



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

**MODIFICACION CONDUCTUAL Y DE ACTIVACIÓN NEURONAL
EN RATAS EXPUESTAS A UN ESTÍMULO APETITOSO:
IMPLICACIONES PARA LAS CONDUCTAS ADICTIVAS.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTA:

BLANCAS VELÁZQUEZ AUREA SUSANA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES



MÉXICO D.F. 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mis padres Héctor y Guadalupe por su apoyo y amor incondicional

Agradecimientos

A la Dra. Carolina Escobar por la dirección de este trabajo y por sus enseñanzas que dentro y fuera del laboratorio han ayudado en mi formación profesional y personal.

A todos mis compañeros de laboratorio que hacen mas agradable el trabajo diario, especialmente Katia y Araceli.

A mi familia, que siempre me ha apoyado. Gracias hermano por tu cariño y sentido del humor.

A mis amigos, con los que he compartido muy buenos tiempos y que nos hemos apoyado en los no tan buenos. Emma, Itzel, Francisco, Claudia, gracias por su compañía, amistad, regaños formativos, etc.

A Daniel por su cariño y apoyo durante esta etapa.

Agradezco el apoyo de CONACYT 82462 y DGAPA IN 203907 para la realización de este trabajo.

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
CONDUCTA DE ALIMENTACIÓN	2
HIPOTÁLAMO, SISTEMA REGULADOR DEL BALANCE ENERGÉTICO	3
SISTEMA NEURONAL DE LA MOTIVACIÓN Y LA RECOMPENSA	5
<i>¿Qué es una recompensa?</i>	6
<i>Bases neuronales del sistema de recompensa</i>	8
<i>Neurotransmisores involucrados en el sistema de recompensa</i>	10
OBESIDAD COMO TRASTORNO DE LA ALIMENTACIÓN	13
<i>Obesidad</i>	13
<i>Estilo de vida</i>	14
ADICCIÓN	15
<i>¿Adicción a la comida?</i>	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	19
OBJETIVOS	20
HIPÓTESIS	20
MÉTODO	21
Sujetos experimentales.....	21
Registro conductual	21
Análisis neuronal.....	24
Sacrificio de los animales y recolección de cerebros.....	25
Inmunohistoquímica.....	26
Cuantificación de células.	27

Estadística	28
RESULTADOS	29
ANÁLISIS CONDUCTUAL	29
ANÁLISIS NEURONAL	32
<i>Accumbens Shell</i>	32
<i>Accumbens Core</i>	34
<i>Corteza prefrontal prelímbica</i>	36
<i>Núcleo Arqueado</i>	38
<i>Corteza Piriforme</i>	40
<i>Núcleo Supraquiasmático</i>	42
DISCUSIÓN	44
Actividad anticipatoria	44
Persistencia	45
Resultados de c-Fos del grupo de ingesta de chocolate.....	46
Resultados de c-Fos del grupo de expectación por el chocolate	48
Implicación con la formación de adicciones	50
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	54

RESUMEN

Los alimentos altos en azúcar y grasas son altamente preferidos por los humanos y otros animales y activan el sistema de recompensa el cual también se activa con el uso de drogas de abuso. Tal es el caso, que algunas personas se autodenominan adictas al chocolate u otros alimentos. De igual manera, los animales muestran conductas de búsqueda e impulsividad cuando se trata de recibir una recompensa apetitosa.

Otros estudios han reportado que existen modificaciones conductuales y de activación neuronal tras 3 semanas de la entrega diaria de 5gr. de chocolate. Así el objetivo del presente estudio fue observar el proceso por el cual se forma una conducta adictiva relacionada con algunos alimentos. Para ello se caracterizó el cambio conductual y la activación neuronal en los primeros días de entrega del alimento apetitoso a un grupo de ratas que consumían o se quedaban expectantes a la llegada del chocolate. La hipótesis central de este trabajo es que la respuesta neuronal de expectación aumentará conforme sean más los días de exposición al estímulo apetitoso, mientras que la respuesta a la ingestión del chocolate será siempre la misma independientemente de los días de consumo. Se utilizaron 32 ratas Wistar macho con un peso entre 250-300 gr. Se mantuvieron dos semanas en línea base y posteriormente se dividieron en 2 grupos. 1) Grupo de ingesta de chocolate: Se estudió la activación neuronal (con la proteína c-Fos como marcador de actividad neuronal) posterior al consumo de chocolate 2) Grupo expectante: Se estudió la activación neuronal durante la espera del chocolate. En ambos grupos se estudió la corteza prefrontal prelímbica, el núcleo accumbens, el núcleo arqueado, la corteza piriforme y el núcleo supraquiasmático. Además de la activación neuronal se estudió la conducta durante dos semanas de entrega del chocolate en un grupo de ratas independiente.

Los resultados muestran que la ingesta de chocolate activa los núcleos del sistema de recompensa, del metabolismo y sensoriales. El grupo expectante mostró que entre más días de exposición, mayor expectación y más activación de los núcleos del sistema de recompensa. Se puede concluir entonces que la formación de adicción a un alimento apetitoso es progresiva y que puede depender de la predicción de la llegada del alimento, involucrando al sistema de recompensa y áreas metabólicas.

INTRODUCCIÓN:

CONDUCTA DE ALIMENTACIÓN

El éxito de los organismos vivos a través del tiempo ha sido gracias a su capacidad para adaptarse al medio ambiente cambiante, han logrado reproducirse y generar descendencia, sobrevivir al frío y a las sequías y han sido capaces de procurarse alimento en tiempo de escases. Todas estas necesidades son vitales, especialmente la alimentación, ya que los alimentos brindan la energía necesaria para que los individuos realicen sus funciones básicas. Dado que la ingestión de alimentos es un proceso tan importante, el sistema encargado de la regulación de ingesta es muy complejo y redundante, es decir, que existen sistemas paralelos que se ocupan de regular este mismo proceso. La finalidad de la redundancia en un sistema es una mejor capacidad de adaptación en caso de que exista alguna falla en caso de alguno de los principales sistemas encargados (Purves, Savada, Orians, Keller, 2003; Berthoud, Morrison, 2008).

La alimentación es un proceso psicofisiológico que consiste en la búsqueda e ingestión de comida. Esta búsqueda está guiada por la sensación de hambre la cual es un reflejo de actividad visceral y cerebral. En el torrente sanguíneo existen señales que llegan al cerebro por medio de hormonas y péptidos que le informan sobre el estado metabólico, cuando falta o cuando sobra energía en el organismo. Esta información se procesa en varios núcleos del cerebro, especialmente en el hipotálamo (Westerterp-Plantenga, 1994).

Además de la homeostasis energética, también existen sistemas que regulan la ingesta de alimentos dependiendo de sus propiedades físicas (textura, sabor, temperatura, color, etc). Estas propiedades tienen la capacidad de producir placer a un individuo y éste organizará su búsqueda y forrajeo con el fin de conseguir los alimentos que considere más apetitosos (Westerterp-Plantenga, 1994). Generalmente estos alimentos apetitosos tienen alto contenido energético ya sea por su contenido en grasas o carbohidratos.

El sistema nervioso integra la información del medio interno y la que proviene del medio ambiente, por lo que es necesario analizar los sistemas neuronales encargados de la regulación de la ingesta de los alimentos tanto por las necesidades energéticas del organismo como por las propiedades hedónicas de los alimentos que favorecen la preferencia de los individuos.

HIPOTÁLAMO, SISTEMA REGULADOR DEL BALANCE ENERGÉTICO

Antiguamente se pensaba que el hipotálamo era un ganglio autonómico que se encontraba a nivel central. Actualmente, estudios del hipotálamo indican que éste funciona como integrador de las respuestas autonómicas y endocrinas con la conducta, especialmente conducta relacionada con los requerimientos homeostáticos básicos de la vida diaria (Kandel, Schwartz, Jessell, 2000).

El hipotálamo funciona como integrador de 6 funciones básicas:

1. Control de la presión sanguínea
2. Regulación de la temperatura.
3. Controla el metabolismo mediante la regulación de la alimentación, digestión y la tasa metabólica.
4. Regula la reproducción a través del control hormonal del apareo, embarazo y lactancia.
5. Controla respuestas de emergencia ante el estrés.
6. Regulación de los ritmos circadianos.

El hipotálamo tiene acceso a la información sensorial de todo el cuerpo. Recibe aferencias directas del sistema visceral sensorial y del sistema olfativo así como de la retina (Kandel, Schwartz, Jessell, 2000).

En el hipotálamo existen cinco áreas específicas que contienen neuronas peptidérgicas involucradas con la alimentación. Estas neuronas ejercen acciones tanto orexigénicas (que promueven la ingesta de alimentos) como anorexigénicas (que producen sensaciones de saciedad y detienen la ingesta de alimento). Estas áreas son: núcleo arqueado (ARQ), núcleo paraventricular (PVN), núcleo ventromedial hipotalámico (VMH), núcleo dorsomedial hipotalámico (DMH) y el área hipotalámica lateral (LHA). El núcleo arqueado contiene dos poblaciones principales de neuronas relacionadas con el balance energético: las orexigénicas, las cuales expresan neuropéptido Y (NPY) y el péptido relacionado con el gen agouti (AgRP) y las anorexigénicas las cuales producen proopiomelanocortina (POMC) y el transcritto regulado por anfetamina y cocaína (CART). El núcleo arqueado es sensible a las señales provenientes de la periferia como la leptina, insulina y glucosa. Estas señales periféricas informan del estado metabólico del cuerpo. En el PVN convergen vías implicadas en el balance energético, incluyendo proyecciones de las células de neuropéptido Y del ARC y otras que contienen orexinas, el derivado de POMC, hormona estimulante de α -melanocitos (α -MSH), y el péptido estimulador del apetito, Galanina. El VMH es un blanco de la leptina la cual actúa inhibiendo la alimentación y estimula el gasto energético, también recibe aferencias de las células del ARC. Al igual que el VMH, el DMH es un blanco de la leptina, además, tiene conexiones con otros núcleos hipotalámicos mediales y el hipotálamo lateral, por esto, se considera un centro integrativo de procesamiento de información de las poblaciones neuronales de estos sitios. El área hipotalámica lateral incluye dos grupos de neuronas que expresan hormona concentradora de melanina (MCH) u orexinas. También contiene numerosas fibras que proyectan hacia y desde el hipotálamo medial y neuronas sensibles a glucosa que se estimulan por hipoglicemia (Magni y cols., 2009).

La regulación homeostática de la energía tiene un sistema neuronal muy complejo como se ha mencionado en los párrafos anteriores. La ingesta de alimento depende además, de los componentes hedónicos y recompensantes de la comida, es por eso que a la par del sistema de regulación energética, se

encuentra trabajando el otro sistema que valora la información proveniente de los alimentos (figura 1), tanto en las características físicas de éstos como en las sensaciones que producen en el cuerpo antes, durante y después de la ingestión. Esto sirve para darle un valor afectivo a los estímulos que se refleja en una ventaja adaptativa para la supervivencia del individuo ya que éste se inclinará al consumo de aquellos alimentos que producen placer y bienestar y evitará aquellos que producen daños y sensaciones de malestar (Berthoud, Morrison, 2008) . El sistema encargado de la integración y valoración afectiva de un estímulo se estudiará a continuación.

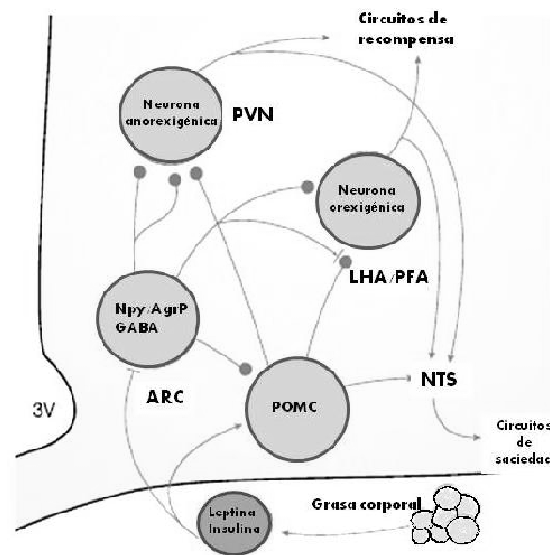


Figura 1. Figura que ilustra conexiones del hipotálamo con los circuitos de la recompensa (Morton y cols, 2006)

SISTEMA NEURONAL DE LA MOTIVACIÓN Y LA RECOMPENSA

El sistema de recompensa, al igual que el de el balance energético es muy complejo, recibe información de todas las modalidades sensoriales y es susceptible de activarse por diferentes estímulos, desde la ingesta de comida sabrosa hasta por ganar una apuesta, por eso, antes de analizar los componentes

neuronales de este sistema es importante revisar y tener claro el concepto de recompensa.

¿Qué es una recompensa?

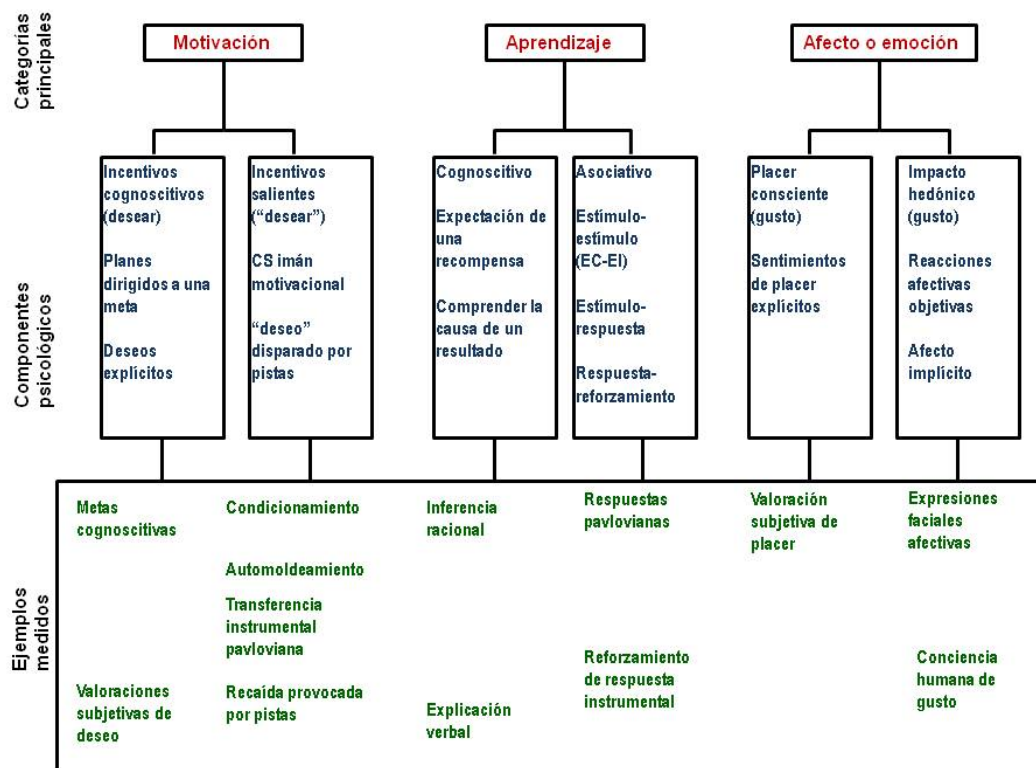
Una recompensa es un estímulo que es procesado por el sistema nervioso como algo benéfico para el propio organismo (Berridge y Robinson, 2003). Las recompensas son estímulos placenteros, pero se habla de un refuerzo cuando este estímulo modifica la realización de una conducta. Los refuerzos positivos involucran un incremento en el tiempo y la frecuencia de las conductas que llevan a la obtención de una recompensa (Hyman, Malenka, Nestler, 2006).

Esta integración de la información de una recompensa se da en diferentes niveles de procesamiento, consciente por ejemplo, el deseo explícito, expectación o placer por algo; e inconsciente, en el sentido de que el individuo no le preste atención y que esta información no se percibe como evidente. A estos dos niveles (consciente e inconsciente) se les puede llamar explícitos e implícitos respectivamente (Berridge y Robinson, 2003).

Existen recompensas que son intrínsecamente reforzantes para el individuo dado que satisfacen una necesidad, estos estímulos se conocen como reforzadores naturales, por ejemplo: la conducta de comer, dormir, descansar, tener actividad sexual y la crianza. Además, existen recompensas aprendidas que nos provocan placer como ver la televisión, escuchar música, leer, la anticipación a una recompensa monetaria, ver o convivir con personas a las cuales apreciamos, etc. (Peciña, 2008).

Berridge y Robinson (2003) han resaltado tres componentes potenciales de la recompensa: el gusto (gustar de algo), el deseo (desear algo) y el aprendizaje. En el esquema 1 se muestran organizadas las categorías principales que participan en la valoración de un estímulo recompensante, ahí se encuentra, la motivación, el aprendizaje y el afecto o emoción. El gusto está incluido en la categoría principal de afecto; el deseo en la categoría de motivación; el aprendizaje por sí mismo es una categoría principal la cual incluye varios

componentes psicológicos. Cada categoría principal tiene componentes psicológicos, pueden ser desde la valoración placentera de un estímulo sensorial (afecto o emoción), la planeación de un objetivo o una meta (motivación) y la asociación de estímulos que pueden predecir la llegada de una recompensa o el aprendizaje operante para conseguirla (aprendizaje). Los componentes psicológicos han podido ser disociados gracias a que se han inventado técnicas para poder cuantificarlas. Estas pueden hacerse por diferentes métodos, los reportes subjetivos se limitan a los estudios en humanos mientras que las mediciones conductuales se pueden realizar en humanos y modelos animales (Ver Esquema 1).



Esquema 1. Componentes de la recompensa y cómo se reconocen. En rojo se encuentran las categorías principales, en azul los procesos psicológicos y en verde se muestran los procedimientos conductuales o medidas que se utilizan para el estudio de la motivación y las recompensas (Berridge y Robinson, 2003).

Bases neuronales del sistema de recompensa

Todos los estímulos recompensantes, sean naturales, aprendidos o de abuso (drogas), activan núcleos relacionados con el sistema de recompensa, incluyendo al hipocampo, estructura involucrada en la consolidación de memoria explícita, y la ínsula, la cual es una corteza que recibe información gustativa, olfatoria y visceral, lo cual indica que se comparte el mecanismo por el cual un estímulo se procesa como hedónico o placentero (Pelchat, 2004).

Los descubrimientos de Olds y Milner en 1954 de que las ratas se auto estimulaban eléctricamente alguna parte del cerebro fueron un inicio remarcable para el estudio del circuito de la recompensa. Ellos observaron que las ratas podían soportar estímulos aversivos como el caminar sobre rejillas electrificadas con el fin de poder auto estimularse intracranalmente. La región en donde se encontraba el electrodo era el fascículo prosencefálico medial, el cual es un tracto grueso que agrupa la mayor parte de las proyecciones ascendentes de los sistemas monoaminérgicos. Se extiende sobre la porción anterior del cerebro límbico (cuerpo amigdalino, núcleos septales, circunvolución paraterminal, área olfatoria anterior) (Ver figura 2; Fulton 2009; Ojeda, Icardo, 2005). Paul MacLean adoptó el concepto de sistema límbico para incluir partes del hipotálamo, el área septal, el núcleo accumbens (parte del estriado), áreas neocorticales tales como la corteza orbitofrontal y la amígdala (Kandel, Schwartz, Jessell, 2000). La corteza se ha dividido en corteza asociativa, sensoriomotora y límbica y estas proyectan de una manera segregada a tres regiones estriatales que se conocen como territorio asociativo, sensoriomotor y límbico. En primates el territorio límbico incluye al núcleo accumbens (ver figura 3), la porción más profunda del tubérculo olfatorio y la región más ventral del caudado y del putamen. En la rata, el territorio límbico incluye también núcleo accumbens, la porción más profunda del tubérculo olfatorio y la región más ventral del caudado y del putamen y recibe inervación de áreas como el hipocampo, la amígdala y áreas corticales prefrontales involucradas en funciones límbicas y autonómicas (Giordano, 2007).

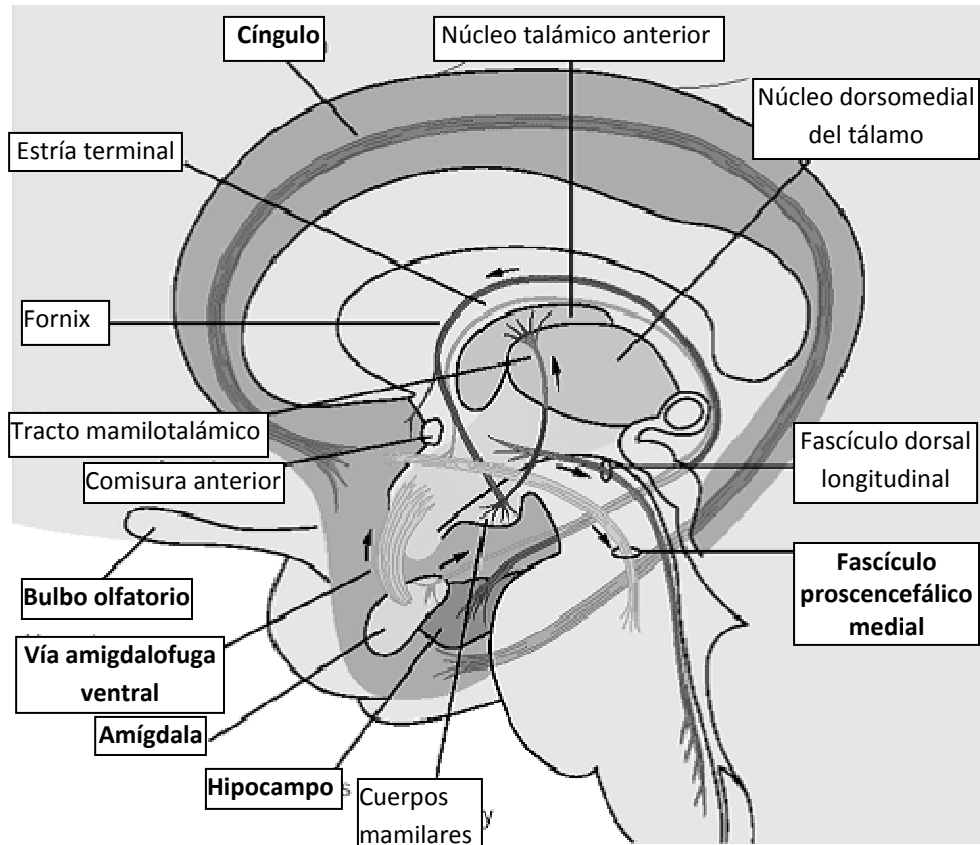


Figura 2. Esquema de las estructuras subcorticales de un cerebro humano incluidas en el sistema límbico. Las flechas indican la dirección principal de la actividad neuronal aunque estos tractos son comúnmente bidireccionales (Kandel, Schwartz, Jessell, 2000).

A partir de 1980 con el trabajo de Mogenson, el núcleo accumbens comenzó a ganar atención como un sitio de integración no sólo de transmisión dopaminérgica (neurotransmisor involucrado en el sistema de recompensa) sino de integración de contribuciones corticales para iniciar conductas motoras adaptativas (Kalivas, Nakamura, 1999).

El núcleo accumbens se ha subdividido en tres territorios, la corteza o cubierta (shell, en inglés), el centro (core, en inglés) y el polo rostral en el que no se puede distinguir fácilmente la cubierta del núcleo. Se ha propuesto al núcleo accumbens como el elemento clave de la interfase neural entre la motivación, que involucra al sistema límbico e hipotálamo y la acción a través del área ventral tegmental y el globo pálido (Giordano, 2007).

Se considera que las proyecciones excitadoras que llegan al accumbens desde la corteza prefrontal y la amígdala son las que dan el ímpetu para que se de la respuesta conductual al estímulo incentivo. La amígdala estaría más involucrada en regular la respuesta al reforzador, mientras que la corteza prefrontal tendría un rol más importante en la integración de la memoria de corto plazo con la respuesta conductual al reforzador (Kalivas, 1999).

Como se ha mencionado antes, las estructuras relacionadas con el sistema de recompensa tienen comunicación entre si, esto lo hacen por medio de señales nerviosas y por medio de neurotransmisores que dan las señalizaciones excitadoras o inhibitoras, esta interacción de neurotransmisores se refleja en la conducta, es por eso que es importante estudiarlos.

Neurotransmisores involucrados en el sistema de recompensa

Existen muchos neurotransmisores involucrados en este sistema, entre los más destacados se encuentran la dopamina, las encefalinas, y los endocannabinoides. Al mismo tiempo se encuentran interactuando y funcionando como moduladores de la actividad neuronal, el glutamato, GABA, acetilcolina y otros neurotransmisores típicamente involucrados en procesos metabólicos como el MCH (Kelley y cols., 2003; Guesdon y cols., 2009).

La dopamina está involucrada en el procesamiento central de un estímulo recompensante. Un área importante que es parte del sistema de recompensa es el área ventral tegmental, éste es un núcleo ubicado en el cerebro medio y contiene células dopaminérgicas que proyectan al estriado ventral. La administración de antagonistas dopaminérgicos evita que se detecte el valor hedónico de una reforzador positivo lo cual ocasiona que el individuo entre en un estado anhedónico o de apatía caracterizada por el cese de búsqueda de un estímulo que antes era placentero (Aparicio, 2007). El área ventral tegmental también tiene receptores opioides, GABAérgicos y nicotínicos que promueven o inhiben la liberación de dopamina (Ver figura 3; Koob, Volkow, 2009). Como ya se mencionó,

el estriado ventral recibe proyecciones dopaminérgicas. Esta zona es muy importante en el sistema de recompensa ya que se ha observado se activa ante un estímulo placentero, ya sea tangible o sólo evocado por la memoria. El estriado en sus divisiones dorsal y ventral está constituido por un tipo celular particular y característico que es la neurona mediana espinosa. Estas neuronas sintetizan al neurotransmisor ácido γ amino-butírico (GABA) y expresan receptores a dopamina, glutamato, GABA y acetilcolina (Ver figura 3; Giordano, 2007).

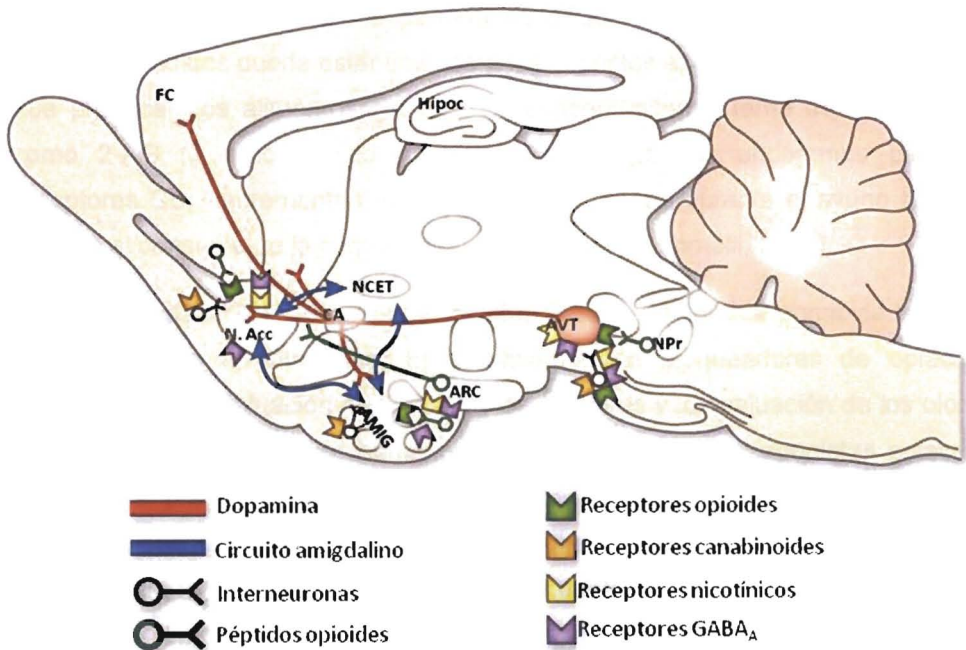


Figura 3. Esquema sagital de un cerebro de rata en donde se muestran las vías y receptores de los principales neurotransmisores del sistema de recompensa. La línea roja indica la vía mesolímbica de la dopamina, la cual proyecta al núcleo accumbens (N.Acc) y corteza frontal (CF). Las líneas azules representan las interacciones de la amígdala extendida con el N.Acc y el Núcleo cama de la estria terminal (NCET). Se muestra la ubicación de los receptores en diferentes colores: verde: receptores opioides; naranja: receptores cannabinoides; amarillo: receptores nicotínicos; morado: receptores GABAérgicos (Koob, Volkow, 2009).

El sistema de cannabinoides endógenos es un sistema de señalización compuesto por receptores a cannabinoides (CB), ligandos endógenos para estos receptores y proteínas involucradas en la formación y desactivación de estos ligandos endógenos (Solinas, 2008).

El valor recompensante de la comida depende de los receptores CB1 y casi todos los aspectos de la recompensa por alimentos se ve afectada por la activación y desactivación de estos receptores. El bloqueo de los receptores CB1 es efectivo para promover la pérdida de peso. El papel de la liberación de endocannabinoides puede estar limitado a los aspectos apetitivos de la recompensa que producen los alimentos, ya que las concentraciones tanto de anandamida como 2-AG (2 araquidónico glicerol), ambos ligandos endógenos para los receptores CB, incrementan en el núcleo accumbens durante el ayuno pero no durante el consumo de la comida (Solinas, Goldberg, Piomelli, 2008).

Los opiáceos incrementan la palatabilidad de la comida percibida tanto en animales como en humanos. El tratamiento con bloqueadores de opiáceos decrementan la evaluación hedónica de los azúcares y la evaluación de los olores de alimentos apetitosos en humanos. El tratamiento con antagonistas opiáceos reducen la preferencia por alimentos dulces y altos en grasa en personas bulímicas, obesos bulímicos y personas con peso normal. Resultados paralelos se han encontrado con ratas. La administración periférica de opiáceos incrementa la ingesta de alimento en ratas. Además, los opiáceos administrados directamente en el núcleo accumbens incrementan la ingesta de sustancias apetitosas como la sacarosa, sacarina, grasa o sal (Grigson, 2002).

El sistema de recompensa y los neurotransmisores involucrados, juegan un papel muy importante al darle valor afectivo a la comida, promueven o evitan el consumo de alimentos. A continuación estudiaremos a la obesidad como un desorden de la alimentación y del sistema de recompensa.

OBESIDAD COMO TRASTORNO DE LA ALIMENTACIÓN

Obesidad

Existe la teoría de que el sobrepeso en la sociedad moderna se debe a que los seres humanos han evolucionado para comer más de lo necesario y acumular energía. Esta conducta fue adaptativa en un ambiente caracterizado por escasas fuentes de alimento, pero en la actualidad, esta conducta no trae beneficios dado que el individuo se encuentra en un ambiente en donde existe abundancia de comidas con alto valor energético y recompensante y que están casi siempre disponibles. (Van de Bos, de Ridder, 2006)

La obesidad se desarrolla cuando la energía que se ingiere sobrepasa la que se gasta. La energía sobrante se guarda en los tejidos de reserva, de los cuales, el tejido adiposo forma el componente principal. El sobreconsumo de alimento puede ser el resultado de la desregulación de los sistemas que controlan la homeostasis energética. Incluso, las preferencias de alimentos endógenamente predeterminadas pueden resultar en la elección de dietas más grasosas (Westerterp-Plantenga, 1994).

Dentro de la problemática de la obesidad, se ha discutido el hecho de que el consumo de alimentos chatarra, bajos en nutrientes y altos en azúcares, grasa o sal se deba a la imposibilidad del individuo de controlar el impulso por comerlas, también se plantea que dichos individuos pueden tener una disfunción en el sistema nervioso, especialmente en el sistema de recompensa, el cual los impulsa a procurarse de forma más abundante, los alimentos apetitosos. Se ha observado que las personas obesas tienen preferencias más marcadas hacia las comidas grasosas y dulces que las personas delgadas y se plantea la hipótesis de que el individuo tiene una hipoactivación basal en el sistema de recompensa y se inclina a la sobreactivación de su sistema para llegar a una activación normal (Stice, Spoor, Ng, Zald, 2009).

Estilo de vida

La ingesta de alimentos está íntimamente ligada al ciclo de actividad-reposo y al nivel de activación que se presenta a lo largo del ritmo circadiano. El cambio en el estilo de vida de las personas provee más oportunidades de comer ya que el tiempo de sueño se reduce y la vida nocturna da oportunidad de ingerir alimentos en horas en las cuales el organismo normalmente no lo haría, esto provoca alteraciones en el cuerpo incluyendo aumento de peso (Salgado-Delgado, Ángeles Castellanos, Buijs, Escobar, 2008). Sumándose a la problemática que promueve la obesidad se encuentra la presencia de mayor cantidad de comida rápida que aunada con los horarios de trabajo y el cambio de los roles sociales del hombre y la mujer, dejan menos tiempo para la atención y el cuidado de una dieta sana y aumentan el riesgo de presentar desórdenes y trastornos alimenticios.

Es ampliamente reconocido que un estímulo importante para comer no es el hambre si no el placer anticipado de comer el cual está determinado por las cualidades sensoriales de los alimentos apetitosos. Los alimentos chatarra contienen grandes cantidades de grasa y/o azúcares, los investigadores argumentan la prevalencia de estas comidas en casa incrementan los riesgos de padecer obesidad. Una hipótesis es que la relación de las anomalías en la recompensa de la comida para que esta sea un riesgo para ganar peso es más fuerte para los participantes que se encuentran en un ambiente en donde se puede encontrar gran cantidad de comida poco saludable (Stice, Spoor, Ng, Zald, 2009).

En la actualidad, se ha observado que las personas bajo estrés tienden a sobreconsumir alimentos apetitosos. En ratas, cuando se presentan factores estresantes repetidamente, tienden a disminuir el consumo de alimento y de peso corporal. Esto se modifica cuando se introduce la variable de alimento apetitoso. Los animales con estrés crónico consumen mayor cantidad de alimento apetitoso si se restringe a un momento breve del día, esto sugiere que la alimentación, en una situación de estrés se prefiere por su valor recompensante y por su capacidad

de reducir los niveles de activación en vez de únicamente por las necesidades metabólicas del cuerpo (Adam y Epel, 2007).

ADICCIÓN

Cuando se habla de adicción, generalmente se refiere el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV, por sus siglas en inglés), en éste se especifica que se forman adicciones a *sustancias*, este término se refiere a una droga de abuso, un medicamento o a un tóxico. Se clasifican en 11 clases: alcohol, alucinógenos, anfetamina o simpaticomiméticos de acción similar, inhalantes, nicotina, opioides y sedantes, hipnóticos y ansiolíticos. Para diagnosticar una dependencia a sustancias, el DSM-IV considera un grupo de síntomas cognoscitivos, conductuales y fisiológicos que indican que el individuo continúa consumiendo la sustancia a pesar de problemas significativos relacionados con ella. Tolerancia es la necesidad de recurrir a cantidades crecientes de la sustancia para alcanzar la intoxicación (o el efecto deseado); Abstinencia es un cambio desadaptativo con concomitantes cognoscitivos y fisiológicos que tienen lugar cuando la concentración en la sangre o los tejidos de una sustancia disminuye en un individuo que ha mantenido un consumo prolongado de grandes cantidades de esta sustancia; Consumo de la sustancia en cantidades muy grandes para satisfacer los síntomas desagradables de la abstinencia a la sustancia (atracones); Intentos infructuosos de regular o abandonar el consumo de la sustancia; Abandono o relegación de actividades importantes de la vida diaria debido al consumo de la sustancia; Consumo de la sustancia a pesar del conocimiento de los efectos secundarios adversos que la sustancia puede ocasionarle al individuo (DSM-IV, 2005).

Actualmente se discute la posibilidad de incluir otros tipos de adicciones como adicciones a ciertos tipos de alimentos o sustancias que no sean drogas de abuso o adicciones conductuales como adicción al juego o apuestas. Esta propuesta se basa en que existen ciertas conductas como comer, apostar, el uso

del internet, prácticas sexuales que no sólo son muy semejantes clínicamente a los síntomas descritos por el DSM-IV sino que también se comparten circuitos neurobiológicos como el sistema de recompensa. La adicción no relacionada a *sustancias* también puede ocasionar una transformación en la conducta del individuo que lo puede llevar a gastar mucho tiempo y abandonar otras actividades muy frecuentemente para satisfacer su necesidad del objeto o conducta a la que es adicto (Martin, Petry, 2005).

¿Adicción a la comida?

Muchos autores sugieren que debido a los cambios conductuales que las personas reportan acerca de su consumo de cierto tipo de alimentos, se puede hablar de una adicción ya que los sujetos indican una incapacidad para controlar su consumo estos, además de que se acompañan por síntomas de malestar cuando no pueden consumirlos, lo cual se asemeja a la tolerancia a la que el DSM IV se refiere con el consumo de sustancias.

Además de los reportes de las personas que se autodenominan adictos a algún alimento, existen los modelos animales que han logrado establecer que éstos, cuando se les otorga acceso a un alimento apetitoso y placentero para ellos, lo consumen cada vez en mayor cantidad. Asimismo, se han estudiado los efectos que la privación del alimento, después de haberlo consumido por varios días, produce en los animales, encontrando efectos adversos como los producidos a los humanos con sustancias de abuso (Avena, Rada, Hoebel, 2009; Corwin y Wojnicki, 2006)

El atracón (Binge) es la conducta de ingestión exagerada de algún alimento. Los alimentos con los cuales comúnmente se presenta esta conducta son los alimentos ricos en azúcares, grasas o ambos (Avena, Rada, Hoebel, 2009).

Puede ser importante el hecho de que las personas que sufren de atracones (particularmente asociados con obesidad) y otros desórdenes alimenticios, son más proclives a tener abuso de drogas al igual que afecto

negativo dado que la dopamina también media la sensibilidad al estrés y la depresión (Gibson, 2006).

Craving es el término en inglés que denomina al deseo intenso por ingerir alguna droga o alimento. Se caracteriza por que ésta tiene especificidad, no se confunde con hambre porque ésta se puede saciar con distintos alimentos y nutrientes, en cambio, durante este episodio de ansiedad (craving), esta ansiedad es provocada por algún producto en especial, algún bocadillo apetitoso que puede ser dulce, salado con alto contenido energético (Pelchat, 2002). Las dos características más importantes por lo tanto, son la intensidad del deseo por consumir un estímulo y la especificidad del apetito por éste. Los episodios de “craving” pueden contribuir a la obesidad y a los desórdenes alimenticios.

Dos componentes esenciales del sistema de recompensa que regula la conducta de alimentación son la experiencia hedónica de comer y la conducta apetitiva involucrada en los intentos de obtener el alimento. (Kelley, Baldo, Pratt y Will, 2005). La experiencia hedónica o el placer sensorial de comer están determinados por lo apetitoso o sabroso de los alimentos y ha sido llamada como “liking” o gusto. El “liking” bajo el control de los opiáceos, se encarga de la valoración inmediata de los alimentos y se ha demostrado que está activo cuando los sujetos (ratas) están saciados en mayor o menor medida. (Barbano y Cador, 2007)

Cuando un individuo está hambriento, es menos estricto para valorar las cualidades específicas de la comida (ej. Sabor, textura etc.) y le da prioridad al consumo *per se*, guiando al individuo a la ingestión de grandes cantidades de comida son importar sus cualidades hedónicas (Kelley, Baldo, Pratt y Will, 2005).

Los alimentos apetitosos estimulan la liberación de opiáceos, dopamina y endocannabinoides en el sistema de recompensa. Estos neurotransmisores, cuando se inyectan en el núcleo accumbens, estimulan la ingesta de alimentos, particularmente las azúcares y las grasas, creando de esta forma un círculo vicioso (Erlanson-Albertson, 2005). Este mecanismo de reforzamiento pudiera ser

la causa de que los alimentos apetitosos pueden causar adicción (Gosnell & Krahn 1992).

Se ha discutido el hecho de que la adicción a la comida sea factible. Se ha encontrado que en modelos animales los ciclos de restricción/atracción, en donde el alimento apetitoso o altamente preferido por el individuo, se restringe a algunos días y por breves periodos de tiempo, provoca que los individuos modifiquen el patrón de consumo de comida normal y tiendan a tener atracones de la comida apetitosa. (Corwin y Wojnicki, 2006). Esto podría ser un símil con las condiciones humanas en donde el alimento se encuentra restringido, como las dietas para adelgazar o los horarios de trabajo, en donde las personas pueden pasar más tiempo deseando cierto alimento y cuando tienen acceso al mismo, se presentan atracones.

Se ha reportado que cuando se entregan 5 gramos de chocolate a una hora específica diariamente por tres semanas, la conducta de las ratas cambia y se sincronizan a la hora de entrega de este alimento apetitoso. Además de los cambios conductuales, este tipo de restricción de alimento apetitoso produce cambios a nivel del sistema nervioso, en la activación de núcleos involucrados con el sistema de recompensa (Ángeles-Castellanos, Salgado-Delgado, Rodríguez, Buijs, Escobar, 2007) y en la producción de algunos neurotransmisores, por ejemplo la expresión de RNA mensajero de pre-proencefalina en el Núcleo Accumbens Shell (Kelley, Will, Steininger, Zhang, Haber, 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en la información anterior sabemos que las recompensas naturales como los alimentos apetitosos tienen la capacidad de modificar la conducta y producir cambios en el sistema nervioso central de un individuo. Estos cambios son posiblemente el origen de motivación que los individuos tienen por conseguir la recompensa.

Uno de los cambios conductuales, indicador de la motivación, es la persistencia de la actividad de búsqueda y expectación ante la discontinuación de la entrega de un estímulo apetitoso que se entregó diariamente a la misma hora durante tres semanas. Este procedimiento, además del cambio conductual, también produce modificaciones en la expresión de proteínas de expresión inmediata que sirven de marcadores de actividad neuronal.

En este estudio se pretende analizar el proceso de generación de estos cambios en el consumo y la expectación de un alimento apetitoso. Además se determinará cuál de estas estructuras es la que cambia más rápidamente y la que pudiera ser substrato inicial de la motivación por el alimento apetitoso. Para lograr los objetivos se estudiarán cerebros de ratas de 2 grupos: aquellas que consumen y aquellas que van adquiriendo expectación en diferentes días del experimento. Para esto se analizarán estructuras límbicas: Corteza prefrontal prelímbica y Núcleo accumbens en sus subterritorios core y shell y se compararán con otras estructuras no involucradas en el sistema de recompensa.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo se desarrolla la anticipación a un alimento apetitoso?

¿Qué estructuras están involucradas en dicha anticipación?

OBJETIVOS

Evidenciar el desarrollo de la conducta de expectación y persistencia por medio de actogramas de la actividad general de las ratas.

Determinar los cambios de la activación neuronal provocada por la entrega diaria de un estímulo apetitoso por su consumo y expectación.

Comparar estructuras relacionadas directamente con el procesamiento de recompensas y estímulos hedónicos con estructuras normalmente relacionadas con procesamiento metabólico y procesamiento sensorial.

HIPÓTESIS

Después de tres semanas de entrega diaria y a la misma hora de 5 gr. de chocolate, habrá expectación y conducta de búsqueda del alimento apetitoso cuando éste no sea entregado a la hora programada.

La ingesta del alimento apetitoso provocará una respuesta neuronal constante independientemente de los días de consumo. Las estructuras analizadas se activarán siempre en respuesta al estímulo.

La respuesta neuronal de expectación será diferente en las estructuras del sistema de recompensa comparadas con las estructuras relacionadas con el procesamiento metabólico y sensorial.

MÉTODO

SUJETOS EXPERIMENTALES

Se utilizaron 32 ratas macho de la cepa Wistar con peso entre 250-300 gr. Obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM y mantenidas en el bioterio del departamento de anatomía. Las ratas se colocaron en cajas de acrílico (50x30x20) y su hábitat se mantuvo en condiciones de temperatura y humedad controladas, con un ciclo de luz-oscuridad 12:12. Para el registro de la línea base, el agua y alimento (Rodent Laboratory Chow) se mantuvieron ad libitum. La manipulación de los animales se realizó bajo las normas de uso de animales de experimentación según el decreto de ley de protección a los animales del Distrito Federal, publicada en la Gaceta Oficial del Distrito Federal, 26/02/02.

REGISTRO CONDUCTUAL

El registro conductual se realizó por medio de un sistema automatizado de sensores de presión colocados debajo de cada hábitat de las ratas. Estos sensores están conectados a una PC que recolecta las veces que activan y las acumula cada 5 minutos, lo que nos proporciona información sobre la cantidad de veces que la rata se mueve en un lapso de tiempo.

La PC convierte el registro de los sensores en actogramas, los cuales son representaciones gráficas en donde las acumulaciones de cuentas del registro se grafican en forma de barras. Estas gráficas se ordenan horizontalmente cada 24 horas, acomodando el registro de las siguientes 24 horas justo debajo del registro previo, lo que permite visualizar día por día la actividad de los animales en registro. Además, la computadora muestra el registro en doble gráfica, para que se pueda apreciar mejor el registro de la actividad de cada día.

Con el fin de hacer un análisis más fino de la conducta de anticipación al chocolate, se tomó un rango de tiempo más corto. Se analizaron la hora previa a la entrega del chocolate y las dos horas posteriores a la entrega. Se realizó una gráfica con las cuentas automáticas del sistema de registro agrupadas en bloques de 15 minutos.

Para el registro conductual se utilizaron 8 ratas, se registró su línea base durante 9 días y después se inició la manipulación experimental durante 19 días. En el día 20 se terminó la manipulación y las ratas siguieron en el registro 5 días más.

Registro de línea base. Los hábitats de las ratas se colocaron en sistemas de registro con el fin de registrar su actividad locomotora diaria normal y habituar a las ratas en el sistema para que en la fase de experimentación no existiera la variable del ambiente novedoso. Los animales estuvieron en registro y con chow y agua *ad libitum*

Manipulación experimental. Se entregó diariamente un cubo de 5gr. de chocolate (2.6gr. de hidratos de carbono, 1.7gr. de grasas, .5gr de proteínas, 13% de cacao) a las 12 pm, que es la mitad del ciclo de reposo de las ratas. La entrega del alimento apetitoso se realizó diariamente durante 19 días a la misma hora. Los animales estuvieron en registro y con chow y agua *ad libitum* al igual que durante el registro de la línea base.

Después del periodo de manipulación experimental, se continuó realizando el registro a fin de observar si existieron cambios relacionados con la entrega del chocolate, es decir, anticipación a la llegada del estímulo. Durante estos 5 días de registro, los animales permanecieron con chow y agua *ad libitum*.

En la figura 4 se muestra el diseño de un actograma y el diseño experimental del grupo de conducta.

DISEÑO EXPERIMENTAL DEL GRUPO DE CONDUCTA

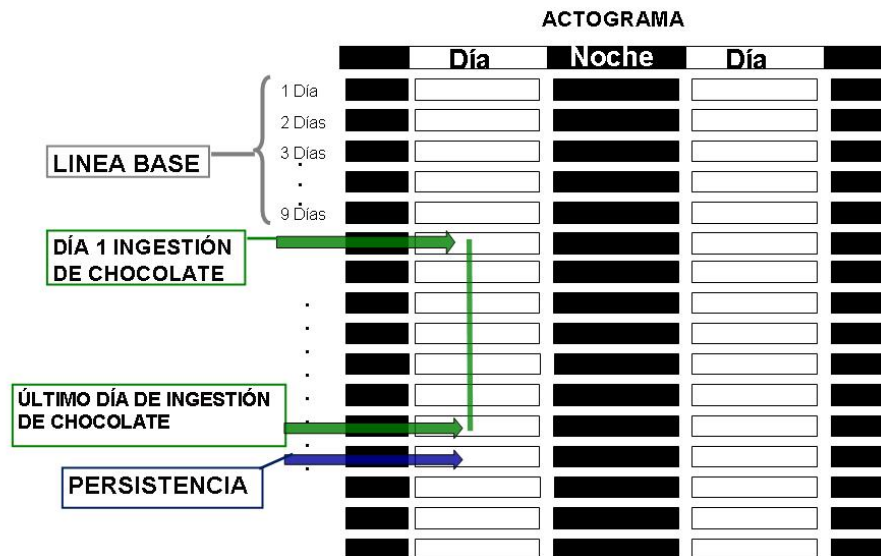


Figura 4. Imagen que ilustra un actograma, los rectángulos blancos indican la fase de luz (Día) y los rectángulos negros la fase de oscuridad (Noche). En la columna izquierda del actograma se indica el transcurso de los días. Dentro del rectángulo gris se indica el registro de la línea base. Con la flecha verde superior se indica el inicio del experimento, día en que se les entregó el chocolate a las ratas por primera vez. La línea verde indica la hora en que se les entregó el chocolate y la duración del experimento. La flecha verde inferior indica el último día en que se entregó el chocolate. Después de este día, con la flecha azul, se indica el registro en donde se obtuvo el patrón de actividad de los animales ya sin la entrega del chocolate.

ANÁLISIS NEURONAL

Se formaron dos grupos experimentales y un grupo control en los cuales, las ratas se asignaron aleatoriamente: Grupo de ingesta, Grupo expectante y Grupo Control.

En el grupo de ingesta, el sacrificio se programó en los días 1, 2, 3, 5 y 8 de manipulación experimental. Los sacrificios se realizaron una hora después de la hora programada de la entrega del estímulo apetitoso (Ver figura 5).

En el grupo expectante, el sacrificio se programó en los días 2, 3, 5 y 8 una hora después de la hora programada para la entrega del estímulo apetitoso. El día del sacrificio, las ratas de este grupo no recibieron los 5 gramos de chocolate (Ver figura 5).

A ambos grupos se les entregó una dosis diaria del estímulo apetitoso a las 12 pm, a la mitad de su periodo de descanso y se les sacrificó en el día programado, una hora después de haber consumido el estímulo apetitoso para el primer grupo o una hora después de la hora programada, sin haberlo recibido, para el segundo grupo.

El grupo control no recibió estímulo apetitoso y se mantuvo con alimento y agua *ad libitum*. Los animales de este grupo se sacrificaron a la misma hora programada para los sacrificios de los animales experimentales y en los distintos días de experimentación.

DISEÑO EXPERIMENTAL DEL GRUPO DE ANÁLISIS NEURONAL

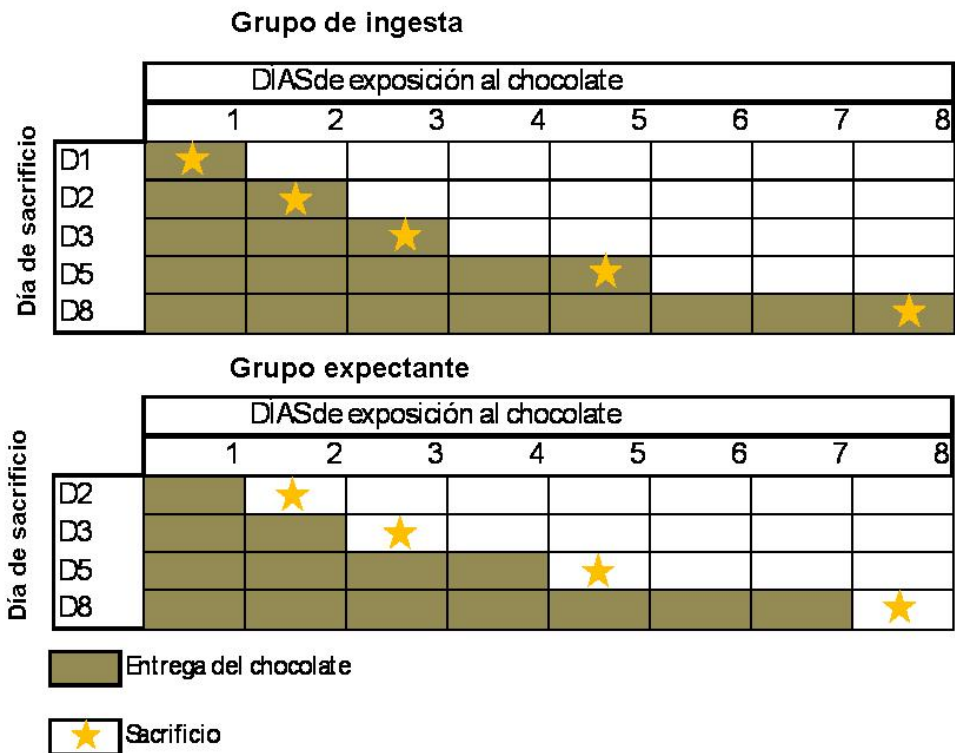


Figura 5. Diseño de los grupos experimentales. Horizontalmente se encuentran los días del experimento. Verticalmente se encuentran los días de sacrificio. En color oscuro se indican los días en donde los animales consumieron el chocolate y la estrella amarilla indica el día de sacrificio.

Sacrificio de los animales y recolección de cerebros.

Los animales se sacrificaron en el día y hora programada para cada grupo. Se inyectaron con una dosis letal de pentobarbital (1mL), y se perfundieron intracardialmente a través del ventrículo izquierdo del corazón hacia la aorta con 150 ml aproximadamente de solución salina isotónica al 0.9%, enseguida se perfundieron con 150 ml aproximadamente de paraformaldehído al 4% en buffer fosfato (PBS, 0.1 M, con un pH de 7.2)

Después de perfundidas, las ratas se decapitaron y se extrajeron manualmente los cerebros con ayuda de gubias. Se colocaron en sacarosa al 30% aproximadamente 72 hrs, con el fin de crioprotegerlos.

Los cerebros se cortaron en un criostato a 19°C. Se obtuvieron cortes coronales de 40 µm de grosor y se recolectaron 4 series del mismo cerebro en pequeños contenedores.

Inmunohistoquímica.

Se realizó la inmunohistoquímica para la proteína Fos, la cual se utiliza como marcador de actividad neuronal.

Se tomó una serie de cada cerebro y se incubó con el anticuerpo primario para la proteína Fos (anti Fos hecho en conejo, Santa Cruz Biotechnology) por 72 horas con una dilución de 1:2500 en Supermix (PBS con NaCl al 9%, gelatina natural al 2.5% y tritón al 5%) (anti Fos hecho en conejo, Santa Cruz Biotechnology). Después del tiempo de incubación, los cortes se lavaron 3 veces por 10 minutos con PBS, enseguida se incubaron con el anticuerpo secundario (anti-conejo, hecho en cabra, Vector Laboratories Inc.) con una dilución de 5:1000 en Supermix durante 90 min. Terminando este periodo, se lavaron los cortes 3 veces por 10 min cada una y se incubaron en el complejo a-b (avidina-biotina Vector Laboratories Inc.) con una dilución en PBS de 9:1000 cada uno durante 90 min. Al finalizar este periodo, se lavó el tejido y se activó la reacción de oxidación con diaminobenzidina (1.54gr por cada 100mL) y peróxido de hidrógeno (35mm de H₂O₂ al 30% por cada 100mL).

Los cortes se colocaron en solución de montaje y se montaron en portaobjetos gelatinizados, se deshidrataron gradualmente con alcohol al 70%, 96% y 100%, se pusieron en xilol y se cubrieron con cubreobjetos con medio de montaje Entellan (Merck).

Cuantificación de células.

Se seleccionaron cortes de la zona anterior, medial y posterior de todos los núcleos con la ayuda del atlas estereotáxico para rata de Paxinos y Watson (1998) (Fig. 6 y 7). Se localizó la corteza prefrontal prelímbica (3.5mm, 3.2mm y 2.5 mm anterior a bregma); la zona core y shell del núcleo Accumbens (1.9mm, 1.6mm y 1.2mm anterior a bregma); la corteza piriforme (1.9 mm, 1.6mm y 1.2mm anterior a bregma); el núcleo arqueado (2.8 mm, 3.14mm y 3.3mm posterior a bregma); y el núcleo supraquiasmático (0.98mm, 1.1mm y 1.4mm posterior a bregma).

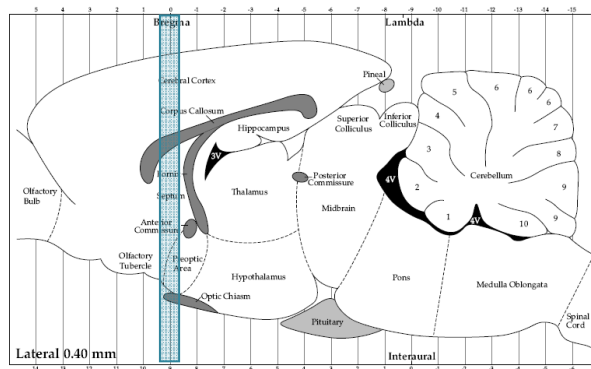


Figura 6. Ilustración de un corte sagital medial de un cerebro de rata. El rectángulo vertical azul indica la posición de Bregma.

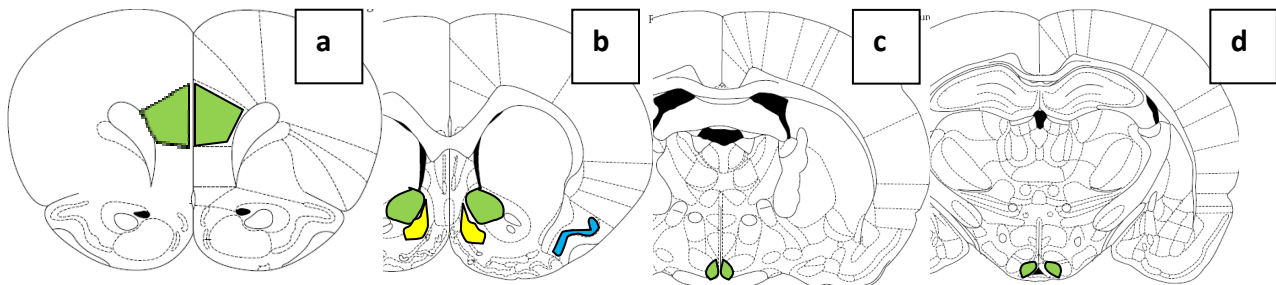


Figura 7. Cortes coronales que indican los niveles y las zonas de análisis para: corteza prefrontal prelímbica (a, en verde); núcleo accumbens core (b, en verde); núcleo accumbens Shell (b en amarillo); corteza piriforme (b, en azul); núcleo supraquiasmático (c, en verde); núcleo arqueado (d, en verde).

Las laminillas con los cortes se observaron con un microscopio óptico (Olympus BX41) el cual cuenta con una cámara (Evolution LC color) conectada a una PC. Se adquirieron imágenes con una amplificación de 20x, digitalizadas automáticamente con el programa Image-Pro Plus 5.1. Las fotografías digitales se guardaron en formato jpg.

Se utilizó un sistema computarizado de análisis (Image J Launcher) para contar las células inmunopositivas para Fos. Se localizaron las células que expresaban Fos y se contaron automáticamente, tomando en cuenta el fondo de la imagen y el tamaño aproximado de los núcleos celulares para evitar que en el conteo se incluyeran marcas no correspondientes a marcas de Fos.

Estadística

Análisis conductual

Para el análisis conductual se aplicó un ANOVA de dos vías con los siguientes factores: días de entrega de chocolate y hora como variables independientes, cuentas automáticas como variable dependiente. Se utilizaron medidas repetidas de 4 niveles en el análisis que correspondieron a las horas que se evaluaron, ya que las horas se evaluaron cada 15 minutos. Se aplicó la prueba post hoc HSD de Tukey.

Análisis neuronal

Para el análisis neuronal se utilizó un ANOVA de una vía con dos factores, la variable independiente del tiempo y la variable dependiente, la cantidad de células inmunoreactivas a la proteína c-Fos. Se aplicó post hoc la prueba de Tukey para N desiguales.

RESULTADOS

ANÁLISIS CONDUCTUAL

Durante la línea base, el 100% de las ratas mostraron un patrón de actividad nocturno bien definido. Durante el día se observaron breves componentes de actividad que se encuentran distribuidos irregularmente a lo largo de la fase de luz. En las figuras 7 y 8 se observan los primeros nueve días que muestran la actividad basal de la rata.

Durante el experimento, que consistió en entregarles un cubo de chocolate de 5 g, las ratas conservaron su actividad nocturna pero se activaron a la hora de entrega del chocolate desde el primer día de entrega (figuras 8 y 9). La anticipación que mostraron fue muy breve, cercana a los 15 minutos pero no se reflejó a simple vista en los actogramas.

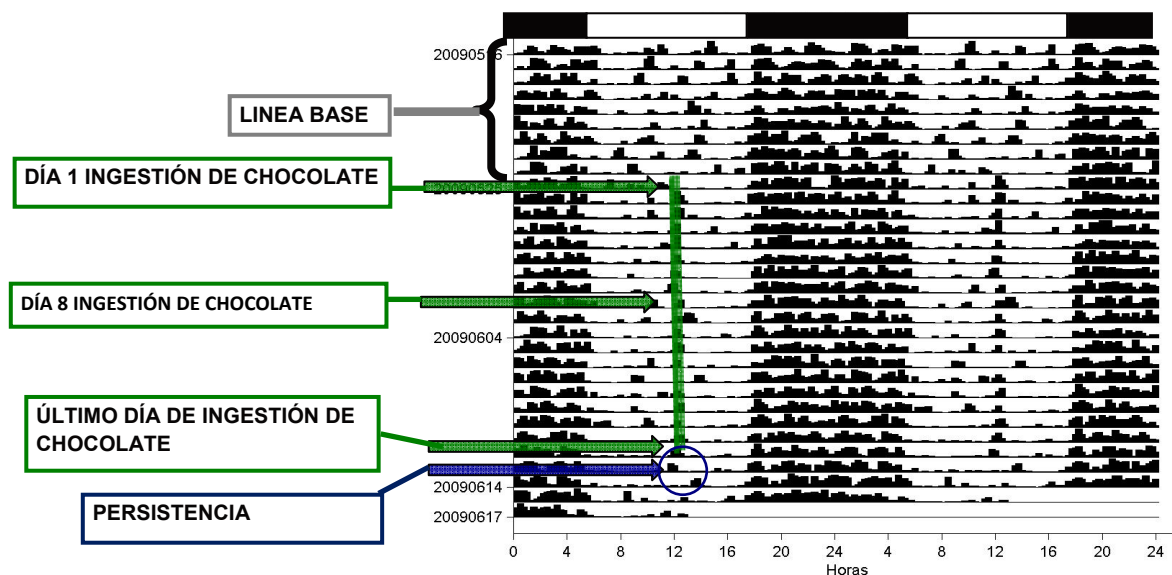


Figura 8. Actograma de una rata que mostró persistencia de la conducta de expectación por el chocolate. Esta actividad se muestra dentro del círculo azul. En el actograma, se indica con la flecha verde superior, el inicio del experimento, el día 1 en que se les entregó el chocolate a las ratas. La línea verde indica la hora en que se les entregó el chocolate y la duración del experimento. La flecha verde inferior indica el último día en que se entregó el chocolate. Después de este día, se dejó a los animales en el sistema de registro para obtener el patrón de actividad de los animales.

Cuando se interrumpió la entrega de chocolate, el 50% de las ratas mostraron persistencia de la conducta de expectación al chocolate, es decir, se activaron a la hora de entrega del chocolate sin que el experimentador fuera a dar el alimento apetitoso ese día (Ver figura 8). La persistencia se observó por lo menos un día después de la última entrega del chocolate. El otro 50% de las ratas no mostró activación una vez que se interrumpió la entrega de chocolate, a pesar de que fueron tratadas bajo el mismo protocolo (Ver figura 9).

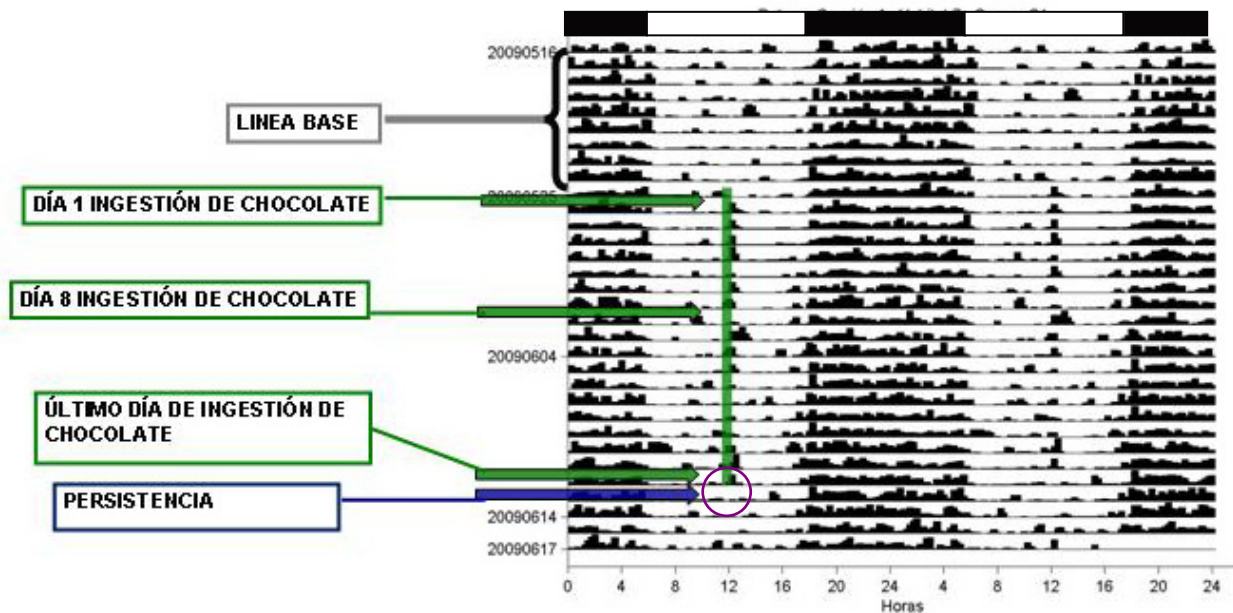


Figura 9. Actograma de una rata que no mostró persistencia al chocolate. La ausencia de actividad se indica dentro del círculo violeta. Las otras indicaciones son iguales a la figura 7.

Con el análisis fino con bloques de 15 minutos se observó que en el primer día, hubo activación posterior a la entrega de chocolate (después de las 12:00 pm) y que en los días posteriores aumenta la actividad de los animales 15 minutos antes de la entrega del chocolate y se mantiene elevada aproximadamente 30 minutos más (Figura 10).

Se encontraron estadísticas determinadas por los días de entrega $F(3,180)=5.3$, $P<.05$ y entre las horas $F(11,60)=5.8$, $P<.05$ sobre las cuentas de actividad.

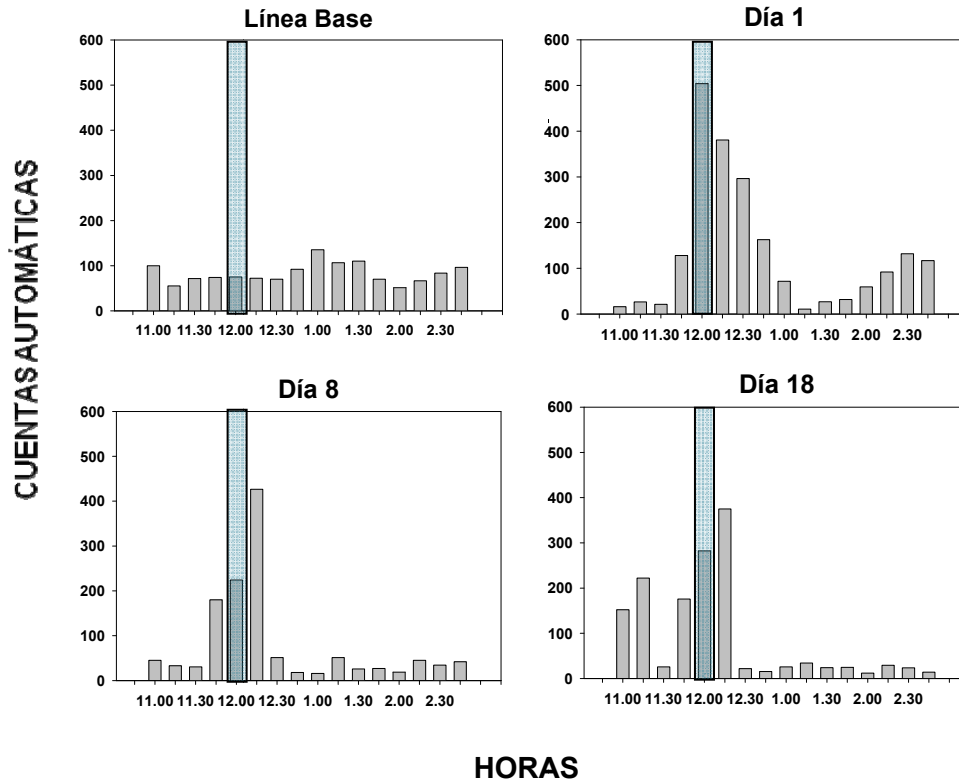


Figura 10. Promedio de actividad con un rango de 3 horas, 1 previa y dos posteriores a la entrega del chocolate. En el eje de las X se muestran las horas cada 15 minutos, en el eje de las Y se encuentra el número de cuentas registradas de actividad locomotora. Cada barra corresponde a 15 minutos de actividad. La barra azul en cada gráfica representa el momento de la entrega del chocolate.

ANÁLISIS NEURONAL

Accumbens Shell

En el grupo de ingesta de chocolate, las células inmunopositivas para c-Fos en el Núcleo Accumbens Shell, mostraron una activación similar a lo largo de los días. Al realizar el ANOVA de una vía, se observó que hay diferencias significativas entre los días de experimentación, $F= 3.576$, $p=0.023$. Estos resultados se analizaron con la prueba de Tukey para N desiguales como una prueba *post hoc* posterior al ANOVA de una vía, esta prueba indicó que los días 1, 2 y 3 tienen una diferencia estadísticamente significativa $P<0 .05$ con respecto al control (Ver Figura 11, parte superior).

En el grupo expectante se observó que la expresión de células inmunopositivas a c-Fos tiende a incrementar progresivamente con los días de exposición al chocolate. Al usar un ANOVA de una vía, se encontró que existían diferencias entre los grupos, $F= 9.915$, $P< 0.001$. La prueba *post hoc*: Tukey para N desiguales arrojó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las ratas del grupo control y las ratas del grupo del día 2. De acuerdo con la prueba *post hoc*, existen diferencias entre el grupo control y el grupo expectante del día 2, con respecto al grupo del día 8 (Ver figura 11, parte inferior).

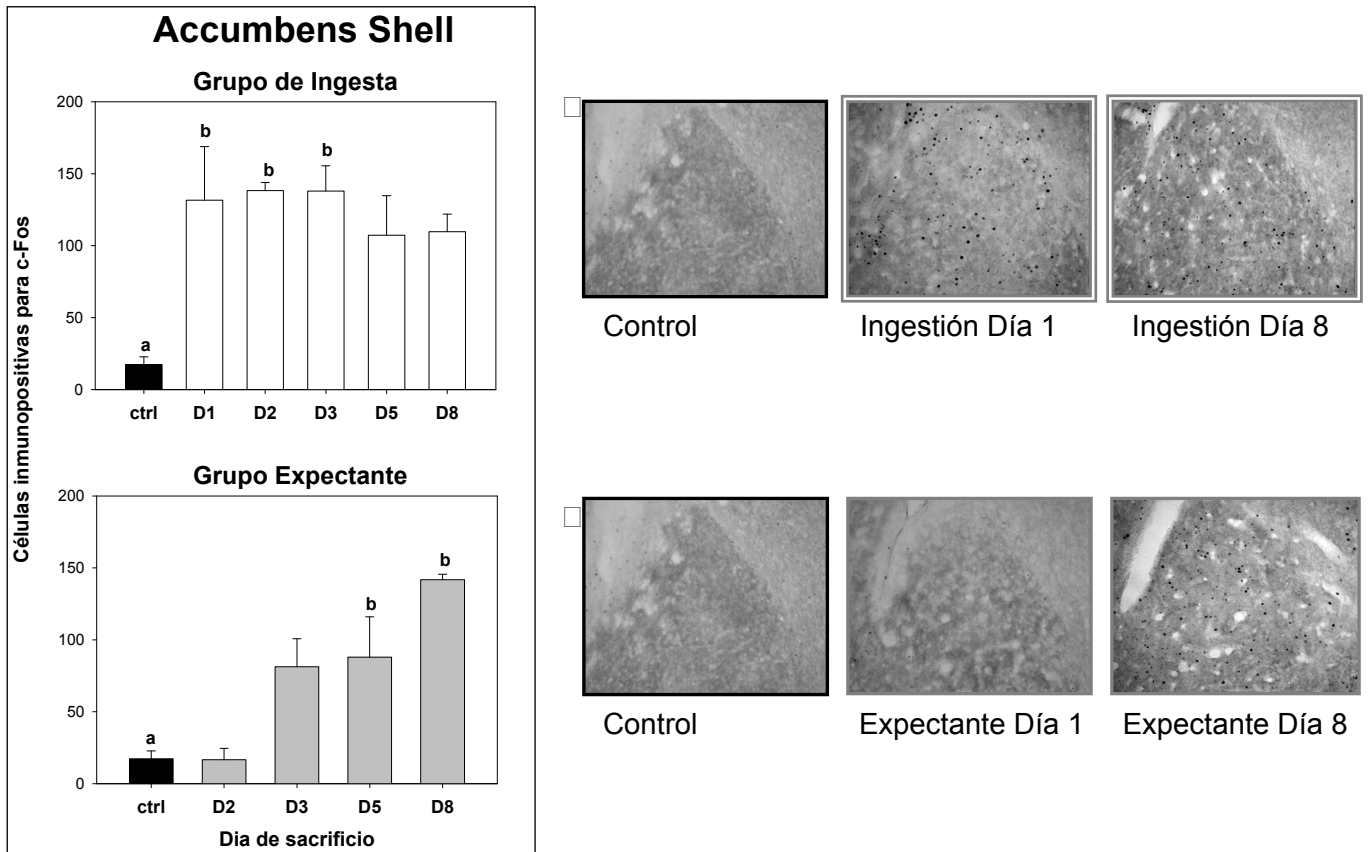


Figura 11. Resultados de la activación del Núcleo Accumbens Shell. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

Accumbens Core

En el grupo de ingesta, las células inmunopositivas para c-Fos en el Núcleo Accumbens Core, al igual que en el Acc-Shell, mostraron una activación constante a lo largo de los días. Todos los días de experimentación por entrega de chocolate son estadísticamente iguales y más altos que el control. Al realizar el ANOVA de una vía, se observó que hay diferencias significativas entre los días de experimentación, $F= 5.948$, $P<0.01$. Estos resultados se analizaron con la prueba de Tukey para N desiguales como una prueba *post hoc* posterior al ANOVA de una vía, esta prueba indicó diferencias significativas entre el grupo control y los grupos de los días 2, 3 y 8 $P< 0.05$ (Ver figura 12, parte superior)

En el grupo expectante se observó que la expresión de células inmunopositivas a c-Fos tiende a incrementar progresivamente con los días de exposición al chocolate. Al usar un ANOVA de una vía, se encontró que existían diferencias entre los grupos, $F= 10.517$, $P< 0.001$. La prueba *post hoc*: Tukey para N desiguales arrojó diferencias estadísticamente significativas entre las ratas del grupo control y las ratas de los grupos del día 5 y 8. De acuerdo con la prueba *post hoc*, no existen diferencias entre el grupo control y el grupo expectante del día 2, por lo que este grupo también es significativamente diferente de los grupos de los días 5 y 8 (Ver figura 12, parte inferior).

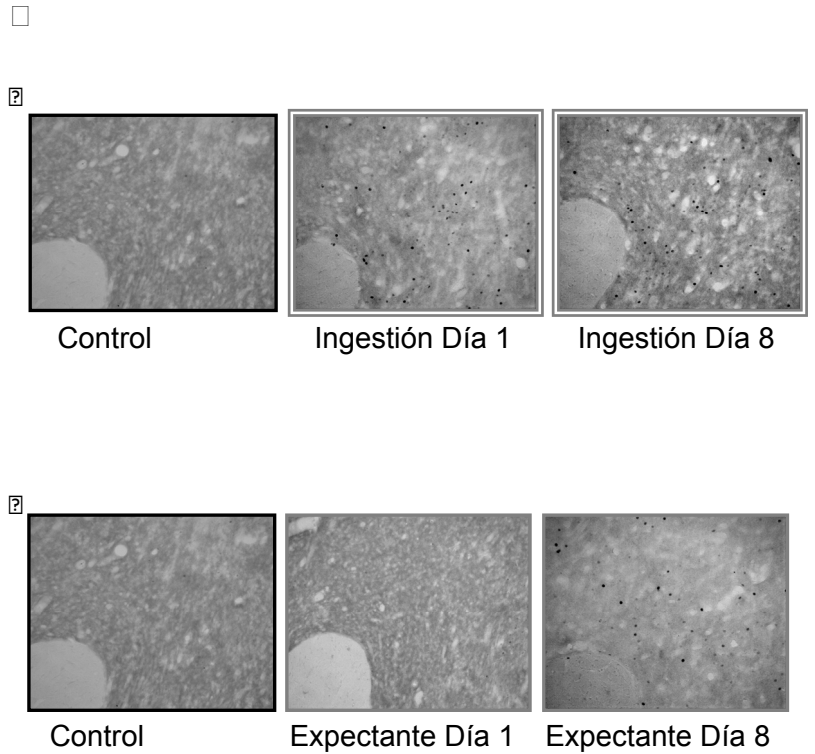
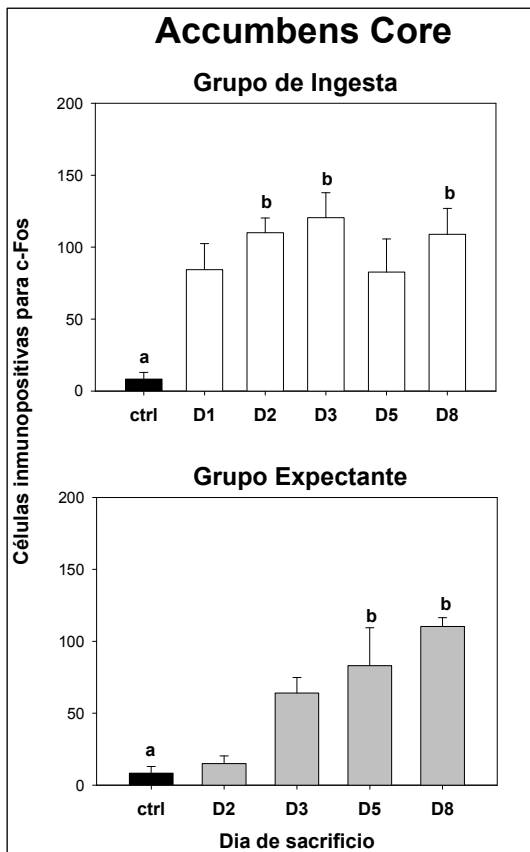


Figura 12. Resultados de la activación del núcleo accumbens core. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

Corteza prefrontal prelímbica

En el grupo de ingesta, las células inmunopositivas para c-Fos de la corteza prefrontal mostraron una activación constante a través de los días y mayor al grupo control. Al realizar un análisis estadístico con un ANOVA de una vía, se encontró que existían diferencias entre los grupos $F= 4.531$, $P< 0.05$. La prueba *post hoc* indicó que los días 1,2, 3 y 8 son estadísticamente diferentes al grupo control con $P<0.05$ (Ver figura 13, parte superior)

En la corteza prefrontal del grupo expectante se observó que la expresión de células inmunopositivas a c-Fos tuvo la tendencia a incrementar dependiendo de los días de exposición al chocolate. El ANOVA de una vía indicó que hubo diferencias entre los grupos $F= 8.733$, $P< 0.001$. Se realizó la prueba *post hoc* y ésta indicó diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos de los días 5 y 8 $P<0.05$ (Ver figura 13, parte inferior).

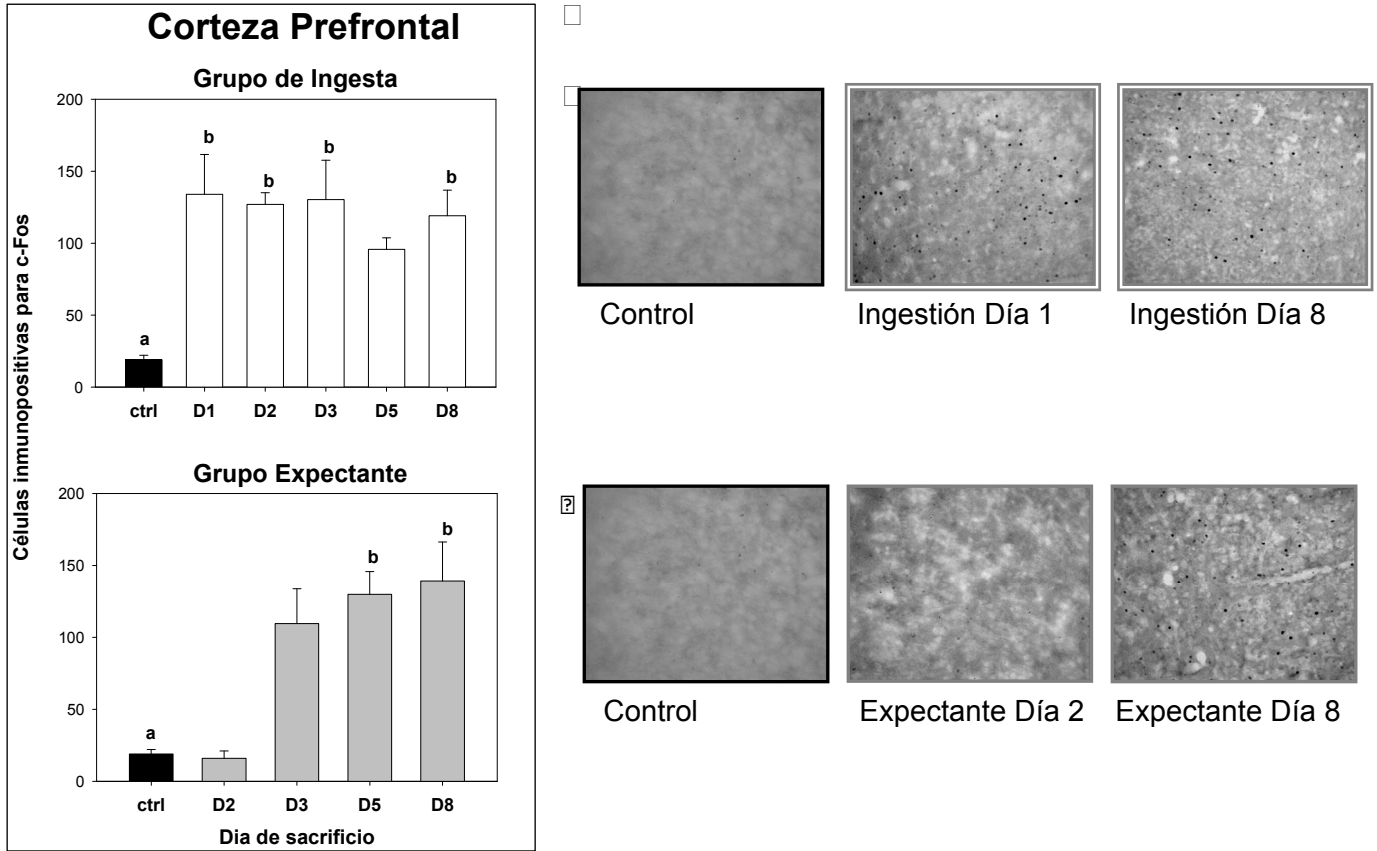


Figura 13. Resultados de la activación de la corteza prefrontal. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

Núcleo Arqueado

El núcleo arqueado tuvo una expresión de células inmunoreactivas a Fos parecida a la que tuvieron las estructuras del sistema de recompensa.

En el grupo de ingesta, las células inmunopositivas para c-Fos, mostraron una activación constante a través de los días y ésta fue mayor que la del grupo control. Todos los días de experimentación fueron estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba *post hoc*, ésta también indicó que los días 1, 3, 5 y 8 tuvieron una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control $P < .05$ (Ver figura 14, parte superior).

En el grupo expectante, la expresión la proteína c-Fos tuvo una tendencia a incrementar dependiendo de los días en los cuales las ratas consumieron chocolate. El ANOVA de una vía indicó diferencias entre los grupos $F = 8.551$, $P < 0.001$. La prueba *post hoc* indicó que existieron diferencias significativas entre los grupos control, día 2 y día 3 con respecto al día 8, pero (Ver figura 14, parte inferior).

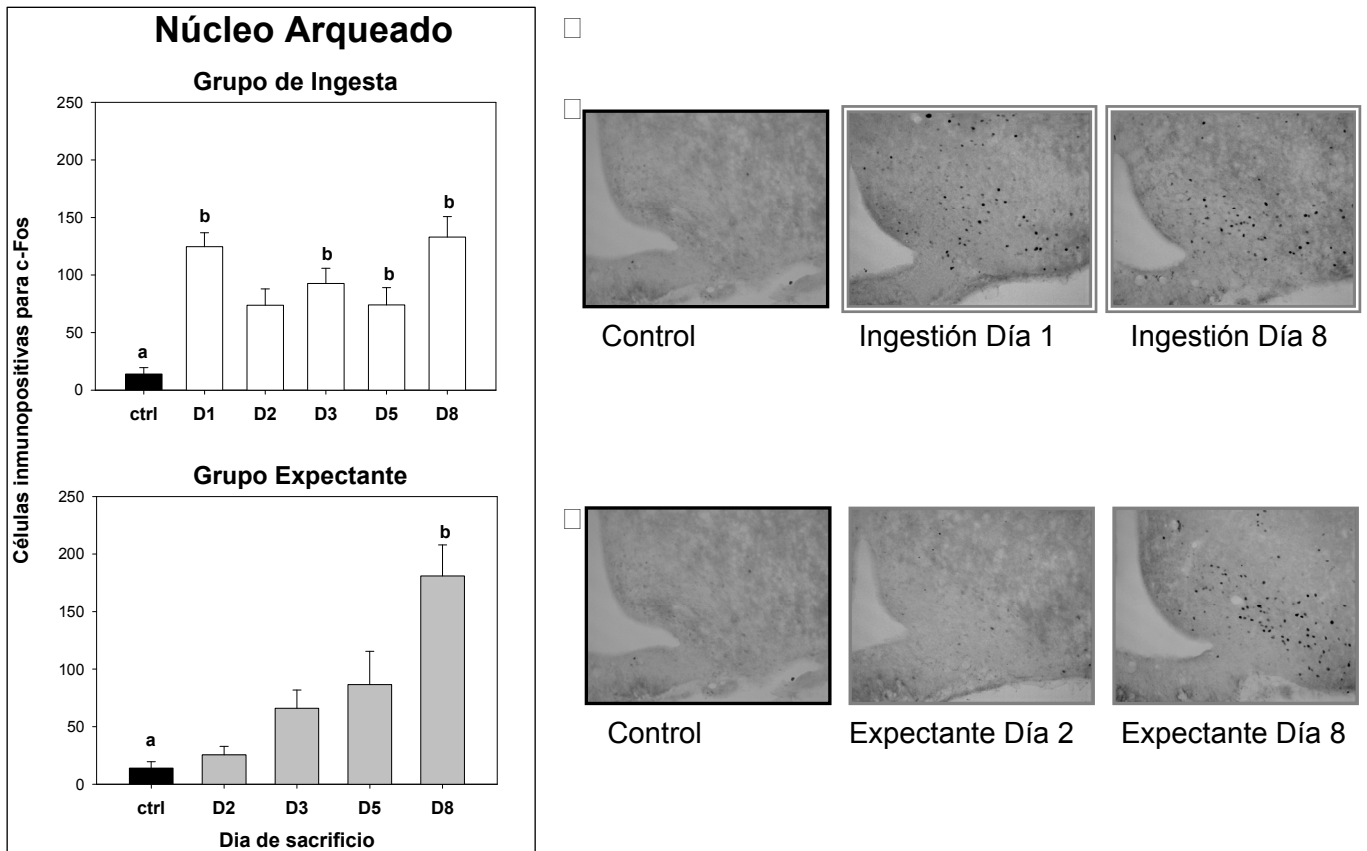


Figura 14. Resultados de la activación del núcleo arqueado hipotalámico. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

Corteza Piriforme

En la corteza piriforme del grupo que ingirió el chocolate se observó una tendencia de las células inmunoreactivas a c-Fos a decrecer dependiendo de los días de consumo aunque en todos los días se observa una mayor activación en comparación del control. De acuerdo con el ANOVA de una vía, existieron diferencias entre los grupos $F= 7.802$, $P<.01$. Se realizó la prueba *post hoc* para N desiguales y se encontró que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de los días 1 y 2 con el grupo control $P<0.01$ (Ver figura 15, parte superior).

En el grupo expectante, no parece haber diferencias dependientes de los días de experimentación. Al analizar los datos con un ANOVA de una vía, esta prueba indicó que existían diferencias entre los grupos $F= 4.161$, $P<0.05$. Al aplicar la prueba *post hoc*, se encontró que la diferencia estaba dada entre el grupo control y el grupo expectante del día 8 $P<0.05$ (Ver figura 15, parte inferior).

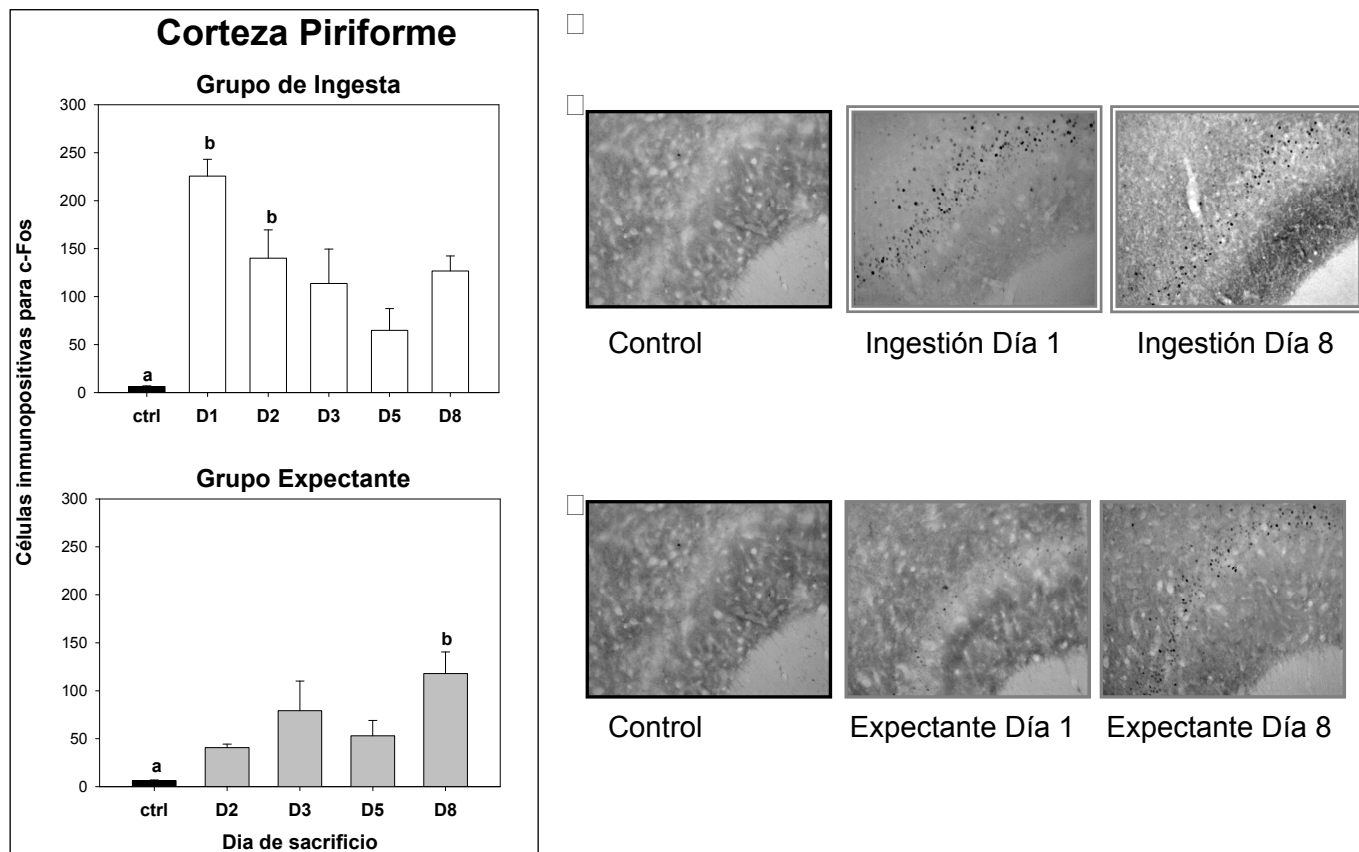


Figura 15. Resultados de la activación de la corteza piriforme. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

Núcleo Supraquiasmático

La activación del núcleo supraquiasmático no cambió en función de los días de exposición al alimento apetitoso.

Al aplicar el ANOVA de una vía, éste indicó que no existieron diferencias entre los grupos $F= 0.396$, $p> 0.8$. El grupo de ingesta no mostró diferencias en la expresión de células inmunoreactivas a c-Fos con respecto al control en ninguno de los días que se analizaron (Ver figura 16, parte superior).

El grupo expectante no mostró diferencias en la expresión de células inmunoreactivas a c-Fos en ninguno de los días que se analizaron de acuerdo al ANOVA de una vía $F=1.634$, $P> 0.2$ (Ver figura 16, parte inferior).

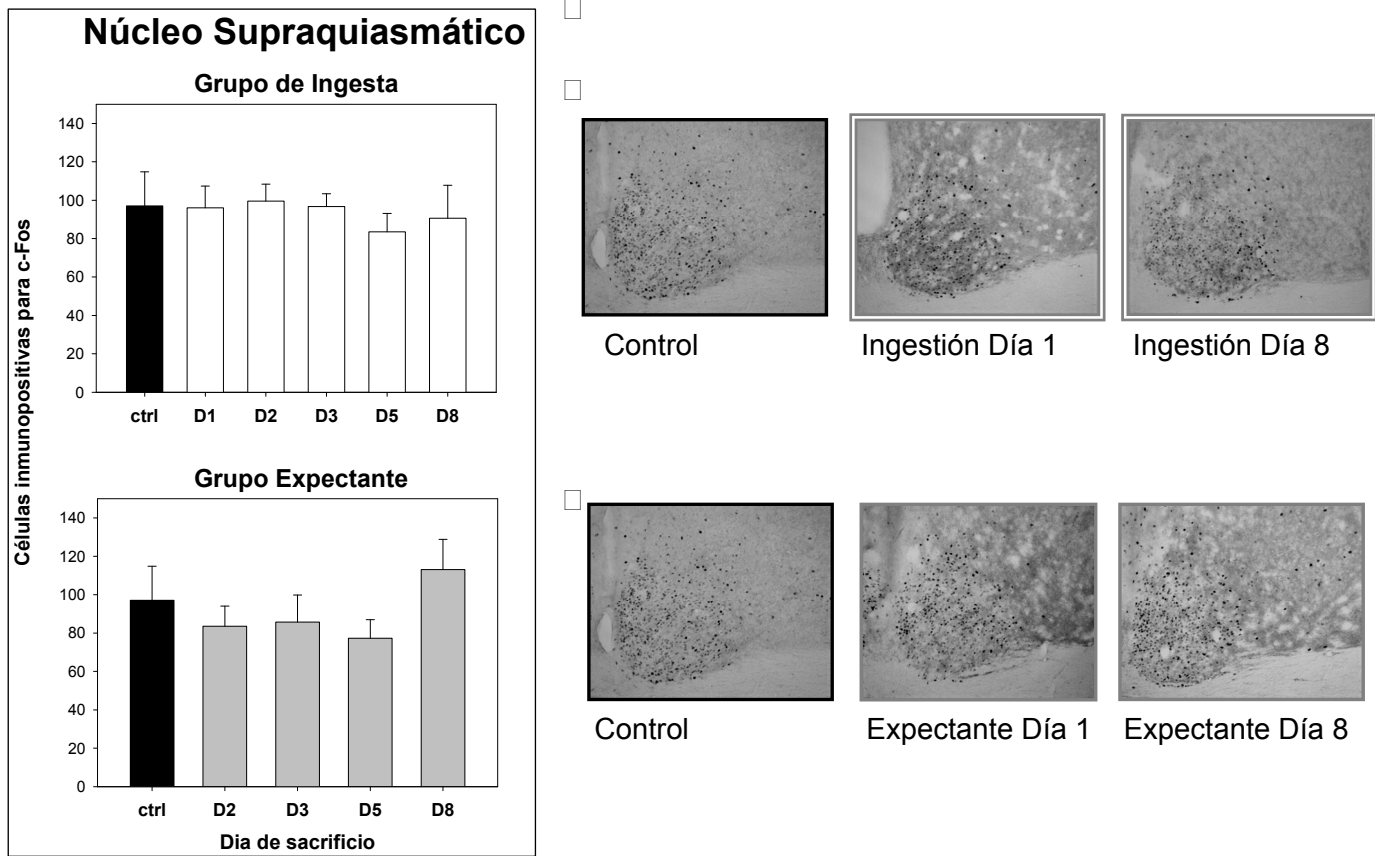


Figura 16. Resultados de la activación del núcleo supraquiasmático. En la parte superior se muestran las gráficas que ilustran los resultados del grupo de ingesta (barras en blanco) y en la parte inferior los resultados del grupo expectante (barras en gris), ambos grupos comparados con el grupo control (barras negras). En el eje horizontal se muestran los días de sacrificio, en el eje vertical se muestra la cantidad de células inmunopositivas para c-Fos.

DISCUSIÓN

Actividad anticipatoria

En la fase experimental, todas las ratas mostraron actividad locomotora durante la hora de entrega del chocolate. Otros estudios en los que se entregaba diariamente un alimento apetitoso a la misma hora muestran resultados similares, en donde las ratas también mostraron actividad locomotora cuando se les daba el alimento apetitoso *ad libitum* (Mendoza 2005; Ángeles-Castellanos, 2008). Además de la actividad debida a la entrega del chocolate, se ha observado actividad anticipatoria a la entrega del alimento apetitoso aún estando bajo condiciones *ad libitum*. En este estudio, la actividad anticipatoria no se reflejó en los actogramas ya que ésta fue muy breve, lo cual coincide con otros estudios similares a éste en los que las condiciones de alimento chow y agua permanecen *ad libitum* (Mendoza 2005; Ángeles-Castellanos, 2008; Verwey M., Khoja Z., Stewart J., Amir S., 2007).

Se ha observado que la anticipación es larga cuando lo que se restringe es el tiempo de alimentación a unas horas diarias (Ángeles-Castellanos, 2008). En el modelo de restricción del alimento, las ratas se alimentan con alimento chow. La anticipación tan robusta que se reporta, de aproximadamente 2 horas, se debe al estado catabólico en el que se encuentran los animales y un estado motivacional de búsqueda de alimento (Mendoza 2005; Ángeles-Castellanos, 2008; Verwey M., Khoja Z., Stewart J., Amir S., 2007).

La entrega de alimento apetitoso sin restricción de alimento chow, disocia los componentes metabólicos y motivacionales ya que los animales no se encuentran en un estado catabólico y su activación sólo responde a la motivación por un estímulo placentero “extra”; por lo mismo, la anticipación en este modelo no se pierde, sólo disminuye en su magnitud.

La actividad locomotora registrada por los actogramas no reflejó el cambio observado directamente cuando se entregaba el chocolate. La excitación de las ratas a la hora en que se les iba a entregar el chocolate mostraba signos de

ansiedad ya que corrían de un lado a otro de la caja, se agarraban de la reja e intentaban sacar la pata para tomar el chocolate cuando éste no caía inmediatamente dentro de la caja.

Se observó también un cambio conductual con el paso de los días ya que en el primer día de entrega del chocolate, todas las ratas se encontraban dormidas y no comieron el chocolate inmediatamente, lo comían cuidadosamente y algunas tardaron más de 30 min en terminarlo. Los días siguientes se observó que las ratas estaban despiertas y muy alertas a la hora de la entrega y el chocolate lo ingerían completamente en menos de 5 minutos. Además de estar despiertas, las ratas tenían conductas como correr y saltar de un lado a otro de su hábitat y levantarse sobre sus dos patas recargadas en la esquina en donde regularmente se les daba el trozo de chocolate. Por esta razón, el registro de conducta con actogramas no fue la forma más precisa de medir la anticipación al chocolate, porque no es posible registrar conductas específicas como el levantamiento en dos patas o conductas que pudieran reflejar el deseo de ingerir el alimento apetitoso. Para un estudio posterior se sugiere utilizar videograbaciones con las cuales se puedan cuantificar este tipo de conductas y de esta forma evidenciar la anticipación.

Persistencia

Durante la fase de persistencia, cuando se dejó de entregar el chocolate, sólo el 50 % de los animales del grupo de conducta mostraron actividad a la hora en que se solía entregar el chocolate. Mendoza y cols. (2005) observaron que en la fase de persistencia, utilizando el mismo protocolo que se usó en este estudio, las ratas tenían actividad locomotora a la hora programada para la entrega del chocolate por lo menos durante 4 días. En esta investigación sólo pudimos observar claramente la persistencia de la actividad anticipatoria por un día. En los actogramas, los siguientes días aparece un componente de actividad breve una hora antes o después de la hora programada para la entrega del chocolate, sin embargo esta actividad no fue a la hora exacta a la que se había entregado diariamente el alimento apetitoso. Con estos datos suponemos que las ratas no

habían alcanzado todavía un estado de dependencia o adicción al chocolate. Es posible que para observar una persistencia de varios días se requieran periodos más prolongados de exposición al chocolate como lo realizó Mendoza y cols. (2005).

Resultados de c-Fos del grupo de ingesta de chocolate

La respuesta en el Núcleo Accumbens Shell, Core y Corteza Prefrontal fue similar en todos los días de experimentación en el grupo que ingirió el chocolate. La expresión de c-Fos fue superior al control durante todos los días analizados, esto coincide con las observaciones de Mendoza y cols. (2005) en donde las ratas que ingieren chocolate expresan más células inmunopositivas a c-Fos que las ratas control. En el estudio de Mendoza, la respuesta de Núcleo Accumbens tanto Core como Shell tiene más actividad que la corteza prefrontal, lo cual no coincide con los resultados de este estudio porque en este, el número de células activas fue similar en ambos núcleos en todos los días analizados. Es posible que esta diferencia se deba al tiempo en el que se realizó el análisis ya que en este estudio, la actividad neuronal se analizó al 8vo día de ingestión de chocolate y en el de Mendoza y Cols., se realizó después de 3 semanas de ingesta diaria de chocolate.

El objetivo de analizar las estructuras que no están directamente relacionadas con el sistema de recompensa fue analizar la actividad que no fuera de tipo motivacional y que en cambio nos diera datos de la respuesta al chocolate a nivel metabólico y sensorial con la hipótesis de que estas estructuras, el Núcleo Arqueado (metabólico) y la Corteza Piriforme (olfatoria), reflejarían una actividad neuronal dependiente del procesamiento del estímulo per se y no una activación guiada por el placer y por la expectación que produce el alimento apetitoso.

El núcleo arqueado es un núcleo que es sensible a la información metabólica. Se ha observado que este núcleo tiene expresión de c-Fos cuando se da un bolo de glucosa tanto intraperitoneal como intracarotidal (Carrasco, Portillo, Larsen, Vallo, 2001; Guillod-Maximin, Lorsignol, Alquier, Pénicaud, 2004), esto

refleja la activación como una respuesta metabólica ya que la glucosa es inyectada sin pasar por el tracto digestivo y sin el componente placentero del sabor dulce. En este estudio, las ratas ingirieron el chocolate de forma oral y también se observó un incremento de c-Fos en el núcleo arqueado hipotalámico. Lo cual nos dice que el alimento apetitoso además de activar núcleos relacionados con el sistema de recompensa, también fue procesado por núcleos que regulan la información energética.

La corteza piriforme se activó cuando los animales recibieron y consumieron el chocolate, esto coincide con otros estudios en donde la corteza piriforme muestra inmunoreactividad para c-Fos cuando las ratas asocian un olor con un estímulo natural reforzante (Datiche, Rouillet, Cattarelli, 2001). En nuestro grupo de ingesta, la corteza piriforme está actuando como un área sensorial y responde ante el estímulo olfatorio del alimento apetitoso.

En el núcleo supraquiasmático no se observó una diferencia entre la activación del grupo control y el grupo que ingirió chocolate. En otros estudios se ha estudiado la actividad del núcleo supraquiasmático de ratas Wistar después de 3 semanas de entregar diariamente un pedazo de chocolate a la misma hora (Ángeles-Castellanos, Mendoza, Escobar, 2007). En ese estudio se observó la actividad del gen reloj Per1 para ver si la actividad rítmica diaria cambiaba con la ingesta del chocolate y se observó que el chocolate sincronizaba el ritmo diario de Per1 en forma similar a como lo hace el ciclo luz-oscuridad. Los datos de este estudio coinciden con otro en donde estudiaron el gen reloj Per2 y el gen de expresión temprana c-Fos. En ese estudio, a dos grupos de ratas wistar se les permitieron dos horas de acceso a un suplemento alimenticio apetitoso sabor chocolate, un grupo estuvo restringido a las dos horas de acceso al suplemento alimenticio apetitoso, el otro grupo tuvo dos horas de acceso al suplemento apetitoso y además tuvo alimento Chow ad libitum durante las 24 horas del día. La expresión de las proteínas Per2 y c-Fos no cambiaron en el núcleo supraquiasmático después de 10 días de seguir este protocolo, pero si se modificaron en otras estructuras hipotalámicas (Verwey, Khoja, Stewart, Amir,

2007). Esto nos indica que el núcleo supraquiasmático no cambia su actividad por variaciones de tipo metabólicas o motivacionales, otros autores han discutido que éste núcleo se guía y sincroniza principalmente por señales fóticas (Mendoza, Ángeles-Castellanos, Escobar, 2005; Verwey, Khoja, Stewart, Amir, 2007)

Resultados de c-Fos del grupo de expectación por el chocolate

Los resultados del grupo expectante al chocolate, indican que las estructuras del sistema de recompensa son importantes en la adquisición de la anticipación, ya que se observó un incremento de la activación dependiendo de la cantidad de días que las ratas comieron el chocolate.

En la corteza prefrontal de las ratas del grupo expectante, se observó que al tercer día en el cual no consumieron chocolate y después de que previamente ingirieran por 2 días consecutivos el chocolate

Después de consumir 2 días el alimento apetitoso, las ratas del grupo expectante, en el día 3, cuando no consumieron el chocolate, muestran una activación de la corteza prefrontal así como del núcleo accumbens shell y core, parecida a la actividad de los animales que consumieron el chocolate. Aunque esta semejanza no es estadísticamente significativa hasta el día 3, se observa una rápida tendencia a formar una anticipación al chocolate, lo cual puede estar reflejando la potencia del chocolate como estímulo motivador y como activador de áreas corticolímbicas.

Con relación a nuestros resultados, Mendoza (2005) mostró que después de 3 semanas de entregar diariamente un trozo de chocolate a un grupo de ratas Wistar, estas se anticipaban a la hora de entrega del chocolate. Cuando el experimento terminó, se dejó a las ratas durante 4 días y se observó actividad relacionada con la hora de entrega del chocolate. En ese estudio se observó la activación neuronal del núcleo accumbens en sus subdivisiones shell y core y la corteza prefrontal. Después de 4 días sin ingerir el chocolate y sin la visita de los

investigadores, las ratas mostraron actividad locomotora anticipatoria y expresión de la proteína c-Fos parecida a aquella de las ratas que se sacrificaron a las 3 semanas inmediatamente después de ingerir el chocolate. Esos resultados se asemejan a los resultados de este estudio, aunque en este, uno de los objetivos fue estudiar el desarrollo de la anticipación a nivel neuronal, por lo que los sacrificios se realizaron en distintos días de experimentación con un solo día de expectación, en cambio, Mendoza (2005) estudió una sincronización bien establecida tras 3 semanas de entrega diaria del chocolate y el análisis neuronal para ver la persistencia de la anticipación fue tras 4 días de la última entrega del chocolate.

Se esperaba que en las estructuras hipotalámicas y la corteza piriforme del grupo expectante no hubiera modificaciones dependiendo de los días de exposición al chocolate, es decir, que la actividad neuronal fuera igual a la del control dado que lo que se esperaba era que estas estructuras sólo reaccionaran ante el estímulo y que en los días que no tuvieron el estímulo, no habría activación ya que la información del estímulo provocaría sólo una reacción.

Contrariamente a lo esperado, el núcleo arqueado tuvo un cambio parecido a la corteza prefrontal y el núcleo accumbens, se observa en la gráfica en la parte inferior de la figura 9 que la expresión de c-Fos fue incrementando dependiendo de la cantidad de días en que los animales comieron chocolate. Este incremento progresivo fue lento en comparación con las estructuras del sistema de recompensa. Mendoza (2005) afirma que las estructuras hipotalámicas no expresan cambios dependientes del consumo del chocolate, sin embargo, en su estudio no se estudió el núcleo arqueado. Estudios recientes sugieren una relación directa entre células del núcleo arqueado y el núcleo accumbens y sugieren que el núcleo arqueado podría estar mediando para la respuesta placentera a estímulos gustativos apetitosos así como la formación de motivaciones (Ren y cols, 2009). Es posible entonces que el núcleo arqueado no tenga únicamente un papel de receptor metabólico, si no que participe en la formación de adicciones a alimentos apetitosos. Nuestros resultados están acorde con esta alternativa, pero se

necesita de mayor profundidad en el estudio de la participación de éste núcleo en la evaluación de las recompensas o en su comunicación con las estructuras del sistema de recompensa.

La corteza piriforme no se activó en las ratas del grupo expectante, estas ratas posiblemente no estaban totalmente alertas y todavía no esperaban la llegada del chocolate, esto podría explicar la baja o actividad neuronal de esta estructura. La prueba estadística *post hoc* demostró que en el octavo día, cuando las ratas de este grupo no recibieron la dosis diaria de chocolate, la actividad fue significativamente mayor que la del grupo control. Esto se podría explicar debido a que las ratas, en este punto del experimento ya estaban alertas y esperando la llegada del chocolate, lo cual producía conductas de forrajeo y el olfateo general de su hábitat en busca de la recompensa pudo haber activado esta corteza olfatoria.

El núcleo supraquiasmático fue el único núcleo que estudiamos que no modificó su actividad. Se sabe que este núcleo se guía principalmente por el ciclo luz oscuridad y que la expresión de Fos cuando las ratas ingirieron el chocolate ni cuando las ratas esperaban el chocolate, esto coincide con los resultados de otros estudios en donde se observa que bajo un estímulo crónico, el NSQ no modifica su actividad (Angeles-Castellanos, Mendoza, Escobar, 2004). Esto puede ser debido a que éste núcleo se dirige principalmente por señales fóticas, como se mencionó para el grupo de ingesta de chocolate.

Implicación con la formación de adicciones

Las ratas que ingieren o esperan chocolate después de 3 días de haberlo consumido, muestran conductas de búsqueda del chocolate previas a la hora de entrega de este alimento apetitoso, esto podría semejar a las conductas que expresan las personas autodenominadas adictas al chocolate cuando quieren consumirlo ya que estas también reportan ansiedad e incapacidad para resistirse a su consumo (Hetherington, Macdiarmid, 1993). Para poder comparar estos

reportes subjetivos, es necesario utilizar métodos para poder registrar las conductas específicas de las ratas que reflejen ansiedad e impulsividad provocada por el deseo de ingerir el chocolate.

La modificación de la actividad neuronal provocada por la ingestión de alimentos apetitosos ya ha sido reportada por otros estudios (Kelley, Will, Steininger, Zhang, Haber, 2003; Ángeles-Castellanos, Salgado-Delgado, Rodríguez, Buijs, Escobar, 2007). Esta plasticidad también se presenta cuando los sujetos experimentales ingieren drogas de abuso, por ejemplo, la expresión de los genes de respuesta inmediata es diferente cuando se han consumido anfetaminas crónicamente (Rhental y cols. 2008).

Los resultados de este estudio indican que la adquisición de la anticipación a un alimento apetitoso tal como el chocolate se da principalmente por las estructuras relacionadas con el sistema de recompensa. La corteza prefrontal es una estructura clave ya que fue esta la que tuvo mayor activación desde el segundo día en que las ratas esperaban el chocolate. Otros autores han destacado la importancia de la corteza prefrontal para generar anticipación o expectación ante la exposición de un estímulo motivacional (Bassareo, 2002).

Se han estudiado los efectos del condicionamiento de una recompensa natural como estímulo condicionado y la administración intraperitoneal de morfina, un agonista dopaminérgico. La liberación de dopamina en el núcleo accumbens se presenta cuando se ingiere una solución dulce, pero en menor medida que cuando se administra la morfina. Cuando se presenta el estímulo condicionado en la primera prueba después del primer apareamiento de los estímulos, los investigadores encuentran que la liberación de dopamina cambió con una sola ocasión en que se asociaron los estímulos (Grigson y Hajnal, 2007).

El estudio que se mencionó anteriormente, resalta la potencia con la que una droga de abuso puede modificar el funcionamiento del cerebro. Los resultados de nuestro estudio indican que un estímulo apetitoso, como el caso de la ingestión de chocolate produce cambios progresivos que son observables después de

varias exposiciones al estímulo. Nuestros resultados indican que los estímulos apetitosos son un estímulo potente que puede cambiar la actividad neuronal, y que estos cambios pueden ser el fundamento funcional en el cerebro para iniciar una adicción.

CONCLUSIONES

En este estudio se encontró anticipación conductual a la entrega de 5 gr. de chocolate que no fue detectable con el sistema de registro que se utilizó, el cual forma actogramas. Los actogramas registran actividad locomotora y la anticipación conductual que se observó en las ratas fueron conductas finas como el levantamiento en dos patas, el forrajeo, olfateo desde su reja en el lugar habitual etc.

En el grupo de conducta, al cual se le entregó el chocolate durante tres semanas, se encontró anticipación y persistencia de la actividad locomotora sólo en 50% de los animales, por lo que planteamos que esta búsqueda posiblemente sea dada por la motivación que tienen los animales y la propensidad de adquirir una adicción, la cual puede estar dada por la fisiología del organismo y en especial del sistema nervioso y su sistema de recompensa.

El núcleo accumbens, la corteza prefrontal y el núcleo arqueado se activan siempre con igual intensidad cuando se consume el chocolate independientemente de los días transcurridos de entrega del chocolate. Este alimento apetitoso produce una respuesta y esta no cambia con paso de los días. La corteza piriforme, una corteza sensorial tiende a disminuir su actividad conforme pasan los días de ingesta. El núcleo supraquiasmático no modifica su actividad.

Las estructuras del cerebro, tienen una respuesta diferencial dependiendo de su funcionalidad. En la corteza prefrontal, el núcleo accumbens y en el núcleo

arqueado, la ingesta del chocolate sí produce una respuesta que no cambia dependiendo de los días en que las ratas ingirieron chocolate.

La expectación al chocolate produce una activación neuronal parecida a aquella provocada por la ingesta del chocolate, para llegar a esta activación, más o menos al octavo día, se observan días de transición, los cuales son del día dos al día 5 u 8 en los cuales la actividad se incrementa con dependiendo de los días que los animales consumieron el alimento apetitoso.

BIBLIOGRAFÍA:

<http://www.ilovekinder.com/html/cast/maxichoco.html>

Adam T.C., Epel E.S. (2007) Stress, eating and the reward system. *Physiology & Behavior* 91 449–458.

Ángeles Castellanos M., Mendoza J., Escobar C. (2007) Restricted feeding schedules phase shift daily rhythms of c-Fos and protein Per1 immunoreactivity in corticolimbic regions in rats. *Neuroscience*. 144, 344-355

Ángeles Castellanos M., Salgado-Delgado R., Rodríguez K., Buijs RM, Escobar C. (2008). Expectancy for food or expectancy for chocolate reveals timing systems for metabolism and reward. *Neuroscience*. Jul 31; 155(1):297-307.

Aparicio C.F. (2007) Capítulo 7: Dopamina y conducta operante En Juárez González J (editor). (2007) *Neurobiología del hedonismo*. Manual moderno. pp. 111-137.

Avena N.M., Rada P., Hoebel B.G. (2009). Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. *The Journal of Nutrition*. 139, 3, 623-628.

Barbano M.F., Cador M. (2007). Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology*. 191:497–506

Bassareo V., De Luca M.A., Di Chiara G. (2002). Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*. June 1, 22(11):4709–4719

Berridge K.C., Robinson T.E., (2003) Parsing reward. *TRENDS in Neurosciences* Vol.26 No.9

Berthoud H.R., Morrison C. (2008). The brain, appetite and obesity. *Annu. Rev. Psychol.* 59:55–92

Carrasco M., Portillo F., Larsen P.J., Vallo J.J. (2001). Insulin and Glucose Administration Stimulates Fos Expression in Neurones of the Paraventricular Nucleus That Project to Autonomic Preganglionic Structures. *Journal of Neuroendocrinology*, Vol. 13, 339-346

Corwin R.L. Wojnicki F.H.E. (2006). Binge eating in rats with limited access to vegetable shortening. *Current protocols in neuroscience*. 9.23B.1-9.23B.11

Datiche F., Rouillet F., Cattarelli M. (2001). Expression of Fos in the piriform cortex after acquisition of olfactory learning: An immunohistochemical study in the rat. *Brain Research Bulletin*. Vol. 55, No. 1, pp. 95–99

Fulton S. (2009) Appetite and reward. *Frontiers in Neuroendocrinology*. doi:10.1016/j.yfrne.2009.10.003

Gibson EL. (2006) Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways. *Physiology & Behavior*, 89, 53-61.

Giordano M. Capítulo 1: El estriado dorsal y ventral: la interfase entre cognición, motivación y acción. En Juárez González J (editor). (2007) *Neurobiología del hedonismo*. Manual moderno. pp. 1-20.

Gosnell B.A., KRahn D.D., Yracheta J.M., Harasha B.J. (1997). The relationship between intravenous cocaine self-administration and avidity for saccharin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, Vol. 60, No. 1, pp. 229–236

Grigson P.S. (2002) Like durgs for chocolate: Separate rewards modulated by common mechanisms? *Physiology & Behavior* 76, 389– 395

Grigson P.S, Hajnal A. (2007) Once Is Too Much: Conditioned Changes in Accumbens Dopamine Following a Single Saccharin–Morphine Pairing. *Behavioral Neuroscience*. Vol. 121, No. 6, 1234–1242

Guesdon B., Paradis E., Samaon P. Richard D. (2009) Effects of intracerebrovascular and intra-accumbens melanin-concentratin hormone agonism

on food intake and energy expenditure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296: 469–475.

Guillod-Maximin E., Lorsignol A., Alquier T., Pénicaud L. (2004). Acute Intracarotid Glucose Injection Towards the Brain Induces Specific c-fos Activation in Hypothalamic Nuclei: Involvement of Astrocytes in Cerebral Glucose-Sensing in Rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 2004, Vol. 16, 464–471

Hetherington M., Macdiarmid J. (1993). “Chocolate addiction”: a preliminary study of its description and its relationship to problem eating. *Appetite*, 233-246.

Hyman S.E., Malenka R.C., Nestler E.J. (2006) Neural Mechanisms of Addiction: The Role of Reward-Related Learning and Memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 29:565–98

Kalivas P.W., Nakamura M. (1999) Neural systems for behavioral activation and reward. *Current opinion in Neurobiology.* 9:223-227

Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M. (2000) Principles of Neural Science, Fourth Edition. Mc. Graw Hill pp. 974, 975.

Kelley A.E., Baldo B.A., Pratt W.E., Will M. J. (2005). Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. *Physiology & Behavior.* 86 773 – 795.

Kelley A.E., Will M.J., Steininger T.L. Zhang M., Haber S.N. (2003) Restricted daily consumption of a highly palatable food (chocolate Ensure) alters striatal enkephaline gene expression. *European Journal of Neuroscience* Vol. 18, pp 2592-2598.

Koob G.F. Volkow N.D. (2009). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology Reviews.* doi:10.1038/npp.2009.110

Magni P, Dozio E., Ruscica M., Celotti F, Masini M.A. Prato P., MambroA, More M., Strollo F. (2009). Feeding behavior in mammals including humans.

Trends in comparative endocrinology and neurobiology: Ann. N.Y. Acad Sci. 1163: 221-232.

Morton G.J., Cummings D.E., Baskin D.G., Barsh G.S., Schwa W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. Vol. 443-21 september. doi:10.1038/nature05026

Nestler E.J., Aghajanian G.K., Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 278, 58

Ojeda J.L., Icardo J.M. (2005) Neuroanatomía humana. Aspectos funcionales y clínicos. Ed. Masson. 253-267.

Paxinos G., Watson C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Fourth edition. Academic Press.

Pelchat ML. (2002). Of human bondage: Food craving, obsession, compulsion, and addiction. *Physiology & Behavior* 76 347– 352.

Pelchat ML., Jhonson A., Chan R., Valdez J., Ragland D. (2004) Images of desire: food-craving activation during fMRI. *NeuroImage* 23 1486– 1493

Pichot P. (1995) DSM-IV Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Editorial Masson.

Purves W., Sadava D., Orians G.H., Heller C. (2003). *Life: The Science of Biology*, 7th Edition. Ed. Sinauer Associates and W. H. Freeman

Ren X., Zhou L., Terwilliger R., Newton S., de Araujo I. (2009). Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor. *Frontiers in integrative neuroscience*. doi: 10.3389/neuro.07.012.2009

Renthal W., Carle T. L., Maze I., Covington H. E., Truong H., Alibhai I., Kumar A., Montgomery R., Olson E., Nestler E. J. (2008). Δ FosB mediates epigenetic desensitization of the *c-fos* gene after chronic amphetamine exposure.

Sahr A.E., Sindelar D.K, Alexander-Chacko J.T, Eastwood B.J., Mitch C.H, Statnick M.A. (2008) Activation of mesolimbic dopamine neurons during novel and daily limited access to palatable food is blocked by the opioid antagonist LY255582. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R463–R471

Salgado-Delgado R., Ángeles Castellanos M., Buijs MR., Escobar C. (2008) Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. *Neuroscience*. Jun 26; 154 (3): 922-31.

Schroeder B.E., Blinzak J.M., Kelley A.E. (2001) A common profile of prefrontal cortical activation following exposure to nicotine- or chocolate-associated contextual cues. *Neuroscience* Vol. 105, No. 3, pp. 535-545

Solinas M., Goldberg SR., Piomelli D. (2008). The endocannabinoid system in brain reward processes. *British Journal of Pharmacology*. 154, 369–383

Stice E., Spoor S., Ng J., Zald D. H., (2009). Relation of obesity to consummatory and anticipatory food reward. *Physiology & Behavior* 97 551–560

Van den Bos R., de Ridder D. (2006) Evolved to satisfy our immediate needs: Self-control and the rewarding properties of food. *Appetite* 47. 24–29

Verwey M., Khoja Z., Stewart J., Amir S. (2007). Differential regulation of the expression of period2 protein in the limbic forebrain and dorsomedial hypothalamus by daily limited access to highly palatable food in food-deprived and free-fed rats. *Neuroscience* 147 277–285

Westerterp-Plantenga M., *Et al.* (1994). Food intake and energy expenditure. Open University of Netherlands.