



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

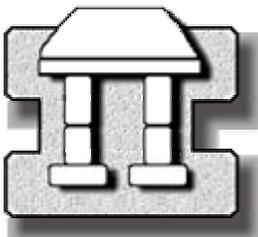
**PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 EN LA
EXPRESIÓN DE LA SECUENCIA DE SACIEDAD
CONDUCTUAL DE RATAS**

REPORTE DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIADO EN PSICLOGÍA

P R E S E N T A:
NANCY MÓNICA CENDEJAS TREJO

DIRECTOR DE TESIS: DR. RODRIGO ERICK ESCARTÍN PÉREZ
REVISORES: M. EN C. VERONICA E. LÓPEZ ALONSO
DR. JUAN MANUEL MANCILLA DÍAZ



EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ CON APOYO
DE PAPITT DGAPA IN304406

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Héctor, Martha, Jessy, Geova y Lalo por todo el apoyo que en estos cuatro años recibí de ustedes, por que sin mi familia no hubiera podido lograrlo, pues son mi inspiración y mi fuerza GRACIAS.

Agradezco a los amigos que tuve el placer de conocer en esta escuela, pues ellos hicieron de esta aventura un verdadera dicha al llenarla de alegría, llanto, penas, enojos y sobre todo risas, GRACIAS Lili, Viry, Edith, Marly, Abraham, Nancy y Topo.

Agradezco a todos los profesores que se dieron el tiempo para transmitirme el gran saber que poseen y más aún a aquellos que me permitieron ser su amiga, GRACIAS profs.: Erick, Adriana Reyes, Adriana Garrido, Ángel, Enrique e Israel.

Agradezco a los integrantes del proyecto de Neurobiología de la Nutrición, GRACIAS Erick, Melissa, profra. Verónica López y prof. Juan Manuel Mancilla.

CONTENIDO

	pág.
Resumen.....	I
1. Introducción.....	01
2. Antecedentes teóricos.....	05
2.1 La obesidad y sus consecuencias.....	05
2.2 El control alimentario.....	06
2.3 Los Endocannabinoides.....	08
2.3.1 Biosíntesis de los endocannabinoides.....	11
2.3.2 Receptores a cannabinoides CB1 y CB2.....	13
2.3.3 Canabinoides, endocannabinoides y alimentación.....	15
2.4 El estudio sistemático de la alimentación.....	16
3. Planteamiento del problema.....	18
4. Hipótesis.....	20
5. Objetivo.....	21
6. Método.....	22
7. Resultados.....	26
7.1. Ingesta.....	26
7.2. Secuencia de Sacidad Conductual (SSC).....	27
7.3. Área Bajo la Curva.....	31
8. Discusión.....	36
9. Conclusiones.....	40
10. Perspectivas.....	41
11. Referencias.....	43
12. Apéndice.....	49

RESUMEN

Debido al incremento mundial de la prevalencia de la obesidad, se han realizado investigaciones al respecto durante largo tiempo. Entre los hallazgos reportados se encuentra el hecho de que el Núcleo Paraventricular Hipotalámico es un núcleo fundamental para la regulación de la alimentación, debido a que en él se encuentra una gran cantidad de neurotransmisores que influyen sobre esta conducta. Entre los neurotransmisores de más reciente interés se encuentran los cannabinoides, éstos tienen dos tipos de receptores, los CB1 localizados en el Sistema Nervioso Central (SNC) y los CB2 localizados en el sistema periférico. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar los efectos sobre la ingesta de alimento (proteínas, carbohidratos y grasas) y sobre la expresión de la la secuencia de saciedad conductual (SSC) asociados a la activación de los receptores a cannabinoides CB1. A ratas macho se les aplicó un agonista, el ACEA en cuatro dosis distintas: 0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg vía ip, los sujetos se encontraban en un programa de alimentación restringida (22 h) bajo un paradigma de autoselección dietaria (proteínas, carbohidratos y grasas). Se encontró que el ACEA produce un efecto estimulador de la alimentación dosis-dependiente, incrementando principalmente la ingesta de carbohidratos, aunado a un retraso de la saciedad. También se encontró que la dosis más alta (1 mg/kg) no tiene efecto estimulador de la ingesta. Los resultados del presente trabajo sugieren que el mecanismo conductual asociado a la estimulación de la ingesta de alimento, inducida por cannabinoides, se relaciona con la inhibición de la saciedad e involucra principalmente a la ingesta de carbohidratos.

PALABRAS CLAVE: alimentación, canabinoide, receptores CB1.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, en el mundo se ha observado un incremento de las enfermedades relacionadas con la alimentación. Entre los trastornos más estudiados y comunes se encuentran la bulimia y la anorexia, pero un padecimiento que afecta cada vez a un mayor número de personas y que por mucho tiempo fue pasada por alto, es la obesidad. Este padecimiento, además de disminuir la calidad de vida de la persona obesa, es causante de diversas enfermedades que incrementan el costo en los servicios de salud y los índices de mortalidad en la población.

Específicamente en México, la obesidad es un problema que se ha convertido en un foco rojo para los sistemas de salud pública por el porcentaje de población afectada; ya que actualmente en el país un alto porcentaje de la población padece de sobrepeso u obesidad (39.7% sobrepeso y 29.6% obesidad), lo que posiciona al país como el segundo más obeso del mundo, sólo después de Estados Unidos (Olaiz-Fernández, *et al.*, 2006).

Las peligrosas consecuencias de la obesidad han atraído el interés de la comunidad científica y de los servicios de salud mundiales, quienes se han concentrado en el estudio profundo de los mecanismos conductuales de la alimentación, así como en la implementación y mejoramiento de las estrategias terapéuticas para su tratamiento.

Así, en las últimas décadas se han realizado diversos estudios que han proporcionado notables contribuciones en la identificación de señales que contribuyen al control de la conducta alimentaria. Entre dichas contribuciones sobresalen aquellas que mencionan que neurotransmisores como la serotonina, la dopamina y la noradrenalina, algunos neuropéptidos y hormonas como la leptina contribuyen al control de la alimentación.

Por otro lado, se ha planteado que el hipotálamo, específicamente el núcleo paraventricular (NPH), es un elemento clave para el control alimentario, puesto que se ha encontrado que existen en ésta región distintas vías neurales que influyen sobre la regulación de la homeostasis energética y sobre la alimentación. Considerándose así al NPH como un importante centro integrador cerebral que es necesario para la regulación del comportamiento alimentario y el proceso de la saciedad.

Más recientemente, la atención se ha volcado hacia el efecto de sustancias que estimulan la alimentación, entre ellas se encuentran los cannabinoides. Los cannabinoides y su influencia en la alimentación ha sido observada por medio del uso de la marihuana (*cannabis sativa*) desde la antigüedad, aunque su estudio sistemático es reciente. Se sabe que la *cannabis sativa* contiene cerca de 60 compuestos terpenofenólicos psicoactivos llamados cannabinoides, resaltando por sus efectos el Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC). Los cannabinoides endógenos son compuestos de naturaleza lipídica (principalmente la anandamida y el 2-araquidonoil-glicerol) involucrados en la señalización retrograda que activan receptores presinápticos denominados CB1 y CB2, los primeros se localizan primordialmente en el sistema nervioso central y los segundos en tejidos periféricos.

Con el interés de estudiar los efectos de los cannabinoides en la ingesta de alimentos de humanos, se han realizado diversos experimentos usando como fuente de cannabinoides a la marihuana. Dichos estudios encontraron diversos datos importantes, por ejemplo, que cuando las personas fumaron marihuana reportan más hambre que aquellos que no la habían consumido. También se encontró una preferencia por la comida de sabor dulce o de sabor agradable. Además de que el consumo de diferentes dosis de Δ^9 -THC producen efectos variables sobre el apetito, es decir, las dosis bajas del cannabinoide producen un incremento en el apetito, mientras que dosis altas provocan el efecto contrario, pues el apetito era inhibido (Gagnon & Elie, 1975, en: Cota, *et al.*, 2003).

En los últimos años, se han realizado nuevos experimentos sobre la relación de los canabinoides y la alimentación, donde esta nueva serie de estudios ha empleado modelos animales para esclarecer dicha relación (empleando principalmente ratas). Los datos reportados indican que los receptores CB1 localizados en el NPH participan en la regulación de la conducta alimentaria, que su activación produce incremento de la ingesta de alimento y que, al ser bloqueado el receptor CB1 por algún antagonista como SR141716 (Rimonabant), el efecto producido es hipofagia (Williams & Kirkham, 1999; Kirkham & Williams, 2001; De Vry, Schreiber, Eckel & Rüdiger, 2004; Chen *et al.*, 2004; Avraham *et al.*, 2005; Verty, McGregor & Mallet, 2005).

A pesar de estos reportes, hasta el momento no se ha descrito la forma en que esto sucede, es decir, cómo es que la activación del receptor CB1 produce hiperfagia.

Así, el estudio de la conducta alimentaria mediante la herramienta conductual de la Secuencia de Saciedad Conductual (SSC) ha permitido analizar sistemáticamente el mecanismo de acción conductual por el cual algunas drogas producen cambios en el comportamiento alimentario. La SSC consiste en la sucesión y distribución temporal de diferentes conductas que muestran el proceso saciatorio de la ingestión de alimento, es decir, es el proceso mediante el cual la ingestión de alimento es remplazada por actividad no alimentaria (como acicalarse) y eventualmente el descanso. Por ello, esta técnica es ampliamente aceptada como una prueba conductual confiable y útil para distinguir los efectos indirectos como la hiperactividad, sedación o náusea que tienen las drogas sobre el apetito, la saciedad y la ingesta de alimento.

La relevancia de la presente propuesta de investigación se centra, en que una de las estrategias más recientes para el control de la obesidad, es el uso de fármacos; entre los que se encuentra el Rimonabant (SR141716), antagonista del receptor a canabinoides CB1, por lo que dicha estrategia consiste en el bloqueo

de este receptor, con el fin de que disminuya la ingesta de alimento de las personas a quienes se les administra, aunque no hay que olvidar que aún no se conoce el mecanismo conductual mediante el cual el SR141716 disminuye la ingesta de alimento.

De acuerdo a este planteamiento, este trabajo sería uno de los primeros en describir el mecanismo de acción conductual por el cual la activación del receptor a cannabinoides CB1 influye en la secuencia de saciedad conductual.

2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

La obesidad y sus consecuencias.

En la actualidad, en el mundo entero se observa un creciente problema de salud pública, debido a que día a día los Trastornos de la Conducta Alimentaria (TCA) van en aumento. Dichos trastornos se conocen principalmente por la bulimia y la anorexia; y aunque la obesidad no es un TCA, éste también es un problema relacionado con la alimentación. La obesidad se ha convertido en el padecimiento más prevalente en el mundo desarrollado, afectando a millones de personas (Moreno, Moreno & Álvarez, 2005) y provocando una disminución en la calidad de vida de la persona obesa, así como el incremento en los costos de salud pública y de los índices de mortalidad en la población.

El problema de la obesidad es tan grave en el país, que ha posicionado a México como el segundo más obeso del mundo. Esto con base en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición realizada en 2006 (Olaiz-Fernández, *et al.*, 2006) dónde se detectó que casi el 70% de la población mexicana padece de sobrepeso u obesidad (39.7% sobrepeso y 29.6% obesidad).

Para entender el problema, primero es necesario conocer la caracterización de lo que se entiende por obesidad. La obesidad es definida como el exceso de grasa corporal que se acumula en el tejido adiposo consecuente de un ingreso calórico superior a las necesidades del individuo, en otras palabras, ser obeso implica tener una proporción anormalmente elevada de grasa corporal o tejido adiposo. Mientras que el sobrepeso, es un aumento del peso corporal por encima de la norma arbitraria definida en relación con la altura. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se considera que la obesidad se presenta cuando el índice de masa corporal (IMC) sale de la norma que es de entre 18.5 y 24.9 kg/m², es decir, la obesidad se presenta cuando el IMC es mayor a 30 kg/m² (Pérez & Zamora, 2002; Pérez, 2006).

De acuerdo con Moreno, Moreno y Álvarez (2005) y Pérez y Zamora (2002), los costos en la salud de la persona obesa, implica padecimientos tales como: el desarrollo de diabetes *mellitus*, enfermedades cardiovasculares, la hipertensión, aumento en los triglicéridos y el colesterol, la enfermedad de apnea-sueño, la colelitiasis, las neoplasias asociadas y enfermedades osteoarticulares, entre otras.

Además del costo en la salud y la calidad de vida, la obesidad trae consigo costos monetarios, primero a los servicios de salud pública; y segundo, a la propia persona con obesidad, ya que el padecimiento trae consigo problemas como el aumento en las faltas al trabajo, la pronta jubilación y el coste médico de visitas al doctor, la compra de medicamentos, hospitalizaciones y en algunos casos rehabilitación.

Así y, debido a los diversos problemas relacionados con la obesidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en su informe "*Obesity epidemic puts millions at risk from related diseases*" del 17 de junio de 1997 Moreno, Moreno y Álvarez (2005), declara que la obesidad es un problema de carácter global, que constituye una amenaza para la salud pública y llamó la atención a la comunidad científica, política y estatal de todos los países sobre el grave problema.

La comunidad científica por su parte, ya había comenzado a realizar investigación al respecto, primero sobre el control de la alimentación y posteriormente sobre aspectos un poco más específicos del mismo. A continuación se describen algunos de los datos relevantes encontrados sobre el control alimentario.

El Control Alimentario.

Las peligrosas consecuencias de la obesidad, han atraído el interés de la comunidad científica y de los servicios de salud mundiales, quienes se han concentrado en el estudio profundo de los mecanismos conductuales de la

alimentación, así como en la implementación y mejoramiento de las estrategias terapéuticas para su tratamiento.

La alimentación es una conducta compleja que involucra aspectos biológicos y psicosociales, por lo que es preciso definirla. La alimentación es el suministro de los requerimientos nutricionales al individuo y consiste en la búsqueda y selección de una serie de productos naturales o transformados (alimentos) procedentes del medio externo que aportan los elementos necesarios para el funcionamiento normal de organismo (Martínez, Astiasaran & Madrigal, 2002; Pérez & Zamora, 2002).

La alimentación es una conducta consciente y voluntaria del individuo, pero es influenciada por un gran número de factores exógenos (cultura, economía, religión, etc.). Cabe resaltar, que además de dichos factores, la alimentación y su control también dependen de elementos biológicos relacionados con el organismo y metabolismo humano.

Como se mencionó antes, la comunidad científica en las últimas décadas ha realizado diversos estudios que han contribuido en la identificación de señales que participan en el control de la conducta alimentaria. Entre dichas contribuciones sobresalen las realizadas por autores como Schwartz, Woods, Porte, Seeley y Baskin (2000), Seeley *et al.* (1996) y Nicholson, Akil y Watson (2002), quienes mencionan que neurotransmisores como la serotonina, la dopamina y la noradrenalina, algunos neuropéptidos y hormonas como la leptina contribuyen al control de la alimentación.

Por otro lado, se ha planteado que el hipotálamo, específicamente el núcleo paraventricular (NPH), es un elemento clave para el control alimentario. Algunos reportes muestran que el NPH es uno de los componentes más importantes para la regulación de la ingesta de alimento, pues se ha encontrado que existen en ésta región distintas vías neurales que influyen sobre la regulación de la homeostasis

energética y sobre la alimentación: axones que se originan en el núcleo arqueado y que contienen neuropéptido Y (NPY, un potente inductor de la alimentación), inervación del hipotálamo lateral con orexina (hormona que induce la ingesta de alimento), axones serotoninérgicos originados en el núcleo de rafé (una de las principales influencias inhibitorias de la alimentación), además de recibir inervación de otras regiones con distintos neurotransmisores y hormonas que modifican a la alimentación (galanina, melanocortina, noradrenalina, péptido opioides, endocannabinoides) (King & Williams, 1998; Yun, *et al.*, 2005; Hagemann, *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 2001; Verty, Mc Gregor & Mallet, 2005). Así, el NPH es considerado un importante centro integrador cerebral que es necesario para la regulación del comportamiento alimentario y el proceso de la saciedad (Stratford, 2005; Fletcher, Currie, Chambers & Leibowitz, 1993).

Recientemente, otra alternativa que se estudia es el efecto de sustancias que estimulan la alimentación, entre ellas se encuentran los cannabinoides, los cuales parecen ser una buena alternativa, aunque aún faltan puntos importantes por estudiar en cuanto a su influencia en la alimentación.

En los siguientes puntos se describirá con mayor detalle la influencia de los cannabinoides en la alimentación y el posible uso terapéutico de éstos para el control de la obesidad.

Los Endocannabinoides.

Una medida adoptada recientemente por la comunidad científica, para frenar el problema de la obesidad, es el estudio del sistema canabinoide; ya que influye sobre el control de la alimentación, la saciedad y sobre la actividad de algunos neurotransmisores relevantes para el control alimentario como es el NPY, la dopamina, noradrenalina, el sistema serotoninérgico, entre otros (Contreras, *et al.*, 2003; Carlini, 2003; Cota, *et al.*, 2006; Gamber, Macarthur & Westfall, 2005; Häring, Marsicano, Lutz & Monory, 2007).

Desde la antigüedad, se ha estudiado la influencia de la marihuana (*cannabis sativa*) en la alimentación, aunque su estudio sistemático es reciente (Cota *et al.*, 2003). Los primeros resultados al respecto, revelaron que la *cannabis sativa* contiene cerca de 60 compuestos terpenofenólicos psicoactivos llamados cannabinoides, resaltando por sus efectos el Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (Maldonado & Rodríguez de Fonseca, 2002).

Al paso del tiempo se han organizado a los cannabinoides en cuatro grupos. El primero de ellos y el más conocido, es el de los llamados <cannabinoides clásicos> (Ver Figura 1), lo componen aquellas sustancias con una estructura parecida a 3 anillos unidos, éstos se encuentran en la *cannabis sativa*, he incluyen al Δ^9 -THC, al cannabiniol, cannabidiol, etc. (Bowman & Rand, 1984; Katzung, 1986; Cota *et al.*, 2003; Velasco, San Román, Serrano, Martínez & Torres, 2003).

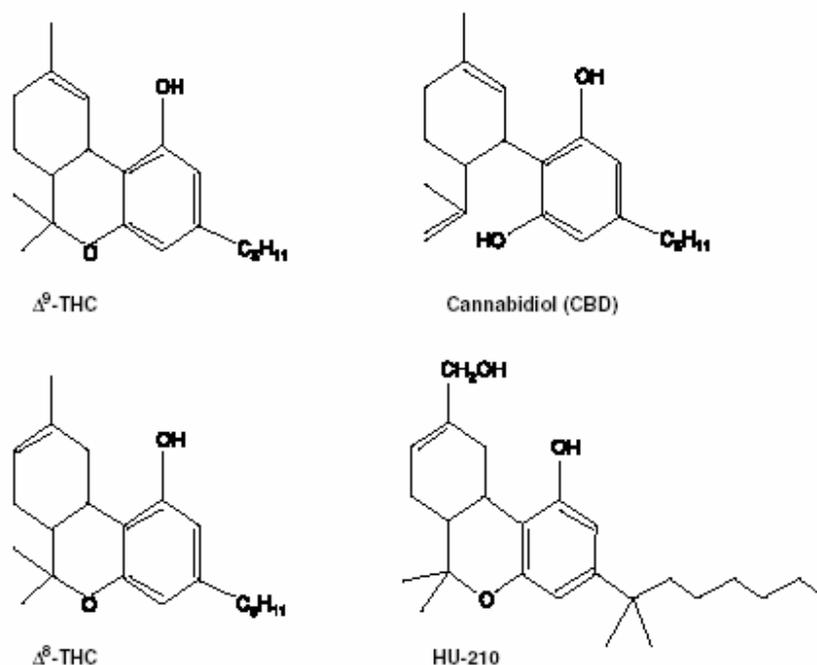


Figura 1. Grupo de Canabinoides Clásicos.

El segundo grupo, es conocido como los <cannabinoides no clásicos>, y se componen por análogos bi y tricíclicos del Δ^9 -THC, un ejemplo es el CP-55,940. Los aminoalkiloides forman el tercer grupo, del cual el más representativo es el

WIN 55, 212 que es un agonista del receptor CB1. Finalmente, el cuarto grupo se compone de los endocannabinoides, entre los que se encuentra la anandamida y el 2-AG (Cota *et al.*, 2003) (Ver Figura 2).

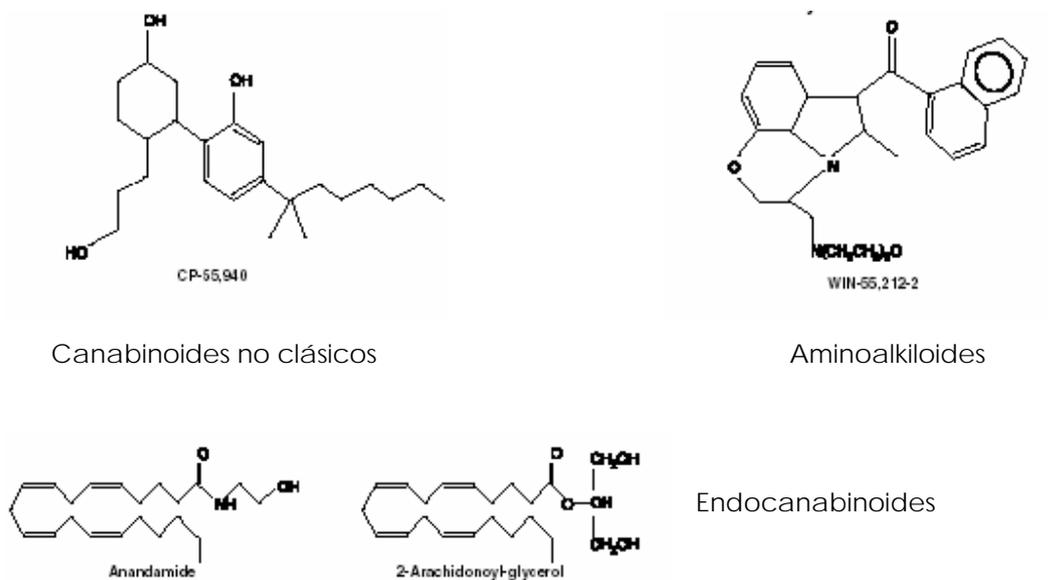


Figura 2. Canabinoides no clásicos, Aminoalkiloides y Endocanabinoide.

Recientemente y con fines de investigación, se han creado una serie de cannabinoides sintetizados en el laboratorio, éstos se conocen como <cannabinoides sintéticos>, los cuales se comportan y son afines a los mismos receptores que los endocannabinoides (Ver Figura 3).

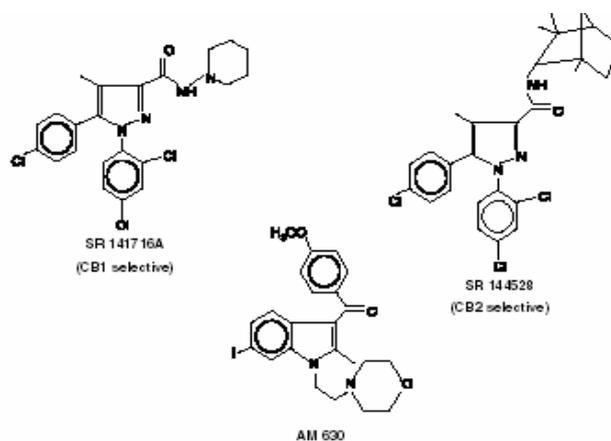


Figura 3. Grupo de Canabinoides sintéticos.

En el siguiente apartado se abordará al cuarto grupo de los Canabinoides, los endocannabinoides al describir la biosíntesis de éstos, con el fin de entender mejor al sistema de los endocannabinoides.

2.3.1 Biosíntesis de los Endocannabinoides.

Los Canabinoides endógenos son sustancias derivadas de ácidos grasos provenientes de la remodelación de la membrana celular. Los más representativos endocannabinoides son la anandamida, identificada en extractos lipídicos cerebrales; y el 2-araquidonilglicerol (2-AG), que se encuentra en mayor concentración en el cerebro (Sugiura, Kishimoto, Oka & Gokoh 2006; Cota *et al.*, 2003; Cota, *et al.*, 2006).

La biosíntesis de la anandamida (ver Figura 4) se inicia con la acción de la enzima N-acilfosfatidiletanolamida, la cual por acción de la N- araquinodilfosfatidil etanolamida (NArPE) fosfolipasa D, genera una familia de compuestos, los araquidonilgliceroletanolaminas FAEs, de donde el 2-AG forma parte. La N-acetiltransferasa(NAT) es regulada por calcio (C^{2+}) y adenosin monofósforo cíclico (AMPc) y es estimulada selectivamente por despolarización celular.

Después de la síntesis la anandamida es difundida a través de las membranas de las neuronas y se une a los receptores a cannabinoides (CB), llevando a cabo su efecto biológico. La misma proteína que la pone en libertad, probablemente media la recaptura de la anandamida por las neuronas.

Después de la recaptura, la anandamida es degradada por la enzima ácido graso amido hidrolasa (FAAH), lo que genera ácido graso y etanolamida. Por otro lado, 2-AG, es degradado por la acción de monoacilglicerolipasa (MAGL) y de la FAAH y genera glicerol y ácido araquidónico (Cota, *et al.*, 2003; López-Jaramillo, Bracho & Pradilla, 2005; Pazos, Núñez, Benito, Tolón & Romero, 2005; Ramos, González, Sagrado, Gómez & Fernández, 2005; Sugiura, *et al.*, 2006).

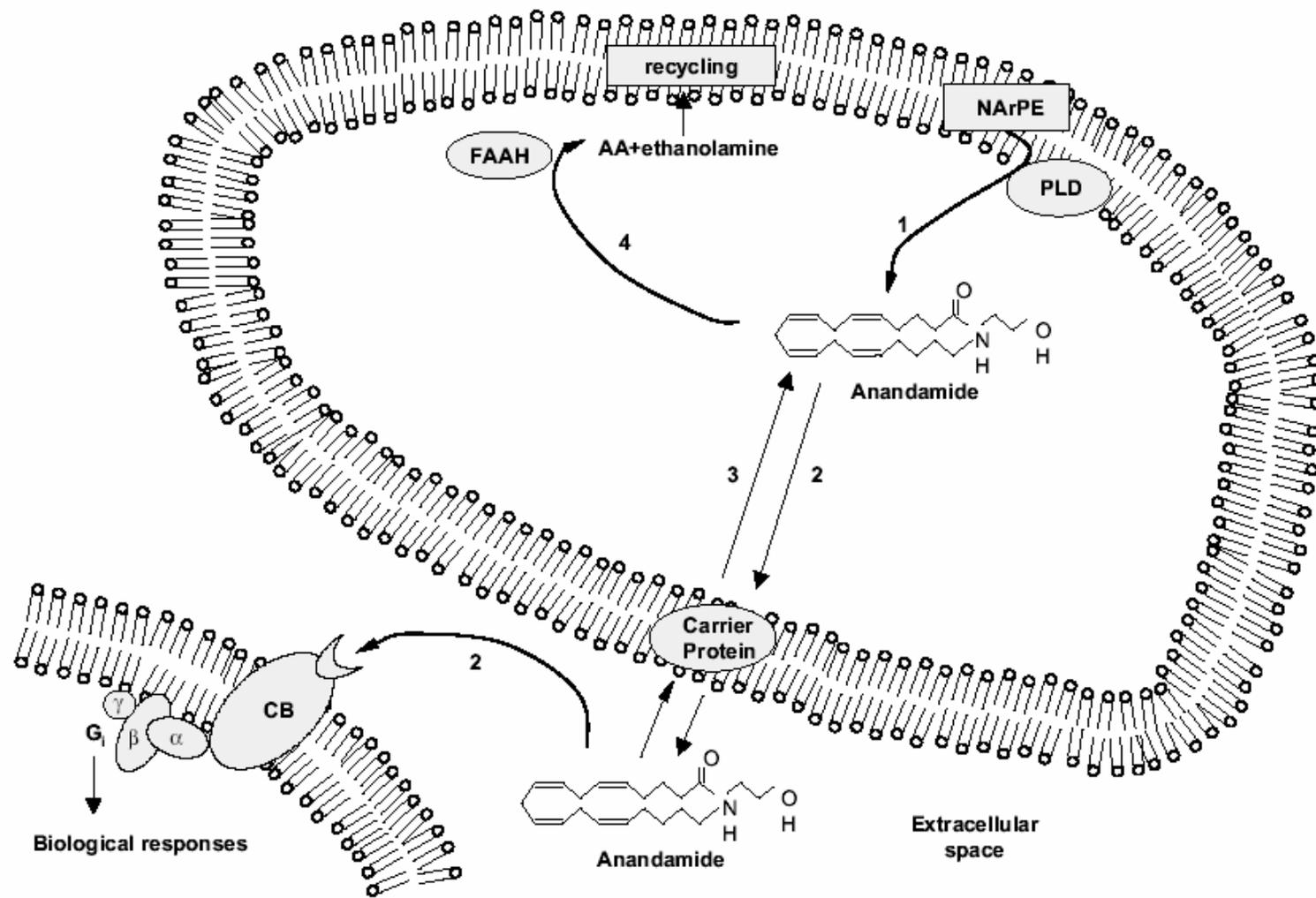


Figura 4. Biosíntesis de la anandamida. (Figura tomada de Cota *et al.*, 2003).

2.3.2 Receptores a cannabinoides CB1 y CB2.

En el año de 1990 se logró clonar el primer receptor a cannabinoides el CB1. Estos se localizan primordialmente en el sistema nervioso central. Posteriormente, en 1993 se clonaron los segundos receptores, los CB2 que se encuentran en tejidos periféricos (Devane, Dysarz, Johnson, Melvin & Howlett, 1988; Matsuda, Lolait, Brownstein, Young & Bonner, 1990; Munro, Thomas & Abu-Shaar, 1993, Di Marzo, 2006).

Diversos estudios se han realizado sobre la relación de estos receptores y la alimentación, aunque los estudios se centran principalmente en el receptor CB1, ya que éstos participan en la regulación alimentaria. Dichas investigaciones realizadas con el receptor CB1 revelan que la activación de éste produce un incremento en el apetito (Cooper, 2004, Di marzo, op. cit.; Di Marzo, Bisogno & De Petrocellis, 2007). De hecho, Williams, Rogers y Kirkham (1998), reportan que al administrar dosis de 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg de Δ^9 -THC en ratas prealimentadas, se produce un efecto de hiperfagia durante la siguiente hora de alimentación. Otros estudios han publicado que agonistas de los receptores CB1 como el Noladin, producen un efecto dosis-dependiente para el consumo de alimento (Avraham *et al.*, 2005). Por su parte Häring *et al.*, (2007), menciona que los receptores CB1 mantienen una relación con el sistema serotoninérgico, lo que podría coadyuvar en su influencia sobre la alimentación.

Otro ejemplo, lo constituye un estudio donde la administración sistémica de anandamida a ratas (1 mg/kg), incrementó significativamente la ingesta de alimento y dicho efecto fue bloqueado cuando se administró sistémicamente (0.5 mg/kg) el antagonista de los receptores CB1 (SR141716) (Williams & Kirkham, 1999). Un estudio más reporta que al administrar intraparaventricularmente 5 μ g de Δ^9 -THC se produjo un incremento en la ingesta de alimento, efecto que fue prevenido por la administración en el mismo núcleo del antagonista de los

receptores CB1 (0.3 μ g y 3.0 μ g), el Rimonabant (SR141716) (Kirkham & Williams, 2001; Williams & Kirkham, 2002; Verty, McGregor & Mallet, 2005).

Los estudios sobre los receptores a canabinoides CB1 muestran que su activación produce incremento de la ingesta de alimento, mientras que al ser bloqueado el receptor CB1 por el antagonista SR141716 (Rimonabant) el efecto producido es hipofagia (Williams & Kirkham, 1999; Kirkham & Williams, 2001; De Vry, Schreiber, Eckel & Rüdiger, 2004; Verty, *et al.*, 2005; Thornton-Jones, *et al.*, 2006; Salamone, *et al.*, 2007).

Este efecto de reducción del apetito producido por el bloqueo del receptor CB1 mediante un antagonista, también es observado cuando se administran los antagonista inversos AM 251 y AM 281 (Chen, Huang, Shen, MacNeil & Fong, 2004; Wernwer & Koch, 2003).

Las investigaciones realizadas sobre los receptores CB1 también han arrojado datos con respecto a la influencia conductual que tiene la activación de los mismos. Se ha encontrado que la administración sistémica de 250 μ g/Kg de CP 55, 940 en ratas Lewis y Wistar, produce catalepsia y pérdida de la locomoción en ambas cepas, siendo mayor el efecto en las Wistar (Arnold, Topple, Mallet, Hunt & McGregor, 2001). Por su parte Avraham, *et al.* (2005), reporta que la administración sistémica de diferentes dosis (0.001, 0.01 y 0.1 mg/kg) de Nolidín a ratas, no afecta de manera significativa la actividad de éstas. Datos similares fueron reportados por Salamone *et al.* (2007), quien encontró que al administrar RS 141716 y AM 251, la actividad no afectó de manera significativa la conducta alimentaria.

A pesar de estos reportes, hasta el momento no se ha descrito la forma en que esto sucede, es decir, cómo es que la activación del receptor CB1 produce hiperfagia. Tomando en cuenta que el hipotálamo es una región relevante para el control de la alimentación y que los receptores CB1 se encuentran en el NPH,

podría ser que el efecto de la activación de los receptores CB1 se deba a una liberación de sustancias orexigénicas y a la inhibición de sustancias anorexigénicas (Stratford, 2005; Fletcher, Currie, Chambers & Leibowitz, 1993; Kirkham & Williams, 2001) que directa o indirectamente influyen sobre los mecanismos de la expresión de la saciedad y el apetito.

2.3.3 Canabinoides, endocannabinoides y alimentación.

Con el interés de estudiar los efectos de los cannabinoides en la ingesta de alimento en humanos, los primeros experimentos realizados usaron como fuente de cannabinoides a la marihuana. Dichos estudios encontraron diversos datos importantes, por ejemplo, que cuando las personas fumaron marihuana reportan más hambre que aquellos que no la habían consumido. También se encontró una preferencia por la comida de sabor dulce o de sabor agradable después del consumo de marihuana (Siler, *et al.*, 1933; Tart, 1970; Haines & Green, 1970, citados en: Cota, *et al.*, 2003). Lamentablemente por falta de sistematicidad en dichos experimentos, aspectos como la dosis de Δ^9 -THC no se determinaron.

Un estudio posterior reveló que al consumir diferentes dosis de Δ^9 -THC se obtenían efectos variables sobre el apetito, es decir, las dosis bajas del canabinoide producían un incremento en el apetito, mientras que cuando se administraban dosis altas el efecto era el contrario, el apetito era inhibido (Gagnon & Elie, 1975, citados en: Cota, *et al.*, 2003).

A estos estudios siguió una serie de experimentos sistemáticos, donde se buscó corroborar los datos proporcionados por los experimentos anteriores. Entre dichos estudios se encuentra el de Greenberg *et al.* (1976, citado en: Cota *et al.*, 2003), donde se proporcionó a voluntarios cigarrillos de marihuana con un 20% de Δ^9 -THC y se midió el peso corporal durante 1 mes, observando un incremento del mismo durante el periodo de administración, mientras que en los días posteriores al término de dicho periodo, se observó una disminución del peso.

Por su parte, Foltin, Brady y Fischman (1986), corroboraron la predilección hacia la comida dulce y de buen sabor por parte de los fumadores de marihuana. Finalmente, Mattes, Engelman, Shaw y Elsohly (1994, citados en: Cota *et al.*, 2003), confirmaron que al administrarse por diferentes vías (oral, inhalación de humo o supositorios) del Δ^9 -THC induce un efecto sobre la selección dietaria, incrementando la preferencia por alimento de sabor agradable.

De la gama de cannabinoides existentes, el Rimonabant (SR 141716), es el que actualmente es utilizado como medida terapéutica para el tratamiento de la obesidad, al ser uno de los tres medicamentos aprobados por la Organización Mundial de la Salud para este fin (Moreno, *et al.*, 2005).

El Rimonabant ha sido objeto de estudio de muchos investigadores y se han publicado diversos datos, entre los que destaca la hipofagia producida por el SR 141716, así como el bloqueo de los efectos de la administración de un agonista de los receptores CB1. En un estudio realizado por Jbilo, *et al.* (2005), se encontró que al administrar 10 mg/kg por 40 días a ratas obesas, éstas redujeron su obesidad al perder el 50% de su masa adiposa. Estos resultados se han encontrado en publicaciones donde los sujetos utilizados fueron ratas, por lo que recientemente se han realizado investigaciones en humanos para corroborar esta información.

Dichos estudios muestran que el uso de Rimonabant en humanos produce una pérdida de peso corporal, reducción en el tamaño de la cintura y una reducción en los índices de riesgo de las enfermedades cardiovasculares (p. e. Colesterol, glucosa, triglicéridos, etc.) (Bellocchio, *et al.*, 2006; Van Gaal, *et al.*, 2005).

Estudio sistemático de la Alimentación.

La alimentación es una conducta compleja que además de suministrar los requerimientos nutricionales al individuo, consiste en la búsqueda y selección de

una serie de productos naturales o transformados (alimentos); por lo que resulta una conducta difícil de estudiar de manera sistemática.

Para poder estudiar la conducta alimentaria de forma sistemática, primero resulta necesario definir algunos conceptos de gran trascendencia, como son <hambre>, <apetito>, <satisfacción> y <saciedad>. De acuerdo con Bundell (1984), se define como <hambre> al proceso responsable del inicio de la alimentación, como <apetito> al proceso que dirige y guía la conducta de alimentación una vez iniciado el episodio alimentario, <satisfacción> es el proceso mediante el cual se detiene la alimentación, finalmente la <saciedad> es el estado de inhibición de la ingesta ante un próximo episodio.

En las distintas investigaciones sobre el control alimentario, actualmente se utiliza la herramienta conductual de la Secuencia de Saciedad Conductual (SSC) la cual ha permitido analizar sistemáticamente el mecanismo de acción conductual por el cual algunas drogas producen cambios en el comportamiento alimentario (Haldford, Lawton & Blundell, 1997).

La SSC consiste en la sucesión y distribución temporal de diferentes conductas que muestran el proceso saciatorio de la ingestión de alimento, es decir, es el proceso mediante el cual la ingestión de alimento es remplazada por actividad no alimentaria (como acicalarse) y eventualmente el descanso. Así, esta técnica es ampliamente aceptada como una prueba conductual confiable y útil para distinguir los efectos indirectos como la hiperactividad, sedación o náusea de los efectos directos que tienen las drogas sobre el apetito, la saciedad y la ingesta de alimento (Haldford, Wanninayake & Blundell, 1998).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El creciente aumento en los índices de obesidad en el mundo, crearon la necesidad en la comunidad científica de realizar investigaciones con el fin de buscar nuevas alternativas para el tratamiento de este padecimiento. Un área que había sido poco estudiada y que en años recientes ha llamado la atención fue la de los canabinoides. Los estudios realizados sobre el sistema endocanabinoide, muestran que éste ejerce una influencia sobre el control alimentario y la saciedad. Al descubrirse los receptores CB1 y CB2, en los estudios realizados sobre éstos, se encontró que la activación de los receptores CB1 produce un aumento del apetito. También se mostró que este efecto puede ser prevenido por el uso de antagonistas como el Rimonabant. Otros hallazgos fueron que diferentes dosis de un agonista al receptor CB1 produce efectos variables en el apetito y que la activación de dichos receptores produce una preferencia por la comida paladable. Estos resultados motivaron el uso del Rimonabant como una alternativa terapéutica para la obesidad, aún sin conocer el perfil conductual asociado a su efecto terapéutico. Sobre el efecto del Rimonabant en los seres humanos, se sabe que éste produce una pérdida del peso corporal, así como la reducción de los índices de riesgo de las enfermedades cardiovasculares.

Así, el presente trabajo se fundamenta en los siguientes supuestos:

1. El sistema canabinoide ejerce influencia principalmente estimuladora sobre el control alimentario (Contreras, *et al.*, 2003; Carlini, 2003; Cota, *et al.*, 2006; Gamber, Macarthur & Westfall, 2005).
2. La activación de los receptores CB1 produce aumento del apetito (Williams, Rogers & Kirkham, 1998; Williams & Kirkham, 1999; Kirkham & Williams, 2001; De Vry, Schreiber, Eckel & Rüdiger, 2004; Chen *et al.*, 2004; Avraham *et al.*, 2005; Verty, McGregor & Mallet, 2005).

3. La administración sistémica de diferentes dosis de un agonista de los receptores CB1 produce efectos variables en el apetito (Gagnon & Elie, 1975, citados en: Cota, *et al.*, 2003).
4. El bloqueo de los receptores CB1 por la acción de un antagonista, produce una reducción de la ingesta y no afecta de manera significativa a la actividad (Chen, *et al.*, 2004; Wernwer & Koch, 2003; Avraham, *et al.*, 2005; y Salamone *et al.*, 2007).
5. El efecto de aumento del apetito producido por la activación de los receptores CB1 puede prevernirse con el pretratamiento con un antagonista (Williams & Kirkham, 1999; Kirkham & Williams, 2001; De Vry, Schreiber, Eckel & Rüdiger, 2004; Chen, *et al.*, 2004; Abraham, *et al.*, 2005; Verty, McGregor & Mallet, 2005).
6. No se conoce el perfil conductual asociada a la activación de los receptores CB1.

Dado lo anterior, resulta necesario analizar el mecanismo conductual asociado al efecto estimulador de la ingesta por la activación de los receptores CB1, lo que potencialmente ayudará a entender el efecto terapéutico del Rimonabant.

4. HIPÓTESIS

Como hipótesis se plantea que la hiperfagia inducida por la activación aguda del receptor CB1 está asociada a la inhibición de la progresión de la saciedad, es decir, la SSC demora su expresión.

5. OBJETIVO

5.1 Objetivo General.

El objetivo general de este trabajo es: caracterizar el perfil conductual (secuencia de saciedad conductual) asociado a la hiperfagia inducida por la activación de los receptores a cannabinoides CB1.

Objetivos Particulares.

1. Evaluar los efectos de la administración sistémica del ACEA (agonista de los receptores CB1) en la autoselección dietaria (proteínas, carbohidratos y grasa) y la secuencia de saciedad conductual de ratas sometidas a un programa de alimentación restringida.
2. Evaluar si los efectos del ACEA sobre la ingesta de alimento y la secuencia de saciedad conductual son prevenidos por el bloqueo de los receptores a cannabinoides CB1 (administración sistémica de AM 251).

6. MÉTODO

Sujetos.

Cuarenta ratas macho Wistar de 200-220 g proporcionados por el bioterio de la FES-Iztacala. Todos los procedimientos se llevaron a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-Zoo-1999) con las Especificaciones para la Producción, Cuidado y uso de Animales de Laboratorio.

Fármacos.

N-(Piperidin-1-yl)-5-(4-iodophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carboxamide (AM 251, antagonista CB1) y Arachidonyl-2-chloroethylamide (ACEA, agonista CB1) (Tocris, Bioscience, USA). El AM 251 fue disuelto con dimetilsulfóxido (DMSO, 5% del volumen total) y posteriormente diluido con solución salina al 0.9 %. El ACEA fue resuspendido en DMSO (se adquirió en solución de etanol) y se agregó nitrógeno para facilitar la evaporación del etanol, posteriormente fue diluido con solución salina al 0.9% (la solución final tuvo 5% de DMSO). Los fármacos fueron administrados intraperitonealmente (ip) en un volumen de 2 ml/kg.

Dieta.

Hidratos de carbono (harina de maíz Maseca, maíz nixtamalizado, Molinos Azteca de Chalco S.A. de C.V., planta Teotihuacán), proteínas (proteína aislada de soya 91.5% marca Supro 500 E, distribuido por Protein Technologies International, S.A. of C.V. Checkerboard Square, St. Louis, MO), grasas (manteca vegetal Inca. Elaborado por Anderson Clayton & Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México). El agua fue enriquecida con Vitater, un suplemento vitamínico (hecho en México por Laboratorio Maver).

Situación experimental.

Los sujetos fueron habituados a la situación experimental durante una semana antes de iniciar las sesiones experimentales. Estas condiciones consistieron en cajas habitación individuales en un bioterio con el ciclo de luz-oscuridad invertido

(las luces se encendían a las 21:00 h) y con una temperatura de 21 ± 1 °C. El agua estuvo disponible todo el tiempo, mientras que el alimento (dieta experimental) sólo fue presentado durante 2 horas al día.

Programa de alimentación restringida.

Con la finalidad de evaluar los efectos de los tratamientos farmacológicos en condiciones de saciedad alimentaria, los sujetos fueron habituados durante 3 días a la dieta experimental (proteínas, carbohidratos y grasas en comederos separados), para que se acostumbraran al cambio de dieta. Durante los siguientes 4 días los animales se expusieron a un programa de alimentación restringida en el que durante un periodo de dos horas al día (al inicio de la fase oscura del ciclo circadiano de la rata) se proporcionaron a los animales el alimento (dieta experimental, proteínas, carbohidratos y grasas en comederos separados). La posición de los comederos fue cambiada diariamente para prevenir preferencia de lugar y el alimento sólo estuvo disponible en este horario. Los sujetos fueron expuestos a estas condiciones durante 7 días antes de iniciar las sesiones experimentales. Los sujetos que no se adaptaron a la dieta (consumo mínimo de cada uno de los nutrimentos) fueron excluidos del estudio. Concluido el periodo de habituación (día 8) y posterior a la exposición del alimento, se realizaron videograbaciones para llevar a cabo los registros conductuales correspondientes a las sesiones control y experimentales (durante éstas sesiones, el alimento se colocó nuevamente en las cajas habitación después de las primeras dos horas de la fase de oscuridad).

Registros conductuales.

Análisis de la Secuencia de Saciedad Conductual. Posterior a las dos horas de exposición de alimento y 15 minutos después de los tratamientos farmacológicos, se realizó un registro de duración continua de 60 min, mismo que fue dividido en 12 periodos de 5 min cada uno, donde se midió la duración de cinco categorías conductuales mutuamente excluyentes: alimentación (consumo de cualquiera de los nutrimentos), ingestión de agua, actividad (locomoción, levantamiento en dos

patas, desplazamiento), acicalamiento y descanso (inactividad motora con o sin ojos cerrados, la cabeza del sujeto se encuentra en el piso de la caja habitación). El consumo de alimento fue medido al inicio y al final del registro conductual de 60, para su comparación.

Diseño experimental.

Los sujetos tuvieron disponible el alimento *ad libitum* durante 3 días, para posteriormente someterlas a un programa de alimentación restringida. Posteriormente, 25 de los animales fueron asignados aleatoriamente a uno de cinco grupos, uno control y cuatro experimentales (cada grupo con $n = 5$). Los sujetos de los grupos experimentales recibieron la administración de diferentes dosis de ACEA (0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg ip) justo al término de las dos horas de alimentación del día 7; el grupo control recibió la inyección (ip) del vehículo. Los 15 sujetos restantes fueron asignados aleatoriamente a uno de tres grupos, uno control y dos experimentales (cada grupo con $n = 5$). Los sujetos de los grupos experimentales recibieron la administración de diferentes dosis de AM 251 (0.05 y 0.25 mg/kg ip) y de 0.5 mg/kg ip de ACEA, justo al término de las dos horas de alimentación del día 7; el grupo control recibió la inyección (ip) de 0.25 mg/kg de AM 251. Posteriormente se realizó la evaluación de la SSC y la cantidad de alimento ingerido

Análisis estadístico.

Dado que la prueba de Bartlett para la igualdad de las varianzas indicó diferencias significativas en las muestras comparadas se empleó la aproximación no paramétrica para el análisis de los datos. Para determinar si hay diferencias estadísticas, se empleó una Kruskal-Wallis, seguida de la prueba *post hoc* de Dunn cuando fue apropiado. Los resultados se presentaran en términos de medianas + el rango intercuartílico (RI). Adicionalmente, los datos correspondientes al tiempo que los sujetos se encontraban realizando alguna de las categorías conductuales fue integrado (segundos/tiempo) para obtener el área bajo la curva (ABC) y se realizaron comparaciones entre los grupos para cada una

de las categorías conductuales mediante la prueba estadística Kruskal-Wallis, seguida de la *post hoc* de Dunn. El criterio para la significancia estadística fue $p < 0.05$.

7. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos sobre la ingesta, la SSC y el área bajo la curva de los diferentes grupos experimentales.

7.1 Ingesta.

Para evaluar la ingesta de alimento se utilizó la prueba Kruskal-Wallis y posteriormente la prueba *post hoc* de Dunn. Los datos muestran que sólo en la ingesta de carbohidratos se obtuvieron diferencias significativas ($K = 25.61$, $p < 0.0001$). La prueba de Dunn por su parte, reveló que el grupo de 0.5 mg/kg de ACEA tuvo una ingesta significativamente mayor en comparación con el grupo Vh ($p < 0.01$) y el de 1.0 mg/kg de ACEA ($p < 0.001$). Además la prueba mostró que la ingesta del grupo de 1.0 mg/kg de ACEA fue significativamente menor a la ingesta del grupo de 0.25 mg/kg de ACEA ($p < 0.01$) (Ver Figura 5).

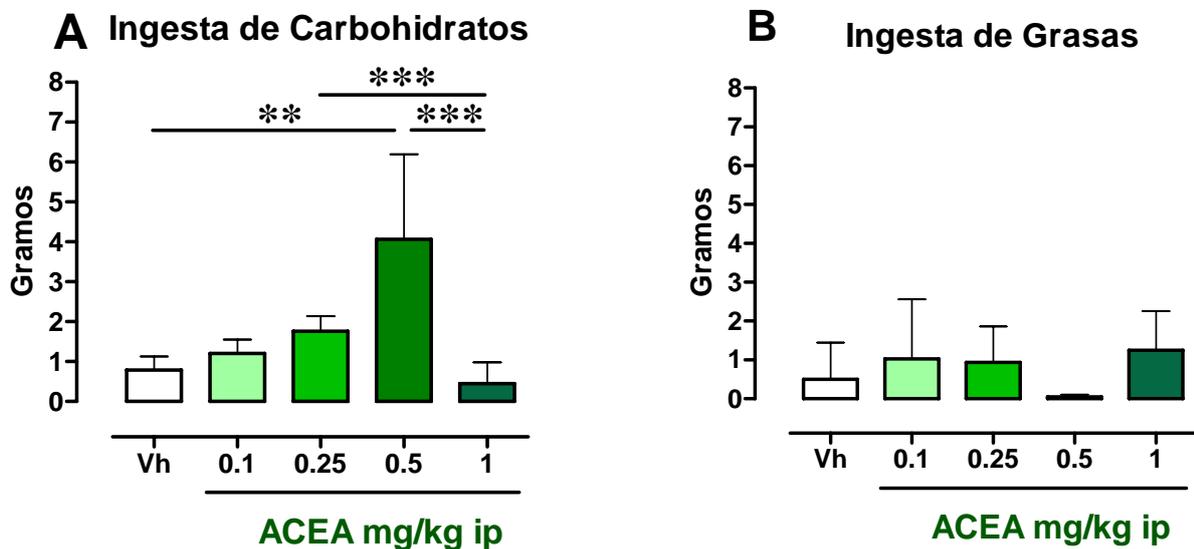


Figura 5. Muestra las medianas + rango intercuartílico (RI) de la ingesta en carbohidratos (A) y grasas (B) de los grupos Vh, ACEA a 0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba *post hoc* de Dunn. ** $p < 0.01$ y *** $p > 0.001$. (Vh $n = 5$; ACEA 0.1 $n = 6$; ACEA 0.25 $n = 6$; ACEA a 0.5 $n = 5$ y ACEA a 1.0 $n = 7$). Abreviaturas: Vh=Vehículo, ip=Intraperitoneal.

La ingesta de proteínas y grasas, de acuerdo con el análisis estadístico no tuvo diferencias estadísticas significativas por efecto del tratamiento ($K = 0.5646$, $p > 0.9669$ y $K = 4.836$, $p > 0.3045$ respectivamente) (Ver Apéndice A, Figura 1A). Las grasas presentan una tendencia a la disminución de la ingesta la cual no resulta significativa (Ver figura 5).

El efecto producido por el ACEA (0.5mg/kg) de aumento en la ingesta de carbohidratos, fue prevenido por el pretratamiento del AM 251 en dosis de 0.05 y 0.25 mg/kg. La prueba estadística Kruskal-Wallis reveló diferencias significativas ($K = 20.51$, $p < 0.0004$) ya que el consumo de carbohidratos fue menor en los grupos pretratados con el AM 251 en comparación con el grupo de ACEA 0.5 mg/kg (0). La prueba *post hoc* de Dunn mostró que la ingesta de carbohidratos del grupo de ACEA 0.05 mg/kg (0) fue significativamente mayor que la ingesta del grupo Vh y del grupo de AM 251 a 0.25 mg/kg ($p < 0.01$). Mientras que la tendencia en disminución de la ingesta de grasas en la dosis de ACEA a 0.5 mg/kg fue prevenida por el pretratamiento con AM 251 en diferentes dosis (0.05 y 0.25 mg/kg) (Ver Figura 6).

En el caso de las proteínas el pretratamiento de AM 251, no mostró diferencias significativas ($K = 1.027$, $p < 0.9057$) (Ver Apéndice B, Figura 2A).

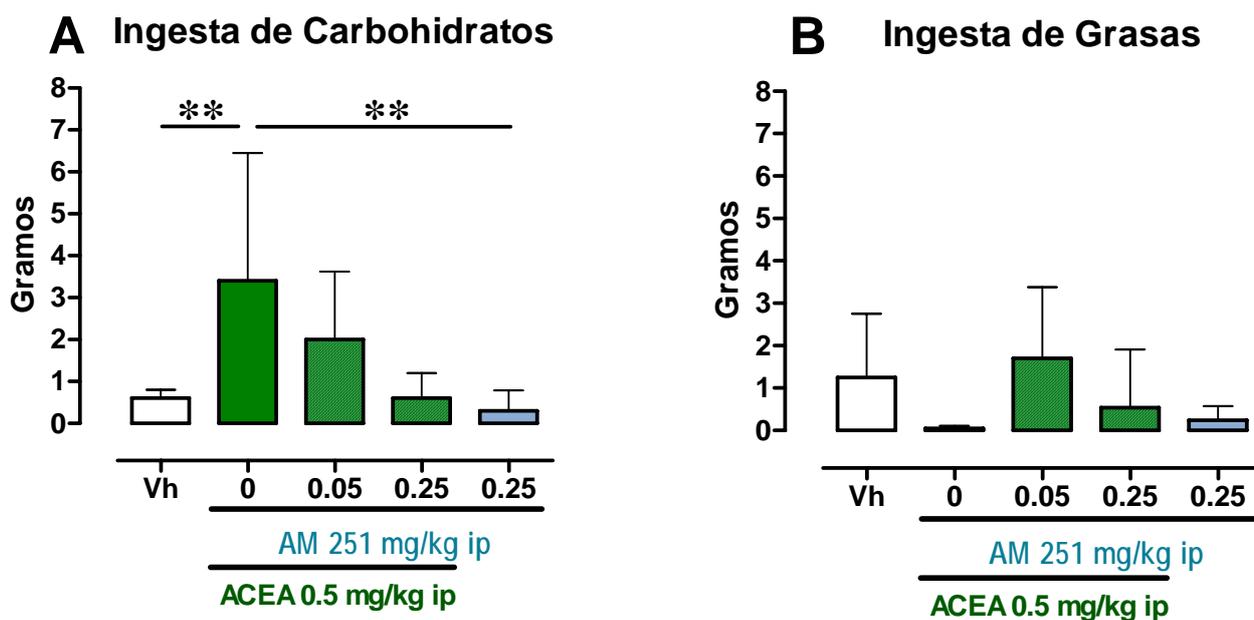


Figura 6. Muestra las medianas + RI de la ingesta en carbohidratos y grasas de los grupos Vh, ACEA 0.5 (0), AM 251 a 0.05 y 0.25 + ACEA a 0.5 y AM 251 a 0.25 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba post hoc de Dunn. *** $p < 0.01$. (Vh $n = 5$; ACEA a 0.5 $n = 5$; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 $n = 4$; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 $n = 5$ y AM 251 0.25 $n = 6$). Abreviaturas: Vh = Vehículo

7.2 Secuencia de Siedad Conductual (SSC).

En lo que se refiere a la SSC, los datos obtenidos muestran que en el grupo Vehículo (A) la siedad ya se había presentado antes del inicio del registro, es decir, durante las dos horas de prealimentación, por lo que la conducta de descanso predominó sobre las de actividad e ingestión, por ello la línea de la ingesta y la línea del descanso nunca se cruzan (Ver Figura 7).

En el grupo con una dosis de 0.1 mg/kg de ACEA (B) se observa que la siedad se presenta hasta poco antes del período cinco, por lo que ésta es inhibida. Este efecto inhibitor de la siedad también se muestra en el siguiente grupo con una dosis de 0.25 mg/kg de ACEA (C), en el que la siedad fue retrasada hasta pasando el período siete. Por otro lado, la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA (D) provocó una inhibición de la siedad de más de 60 min, puesto que de acuerdo

con la gráfica D (Figura 6), la conducta que predominó durante los doce periodos fue la de la alimentación, mientras la del descanso se mantuvo por debajo de ésta, lo que provocó que ambas líneas no se cruzaran, indicando que la saciedad no había llegado.

Finalmente el grupo con la dosis más alta de ACEA (1.0 mg/kg) (E), produjo un patrón conductual similar al del vehículo, donde se encontró que los sujetos ya estaban saciados, por lo que se observó una disminución de la alimentación hasta llegar a 0, seguida de actividad motora y predominio del descanso (Ver Figura 7).

Los siguientes resultados muestran que el efecto de inhibición de la saciedad producido por la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA (descrito anteriormente), es prevenido por el pretratamiento del antagonista de los receptores CB1, el AM 251. En el grupo al que se le administraron dosis de 0.05 mg/kg de AM 251 y 0.5 mg/kg de ACEA (H), la saciedad se presentó poco antes del periodo diez, es decir, 10 minutos antes que en el caso de la gráfica (B). El bloqueo total de dicho efecto, se observó al administrar una dosis más alta de AM 251 (0.25 mg/kg) combinada con 0.5 mg/kg de ACEA (D), lo que ocasionó que la saciedad se presentará entre el periodo cuatro y cinco. Esto al compararse con la gráfica (B), muestra que el efecto inhibitorio es prevenido por el antagonista AM 251 (Ver Figura 7).

Cabe destacar que al administrarse sólo el AM 251 en una dosis de 0.25 mg/kg (H), el efecto en la saciedad fue similar al producido por el Vh (Ver Figura 8).

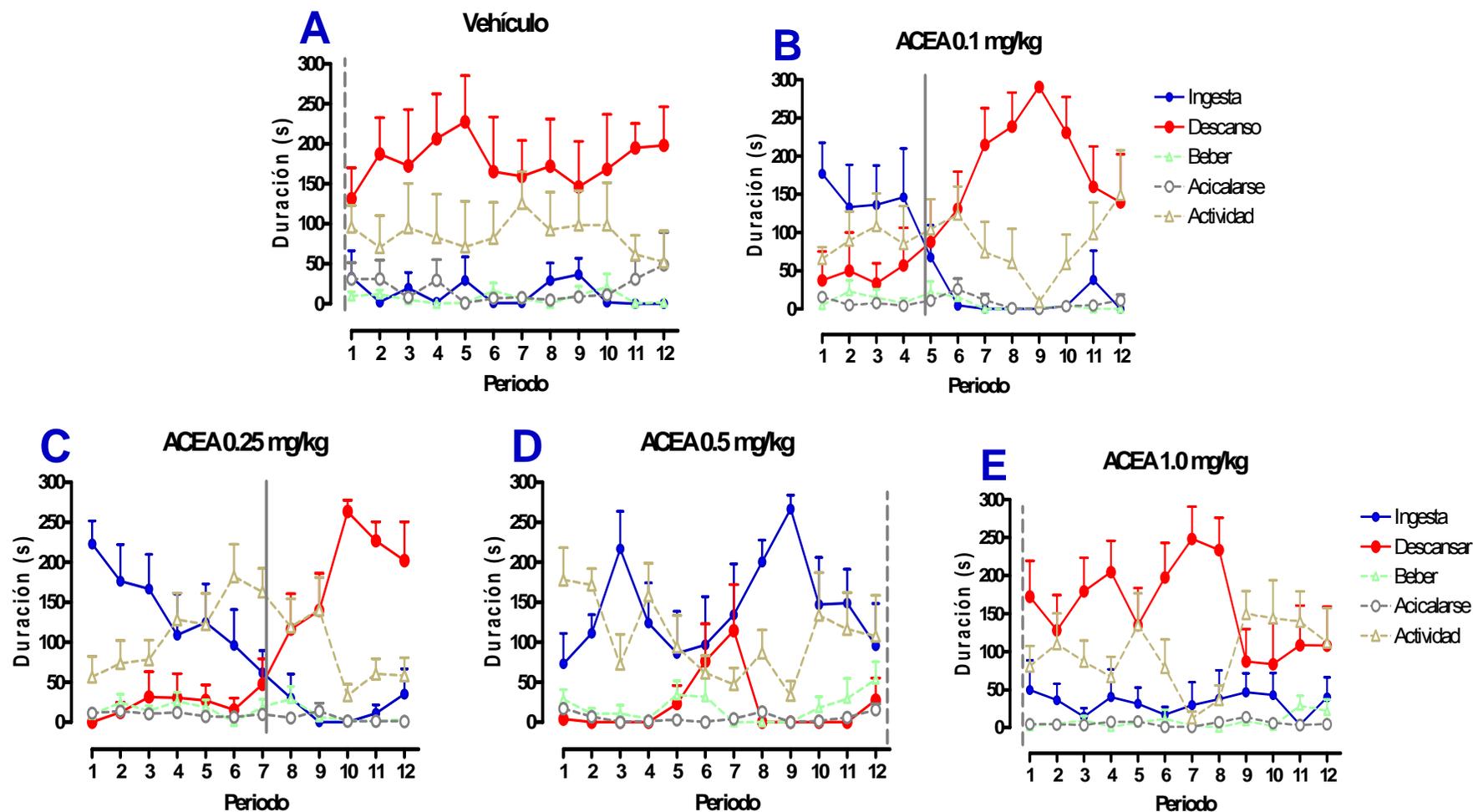


Figura 7. Efectos del Vehículo (VH) (A) y diferentes dosis (0.25, 0.5 y 1.0) de ACEA (B, C, D y E), en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 60 min fue dividido en 12 periodos de 5 min. La línea vertical señala el momento en el que se ha expresado la satisfacción y la línea vertical discontinua muestra que la saciedad alcanzó antes de iniciado el registro (durante la prealimentación) o después de 60 min. (Vh n= 5; ACEA 0.1 n=6; ACEA 0.25 n=6; ACEA a 0.5 n=5 y ACEA a 1.0 n=7).

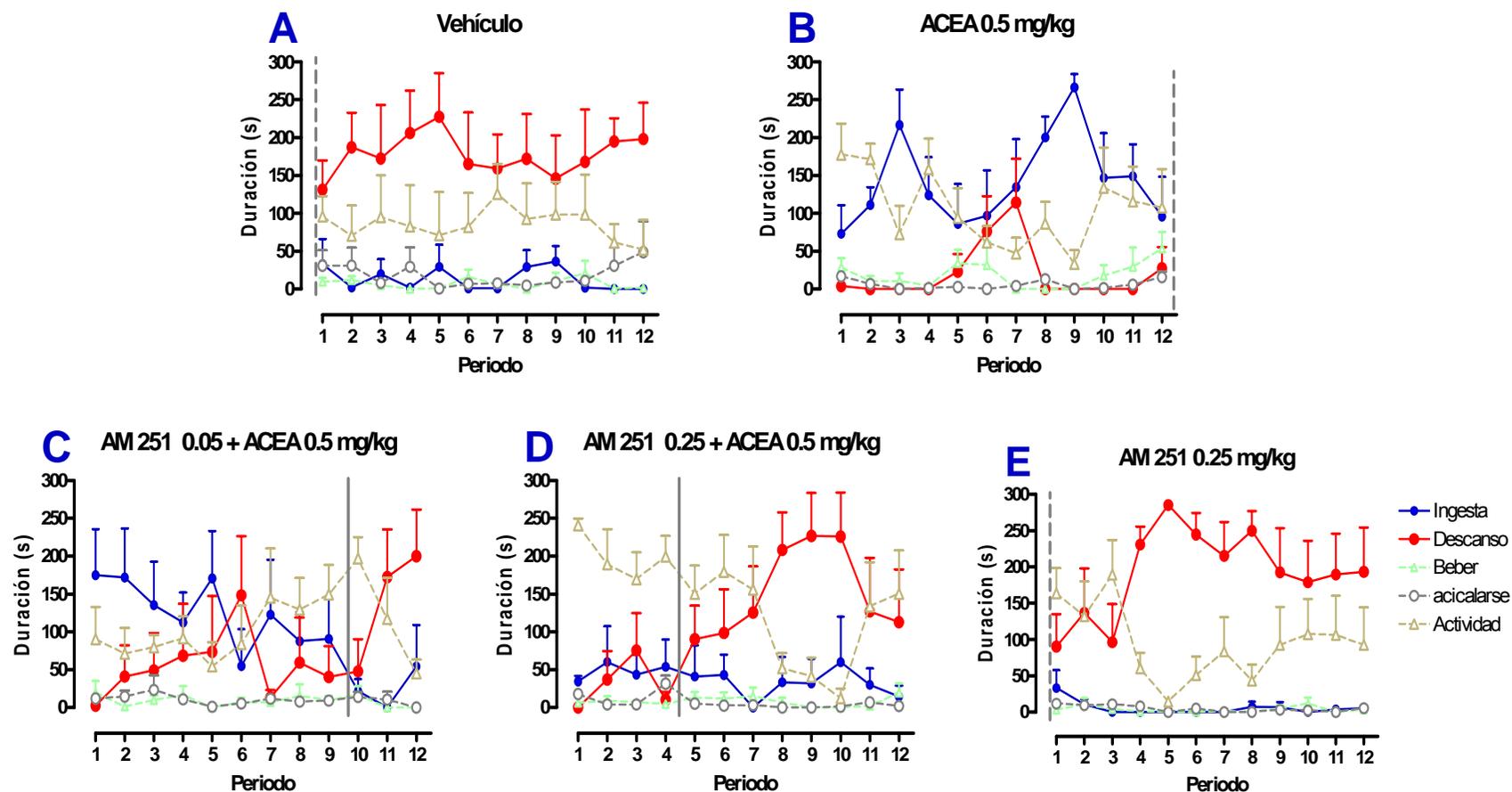


Figura 8. Efectos del vehículo (Vh) (A), ACEA a 0.5 mg/kg (B), diferentes dosis (0.05, 0.25) de AM 251 + 0.5 mg/kg de ACEA (C y D) y AM 251 a 0.25 mg/kg (E), en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 60 min fue dividido en 12 periodos de 5 min. La línea vertical señala el momento en el que se ha expresado la satisfacción y la línea vertical discontinua muestra que la saciedad se alcanzó antes de iniciado el registro (durante la prealimentación) o después de 60 min. (Vh n= 5; ACEA a 0.5 n=5; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 n=4; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 n=5 y AM 251 0.25 n=6).

7.3 Área Bajo la Curva (ABC).

El cálculo del área bajo la curva permitió realizar comparaciones cuantitativas de la información de la SSC mediante una Kruskal-Wallis, dichos resultados muestran que la conducta de ingesta presentó diferencias significativas ($K = 16.57$ $p < 0.0023$). Mientras que la prueba *post hoc* de Dunn mostró que los segundos por período (área bajo la curva) utilizados por el grupo de 0.5 mg/kg de ACEA fue significativamente mayor que el tiempo consumido por los grupos Vh en la categoría conductual de alimentación ($p < 0.01$) y ACEA a 1.0 mg/kg ($p < 0.001$) (Ver Figura 9).

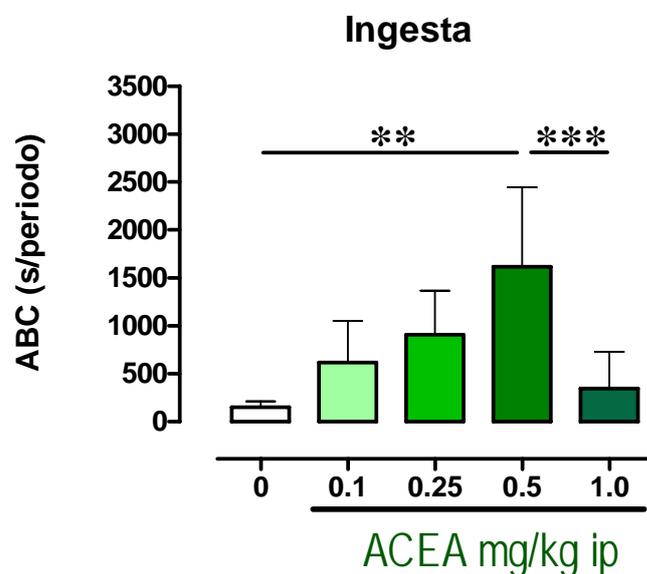


Figura 9. Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en la ingesta por los grupos Vh y ACEA a 0.1, 0.25, 0.05 y 1.0 mg/kg. La significancia de las diferencias fue obtenida por la prueba *post hoc* de Dunn. ** $p < 0.01$ y *** $p > 0.001$. (Vh $n = 5$; ACEA 0.1 $n = 6$; ACEA 0.25 $n = 6$; ACEA a 0.5 $n = 5$ y ACEA a 1.0 $n = 7$).

En la conducta de descanso, el análisis del ABC mostró diferencias significativas ($K = 15.27$ $p < 0.0042$). La prueba *post hoc* de Dunn señaló que el tiempo utilizada para descansar por el grupo de 0.5 mg/kg de ACEA, fue significativamente menor

que el tiempo consumido por los grupos Vh ($p < 0.01$), ACEA a 0.1 y 1.0 mg/kg ($p < 0.05$) (Ver Figura 10).

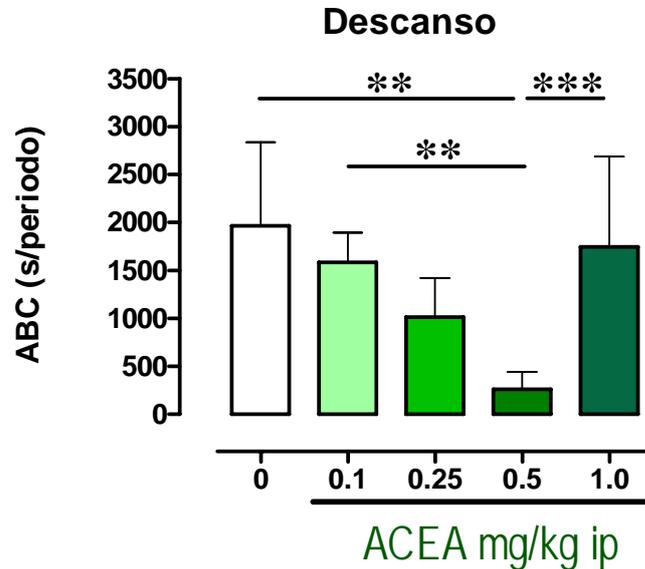


Figura 10. Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en el descanso por los grupos Vh y ACEA a 0.1, 0.25, 0.05 y 1.0 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba post hoc de Dunn. * $p < 0.05$ y ** $p > 0.01$. (Vh $n = 5$; ACEA 0.1 $n = 6$; ACEA 0.25 $n = 6$; ACEA a 0.5 $n = 5$ y ACEA a 1.0 $n = 7$).

No se encontraron diferencias significativas para la actividad en el análisis estadístico del área bajo la curva ($K = 2.560$, $p < 0.6338$) (Ver Figura 11).

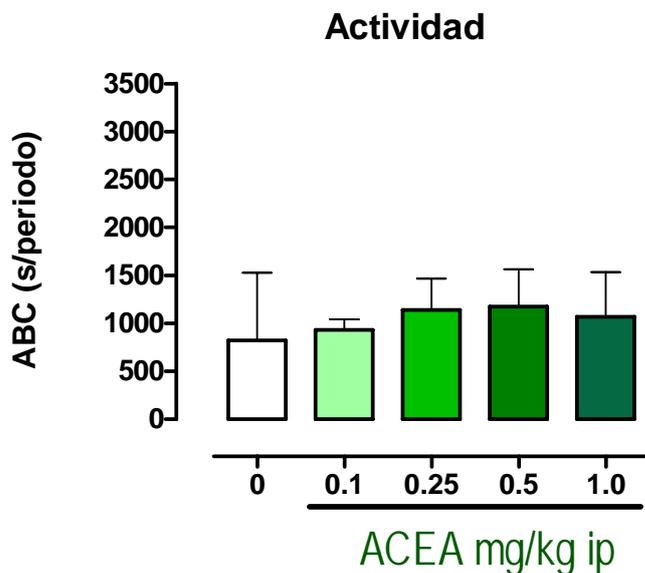


Figura 11. Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en la actividad por los grupos Vh y ACEA a 0.1, 0.25, 0.05 y 1.0 mg/kg. (Vh $n = 5$; ACEA 0.1 $n = 6$; ACEA 0.25 $n = 6$; ACEA a 0.5 $n = 5$ y ACEA a 1.0 $n = 7$).

El efecto producido por el ACEA a 0.5 mg/kg, aumento en el tiempo en la ingesta y el descanso, fue prevenido por el pretratamiento del AM 251 a diferentes dosis (0.05 y 0.25 mg/kg). Específicamente en la ingesta, se observó que la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA, es mayor tanto al Vh, como a las diferentes dosis administradas de AM 251 ($K = 19.92$, $p < 0.0005$). La prueba *post hoc* de Dunn reveló que el tiempo dedicado a la ingesta por el grupo de ACEA con 0.5 mg/kg fue significativamente mayor al empleado por los grupos VH y AM 251 a 0.25 mg/kg + 0.5 mg/kg de ACEA ($p < 0.001$) y entre los grupos de AM 251 a 0.05 mg/kg y AM 251 a 0.25 mg/kg ($p < 0.05$) (Ver Figura 12).

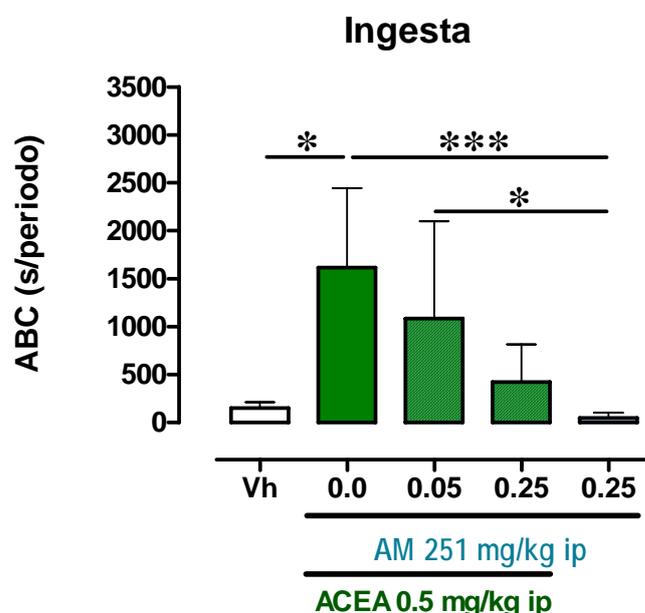


Figura 12. Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en la ingesta por los grupos Vh, ACEA a 0.5, AM 251 a 0.05 y 0.25 + ACEA a 0.5 y AM 251 a 0.25 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba *post hoc* de Dunn. * $p < 0.05$ y *** $p > 0.001$. (Vh $n = 5$; ACEA a 0.5 $n = 5$; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 $n = 4$; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 $n = 5$ y AM 251 0.25 $n = 6$). Abreviaturas: Vh = Vehículo

En lo referente al descanso, el efecto del ACEA también fue prevenido por el AM 251, lo que produjo diferencias significativas ($K = 15.83$, $p < 0.0033$). En la

Figura 13 se observa que el grupo de ACEA a 0.05 mg/kg (0.0) utilizó un tiempo total de descanso significativamente menor, que el utilizado por los grupos Vh ($p < 0.05$) y AM 251 a 0.25 mg/kg ($p < 0.01$).

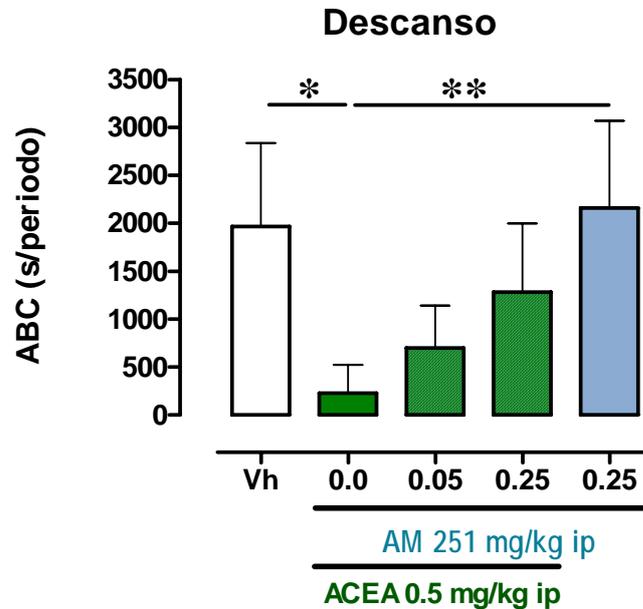


Figura 13. Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en el descanso por los grupos Vh, ACEA a 0.5, AM 251 a 0.05 y 0.25 + ACEA a 0.5 y AM 251 a 0.25 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba post hoc de Dunn. * $p < 0.05$ y ** $p > 0.01$. (Vh $n = 5$; ACEA a 0.5 $n = 5$; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 $n = 4$; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 $n = 5$ y AM 251 0.25 $n = 6$). Abreviaturas: Vh = Vehículo

El pretratamiento de AM 251 no afectó de manera significativa a la actividad en el análisis estadístico del área bajo la curva ($K = 2.627$, $p < 0.6220$) (Ver Figura 14).

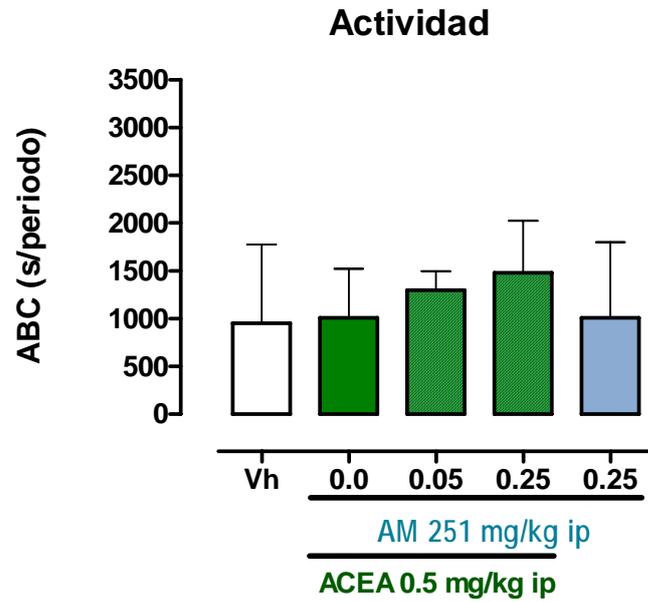


Figura 14 .Muestra las medianas + RI de los segundos por periodo invertidos en la actividad por los grupos Vh, ACEA a 0.5, AM 251 a 0.05 y 0.25 + ACEA a 0.5 y AM 251 a 0.25 mg/kg. (Vh n= 5; ACEA a 0.5 n=5; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 n=4; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 n=5 y AM 251 0.25 n=6).

8. DISCUSIÓN

El incremento del índice de obesidad hace necesario el estudio a profundidad de los procesos que regulan el comportamiento alimentario. En este trabajo se analizó el mecanismo conductual asociado al efecto estimulador de la ingesta por la activación de los receptores CB1, lo que potencialmente ayudará a entender el efecto terapéutico del Rimonabant. Ya que, como mencionan diversos autores (Contreras, *et al.*, 2003; Carlini, 2003; Cota, *et al.*, 2006; Gamber, Macarthur & Westfall, 2005), el sistema canabinoide ejerce influencia en el control de la alimentación.

Por ello en este estudio se trabajó con el objetivo de caracterizar el perfil conductual (SSC y autoselección dietaria) asociado a la hiperfagia inducida por la activación de los receptores a canabinoides CB1.

Así, los resultados obtenidos mostraron, en primer lugar, que al administrar sistémicamente ACEA, un agonista del receptor CB1, se produjo un incremento en la ingesta, la cual se manifestó de manera significativa sólo en los carbohidratos y no siendo así para las proteínas y las grasas. Este efecto estimulador del apetito encontrado en el estudio, concuerda con los resultados derivados de las investigaciones realizadas por Williams, Rogers y Kirkham (1998), Williams y Kirkham (1999), Kirkham y Williams (2001), De Vry, Schreiber, Eckel y Rüdiger (2004), Chen *et al.* (2004), Avraham *et al.* (2005), y Verty, McGregor y Mallet (2005). Con respecto a la tendencia de disminuir el consumo de grasas por efecto de la administración de 0.5 mg/kg de ACEA, es probable que ésta se deba a una potente estimulación específica del consumo de carbohidratos y no a un efecto inhibitorio del consumo de grasas, pues se ha observado que el bloqueo de los receptores CB1 puede inhibir igualmente la ingesta de alimento con alto contenido de carbohidratos que de grasas (Verty, *et al.*, 2004).

También se encontró que el efecto de aumento del apetito producido por el ACEA, pudo ser prevenido por el pretratamiento con un antagonista, en este caso el AM 251. Esta situación donde los efectos de la activación del receptor CB1 por un agonista, es prevenida por el pretratamiento con un antagonista, coincide con los estudios realizados por Williams y Kirkham, (1999); Kirkham y Williams, (2001); Verty, McGregor y Mallet, (2005); Chen *et al.*, 2004; y Wernwer y Koch, 2003, sugiriendo fuertemente que el efecto del ACEA es mediado específicamente por el receptor CB1.

De los estudios realizados con respecto a los cannabinoides, un área que no ha sido evaluada es el efecto de los agonistas y antagonistas sobre la secuencia de saciedad conductual, hecho lamentable, puesto que actualmente el Rimonabant una antagonista de los receptores CB1 ya es utilizado para el control de la obesidad. Con base en este hecho fue que en este estudio se evaluaron los efectos del agonista ACEA y el antagonista de los receptores CB1 el AM 251 en la secuencia de saciedad conductual.

Los resultados obtenidos mostraron que la administración de ACEA en dosis bajas (0.1 y 0.25 mg/kg), produce una inhibición de la saciedad en los animales prealimentados, ocasionando que ésta se presente en el primer caso poco antes del periodo 5 y para el segundo poco después del período 7. Estos datos contrastan notablemente con el obtenido por el vehículo, ya que en este grupo la saciedad se presentó durante el periodo de prealimentación. El efecto inhibitorio de la secuencia de saciedad conductual alcanzo su máxima expresión en el grupo con la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA, pues en éste, la saciedad no se alcanzó durante los 60 min. de registro. En cuanto a la dosis mayor de ACEA (1.0 mg/kg), interesantemente el perfil conductual asociado a la saciedad fue similar al del vehículo, presentándose el episodio saciatorio durante el período de prealimentación.

Por otro lado, la inhibición en la saciedad causada por el ACEA fue prevenido por el pretratamiento con el AM 251, pues al administrarse junto con 0.5 mg/kg de ACEA, la saciedad se presentó entre el período 9 y 10 para la dosis de 0.05 mg/kg de AM 251 (efecto parcialmente prevenido) y entre el período 4 y 5 para la dosis de 0.25 mg/kg de AM 251 (efecto completamente bloqueado), siendo significativamente diferente que la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA.

Cabe destacar que al administrarse sólo el AM 251 (en una dosis de 0.25 mg/kg), el patrón de la secuencia de saciedad conductual fue muy similar al del grupo control, pues la saciedad se presentó durante el período de prealimentación.

En lo referente a los datos obtenidos del análisis estadístico del área bajo la curva en las conductas de ingestión y descanso, se encontró que ambas conductas tuvieron diferencias significativas al administrarse el agonista ACEA. Esto provocó que el tiempo de la ingesta aumentara con las dosis pequeñas (0.1 y 0.25 mg/kg) hasta alcanzar su máximo con la dosis de 0.5 mg/kg. Mientras que la dosis de 1.0 mg/kg provocó una disminución significativa con respecto a la dosis de 0.5 mg/kg. Concordando estos datos con los descritos por Gagnon y Elie, (1975, en: Cota, *et al.*, 2003), quienes mencionan que dosis distintas del Δ^9 -THC (agonista del receptor CB1), producen efectos variables en el apetito, provocando las dosis bajas un incremento de éste y las dosis altas una disminución.

Cabe destacar que el efecto del ACEA sobre el tiempo utilizado en la ingesta fue prevenido por el pretratamiento con el AM 251, produciéndose así resultados similares a los de consumo descritos por Williams y Kirkham (1999); Kirkham y Williams (2001); Verty, McGregor y Mallet (2005); Chen, *et al.* 2004; y Wernwer y Koch (2003).

En cuanto a la conducta de descanso se observó un efecto inverso al de la ingesta en el tiempo total utilizado para ésta conducta, ya que el grupo con la dosis de 0.5 mg/kg de ACEA fue el que menos tiempo utilizó con respecto a las otras dosis. De

igual manera que con la conducta de ingesta el efecto producido por el ACEA en el tiempo utilizado para el descanso fue prevenido con el pretratamiento con AM 251.

Por otro lado, los estudios que investigaron la influencia conductual que tienen los cannabinoides, reportan que la administración de un agonista de los CB1 (CP 55 940), produce catalepsia y pérdida de la locomoción, esto de acuerdo con Arnold, Toppie, Mallet, Hunt y McGregor (2001). Pero el análisis estadístico de área bajo la curva, reporta que la conducta <actividad>, no mostró diferencias significativas al administrarse el agonista ACEA en diferentes dosis (0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg).

Ahora bien, Avraham *et al.* (2005), reporta que al administrar un agonista (Noladin), la actividad motora no se ve afectada, esta situación se mantiene cuando se pretrata con un antagonista (SR 141716). Los datos obtenidos en este estudio concuerdan con los obtenidos por Avraham *et al.* (2005) ya que tanto en la situación donde se aplicó el ACEA como en la que se pretrató con el AM 251, la actividad no se presentó diferencias significativas.

Sin embargo, no se puede descartar que antagonistas de los receptores CB1 (como el AM 251) al ser administrados en dosis altas pueden incrementar la ocurrencia de conductas que alteran la progresión de la secuencia de saciedad conductual (McLaughlin, Hodeg, Pown & Makriyannis, 2007).

9. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos del presente estudio se derivan las siguientes conclusiones:

1. La administración sistémica de 0.5 mg/kg ACEA en ratas prealimentadas estimula el consumo de carbohidratos.
2. La dosis de 1.0 mg/kg de ACEA no produce hiperfagia.
3. El mecanismo conductual mediante el cual los cannabinoides estimulan la ingesta de carbohidratos consiste en la inhibición del proceso de saciedad.
4. Los efectos inducidos por la administración de ACEA son mediados por la activación del receptor CB1, ya que éstos fueron prevenidos por el pretratamiento con el antagonista de los receptores CB1.

10. PERSPECTIVAS

Debido al incremento en el índice mundial de obesidad, se han realizado estudios para buscar nuevas alternativas para su control. Dichos estudios se han dirigido al control alimentario, enfocándose en los últimos años al sistema canabinoide, encontrándose que éste influye sobre la conducta alimentaria, esto ya que la activación por un agonista de sus receptores CB1 produce incremento en la ingesta y el uso de un antagonista a estos receptores previene dicho efecto.

Los resultados de este estudio proporcionan la información suficiente para afirmar que la administración sistémica de dosis bajas de ACEA produce un aumento en la ingesta de carbohidratos y que la administración de dosis altas no produce hiperfagia. También que el mecanismo conductual por el cual los cannabinoides estimulan la ingesta de carbohidratos consiste en la inhibición del proceso saciatorio y finalmente que los efectos inducidos por la administración de ACEA son mediados por la activación del receptor CB1, ya que éstos fueron prevenidos por el pretratamiento con el antagonista de los receptores CB1.

Sin embargo, a partir de estos y otros hallazgos, surgen nuevas preguntas sobre la influencia del sistema canabinoide y de los receptores CB1 sobre la conducta alimentaria. Por ello se proponen realizar estudios sobre:

1. La ansiedad producida por algunos agonistas de los receptores CB1, tales como el Rimonabat, mediante técnicas de laberinto elevado y campo abierto.
2. Realizar una exploración de los sitios de acción en el Sistema Nervioso Central de los receptores CB1, ya que éstos se encuentran distribuidos en área tales como el Núcleo paraventricular hipotalámico, la amígdala, etc.
3. La influencia que tiene la activación de los receptores CB1 sobre el aspecto motivacional y emocional.

4. La interacción que mantiene el sistema canabinoide con otros neurotransmisores (como el NPY) que pueden actuar de manera conjunta con los endocannabinoides.
5. Debido a la interacción de los receptores CB1 y el NPY, estudiar el bloqueo del NPY para prevenir al CB1 sistémico.

12. APENDICE

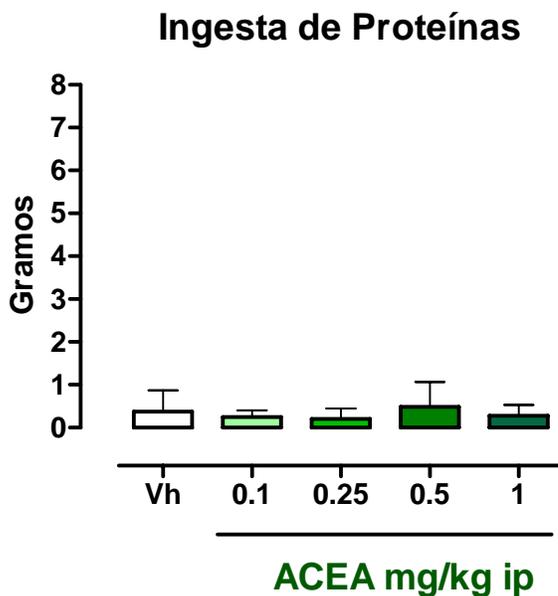


Figura 1A. Muestra las medianas + RI de la ingesta de proteínas de los grupos Vh, ACEA a 0.1, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg. (Vh n= 5; ACEA 0.1 n=6; ACEA 0.25 n=6; ACEA a 0.5 n=5 y ACEA a 1.0 n=7). (Abreviaturas: Vh=Vehículo.

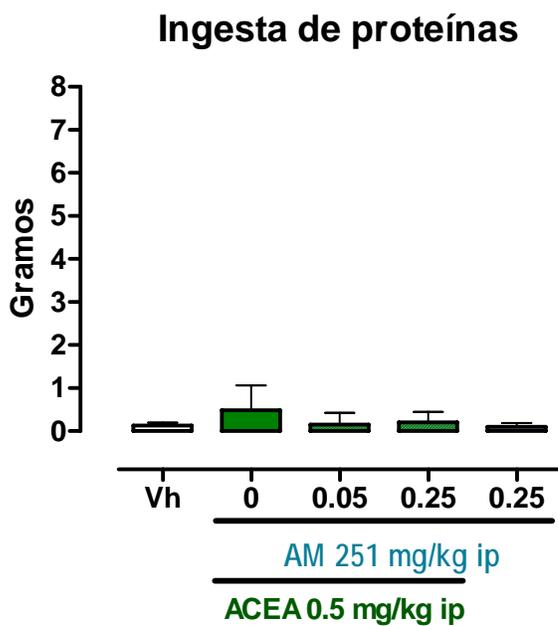


Figura 2A. Muestra las medianas + RI de la ingesta en proteínas de los grupos Vh, ACEA 0.5 (0), AM 251 a 0.05 y 0.25 + ACEA a 0.5 y AM 251 a 0.25 mg/kg. La significancia de las diferencias fue determinada por la prueba post hoc de Dunn. *** $p > 0.01$. (Vh n= 5; ACEA a 0.5 n=5; AM 251 0.05 + ACEA 0.5 n=4; AM 251 0.25 + ACEA 0.5 n=5 y AM 251 0.25 n=6). Abreviaturas: Vh = Vehículo

11. REFERENCIAS.

- Arnold, J. C., Topples, A. N., Mallet, P.E., Gunt, G. E. & McGregor, I. S. (2001). The distribution of cannabinoid-induced Fos expression in rat brain : difference between the Lewin and Wistar strain. Brain Research, 921, 240-255.
- Avraham, Y., Menachem, A., Okun, A., Zlotarav, O., Abel, N., Mechoulam, R. & Berry, E. (2005). Effects of the endocannabinoid noladin ether on body weight, food consumption, locomotor activity, and cognitive index in mice. Brain Research, 65, 117-123.
- Bellocchio, L., Mancini, G., Vicennati, V., Pasquali, R. & Pagotto, U. (2006). Cannabinoid receptors as therapeutic targets for obesity and metabolic diseases. Parmacology, 6, 586-591.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J. (1984). Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. Folch, A., Espinoza, R. & Orizaba, J. (Eds.). México: Interamericana.
- Bundell, J. E. (1984). Serotonin and appetite. Neurofarmacology, 23 (12B), 1537-1551.
- Carlini, E. A. (2003). Plants and the central nervous sistem. Parmacology, Biochemistry and Behavior, 75, 501-512.
- Chen, R. Z., Huang, R. C., Shen, C., MacNeil, D. & Fong, T. (2004). Synergistic effects of cannabinoid inverse agonist AM 251 and opioid antagonist nalmefene on food intake in mice. Brain Research, 999, 227-230.
- Contreras. C. M., Gutierrez, G. A.; Saavedra, M., Bernal, M. B., Rodríguez, L. J. & Hernández, L. M. (2003). Efectos adversos y paliativos de los canabinoides. Salud Mental, 16, (6), 62-75.
- Cooper, S. J. (2004). Endocannabinoids and food consumption: comparisons with benzodiazepine and opioid palatability-dependent appetite. European Journal of Pharmacology, 500, 37-49.
- Cota, D., Marsicano, G., Lutz, B., Vicennati, V., Stalla, G., Pasquali, R., & Pagotto, U. (2003). Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. International Journal of Obesity, 27, 289-301.

- Cota, D., Tschöp, M., Horvath, T. & Levine, A. (2006). Cannabinoids, opioids and eating behavior: The molecular face or hedonism?. Brain Research Reviews, *51*, 85-107.
- Devane, W. A., Dysarz 3rd, F. A., Johnson, M. R. Melvin, L. S. & Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of cannabinoid receptor in rat brain. Molecular Pharmacology, *34* (5), 605-613.
- De Vry, J., Schreiber, R., Eckel, G. & Jentsch, K. (2004). Behavioral mechanisms underlying inhibition on food-maintained responding by the cannabinoid receptor antagonist/inverse agonist SR 141716. European Journal of Pharmacology, *483*, 55-63.
- Di Marzo, V. (2006). A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. Pharmacology Science, *27*, (3), 134-140.
- Di Marzo, V., Bisogno, T. & De Petrocellis, L. (2007). Endocannabinoids and related compounds: Walking back and forth between plant natural products and animal physiology. Chemistry and Biology Reviews, *14*, 741-756.
- Fletcher, P. J., Currie, P. J., Chambers, J. W., & Coscina, D. V. (1993). Radiofrequency lesions of the PVN fail to modify the effects of serotonergic drugs on food intake. Brain Research, *630* (1-2), 1-9.
- Foltin, R. W., Brady, J. V. & Fischman, M. W. (1986). Behavioral analysis of marijuana effects on food intake in humans. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, *25*, 577-582.
- Gamber, K. M., Macartur, H. & Westfall, T. C. (2005). Cannabinoids augment the release of neuropeptide Y in the rat hypothalamus. Neuropharmacology, *49*, 646-652.
- Hagemann, L. F., Costa, C. V., Zeni, L. Z., Freitas, C. G., Marino-Neto, J. & Paschoalini, M. A. (1998). Food intake altered by adrenaline and noradrenaline injections into the hypothalamic paraventricular nucleus in pigeons. Physiology and Behavior, *60* (5), 645-652.
- Haldford, J.C., Lawton, C. L., & Blundell, J. E. (1997). The 5-HT receptor agonist MK-212 reduces food intake and increases resting but prevents the behavioural satiety sequence. Pharmacology Biochemistry and Behavior *56*, (1), 41-46.

- Haldford, J.C., Wanninayake, S. C. & Blundell, J. E. (1998). Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. Pharmacology Biochemistry and Behavior 61, (2), 159-168.
- Häring, M., Marsicano, G., Lutz, B. & Monory, K. (2007). Identification of the cannabinoid receptor type 1 in serotonergic cells of raphe nuclei in mice. Neurociencia, 3, 1-8.
- Jbilo, O., Ravinet, C., Arnone, M., Buisson, I., Bribes, E., Péleraux, A., Pénarier, G., Soubrié, P., Le Fur, G., Galiégue, S. & Casellas, P. (2005). The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. The FASEB Journal, 10, 130-57.
- Katzung, B. G. (1986). Farmacología Básica y clínica. México: Manual Moderno, pp. 372-374.
- King, P. J. & Williams, G. (1998). Role of ARC NPY neuron in energy homeostasis. Drug News Perspect, 11 (7), 402-410.
- Kirkham, T, C, & Williams, M. C. (2001). Synergistic effects of opioid and cannabinoid antagonists on food intake. Psychopharmacology, 153, 267-270.
- López-Jaramillo, P., Predilla, L., Bracho., L. & Silva, F. (2005). El sistema endocanabinoide y su relación con la obesidad abdominal y el síndrome metabólico: implicaciones terapéuticas. Revista Colombiana de Cardiología, 12, (3), 113-121.
- Martínez, H. A., Astiasarán, A. I. & Madrigal, S. H. (2002). Alimentación y Salud Pública. Madrid: McGraw-Hill.
- Maldonado, R. & Rodríguez de Fonseca, F. (2002). Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlatos. Journal Neuroscience, 22(9), 3326-331.
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C. & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. Nature, 346 (6284), 561-564.
- Mclaughlin, P. J., Hodge, J., Bown, J. P., Makriyannis, A. & Salamone, J. D. (2007). A comparasion of a cannabinoid CB1 receptor inverse agonist and neutral CB1 antagonist on the behavioral satiety sequence in rats. Program No. XXX.XX. 2007 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2007. Online.

- Moreno, E. B., Moreno, M. S. & Álvarez, H. J. (2005). La obesidad en el Tercer Milenio. Madrid: Panamericana.
- Munro, S., Thomas, K. L. & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. Nature, 365 (6441), 61-65.
- Nicholson, J. R., Akil, H., & Watson, Jr. S. J. (2002). Orphanin FQ-induced hyperphagia is mediated by corticosterone and central glucocorticoid receptors. Neuroscience, 115(2), 637-643.
- Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda-Amor J. (2006). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Pazos, M., Núñez, E., Benito, C., Tolón, R. & Romero, J. (2005). Functional neuroanatomy of the endocannabinoid system. Pharmacology, chemistry and Behavior, 81, 239-247.
- Pérez, L. F. & Zamora, N: S. (2002). Nutrición y alimentación humana. España: Universidad de Murcia, pp. 15-19, 24-27, 231-240.
- Pérez, A. B. (2006). Cómo repercute el estilo de vida en las mujeres con trastornos de alimentación en comedores compulsivos anónimos. Tesis, Lic. En Psicología, UNAM, FES Iztacala.
- Ramos, J., González, S., Sagrado, O., Gómez, M. & Fernández, J. (2005). Therapeutic potential of the endocannabinoid system in the brain. Medicinal Chemist, 5, 609-617.
- Salamone, J., McLaughlin, P., Sink, K., Makriyannis, A. & Parker, L. (2007). Cannabinoid CB1 receptor inverse agonists and neutral antagonists : Effects on food intake, food-reinforced, behavior and food aversions. Physiology and Behavior, 91, 383-388.
- Schwartz, M. W., Woods, S.C., Porte, D. J., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. Nature, 404(6778), 661-671.
- Seeley, R.J., Matson, C. A., Chavez, M., Woods, S. C., Dallman, M. F., & Schwartz, M. W. (1996). Behavioral, endocrine and hypothalamic responses to involuntary overfeeding. American Journal Physiol, 271(3 pt 2), R819-23.

- Stratford, T. R. (2005). Activation of feeding-related neural circuitry after unilateral injections of muscimol into the nucleus accumbens shell. Brain Research, 1040 (1-2), 241-250.
- Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S. & Gokoh, M. (2006). Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 45, 405-446.
- Thornton-Jones, Z. D., Kennett, G. A., Benwell, K. R., Revell, D. F., Misra, A., Sellwood, D. M., Vickers, S. P., & Clifton, P. G. (2006). The cannabinoid Cb1 receptor inverse agonist, rimonabant, modifies body weight and adiponectin function in diet-induced obese rats as a consequence of reduced food intake. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 84, 353-359.
- Van Gaal, L., Rissanen, A., Scheen, A., Ziegler, O. & Rössner, S. (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction on cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. Lancet, 365, 1389-1397.
- Velasco, M., San Román, L., Serrano, M., Martínez, S. & Cadavid, T. (2003). Farmacología fundamental. España: Mc Graw-Hill e Interamericana, pp. 302-304.
- Verty, A. N., McGregor, I. S., & Mallet, P. E. (2004). Consumption high carbohydrate, high fat, and normal chow is equally suppressed by a cannabinoid receptor antagonist in non-deprived rats. Neuroscience Letters, 354, 217-220.
- Verty, A. N., McGregor, I. S., & Mallet, P. E. (2005). Paraventricular hypothalamic CB(1) cannabinoid receptors are involved in the feeding stimulatory effects of Delta(9)tetrahydrocannabinol. Neuropharmacology, 49 (8), 1101-1109.
- Werner, N. A. & Koch, J. E. (2003). Effects of the cannabinoid antagonists AM 281 and Am 630 on deprivation-induced intake in Lewis rats. Brain Research, 967, 290-292.
- Williams, C. M., Rogers, P. & Kirkham, T. C. (1998). Hyperphagia in pre-fed rats following oral Δ^9 -THC. Physiology and Behavior, 65, (2), 343-346.
- Williams, C. M., & Kirkham, T. C. (1999). Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. Psychopharmacology (Berl.), 143 (3), 315-317.

- Williams, C. M., & Kirkham, T. C. (2002). Reversal of Δ^9 -THC hyperphagia by SR 141716 and naltrexone but not dexfenfluramine. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, *71*, 341-348.
- Williams, G., Bing, C., Cai, X. J., Harrold, J. A., King, P. J. & Liu, X. H. (2001). The hypothalamus and the control of energy homeostasis: Different circuits, different purposes. Physiology and Behavior, *74* (4-5), 683-701.
- Yun, R., Dourmashkin, J. T., Hill, J., Gayles, E. C., Fried, S. K., & Leibowitz, S. F. (2005). PVN galanin increases fat storage and promotes obesity by causing muscle to utilize carbohydrate more than fat. Peptides, *23* (11), 2265-2273.