 3: después de 3 meses de tratamiento con tadalafilo; 6 al finalizar el tratamiento de 6 meses. Se analizó el efecto del tratamiento mediante una prueba One-way ANOVA de medidas repetidas con análisis post-hoc Turkey para comparar los diferentes tiempos de tratamiento con tadalafilo \*\*\*p<0,001.

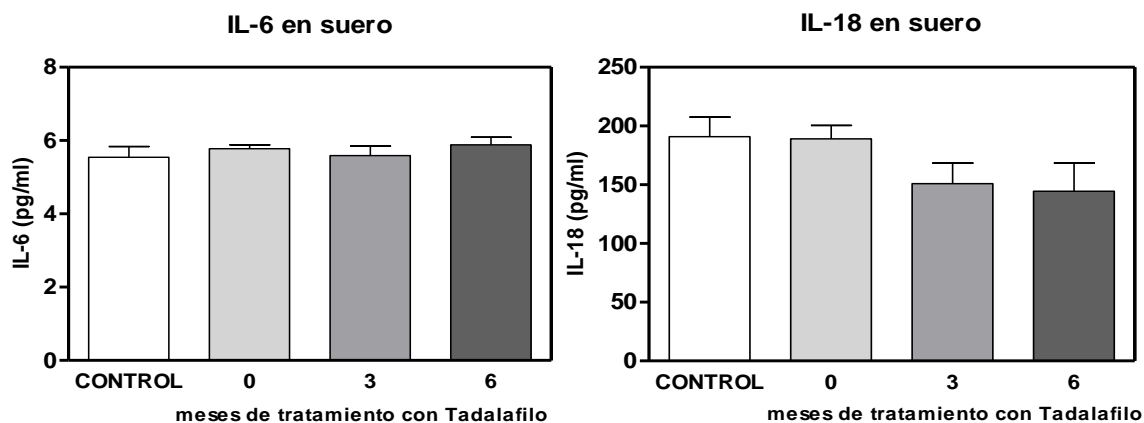
#### **2.4. Inflamación: medida de citoquinas pro-inflamatorias en suero**

Para analizar la inflamación periférica se midieron los niveles séricos de dos citoquinas pro-inflamatorias: IL-6 y IL-18.

Los pacientes con HBP-DE presentaban niveles séricos de IL-6 similares a los sujetos control. ( $5.7 \pm 0.3$  pg/ml en pacientes y  $5.5 \pm 0.1$  pg/ml en

controles). No se observaron cambios en los niveles séricos de esta citoquina tras el tratamiento con Tadalafilo (Figura R14-A y Tabla R7).

Los niveles de IL-18 en suero en los pacientes con HBP-DE eran de  $189 \pm 11$  pg/ml, similares a los del grupo control ( $191 \pm 16$  pg/ml). Sin embargo, a los tres meses de tratamiento con Tadalafilo había una tendencia a la disminución de los niveles séricos de esta citoquina ( $150 \pm 17$  pg/ml), que se mantenían más bajos incluso a los seis meses de tratamiento ( $144 \pm 23$  pg/ml) (Figura R14-B y Tabla R7).



**Figura R14. Niveles en suero de IL-6 (A) y de IL-18 (B).** Los valores son la media  $\pm$  SEM del número de sujetos estudiados (controles n=12; pacientes con HBP-DE n=4).

### **3. Estudio del mismatch negativity en controles y pacientes con Hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil (HBP-DE)**

La latencia de la onda MMN en los pacientes con HBP-DE estaba significativamente aumentada ( $267 \pm 0,5$  ms;  $p < 0.01$ ) con respecto a los controles sanos ( $223 \pm 7$  ms). Al finalizar el tratamiento de 6 meses con Tadalafilo los pacientes presentan una disminución significativa de la latencia de MMN ( $258 \pm 3$  ms;  $p < 0.05$ ), aunque sigue siendo significativamente mayor que la de los controles ( $p < 0.05$ ) (Tabla R8 y Figura R15).

<b>GRUPO/PARAMETRO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>HBP-DE (antes del tratamiento)</b>	<b>HBP-DE (6 meses)</b>
<b>Latencia (ms)</b>	223 ± 7	267 ± 0,5**	258 ± 3 <sup>a</sup>
<b>Amplitud (µV)</b>	3,5 ± 0,4	0,79 ± 0,19**	0,72 ± 0,29**
<b>Area (µV.ms)</b>	65 ± 8	22 ± 2*	36 ± 5 <sup>a</sup>

**Tabla R8. Valores de los parámetros de la onda de *mismatch negativity* en controles y en pacientes antes y después del tratamiento con Tadalafilo.**

Los valores son la media ± SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE. Las comparaciones con el grupo control y el efecto del tratamiento se analizaron mediante la prueba *t-Student*. Los valores estadísticamente significativos con respecto al grupo control se indican con asteriscos: (\* p<0.05; \*\*p<0.01). Los valores estadísticamente significativos en los pacientes antes y después del tratamiento se indican con <sup>a</sup> p<0.05

La amplitud de la onda MMN en los pacientes con HBP-DE estaba significativamente disminuida ( $0.79 \pm 0,19 \mu\text{V}$ ;  $p<0.01$ ) con respecto a los controles sanos ( $3.5 \pm 0.4 \mu\text{V}$ ). Al finalizar el tratamiento de 6 meses con Tadalafilo se mantiene esta disminución significativa de la amplitud de MMN ( $0.72 \pm 0,29 \mu\text{V}$ ;  $p<0.01$ ) (Tabla R8 y Figura R15).

El área de la onda MMN en los pacientes con HBP-DE estaba significativamente disminuida ( $22 \pm 2 \mu\text{V.ms}$ ;  $p<0.05$ ) con respecto a los

controles sanos ( $65 \pm 8 \mu\text{V}\cdot\text{ms}$ ). Al finalizar el tratamiento de 6 meses con Tadalafilo los pacientes presentan una recuperación significativa del área de MMN con respecto a antes de ser tratados ( $36 \pm 5 \mu\text{V}\cdot\text{ms}$ ;  $p < 0.05$ ), y aunque sigue siendo menor que la de los controles, esta disminución no llega a ser significativa (Tabla R8 y Figura R15). En la Figura R16 se muestra el resultado de las ondas MMN obtenidas en uno de los pacientes con HBP-DE antes y después del tratamiento.

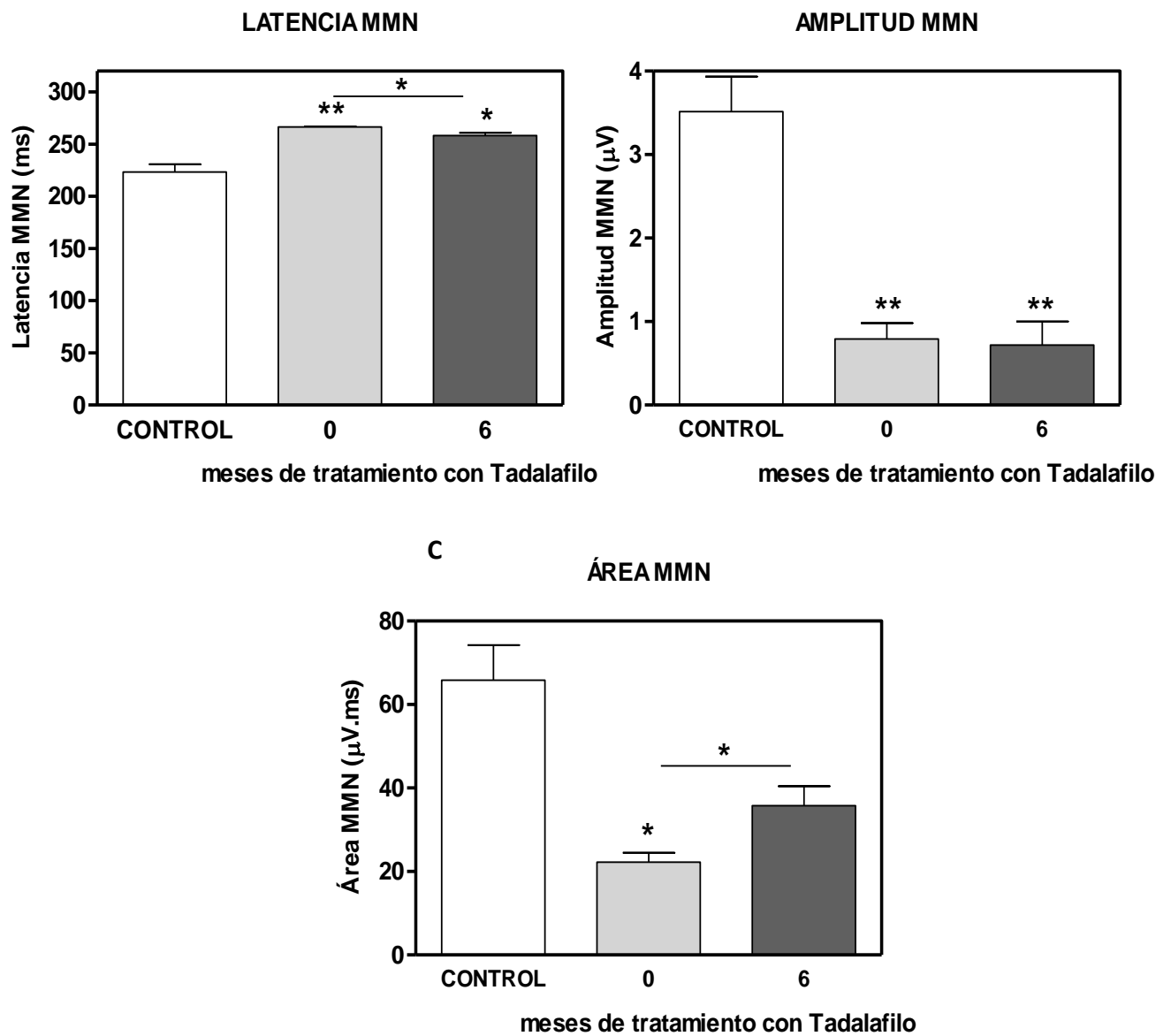
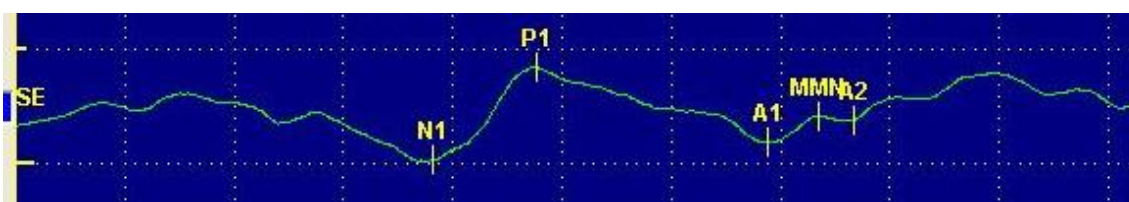


Figura R15. Valores de los parámetros de la onda de *mismatch negativity* en controles y en pacientes antes y después del tratamiento con Tadalafilo. A. Latencia. B. Amplitud. C. Área. Los valores son la media  $\pm$  SEM de 12 controles y 4 pacientes con HBP-DE. 0, antes del tratamiento; 6, al finalizar los seis meses de tratamiento con Tadalafilo. Los valores estadísticamente significativos se indican con asteriscos: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

### MMN antes del tratamiento



### MMN al finalizar los 6 meses con tratamiento con tadalafilo 5 mg.

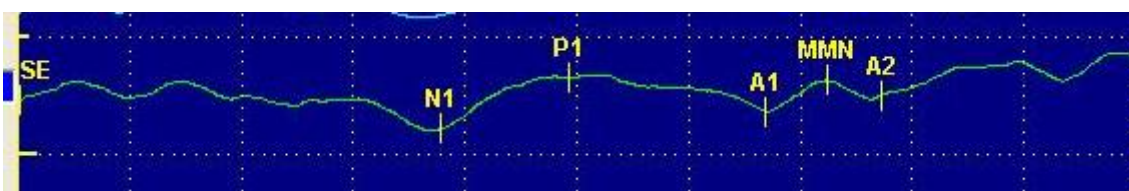


Figura R16. Ejemplo de onda MMN obtenida enantes del tratamiento con Tadalafilo uno de los pacientes con HBP-DE.

### 3. Estudio por resonancia nuclear magnética de los controles y de los pacientes con HBP y disfunción eréctil

No se encontraron alteraciones morfológicas en ninguno de los controles ni de los pacientes en tratamiento con tadalafilo 5 mg., incluidos en el estudio.



Ni inicialmente a todos los sujetos, ni al finalizar el período de observación tras el tratamiento con tadalafilo 5 mg.

# V. DISCUSSION

La hiperplasia benigna de próstata (HBP), es un proceso patológico que contribuye al desarrollo de síntomas de tracto urinario inferior (STUI) en hombres de edad avanzada (aunque no es la única causa).

Tradicionalmente se pensaba que los síntomas clínicos de la HBP se debían solamente al aumento de la resistencia uretral secundario a un efecto masa (únicamente una mera acción mecánica de obstrucción), actualmente consideramos esta visión como demasiado simplista ya que una gran parte de los STUI se deben a la disfunción del detrusor y a otros muchos procesos aún por determinar.

La HBP es una enfermedad muy frecuente que afecta en mayor o menor grado a más del 50% de los varones mayores de 50 años y que en su evolución puede condicionar una insuficiencia renal terminal, así como gran cantidad de síntomas que afectan no sólo al aparato urinario.

Asimismo ocurre con la Disfunción Eréctil (DE), que es una patología que afecta a una parte importante de la población masculina de más de 50 años y que representa un problema en la esfera sexual y también psicológica. En el siglo XIX se pensaba que la erección y la detumescencia eran procesos

meramente hemodinámicos y que el factor principal era la oclusión venosa para conseguir la erección.

Ya en el siglo XX aparecen teorías sobre la importancia del flujo arterial en la consecución de la erección, asociadas a teorías anatómicas sobre el mantenimiento de la misma (almohadillas arteriales, almohadillas arteriales y venosas, cortocircuitos arterio-venosos, etc.), pero es alrededor de 1980-90 cuando aparecen gran parte de los conocimientos actuales sobre la fisiología de la erección, como la función del músculo liso arterial y venoso, la estructura de la túnica albugínea y por supuesto, la identificación del óxido nítrico (NO) como principal neurotransmisor en la erección y de la enzima fosfodiesterasa (PDE) en la detumescencia.

Actualmente existe consenso sobre que la detumescencia después de la erección podría ser el resultado del cese de liberación de NO, la degradación del monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) por las fosfodiesterasas o la descarga simpática durante la eyaculación. Diversos autores concuerdan que el NO liberado aumenta la producción de cGMP que a su vez relaja el músculo liso cavernoso.

El NO también actúa a nivel del músculo liso prostático, así como existen a nivel prostático actividad de la óxido nítrico sintetasa, protagonizando un papel importante en el tratamiento de los STUI.

Las fosfodiesterasas catalizan la conversión de cGMP en GMP. En los mamíferos, existe la familia de las fosfodiesterasas, con un total de 11 fosfodiesterasas diferentes, codificadas por 21 genes distintos, solamente las PDE5, PDE6 y PDE9 son específicas para la hidrólisis de cGMP. Y existen numerosos datos que indican que la PDE5 es la más importante para el cese de la señal de cGMP en el cuerpo cavernoso. Es por ello que los inhibidores de la 5 fosfodiesterasa (I-PDE5), son efectivos en el tratamiento de la disfunción eréctil y de los síntomas del tracto urinario inferior.

En España existen comercializados 4 moléculas inhibidoras de la fosfodiesterasa 5, a saber: sildenafil, tadalafil, vardenafil y avanafil.

Sin embargo, solamente tadalafil 5 mg., tiene su uso aceptado en el tratamiento diario tanto para STUI como para disfunción eréctil. Esta indicación está permitida tanto por la agencia europea del medicamento como por la FDA americana y su uso para pacientes que aquejan disfunción eréctil y síntomas de tracto urinario inferior está recomendado por el comité

de expertos de las guías clínicas de tratamiento de la asociación europea de urología.

Existen estudios en modelos animales (sobre todo en modelos de ratas), en los cuales se realiza un envejecimiento cerebral acelerado parecido a la enfermedad de Alzheimer de forma experimental, en los cuales después de producir este envejecimiento con los consecuentes deterioros cognitivos, estos autores observan que tras el tratamiento durante 6 meses con sildenafil se revierte el deterioro cognitivo en el grupo tratado con sildenafil (Orejana L., *experimental gerontology*, 2013).

Tanto el cAMP y cGMP son esenciales en el cerebro para la función sináptica y la memoria, con la edad se produce un deterioro progresivo de las funciones cognitivas, el aumento de los niveles cGMP mediante inyección intraperitoneal de sildenafil durante 3 semana mejora la memoria y la relación espacial en modelos de ratas. (Palmeri A., *Behavioural Brain Research*. 2013).

Esta mejoría de los déficits cognitivos se deben en gran medida a que el sildenafil se ha demostrado que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (Garcia-Barroso C. *Neuropharmacology*, 2013).

También se ha demostrado que tadalafilo atraviesa la barrera hematoencefálica, con lo cual sería una alternativa al tratamiento con sildenafil, ya que tadalafilo tiene una vida media más larga (18 horas) y únicamente precisa una administración diaria, se consiguen niveles intracerebrales suficientemente altos para mantener los niveles de cGMP intracerebral. (Garcia-Barroso C. Neuropharmacology 2012).

Asimismo, otras enfermedades, pueden producir déficits cognitivos, tanto procesos cerebrales como enfermedades de otros órganos como es el caso de la encefalopatía hepática por cirrosis hepática.

La encefalopatía hepática es el término usado para describir las alteraciones de la función cerebral debidas a un fallo hepático. La encefalopatía hepática leve en sus estadios iniciales puede pasar desapercibida, esos mínimos síntomas se podrían obtener mediante la realización de test psicomotores, así como la determinación analítica de la amoniemia y la tirosinemia. La encefalopatía hepática disminuye el funcionamiento de la vía glutamato-óxido nítrico-cGMP, en modelos de roedores con encefalopatía hepática leve restaurando los niveles de cGMP mediante inhibidores de PDE5 mejoraban el aprendizaje. Asimismo, la hiperamoniemia secundaria al fallo hepático

aumenta la activación tónica de los receptores de NMDA, produciendo una reducción de la óxido nítrico sintetasa con la reducción consecuente de cGMP importante en los mecanismos cerebrales (Felipo V. Nature 2013).

En nuestro estudio hemos evaluado 12 controles mediante test psicométricos, test sanguíneos, mismatch negativity (MMN) y resonancia nuclear magnética (RNM) y 4 pacientes a los que se les diagnosticó HBP y disfunción eréctil según se ha comentado anteriormente en este trabajo.

La decisión de tratar a los 4 casos únicamente con tadalafilo 5 mg. Diarios se basó en que es el único tratamiento crónico con I-PDE5 autorizado por la agencia europea del medicamento para estas patologías. Incluimos en el estudio solamente pacientes que presentasen criterios diagnósticos de ambas patologías (HBP leve-moderada y DE) y que no estuviesen diagnosticados de otras patologías ni tomaran medicación alguna.

En los test psicométricos, observamos como los pacientes del grupo control inicialmente tienen una puntuación menor en el PHES que tras el tratamiento con tadalafilo mejora hasta la normalización, uno de los pacientes presentó un deterioro cognitivo según esta batería, pero que tras el tratamiento mejoró, estos test son los primeros afectados en pacientes



con encefalopatía hepática leve incluso antes que aparezcan otra sintomatología y estos test ayudan al diagnóstico temprano (Felipo V. Nature 2013). En nuestros casos se observa una mejoría en la atención (estadísticamente significativo) y la coordinación no parece afectada.

En los test de coordinación motora no existió diferencia significativa entre los casos y los controles.

En los test de atención selectiva, test de Stroop sí que observamos una diferencia estadísticamente significativa en la mejoría de los casos respecto de los controles y resultado más altos en los casos que en los controles, siendo asimismo significativo.

En los test de atención y concentración no existían diferencias al inicio del estudio, pero tras el tratamiento se observa mejoría con respecto a los controles, con un aumento en la efectividad de realizar tareas en los casos tratados con tadalafilo. En el test de concentración se observa una tendencia a la mejoría sin llegar a ser significativo.

En el test oral de claves que mide la velocidad de procesamiento mental, no hubo diferencias entre grupos ni antes ni después del tratamiento, pero hay que reseñar que el paciente que en el test de PHES tenía un déficit

cognitivo, tras el tratamiento mejoró el test oral de claves a casi valores normales.

En los test de memoria a corto plazo tampoco se encontraron diferencias entre grupos, aunque sí que hubo diferencia entre grupos en el test oral de letras y números con mejoría tras el tratamiento.

Con respecto a las alteraciones bioquímicas, los pacientes con HBP-DE (casos) tienen una tendencia al aumento, que tras el tratamiento se normalizan los niveles siendo estadísticamente significativo. En los niveles de cGMP plasmático, se observa un aumento en el grupo de tratados no siendo este aumento estadísticamente significativo. Los niveles de cGMP en linfocitos también registraron un aumento tras el tratamiento.

A nivel de respuesta inflamatoria, la interleukina-6 no presento cambios, pero sí que hubo una disminución a lo largo del estudio de la interleukina-18 con respecto al grupo control.

Los potenciales evocados cerebrales cognitivos, son una moderna técnica que mide pequeñas variaciones características del electroencefalograma (EEG) sincronizadas con algún evento sensorial.

Se han identificado dos tipos diferenciales de potenciales evocados, los sensoriales o exógenos, determinados por las características físicas de los estímulos, y los cognitivos o endógenos, determinados a su vez por características intrínsecas del sujeto (estado psíquico, tarea que se realiza, etc.), habiendo sido relacionados estos últimos con operaciones cognitivas de procesamiento de la información.

La metodología clásica empleada por la neurofisiología en su aplicación al estudio de las funciones cognitivas ha consistido en el registro de los potenciales evocados bajo la asunción del concepto de paradigma. Un paradigma viene definido por el binomio estimulación-tarea, el cual permite obtener los llamados componentes endógenos de los potenciales evocados.

De este modo estos componentes endógenos de los potenciales evocados se constituyen en una fuente de variabilidad controlada, como una manera de explicar las variaciones en el registro que se observan al manipular el paradigma. Se han identificado varios componentes endógenos asociados a otros tantos paradigmas, entre ellos, el componente P300 (asociado al paradigma oddball), la Variación Contingente Negativa (CNV), el Potencial Negativo de Acoplamiento (PN), el potencial N400 y finalmente, el llamado

Potencial de disparidad (mismatch negativity, MMN). La investigación en torno a estos componentes ha tratado de establecer las condiciones cognitivas en las que se generan, con el propósito de validarlos como indicadores de funcionamiento cerebral en diversas patologías neurológicas y psiquiátricas (Braff DL. Schizophr Bull, 1993).

El llamado Potencial de disparidad (mismatch negativity, MMN) es una medida de la actividad cortical que ocurre en respuesta a un cambio en el estímulo auditivo (identificado como estímulo raro) que se encuentra intercalado dentro de una tanda de estímulos auditivos o visuales repetidos (estímulo de alta probabilidad o frecuente). Múltiples estudios demuestran la ventaja de este potencial con respecto a otro tipo de potenciales endógenos como la P300, entre las que destaca la no necesidad de colaboración del enfermo (Polich et al, J. Electroenceph Clin Neurophysiol 1989) lo que permite utilizarlo con personas no colaboradoras, en niños y en pacientes en coma. Se sabe que las áreas centrales y frontales son las que registran la máxima amplitud de MMN, lo que indica que los generadores neurofisiológicos de la onda se localizarían en zonas supratemporales (Alho, Ear and Hearing 1995), sobre todo córtex auditivo primario o en su

proximidad. Todo indica que el córtex temporal y córtex frontal lateral son las zonas implicadas en la generación de MMN (Alain et al, Brain Research 1998; Yago et al, Neuroreport 2001) y las vías bioquímicas implicadas son la vía del receptor NMDA para el glutamato (Javitt et al Perspectives of Event-Related Potentials Research. Ámsterdam: Elsevier, 14). y el receptor H1 para la histamina.

Diversos autores plantean el uso del MMN uso como herramienta eficaz en la valoración y pronóstico del paciente esquizofrénico, en diferentes tipos de demencia (Pekkonen et al, Neuro Report 1994) e incluso en niños (Cheour-Luthanen et al, Hearing Res 1995; Alho et al, Electroenceph Clin Neurophysiol 1990). En 2004 Torsten Baldeweg describió un método para generar el mismatch negativity que presentaba una alta sensibilidad y especificidad para su uso en pacientes esquizofrénicos (Baldeweg et al 2004). Este método de generación del componente MMN se ha asociado con medidas de deterioro cognitivo en esta enfermedad, como la atención y el llamado efecto trazo-memoria.

En nuestro estudio apreciamos una disminución de la latencia de la onda (respuesta al estímulo), de los casos respecto de los controles, con una

marcada mejoría tras el tratamiento sin llegar a normalizarse. En el área de la onda se observa una disminución con respecto a los controles y se objetiva un aumento tras el tratamiento lo que nos indica una tendencia a la mejoría en el MMN con el tratamiento con tadalafilo 5 mg.

La resonancia nuclear magnética, habitualmente nos ayuda al diagnóstico de encefalopatía leve, ya que presenta una serie de signos tales como el edema cerebral mínimo. No hemos podido constatar la mejoría con el tratamiento ya que fueron normales todas las resonancias realizadas tanto a los casos como a los controles, y no ha habido modificación de la misma en el grupo con tratamiento.

# VI. CONCLUSIONES

1.- La Urología es una especialidad médico-quirúrgica. El urólogo, debido a la gran presión asistencial a la que estamos sometidos habitualmente, no suele detectar los déficits cognitivos leves de los pacientes que atiende, bien sea por la falta de tiempo en la consulta o por las deficiencias intrínsecas a la especialidad ya que no está ni habituado ni entrenado para ello.

2.- En nuestro estudio hemos comprobado que los pacientes atendidos en las consultas de urología (pacientes con síntomas de tracto urinario inferior y disfunción eréctil), presentan déficits cognitivos que habitualmente pasan desapercibidos para el urólogo como hemos comentado, y si tuviésemos la posibilidad de detectarlo, el tratamiento podría ser iniciado más precozmente.

3.- Hemos visto que existen test sencillos (como el de Stroop) que ponen de manifiesto déficits iniciales y que ayudarían mucho en la sospecha diagnóstica de patologías cerebrales incipientes y de alteraciones cerebrales secundarias a otras patologías como la encefalopatía hepática.



4.- Asimismo, hemos podido observar que existen baterías de test cognitivos, bioquímicos y neurofisiológicos que nos acercan al diagnóstico en los pacientes con déficits cognitivos leves, que se pueden sospechar con los test sencillos y que ayudarían al mejor diagnóstico de estos enfermos.

5.- El tratamiento con tadalafilo 5 mg., diario, mejora la sintomatología del tracto urinario inferior y la disfunción eréctil, pero además parece mejorar no solamente algunos de los test psicométricos realizados a los pacientes, sino que también existe una tendencia a la mejoría en los test bioquímicos realizados y una mejoría en las pruebas neurofisiológicas. Estos datos ponen de manifiesto que podemos estar ante un nuevo enfoque en el tratamiento de estos pacientes con alteraciones cognitivas, ya que como hemos visto el tadalafilo actúa por la vía del glutamato-NO-cGMP a nivel del receptor NMDA, lo cual coincide con parte de las alteraciones que se observan en pacientes cirróticos y abriría una ventana nueva y disponer de una nueva arma de tratamiento para estos pacientes.

6.- Debido a las dificultades de reclutamiento de pacientes, por los estrictos criterios de inclusión y exclusión, disponemos de una muestra pequeña en nuestro estudio. No obstante, gracias a los resultados obtenidos debemos de continuar en la línea de la investigación iniciada, ya que las expectativas creadas son muy esperanzadoras y hemos de reclutar más pacientes a fin de sacar conclusiones más significativas.

# VII. BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA:

Abrams P, Cardozo L, Fall M et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*. 2003;61(1):37-49.

Abt K. Statistical aspects of neurophysiologic topography. *J Clin Neurophysiol* 1990; 7: 519-34.

Adler L, Hoffer L, Griffith J, Waldo MC y cols: Normalization by nicotine of deficit auditory sensory gating in the relatives of schizophrenics. *Biol Psychiatry*, 32:607616, 1992.

Adler L, Pachtman E, Franks R, Pecevich M y cols.: Neurophysiological evidence for a defect in neuronal mechanisms involved in sensory gating in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 17:639-654, 1982.

Ahmad M, Suhail N, Mansoor T, Banu N, Ahmad S. Evaluation of oxidative stress and DNA damage in benign prostatic hyperplasia patients and comparison with controls. *Indian J Clin Biochem.* 2012;27:385-8.

Aizawa N, Igawa Y, Nishizawa O, Wyndaele JJ. Effects of nitric oxide on the primary bladder afferent activities of the rat with and without intravesical acrolein treatment. *European Urology.* 2011;59:264-271.

Álvarez A, Valdés PA, Pascual RD, Galán L, Biscay R, Bosch J. On the structure of EEG development. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989; 73: 10-9.

Amodio P, Marchetti P, Del Piccolo F, et al. Visual attention in cirrhotic patients: a study on covert visual attention orienting. *Hepatology* 1998;27:1517 -1523.

Amodio P, Marchetti P, Del Piccolo F, et al. Visual attention orienting in liver cirrhosis without overt hepatic encephalopathy. *Metab. Brain Dis.* 1995;10:335-345.

Amodio P, Montagnese S, Gatta A, et al. Characteristics of minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 2004;19:253-267.

Amodio P, Schiff S, Del Piccolo F, et al. Attention dysfunction in cirrhotic patients: an inquiry on the role of executive control, attention orienting and focusing. *Metab Brain Dis.* 2005;20:115-27.

Andersson KE, de Groat WC, McVary KT et al. Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: Pathophysiology and mechanism(s) of action. *Neurourol Urodyn.* 2011;30(3):292-301 .

Baldeweg T, Klugman A, et al. Mismatch negativity potentials and cognitive impairment in schizophrenia. *Schizophr Res* 2004;69:203-17.

Baldeweg, T., Klugman A., Gruzelier, J., Hirsch, S. Mismatch negativity potentials and cognitive impairment in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 69 (2004) 203 -217.

Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med* 2010; 362:1071–1081.

Bechara A, Casabe A, Rodriguez Baigorri G, Cobreros C. Effectiveness of Tadalafil 5 mg Once Daily in the Treatment of Men with Lower Urinary Tract Symptoms Suggestive to Benign Prostatic Hyperplasia With or Without Erectile Dysfunction: Results from Naturalistic Observational TadaLutsEd Study. *J Sex Med* 2013 Nov 13. doi: 10.1111/jsm.12386.

Behr-Roussel D, Oger S, Caisey S et al. Vardenafil decreases bladder afferent nerve activity in unanesthetized, decerebrate, spinal cord-injured rats. *Eur Urol*. 2011;59(2):272-279.

Berger AP, Deibl M, Leonhartsberger N et al. Vascular damage as a risk factor for benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction. *BJU Int.* 2005;96(7):1073-1078.

Bertolotto M, Trincia E, Zappetti R et al. Effect of tadalafil on prostate haemodynamics: preliminar evaluation with contrast-enhanced US. *Radiol Med.* 2009;114(7):1106-1114.

Bischoff E. Potency, selectivity, and consequences of nonselectivity of PDE inhibition. *Int J Impot Res.* 2004;16(Suppl 1):S11 -S14.

Blei AT, Córdoba J. Hepatic Encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1968-1976.

Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, et al. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1999;30:890-895.



Cakir OO, McVary KT. LUTS and sleep disorders: emerging risk factor. *Curr Urol Rep.* 2012;13:407-12.

Cantrell MA, Baye J, Vouri SM. Tadalafil: a phosphodiesterase-5 inhibitor for benign prostatic hyperplasia. *Pharmacotherapy.* 2013;33(6):639-649.

Cardenas VA, Gerson J, Fein G: The reliability of P50 suppression as measures by the conditioning/testing ratio is vastly improved by dipole modeling. *Biol Psychiatry,* 33:335344, 1993.

Carvajal JA, Germain AM, Huidobro-Toro JP, Weiner CP. Molecular mechanism of cGMPmediated smooth muscle relaxation. *J Cell Physiol.* 2000;184(3):409-420.

Cellek S, Cameron NE, Cotter MA, et al. Microvascular dysfunction and efficacy of PDE5 inhibitors in BPH-LUTS. *Nat Rev Urol.* 2014;11(4):231 -241.

Chabot RJ, Serfontein G. Quantitative electroencephalographic profiles of children with attention deficit disorder. *Biol Psychiatry* 1996; 40: 951-63.

Chatrian GE, Bergamasco B, Bricolo A, Frost JD, Prior PF. IFCM recommended standards for electrophysiologic monitoring in comade .

Conroy MA, Polich J, "Normative variation of P3a and P3b from a large sample - Gender, topography, and response time." *J Psychophys* 21 (1): 22-32 2007.

Corsi-Cabrera N, Arce C, Ramos J, Guevara MA. Effect of spatial ability and sex on inter and intrahemispheric correlation of EEG activity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 102: 5-11.

Coyne KS, Kaplan SA, Chapple CR et al. Risk factors and comorbid conditions associated with lower urinary tract symptoms: EpiLUTS. *BJU Int.* 2009;103(Supl. s3):24-32.

Das A, Dhiman RK, Saraswat VA, et al. Prevalence and natural history of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:531-535.

De Groat WC, Yoshimura N. Afferent nerve regulation of bladder function in health and disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;194(1):91 -138.

Dean RC, Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am*. 2005;32(4):379-395.

Di Silverio F, Gentile V, De Matteis A et al. Distribution of inflammation, pre-malignant lesions, incidental carcinoma in histologically confirmed benign prostatic hyperplasia: a retrospective analysis. *Eur Urol* 2003; 43:164–75.

Dietsch G. Fourier Analyse von Elektroenzephalogramm des Menschen. *Arch Gen Physiol* 1923; 230: 106-12.

Duffy FH, Bartels PH, Burchfield JL. Significance probability mapping: an aid in the topographic analysis of the brain electrical activity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1981; 51: 455-62.

Eardley I, Cartledge J. Tadalafil (Cialis) for men with erectile dysfunction. *Int J Clin Pract*. 2002;56(4):300-304.

Elia M, Ferri R, del Gracco S, Scuderi C, Musemeci SA. EEG and topographic brain mapping in cortical dysplasias. *Epilepsia* 1993; 34 (Suppl 2): S68.

Elsass P, Lund Y, and Ranek L. Encephalopathy in patients with cirrhosis of the liver. A neuropsychological study. *Scand J Gastroenterol* 1978;13:241-247.

Erceg S, Monfort P, Hernández-Viadel M, et al. Oral administration of sildenafil restores learning ability in rats with hyperammonemia and with portacaval shunts. *Hepatology* 2005; 41:299-306.

Escera, C. (1996). Nuevas aplicaciones clínicas de los potenciales evocados cerebrales: Mismatch Negativity. Medicina Clínica.

Fein G, Galin D, Johnstone J. EEG power spectra in normal and dyslexic children. I. Reliability during passive conditions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1983; 55: 399-405.

Felipo V (2008) *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, 3rd Ed. Kluwer Acad./Plenum Publishers, USA, vol 24:1 -27

Felipo V, Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. *Nature*, vol 14, dec 2013 (851-858).

Felipo V, Butterworth RF. Neurobiology of ammonia. *Neurobiol* 2002 67:259-279.

Felipo V, Ordoño JF, et al. Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. *Hepatology* 2012; 55:530-539.

Felipo V. Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. *Nat Rev Neurosci.* 2013 Oct 23. doi: 10.1038/nrn3587. PMID:24149188 .

Felipo, V., Ordoño, JF., Urios, A., El Mlili, N. et als. Patients With Minimal Hepatic Encephalopathy Show Impaired Mismatch Negativity Correlating With Reduced Performance in Attention Tests. *HEPATOLOGY*, Vol. 55, No. 2, (2012). 530-539.

Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002;35:716-721.

Filippi S, Morelli A, Sandner P et al. Characterization and functional role of androgendependent PDE5 activity in the bladder. *Endocrinology*. 2007;148(3):1019-1029.

Forgue ST, Patterson BE, Bedding AW et al. Tadalafil pharmacokinetics in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2006;61(3):280-288.

Freedman R, Adler LE, Baker N, Rose G y cols: Noradrenergic and dopaminergic modulation of auditory evoked potentials in schizophrenia and mania. *American College of Neuropsychopharmacology, 25th Annual Meeting*, pp. 147, 1986.

Freedman R, Adler LE, Gerhardt GA, Waldo MC y cols: Neurobiological studies of sensory gating in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13:669-678, 1987.

Frodl-Bauch T, Bottlender R, Hegerl U, "Neurochemical substrates and neuroanatomical generators of the event-related P300." *Neuropsychobiology* 40 (2): 86-94 1999.

Fujita et al. White blood cell count is positively associated with benign prostatic hyperplasia *Int J Urol*. 2013 Aug 26. doi: 10.1111/iju.12243.

García de León M, Portellano J, Cabanyes J. Brain mapping in dyslexia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 75 (Suppl 1): S49.

George MRM, Potts G, Kothman D, et al. "Frontal deficits in alcoholism: An ERP study." *Brain and Cognition* 54 (3): 245-247 Apr 2004.

Giuliano F, Ückert S, Maggi M, et al. The mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibitors in the treatment of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol*.2013;63(3):506-516.



Goff wr, Williamson pd, Van gilder jc, Allison t y cols.: Neural origins of long latency evoked potentials recorded from the depth and from the cortical surface of the brain in man. Prog Clin Nuerophysiol, 7:126145, 1980.

Groeneweg M, Quero JC, De Bruijn I, et al. Subclinical hepatic encephalopathy impairs daily functioning. Hepatology 1998;28:45-49.

Hansenne M, "The P300 event-related potential. II. Interindividual variability and clinical application in psychopathology." Clinl Neurophysiol 30 (4): 211-231 Aug 2000.

Häussinger D, Schliess F. Pathogenetic mechanisms of hepatic encephalopathy. Gut 2008; 57:1156-1165.

Helfand BT, et al. Associations between Improvements in Lower Urinary Tract Symptoms and Sleep Disturbance Over Time in the CAMUS Trial. J Urol 2012; 188:2288-93.

Helfand BT, et al. The Relationship Between Lower Urinary Tract Symptom Severity and Sleep Disturbance in the CAMUS Trial. *J Urol* 2011; 185:2223-28.

Hernández-Collados A, Sánchez-Turet M. Conceptos básicos de la teoría electroencefalográfica. *Rev Neurol* 1997; 25: 1624-8.

Holden CA, McLachlan RI, Pitts M et al. Men in Australia telephone survey (MATeS): a national survey of the reproductive health and concerns of middle-aged and older Australian men. *Lancet*. 2005;366:218-224.

Hui AY, Chan HL, Leung NW, et al. Survival and prognostic indicators in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis after onset of hepatic decompensation. *J Clin Gastroenterol*. 2002;34:569-572.

Itil TM, Mucci A, Eralp E. Dynamic brain mapping methodology and application. *Int J Psychophysiol* 1991; 10: 281-91.

John ER, Alter I, Ransohoff J. Evaluation of coma patients with the brain state analyzer. In Grossman RG, Gildenberg PL, eds. Seminars in neurological surgery. New York: Raven Press; 1982. p. 259-82.

John ER, Prichep LS. Principles of neurometrics and neurometric analysis of EEG and evoked potentials. In Niedermeyer E, ed. Electroencephalography basic principles, clinical applications and related fields. New York: Williams & Williams; 1993. p. 34-54.

John ER, Prichep LS. Principles of neurometrics and neurometric analysis of EEG and evoked potentials. In Niedermeyer E, ed. Electroencephalography basic principles, clinical applications and related fields. New York: Williams & Williams; 1993. p. 34-54.

John ER, Zhang Z, Brodie JD, Prichep LS. Statistical probability mapping of brain function and structure. In Thatcher RW, Hallett M, Zeffiro T, John ER, Huerta M, eds. Functional neuroimaging: technical foundations. Oxford: Academic Press; 1993. p. 35-46.

John ER, Zhang Z, Brodie JD, Prichep LS. Statistical probability mapping of brain function and structure. In Thatcher RW, Hallett M, Zeffiro T, John ER, Huerta M, eds. Functional neuroimaging: technical foundations. Oxford: Academic Press; 1993. p. 35-46.

John ER. Neurometrics: clinical applications of quantitative electrophysiology. New York: Wiley; 1977.

Johnson MR, Adler LE: Transient impairment in P50 auditory sensory gating induced by a cold-pressor test. *Biol Psychiatry*, 33(5):380-387, 1993.

Kang KK, Kim JM, YU JY et al. Effects of phosphodiesterase type 5 inhibitor on the contractility of prostate tissues and urethral pressure responses in a rat model of benign prostate hyperplasia. *Int JUrol*. 2007;14(10):946-951.

Karl-Erik Andersson KE, de Groat WC, McVary KT, et al. Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic

hyperplasia: pathophysiology and mechanism(s) of action. *Neurourology and Urodynamics* 2011;30:292–301.

Karnaze DS, Marshall LF, Bickford RG. EEG monitoring of clinical coma: the compressed spectral array. *Neurology* 1982; 32: 289-92.

Kedia GT, Ückert S, Jonas U et al. The nitric oxide pathway in the human prostate: clinical implications in men with lower urinary tract symptoms. *World J Urol.* 2008;26(6):603-609.

Kedia GT, Ückert S, Kedia M, Kuczyk MA. Effects of phosphodiesterase inhibitors on contraction induced by endothelin-1 of isolated human prostatic tissue. *Urology.* 2009;73(6):1397-1401.

Kircheis G, Wettstein M, Timmermann L, et al. Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2002; 35:357-366.

Kramer G, Steiner GE, Handisurya A et al. Increased expression of lymphocyte-derived cytokines in benign hyperplastic prostate tissue, identification of the producing cell types, and effect of differentially expressed cytokines on stromal cell proliferation. *Prostate* 2002; 52: 43–58.

Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol.* 2011;17:2890-96

Lucia MS, Lambert JR. Growth factors in benign prostatic hyperplasia: basic science implications. *Curr Urol Rep.* 2008 Jul;9(4):272-8.

Matousek M, Petersen I. Automatic evaluation of the EEG background activity by means of age dependent EEG quotients. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1973; 35: 603-12.

McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, et al. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N Engl J Med* 2003;349:2387–98.

Michel CM, Lehmann D, Henggeler B, Brandeis D. Localization of the sources of EEG delta, theta, alpha and beta frequency bands using the FFT dipole approximation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 82: 38-44.

Minegawa T, Aizawa N, Igawa Y, Wyndaele J. Inhibitory effect of tadalafil, a phosphodiesterase 5 inhibitor on bladder mechanosensitive afferent activity in the rat [resumen]. *International Continence Society*. Del 29 de agosto al 2 de septiembre de 2011; Glasgow, Reino Unido. Resumen 153.

Montoliu C, Cauli O, Urios A et al. 3-nitro-tyrosine as a peripheral biomarker of minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1629-37

Montoliu C, Piedrafita B, Serra MA, et al. Activation of soluble guanylate cyclase by nitric oxide in lymphocytes correlates with minimal hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. *J Mol Med* 2007; 85:237-245.

Montoliu C, Piedrafita B, Serra MA, et al. IL-6 and IL-18 in blood may discriminate cirrhotic patients with and without minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Gastroenterol* 2009;43:272-279.

Montoliu C, Urios A, Forn C, et al. Reduced white matter microstructural integrity correlates with cognitive deficits in minimal hepatic encephalopathy *Gut*. 2013 Nov 11. doi:10.1136/gutjnl-2013-306175

Morelli A, Filippi S, Comeglio P et al. Acute vardenafil administration improves bladder oxygenation inspontaneously hypertensive rats. *J Sex Med*. 2010;7(1 Pt 1):107-120.

Morelli A, Sarchielli E, Comeglio P et al. Phosphodiesterase Type 5 Expression in Human and Rat Lower Urinary Tract Tissues and the Effect of Tadalafil on Prostate Gland Oxygenation inSpontaneously Hypertensive Rats. *J Sex Med*. 2011;8(10):2746-2760.



Näätänen R, Gaillard AW, Mäntysalo S (July 1978). "Early selective-attention effect on evoked potential reinterpreted". *Acta Psychol (Amst)* 42 (4): 313–29.

Naatanen, R. (1992). *Attention and brain function*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum.

Nagamoto H, Adler LE, Waldo MC, Freedman R: Sensory gating in schizophrenics and normal controls: effects of changing stimulation interval. *Biol Psychiatry*, 25:549-561, 1989.

Nagamoto HT, Adler LE, Mcrae KA, Huettl P y cols.: Auditory P50 in schizophrenics on clozapine: improved gating parallels clinical improvement and changes in plasma 3-methoxy-4-hydroxyphenyglycol. *Neuropsychobiology*, 39(1):10-17, 1999.

Nieuwenhuis S, Aston-Jones G, Cohen JD, "Decision making, the p3, and the locus coeruleus-norepinephrine system." *Psychological Bulletin* 131 (4): 510-532 Jul 2005.

Nuechterlein KH, Dawson ME, "Neurophysiological and Psychophysiological Approaches to Schizophrenia and Its Pathogenesis." Epub 2000, American College of Neuropsychopharmacology.

Nunez PL, Silberstein RB, Cadush PJ, Wijesinghe RS, Westdorp AF, Srinivasan R. A theoretical and experimental study of high resolution EEG based on surface laplacians and cortical imaging. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 90: 40-57.

Nuwer M. Assessment of digital EEG, quantitative EEG and EEG brain mapping. Report of the American Academy of Neurology and the American Clinical Neurophysiology Society. *Neurology* 1997; 49: 277-92.

Nuwer MR. Quantitative EEG: I. Techniques and problems of frequency analysis and topographic mapping. *J Clin Neurophysiol* 1988; 5: 1-43.

Nuwer MR. Quantitative EEG: II. Frequency analysis and topographic mapping in clinical settings. *J Clin Neurophysiol* 1988; 5: 45-85.

Nuwer MR. The development of EEG brain mapping. *J Clin Neurophysiol* 1990; 7: 459-71.

Patidar KR, Bajaj JS. Antibiotics for the treatment of hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*, 2013. DOI 10.1007/s11011-013-9383-5

Pekkonen, E., Jousmaki, V., Kononen, M., Reinikainen, K. & Partanen, J. (1994). Auditory sensory memory impairment in Alzheimer's disease: an event-related potential study. *NeuroReport*, 5,2537-2540.

Pinggera GM, Frauscher F, Paduch DA, et al. Effect of tadalafil once daily on prostate blood flow and perfusion in men with lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled trial. *Urology*. 2014;84(2):412-420.

Poh Z, Chang PE. A current review of the diagnostic and treatment strategies of hepatic encephalopathy. *Int J Hepatol* 2012:480309.

Polich J, "Updating P300: An integrative theory of P3a and P3b" *Clin Neurophysiol*, 2007 Jun 15;

Polich J, Criado JR, "Neuropsychology and neuropharmacology of P3a and P3b" *Intl J Psychophysiol* 60 (2): 172-185 May 2006.

Ponholzer A, Temml C, Wehrberger C et al. The association between vascular risk factors and lower urinary tract symptoms in both sexes. *Eur Urol*. 2006;50(3):581 -586.

Pritchard LS, John ER. Neurometrics: clinical applications. In Lopes da Silva FH, van Leeuwen WS, Remond A, eds. *Clinical applications of computer analysis of EEG and other neurophysiological signals*. Amsterdam: Elsevier; 1986. p. 153-70.

Reite m, Teale p, Zimmerman j, Davis k y cols.: Source origin of a 50-msec latency auditory evoked field component in young schizophrenic men. *Biol Psychiatry*, 24(5):495-506, 1988.

Rodrigo R, Monfort P, Cauli O, Erceg S, Felipo V. Pharmacological manipulation of cyclic GMP levels in brain restores learning ability in animal models of hepatic encephalopathy: therapeutic implications. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2006; 2:53-63.

Romero-Gómez M, Boza F, García-Valdecasas MS, et al. Subclinical hepatic encephalopathy predicts the development of overt hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2718-2723.

Romero-Gómez M, Córdoba J, Jover R, et al. Value of the critical flicker frequency in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2007; 45:879-85.

Roumequere T, Zouaoui Boudjeltia K, Babar S, et al. Effects of phosphodiesterase inhibitors on the inflammatory response of endothelial cells stimulated by myeloperoxidase-modified low-density lipoprotein or tumor necrosis factor alpha. *Eur Urol* 2010;57:522–8.

Roumequère T, Zouaoui Boudjeltia K, Hauzeur C, et al. Is there a rationale for the chronic use of phosphodiesterase-5 inhibitors for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia? *BJU Int.* 2009; 104(4):511-7.

Sams, M., Paavilainen, P., Alho, K. & Niitanen, R. (1985). Auditory frequency discrimination and event-related potentials. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 62,437-448.

Schroger, E. (1996). A neural mechanism for involuntary attention shifts to changes in auditory stimulation. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 8,527-539.

Shapiro SM, Traiger G, Hill W, Zhang L, Doran AK. Safety, Tolerability, and Efficacy of Overnight Switching From Sildenafil to Tadalafil in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Cardiovasc Ther.* 2013; 31(5):274-9.

Shawcross DL, Davies NA, et al. Systemic inflammatory response exacerbates the neuropsychological effects of induced hyperammonemia in cirrhosis. *J Hepatol* 2004;40:247-254.

Shawcross DL, Wright G, et al. Role of ammonia and inflammation in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2007;22:125-138.

Shim et al. Effects of daily low-dose treatment with phosphodiesterase type 5 inhibitor on cognition, depression, somatization and erectile function in patients with erectile dysfunction: a double-blind, placebo-controlled study. *Int J Impot Res.* 2013 Nov 28. doi: 10.1038/ijir.2013.38.

Simsek I, Aslan G, Akarsu M, Koseoglu H, Esen A. Assessment of sexual functions in patients with chronic liver disease. *Int J Impot Res.* 2005; 17:343-5.

Speckman EJ, Elger CE. Introduction to the neurophysiological basis of the EEG and DC potentials. In Niedermeyer E, Lopes da Silva F, eds. *Electroencephalography. Basic principles, clinical applications and related fields.* Baltimore: Williams and Wilkins; 1993. p. 15-26.

Sullivan ME, Thompson CS, Dashwood MR et al. Nitric oxide and penile erection: is erectile dysfunction another manifestation of vascular disease? *Cardiovasc Res.* 1999;43(3):658-665.

Tharp BR. Electrophysiological brain maturation in premature infants: an historical perspective. *J Clin Neurophysiol* 1990; 7: 302-14.

Timmermann L, Butz M, Gross J, et al. Neural synchronization in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 2005; 20:337-346.



Timmermann L, Gross J, Butz, M, et al. Mini-asterixis in hepatic encephalopathy induced by pathologic thalamo-motor-cortical coupling. *Neurology* 2003;61:689-92.

Tsai BM, Turrentine MW, Sheridan BC, et al. Differential effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary artery cytokine expression. *Ann Thorac Surg* 2006;81:272–8.

Ückert S, Kuczyk MA. Cyclic nucleotide metabolism including nitric oxide and phosphodiesteraserelated targets in the lower urinary tract. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;202:527-542.

Ückert S, Küthe A, Jonas U, Stief CG. Characterization and functional relevance of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes of the human prostate. *J Urol.* 2001;166(6):2484-2490.

Ückert S, Sormes M, Kedia G et al. Effects of phosphodiesterase inhibitors on tension induced by norepinephrine and accumulation of cyclic nucleotides in isolated human prostatic tissue. *Urology*.2008;71(3):526-530.

Verdon CP, Burton BA, Prior RL. Sample pretreatment with nitrate reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase quantitatively reduces nitrate while avoiding interference by NADP<sup>+</sup> when the Griess reaction is used to assay for nitrite. *Anal Biochem*. 1995;224:502–508.

Waldo MC, Carey G, Myles-Worsley M, Cawthra E y cols.: Codistribution of a sensory gating deficit and schizophrenia in multi-affected families. *Psychiatry Res*, 39:257-268, 1991.

Wein C, Koch H, Popp B, et al. Minimal hepatic encephalopathy impairs fitness to drive. *Hepatology* 2004;39:739-745

Weissenborn K, Giewekemeyer K, et al. Attention, memory, and cognitive function in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*, 2005;20:259-367

Weissenborn K, Heidenreich S, et al. Attention deficits in minimal hepatic encephalopathy. *Metab. Brain Dis.* 2001;16:13-19.

Weissenborn K, Kolbe H. The basal ganglia and portal-systemic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 1998;13:261-72.

Yingling CD. The quest for an ideal image of the brain. In Muller J, eds. *Neurology and psychiatry: a meeting of minds.* Basel: Karger; 1989. p. 88-104.

Yoshimura N, Seki S, de Groat WC. Nitric oxide modulates Ca<sup>2+</sup> channels in dorsal root ganglion neurons innervating rat urinary bladder. *J Neurophysiol.* 2001;86(1):304-311.