



UNAM IZTACALA

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**La activación de los receptores a cannabinoides CB1
del núcleo accumbens estimula el consumo de una
dieta palatable en ratas saciadas**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A
Felipe Cortés Salazar

Director: Dr. **Rodrigo Erick Escartín Pérez**

Dictaminadores: Dr. **Juan Manuel Mancilla Díaz**

Dra. **Verónica Elsa López Alonso**



Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2012



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutor y amigo el Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez el cual con esmero y paciencia me ha apoyado en mi desarrollo como estudiante y como persona. Me ha guiado en la investigación y ha sabido darme los consejos necesarios para mi evolución. Es para mí un ejemplo, un apoyo y una persona a la cual estimo mucho.

Asimismo al Dr. Benjamín Floran Garduño al cual agradezco por haberme recibido en su laboratorio para trabajar y aprender, una persona a la cual admiro y respeto.

Al Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz, jefe del proyecto por el apoyo recibido durante el proceso de titulación.

A la Dra. Verónica Elsa López Alonso por su ayuda en la elaboración de mi tesis.

A mis amigos del CINVESTAV a Sergio Recillas Morales por sus buenos consejos y excelente compañía; Ana María Cruz Martínez por su guía y enseñanzas; René Caballero Florán por su ayuda y buena amistad; José Arturo Ávalos Fuentes por su compañía y ayuda; Jacqueline Ivette Acosta García por su compañía y buenas charlas; Francisco Javier Paz por su apoyo en mi estancia en el laboratorio 4.

A mis amigos de la UNAM, Gabriela García, Matilde Gutiérrez, Karina Rivas, Mónica Lizcano, y Lucero Sandoval por su compañía y apoyo en todo momento. A mis amigos del PIN Rosa Zuvirie, Daniel Díaz, Alma y Juan Carlos por su asesoría y compañía.

DEDICATORIAS

*El hombre encuentra a Dios
detrás de cada puerta que la
ciencia logra abrir.*

Albert Einstein

*Ciencia es el arte de crear
Ilusiones convenientes, que el
necio acepta o disputa, pero de
cuyo ingenio goza el estudioso,
sin cegarse ante el hecho de que
tales ilusiones son otros tantos
velos para ocultar las profundas
tinieblas de lo insondeable.*

Carl Gustav Jung

Le dedico esta tesis a mi mamá que me ha apoyado incondicionalmente me ha enseñado el valor del trabajo y me ha inspirado en los momentos más difíciles, a mi papá que me inculcó el amor por el estudio y la pasión por hacer las cosas, a mi hermana que me ha dado fuerza y apoyo cuando lo he necesitado.

A mis tíos y primos que me han ayudado cuando se los he pedido, acompañándome en mi crecimiento profesional y personal.

A los buenos profesores que me he encontrado desde la secundaria hasta la licenciatura.

A mis amigos, Guillermo Soto; Raúl Soto; Arturo Soto; Yuridia Alcala; Ricardo Ramírez; Erick Escartín; Erick Mercado; Israel Rojas; Omar Azcarraga; Jorge Carrillo; Lucero Sandoval; Gabriela García; Matilde Gutiérrez; Martha López; Patricia Salinas; Cynthia Zavala; Abel; Carlos Durán.

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Marco Teórico.....	6
2.1 Conducta Alimentaria	6
2.2 Núcleo Accumbens.....	9
2.3 Cannabinoides y el sistema endocanabinoide.....	13
2.3.1 Historia.....	13
2.3.2 Receptores a cannabinoides.....	18
2.3.2.1 Localización.....	18
2.3.2.2 Vías de Señalización.....	21
2.3.2.3 Síntesis y Metabolismo.....	21
2.3.2.4 Farmacología.....	23
2.4 El sistema endocanabinoide en el NAcS en la conducta alimentaria	26
3. Planteamiento del Problema.....	28
3.1 Objetivo.....	29
3.2 Hipótesis.....	30
4. Método.....	31
4.1 Sujetos.....	31
4.2 Dietas.....	31
4.3 Fármacos.....	31
4.4 Cirugía.....	32
4.5 Programa de alimentación restringida.....	32
4.6 Diseño y procedimiento.....	33
4.7 Análisis estadístico.....	36
5. Resultados.....	37

5.1 Efectos de la activación de los receptores CB1 en el NAcS sobre la ingesta de alimento.....	37
5.2 Habitación al programa de alimentación restringida y consumo de alimento palatable.....	38
5.3 Efectos de la activación de los receptores CB1 del NAcS sobre la ingesta de la dieta palatable.....	39
5.4 El efecto estimulador de la activación de los receptores CB1 en NAcS sobre la ingesta de alimento palatable fue prevenido por el pretratamiento con AM 251.....	40
6. Discusión.....	42
7. Conclusiones.....	45
8. Perspectivas.....	46
9. Referencias.....	47

RESUMEN

La obesidad es una patología frecuentemente asociada a la génesis de enfermedades como la hipertensión, la diabetes, problemas cardiacos, etc. Las investigaciones de corte farmacológico y conductual se han orientado a comprender los distintos factores que favorecen la aparición y/o el mantenimiento de la obesidad. Uno de estos factores está constituido por las propiedades hedónicas de los alimentos, lo que a su vez ha sido vinculado con el sistema de los cannabinoides. El presente trabajo tuvo el propósito de estudiar sistemáticamente la participación que tiene el sistema endocanabinoide en el *shell* del núcleo *accumbens* (NAcS), región asociada con la regulación de las propiedades reforzantes de los estímulos. Se utilizó un modelo animal en el que se evaluó el efecto de la activación de los receptores CB1 del NAcS sobre el componente hedónico de la alimentación, usando una dieta palatable en animales pre-saciados. De acuerdo con los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión de que el efecto estimulador de los cannabinoides está asociado a un incremento de las propiedades sensoriales (hedónicamente positivas) del alimento que es mediado por receptores CB1 localizados en la región *shell* del núcleo *accumbens*.

INTRODUCCIÓN

Muy recientemente, la humanidad ha logrado responder a varias preguntas planteadas desde hace muchos años. En algunos casos tuvieron que pasar siglos para encontrar dichas respuestas y, cuando las halló, no siempre le gustó la respuesta o le costó mucho incorporarla al sistema de ideas con las que se contaba. La intención del hombre de entender su entorno se basó primero en tratar de conocer su origen y de qué estaba hecho. Los griegos fueron de los primeros en tratar de responder a éstas preguntas: ¿De qué está hecho el hombre?, ellos creían en la conjunción de los elementos para crear todo lo que se podía ver. Fue Aristóteles quien pensó que antes de dar respuestas establecidas en los supuestos dialécticos era mejor crear un método empírico, además del dialéctico, que ya habían hecho Platón y Sócrates (García, 2008). Aquí comenzó una carrera por la generación de nuevas formas de conocimiento, mismo que ha acompañado a la humanidad para el entendimiento de su entorno y el de sí mismo. Hasta que Hooke realizó observaciones en su microscopio, logró los primeros acercamientos hacia el primer modelo de la célula, elemento primordial para la vida. Pero aun cuando algunas respuestas se contestaron, surgieron otras que no estaban previstas originalmente. Fue Descartes quien dijo que el alma estaba en el cuerpo, específicamente en la amígdala, esto pudo ser la semilla que posteriormente se desarrolló como una disciplina científica, la medicina moderna. De la misma forma, el entendimiento de la “mente”, fue posteriormente abordado desde la perspectiva de la Psicología y de la Biología, disciplinas que en algún punto de la historia moderna se fusionaron (De la Fuente, 2000). Así, la humanidad se encontró con un universo en el entendimiento del cerebro y su relación con todas las reacciones del cuerpo.

Por otra parte, las contribuciones de Camilo Golgi en el campo de la histología permitieron que Santiago Ramón y Cajal desarrollara y propusiera la teoría neuronal, considerando las ramificaciones de la neurona sin contactos físicos entre ellas (Kandel, Schwartz y Jessell, 2006). La comunicación que se da entre neurona y neurona juega un papel fundamental en el funcionamiento del cerebro,

es aquí donde toman su papel los neurotransmisores para dar lugar a la comunicación entre las unidades funcionales del cerebro, teniendo profundas implicaciones en el comportamiento y función del individuo, desde la misma estructura del receptor y la señalización con todas las neuronas con las que se comunica. Estas estructuras orgánicas y neuroquímicas son muy diversas y seguramente hay todavía más que no conocemos. Entre las que sí se conocen se encuentran los endocannabinoides, compuestos derivados de lípidos de membrana, que tienen funciones diversas y están implicados en procesos tales como es en la atención, la flexibilidad conductual, en la toma de decisiones, en el tiempo que se tarda para dar una respuesta, en la memoria de trabajo y en la alimentación (Pattiji, Wiskerke y Scoffemeer, 2008; Tallet, Blundell y Rodgers, 2010).

En el presente trabajo es de particular interés el estudio de la alimentación, especialmente en algunos aspectos farmacológicos y conductuales. Esta idea surge de la evidencia de que la actividad de los endocannabinoides juega un papel fundamental en la regulación de la conducta alimentaria. Es hasta este punto donde toca a nuestra generación responder a preguntas tales como: ¿Cuál o cuáles son los procesos neuroquímicos que permiten el control de la alimentación? ¿Qué sucede en el cerebro cuando comemos? ¿Qué pasa en nuestro organismo para que nos de hambre o para que esta sensación desaparezca? ¿Están involucrados los cannabinoides en la alimentación? ¿Cómo afectan a la conducta alimentaria los cannabinoides? No se podrá dar respuestas a todas las preguntas, pero para intentar responder las últimas, hay que saber qué son los cannabinoides y la función que tienen en regulación de la alimentación.

La alimentación es un fenómeno que no tiene solamente un sentido fisiológico, pues también factores sociales, emocionales, biológicos, psicológicos, culturales y conductuales pueden modificar la manera en que se lleva a cabo. En cierta medida el alimento ha marcado a las sociedades, en sus hábitos, en sus dietas, en las porciones; dadas una identidad e incluso provocando polémica. Un ejemplo es la brecha que hay del canibalismo al vegetarianismo, los dos practicados en la

humanidad desde hace mucho tiempo, volviéndose tabú el primero y el segundo socialmente aceptado, que incluso puede llegar a ser un acto político. En nuestra sociedad mexicana, el sentido del alimento cada vez nos llama a plantear una respuesta a un problema de salud, ya que los hábitos y las porciones alimentarias que se tenían antes de la entrada de la comida rápida en los 1980s produjo un cambio drástico, las porciones además de ir en aumento, cada vez eran energéticamente más ricas (hipercalóricas), el tiempo de espera de un alimento era cada vez más corto, como consecuencia el acceso al alimento de buen sabor e hipercalórico se facilitó. Esto puede tener un antecedente, a la entrada de la producción en serie, se requirieron de estilos de vida rápidos, la tecnología avanzaba, los hallazgos científicos también y la comida no se quedó atrás. En este momento sería imposible imaginar en un día de trabajo, tener que esperar más de una hora en la preparación de la comida, o tener que ir hasta el hogar para poder comer con todos los integrantes de la familia. Ahora los establecimientos, sin importar que sean cadenas de comida rápida, tienen que procurar la rapidez y la eficiencia del servicio, lo que significa que hasta las fondas y los puestos pequeños deben ofrecer una cierta rapidez para dar el alimento y además este debe ser sabroso.

El alimento en sí ha sufrido cambios, ahora el alimento que se ingiere viene de distintos centros de producción química, de huertos artificiales, de empresas que se dedican a elaborar alimentos. Pero aunque no fuera así, los contenidos energéticos se han incrementado como las concentraciones de azúcar y sí ha esto se le añade que la actividad física ha disminuido, con un parque vehicular que no deja de crecer. La suma de estos factores y otros que no se han mencionado, han generado una epidemia, la obesidad. Esta enfermedad es hasta el momento uno de los retos para todos los profesionistas del área de la salud. Se ha atacado desde distintos flancos, se han creado y propuesto distintas estrategias para poder encarar y resolver el problema nacional que con respecto a la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2006 (Olaiz-Fernández, *et. al.* 2006), México ocupó el segundo lugar en la incidencia de obesidad en adultos y el primer lugar

en obesidad infantil. Este problema se ha elevado a nivel mundial con el paso de los años hasta alcanzar cifras impactantes. La enfermedad genera aumento en los costos de los servicios de salud y deterioro en la calidad de vida del paciente, además de que se asocia a la génesis de otras patologías como el síndrome metabólico, la diabetes *mellitus*, problemas cardiacos (Organización Mundial de la Salud, 2003). En la última década este problema ha generado polémica y preocupación por instituciones de salud nacionales e internacionales como es el caso de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), quién pronostica que en los próximos años México ocupará el primer lugar en la incidencia de Obesidad en adultos y de seguir así el problema, el costo que se generaría para el 2015 alcanzaría la cifra de 100 mil millones de pesos de los cuales 70 mil millones serían solamente para gastos médicos (Rodríguez, 2010).

Algunos estudios han contribuido con el descubrimiento de los factores asociados a la generación y mantenimiento de la obesidad; por ejemplo, se sabe que un componente importante en la patogénesis de la obesidad es la ingestión energética excesiva (la ingestión supera al gasto energético), misma que regularmente involucra alimento de sabor agradable (Perello, Chuang, Scott & Lutter, 2010). Interesantemente, los alimentos con alto contenido calórico con frecuencia también poseen mayor palatabilidad y valor incentivo (altos contenidos de grasas y/o carbohidratos). Así, es posible entender que la ingestión excesiva de alimento palatable y con alto contenido energético está relacionada con problemas de sobrepeso y obesidad. El alimento palatable (raíz, de un latín vulgar *palatare*, derivado del latín *palātum*, que da origen a la palabra paladear, paladeo, paladial, palatalizar, paladeable, denotando un placer al paladar (Corominas y Pascual, 1985; Real Academia Española, 2001) es aquel que tiene la característica de ser sensorialmente muy agradable, inclusive puede producir placer subjetivo. La corteza (*shell*) del núcleo *accumbens* (NAcS), se caracteriza por ser un componente clave del circuito de la recompensa donde se regula gran parte de los procesos que permiten al alimento adquirir sus propiedades hedónicas y valor incentivo particular, esto gracias a las interacciones entre distintos transmisores

que modulan la actividad de la dopamina (Gardner, 2005). Siendo los receptores a canabinoides CB1 (RCB1) protagonistas en dicha regulación dopaminérgica y fuertes moduladores en la alimentación (Fitzgerald, Shobin y Pickel, 2012).

El estudio del papel de los RCB1 en el NAcS en la regulación de los aspectos hedónicos de la alimentación contribuirá con el entendimiento del papel que tiene el sistema endocanabinoide en dichos procesos, lo que a su vez ayudaría a replantear los blancos terapéuticos para el tratamiento de la obesidad desde el punto de vista de la farmacología. A este respecto, el presente trabajo tiene como principal objetivo determinar si los receptores CB1 del *shell* del núcleo *accumbens* participan en la modulación de la ingesta de alimento y si dicha acción depende de mecanismos relacionados con cambios en las propiedades hedónicas de alimento.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Conducta Alimentaria

La alimentación es necesaria para sobrevivir y es uno de los grandes placeres de la vida, sólo basta observar de lo que son capaces los seres vivos por conseguir alimento. Además es una práctica social muy apreciada en muchas culturas, como la mexicana, que cuenta con una gran variedad de platillos, cuyos ingredientes van desde insectos, hasta puerco, res, víbora, armadillo, etc. Ahora se tiene consciencia de que existe toda una maquinaria fisiológica en el cerebro que regula el apetito y la saciedad.

Para entender lo que pasa en el cuerpo humano cuando nos alimentamos lo más sencillo sería preguntarle a cualquier persona ¿por qué comes?, seguramente la respuesta más común será “porque tengo hambre”, o “porque sabe rico”, ante estas respuestas se puede asegurar que a lo que se refieren es a que algo está pasando en el cuerpo, a un conjunto de factores fisiológicos que se entienden como hambre, señales que se pueden encender con distintos estímulos ambientales, como la hora asociada con el alimento, el aroma de algún platillo, la reunión con otras personas, o sólo con visualizar algún alimento. Pero hay factores que son más potentes que otros, como por ejemplo los horarios. En la mañana cuando nos levantamos es común que nos de hambre y empecemos a buscar alimento que, entre otras variables, se debe a que los humanos tenemos un ciclo circadiano vespertino, es decir realizamos la mayor actividad en el día y por lo tanto requerimos de energía para dicho gasto desde las primeras horas del día. Cuando el alimento está en el tubo digestivo y entra a la bóveda gástrica es cuando los nutrientes empiezan a absorberse, aumentan los niveles de glucosa plasmática, las células del cerebro detectan este aumento, lo que provoca una disminución de la actividad del sistema nervioso simpático y un aumento de la del sistema parasimpático. Estos cambios le indican al páncreas que deje de segregar glucagón y se segregue insulina, la que permite que todas las células del cuerpo tomen la glucosa como combustible; mientras que el exceso de glucosa se

convierte en glucógeno, el que a su vez repondrá las reservas de carbohidratos a corto plazo y si aún sigue quedando glucosa, esta se convertirá en grasa y será absorbida por los adipocitos. Una pequeña proporción de aminoácidos procedentes del tubo digestivo se utiliza como materia prima para construir proteínas y péptidos; el resto se convierte en grasas y se almacena en el tejido adiposo, hasta ese momento las grasas no se utilizan, sólo se almacenan en el tejido adiposo. Existen receptores localizados en distintas áreas de la cabeza: los ojos, la nariz, la lengua y la garganta. La información sobre el olor, el gusto, la textura y la temperatura de los alimentos ejerce un cierto efecto automático en la ingesta de comida, pero la mayoría está relacionada con la memoria (Carlson, 2007).

Ante estos aspectos de memoria relacionados con el alimento, Fulton (2010), menciona que el ingerir alimento puede también ser placentero y el placer está asociado con un complejo de emociones como es la felicidad, el goce y la satisfacción. Comenta también que el alimento provoca una conducta de búsqueda, que tiene tres características principales: 1) Los objetos o acciones que priorizan la conducta, la promueven para que continúe; 2) incrementa las conductas aprendidas para procurar el consumo (reforzamiento positivo) y 3) favorece la ocurrencia de conductas futuras relacionadas a la adquisición del alimento. Estas características de búsqueda también se pueden dar por el valor asociado al alimento que son la textura, el sabor, el olor y las consecuencias post-ingesta (digestión, aporte calórico, estado general del organismo). Estos aspectos conductuales en conjunto con los metabólicos y constitutivos del alimento son guardados en la memoria para guiar a futuras búsquedas del alimento.

Con respecto a lo anterior, los alimentos altos en grasas y/o carbohidratos considerados hipercalóricos tienen un fuerte impacto en la conducta de búsqueda, ya que por sus características de contenido calórico generalmente resultan de sabor agradable y al tener un aporte mayor la sensación de saciedad es más rápida, esto conlleva a que el alimento se busque con mayor frecuencia por los

comensales, tanto humanos como no humanos; lo que ha acarreado que las dietas con alto nivel calórico produzcan ganancia en el peso corporal (una de las patologías asociada con estas prácticas es la obesidad). El cerebro se ha relacionado con estos componentes gratificantes del alimento, desde la segunda mitad del siglo pasado (en Marzo de 1954), cuando se publicó en Montreal que se había encontrado el centro del placer en el cerebro, con los trabajos de Olds y Miller, esto con experimentos en ratas a las cuales se les puso en un programa de auto-reforzamiento, en el cual los sujetos se auto-administraban estímulos eléctricos en distintas áreas del cerebro incluida la corteza orbitofrontal, el núcleo accumbens, el hipotálamo lateral, el área tegmental ventral y otras estructuras del cerebro medio. Estudios conjuntos de electrofisiología e inmunohistoquímica confirmaron el mapeo de las estructuras involucradas y se halló que en éstas existen múltiples regiones donde la motivación por el alimento se regula. Dentro de las conexiones que se formaban en el sistema de la recompensa se propuso una división anatómica y funcional en el circuito de la recompensa y se encontró que los núcleos involucrados tenían funciones distintas. La evidencia en ratas apuntaba a que las neuronas involucradas en éste sistema se encontraban en sub-poblaciones con funciones diferentes. Ahora se sabe que las neuronas dopaminérgicas de la vía mesocortical proyectan del área tegmental ventral a sitios límbicos y corticales incluidos el núcleo accumbens, la amígdala, el pálido ventral, el estriado dorsal, el hipocampo y la corteza prefrontal. Uno de los hallazgos más importantes en el estudio de las propiedades reforzantes de los estímulos consiste en que el incremento de la concentración extracelular de dopamina correlaciona con experiencias sensoriales de placer. Este mecanismo ha sido caracterizado y se sabe que se activa con el consumo de drogas de abuso (experimentos de administración de anfetaminas y cocaína), con la conducta sexual y con el consumo de alimento (Fulton, 2010).

2.2 Núcleo *accumbens*

Este núcleo es parte del sistema límbico, que está formado por distintas estructuras y porciones del cerebro anterior que se asocian anatómicamente entre ellas y con el hipotálamo. De las estructuras más importantes que conforman al sistema límbico se encuentra la amígdala, el hipocampo, los ganglios basales (Kandel, Schwartz y Jessell 2006). El sistema límbico contiene al núcleo estriado, región que recibe proyecciones de todos los lóbulos de la corteza; el estriado consiste en el núcleo caudado, el putamen y el estriado ventral, que contiene al núcleo *accumbens* (El Khoury, Giorgeovski, Moutsimilli, Giros y Tzavara 2012). Estos núcleos tienen proyecciones a estructuras de los ganglios basales y regresan a la corteza para formar los llamados “*loops*”. Las diferentes áreas corticales proyectan a distintas áreas del estriado. Las regiones corticales proyectan hacia las proximidades del cuerpo estriado, donde se procesa la información. A partir de las entradas corticales predominantes en determinadas regiones del cuerpo estriado es posible dividir a los sistemas corticoestriales en tres tipos: límbico (relacionado con el placer y la motivación), asociativo y el sensoriomotor (relacionado con las funciones motoras). El *loop* motivacional está relacionado anatómicamente con el estriado ventral y con regiones límbicas (núcleo *accumbens* y las porciones anteriores y ventrales del caudado y el putamen). El *loop* motivacional recibe proyecciones desde las regiones frontales mediales y ventrales que corresponden a la corteza orbitofrontal y al cíngulo anterior, también del hipocampo y de la amígdala. Las proyecciones al estriado de las regiones dopaminérgicas del mesencéfalo como el área tegmental ventral y la sustancia *nigra pars reticulata* son más abundantes en el estriado ventral (Seger, 2009).

Estudios anatómicos e histoquímicos han establecido que el mayor componente del estriado ventral, el núcleo *accumbens* está compuesto por dos subdivisiones el núcleo (*core*) y la corteza (*shell*), que presentan distintas características en sus conexiones (ver Figura 1). El *core* recibe más proyecciones del hipocampo y la

amígdala e inerva preferentemente al área tegmental ventral y a la sustancia *nigra pars compacta*, además del pálido ventral (van Dongen, Kolomiets, Groenewegen, Thierry y Deniau, 2009). El *shell* recibe aferencias del área tegmental ventral, de la corteza prefrontal, del hipocampo, de la amígdala basolateral y de la región ventral del pálido medio lateral (Wolf, Moyer y Finkel, 2009).

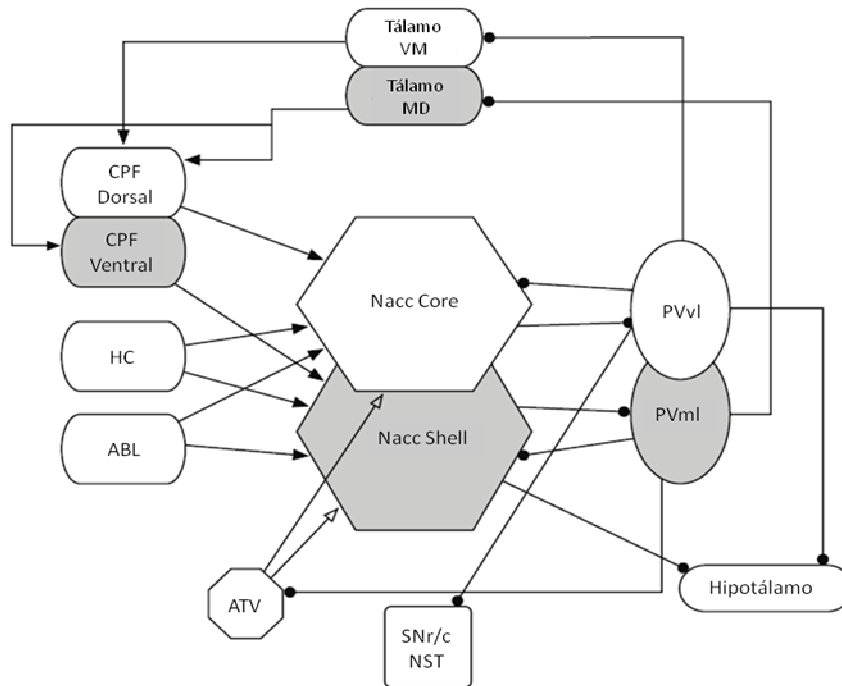


Figura 1. Se muestran las proyecciones e inervaciones del *core* y *shell* del núcleo accumbens. En blanco las regiones dorsales correspondientes al *loop* cortico-estriatal-tálamocortical por la cual se comunica el *core*. Mientras que el *shell* con el color gris en una vía más ventral y con flechas abiertas las proyecciones glutamatergicas y con círculos cerrados las GABAérgicas. Abreviaturas: CPF, corteza prefrontal; HC, hipocampo; ABL, amígdala basolateral; ATV, área tegmental ventral; SNr/c, sustancia nigra pars reticulata/compacta; PV, pálido ventral; vl, ventro-medial; ml, medio-lateral; vm, ventro-medial y md, medio-dorsal.

Se sabe que el sistema nervioso integra distintas señales metabólicas que llegan desde la periferia y a menudo generan respuestas conductuales adaptativas a la demanda del cambio energético. La información acerca del estado metabólico del organismo es preferentemente decodificado en el hipotálamo y algunos sitios del

romboencéfalo, los aspectos relacionados con ámbitos cognitivos y emocionales son procesados en el sistema límbico y cortical que a su vez regulan el balance de acciones hacia objetos y conductas. Estos circuitos están organizados por componentes ventrales que incluyen a la amígdala y al núcleo *accumbens*, mismos que están implicados en el procesamiento de emociones, aprendizaje emocional y en las porciones más dorsales donde se encuentra la corteza prefrontal y el estriado dorsal, se les involucra con procesos cognitivos y la formación de hábitos. Uno de los componentes más importantes que involucran estas áreas para la regulación de la alimentación es el *loop*, constituido por proyecciones del núcleo *accumbens* al área tegmental ventral por medio de neuronas GABAérgicas, a su vez el área tegmental ventral que se conecta anatómicamente por medio de proyecciones dopaminérgicas e involucra al *core* del *accumbens*, este último se comunica con la sustancia *nigra* y el estriado dorsal, genera el aprendizaje y formación de hábitos. Este conjunto de interconexiones ayuda a entender el desarrollo de las adicciones, en la comunicación de las áreas estriatales más ventrales con las áreas estriatales más dorsales. La importancia de este modelo en la alimentación radica en que permite explicar la génesis del deseo y la motivación de consumir alimento hipercalórico y que se da sobre la alimentación.

El núcleo *accumbens* es considerado una interfaz para las emociones, la motivación y la acción por medio de proyecciones de neuronas glutamatérgicas de estructuras límbicas y corticales a estructuras como la amígdala, hipocampo y corteza prefrontal. De manera consistente con las distintas vías de regulación de la conducta alimentaria y búsqueda del alimento, el *shell* del núcleo *accumbens* es innervado por estructuras involucradas en la homeostasis energética, incluido el núcleo arqueado, el hipotálamo lateral, el área tegmental ventral, el núcleo del tracto solitario y el núcleo parabrancial. La información procesada en el *shell* del núcleo *accumbens* es enviada hacia sitios de regulación alimentaria como el pálido ventral, área tegmental ventral y el hipotálamo lateral. Esta comunicación recíproca entre el *shell* del núcleo *accumbens* y el hipotálamo lateral sirve como un

moderador potente entre los procesos motivacionales límbicos y las vías de aferencias motoras; este último protagonizado por el hipotálamo lateral que incluye la modulación de las propiedades sensoriales de la comida (gusto), la cantidad y olor del alimento y recibe aferencias gustatorias desde el tálamo y el romboencéfalo. Las células del hipotálamo lateral reciben información de la periferia sobre el balance energético y el almacenamiento de grasa en los adipositos vía la leptina, además de señales de información nutrimental vinculadas a los niveles de glucosa plasmática y los mecanismos de detección energética que modula el *Arcuato* (Fulton, 2010).

Como ha sido descrito, el alimento es un potencial generador de placer y éste último es en gran medida regulado por el núcleo *accumbens* en coordinación con otras estructuras mesolímbicas y corticales que regulan el circuito de la recompensa. De acuerdo con los hallazgos de los experimentos donde se empleó alimento rico en grasas y carbohidratos, el alimento sólido o líquido hipercalórico aumenta significativamente el nivel de dopamina extracelular en el *shell* del núcleo *accumbens*, efecto que fue prevenido por el antagonista de los receptores CB1 (Melis *et al*, 2007).

2.3 Canabinoides y el sistema endocanabinoide

2.3.1 Historia

La planta *Cannabis Sativa* (marihuana) ha tenido a lo largo de la historia, usos clínicos, terapéuticos, lúdicos y recreativos. Se sabe de los primeros usos terapéuticos de la planta gracias a la Farmacopea China, habiendo polémica en el registro más antiguo, donde Di Marzo (2006) reportó que en el año 2600 a. C. se hallaba el registro más viejo, mientras que McKim (2000) en su libro de drogas y conducta menciona que el empleo de la planta data del año 4000 a. C. Por su parte, Jiang *et al.*, (2006) reportaron que probablemente fue utilizada desde hace más de 10 000 años, ya que se tiene evidencia de las tradiciones del empleo médico y religioso-mágico de la región Xinjiang al noroeste de China, además de que en las tumbas de Yanghai se encontraron cestas que contenían frutos y pequeños restos de la planta de la marihuana. El primer registro escrito del uso de la planta por sus efectos medicinales es el que realizó el Emperador de China, Shen Nung, al hacer un compendio de las propiedades y usos medicinales de distintas hierbas, dentro de las cuales la marihuana se encontraba. Inmediatamente seguido de esta descripción herbolaria se popularizaron los efectos y la terapia con la planta, extendiéndose su uso por toda China y poco tiempo después se exportó a la India, desde ese momento la planta ganó terreno en Asia en el empleo tanto terapéutico como lúdico (Ben, 2006).

En la investigación bioquímica, los ingleses fueron los pioneros, el fisiólogo Irlandés Sir William B. O'Shaughnessy, publicó en 1838 las propiedades terapéuticas del *cannabis* en el tratamiento de patologías como el cólera, enfermedades reumáticas, *delirium tremens* y convulsiones infantiles. Esta descripción interesó a los ingleses, pues seguramente existía algo en la planta responsable de la acción terapéutica en el tratamiento de las enfermedades que describió O'Shaughnessy. El siguiente paso lo dio el inglés Thomas Wood, quien en 1899 aisló el cannabinol, mientras que Robert Cahn en 1932 describió casi por completo la estructura química del mismo (Di Marzo, 2006).

Con el primer canabinoide identificado, en 1940 Lord Alan Todd logró por primera vez la síntesis del cannabinol, aunque no es el principal ingrediente activo de la marihuana (es producto de la oxidación de otros cannabinoides), estas investigaciones permitieron el posterior aislamiento, caracterización y síntesis de los miembros más importantes de esta familia de productos naturales. El avance más grande para la investigación de los cannabinoides lo concretaron Gaoni y Mechoulam en 1964 al aislar y sintetizar el principio activo (y responsable de los efectos psicotrópicos) de la planta de la marihuana, el Δ^9 -Tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC). Para la década de los 1970s los farmacólogos Hans Kosterlitz y John Hughes propusieron que si en los cerebros de los mamíferos había receptores para la morfina (postulado que ayudó a la investigación del sistema endocanabinoide) necesariamente existían ligandos asociados a estos receptores, y no se debía a que la evolución había creado receptores arbitrariamente para los compuestos de una planta. Este pensamiento produjo que los dos farmacólogos con ayuda de Kosterlitz y Hughes caracterizaran a las dos encefalinas (leucina y metionina), los dos primeros agonistas endógenos de los receptores a opioides (Di Marzo, 2008).

No fue fácil, encontrar a los cannabinoides endógenos. Se requirió que en las investigaciones de Kuehl en 1957 y Ganley en 1958 sobre las _____ *N-aciletanolaminas* (NAE, ácidos grasos de las etanolamidas, donde la anandamida es uno de ellos *N-araquidonoiletanolamina*) de mediados de la década de los 1950s, se encontraran en la preparación de lecitina de soya, aceite de cacahuate y en la yema de huevo. Después de estos experimentos se encontró que los NAE estaban estrechamente relacionados metabólicamente con su progenitor los (N-acil)fosfatidiletanolamina (NAPE, por sus siglas en inglés). La NAPE se aisló principalmente de la harina de trigo, gracias a los trabajos de Bromstein que realizó en 1965, después de los trabajos de Aneja y Dawson junto a su grupo de investigadores en 1969 lo hallaron en semillas. Fue hasta 1973 cuando Matsumoto y Miwa lograron aislar la NAPE del tejido de mamíferos, específicamente en los lípidos de eritrocitos de rumiantes, en 1976 Gray los halló en mamíferos y en la

epidermis humana, en la degradación de fibroblastos del hámster fueron encontrados por Somerharju y Renkonen en 1979 y en embriones de pollo los aislo Kgra en 1986, aunque lo encuentran en el sistema nervioso Hack y Helmy en cerebro de pescado en 1975 y en médula espinal Natjaran en 1985; en 1980 Epps y su equipo lo encuentran en zonas infartadas del corazón de perro. Este último hallazgo ayudó a encaminar las investigaciones sobre el metabolismo y la actividad biológica de la NAPE y las NAE por Schmid en 1990. En 1992 en la línea de investigación de la ubicación y caracterización de los NAE, se logró aislar a la anandamida con tejido proveniente de cerebro humano por Devane y su equipo (Berdyshev, Boichot y Lagente, 1996).

Paralelamente, en 1990, Howlett y su equipo descubrieron el sitio de unión del THC y, 3 años después, Matsuda en compañía de su equipo de trabajo logró clonar al primer receptor a cannabinoides, el CB1. Así, se descubrió el sitio donde los agentes de la planta de la marihuana (los cannabinoides) producían su efecto. La presencia de un sitio de unión específico de inmediato sugirió la existencia de un agente endógeno que se uniera al mismo receptor, un endocanabinoide. En 1991 el grupo de Mechoulam trabajando conjuntamente con el grupo de Pertwee identificaron el primer canabinoide endógeno, la anadamida (nombre elegido por su origen en sánscrito *ananda* = felicidad). Dos años más tarde, Munro y colaboradores clonaron el segundo receptor a cannabinoides, el receptor CB2, hallándolo en tejido periférico. En 1995 nuevamente el equipo de Mechoulam en colaboración con el equipo de Wakus, identificó el segundo endocanabinoide, el 2-Araquidonoilglicerol (2-AG), descubrimiento que ayudó a dilucidar las funciones de los endocannabinoides. Hay que considerar que para éste año Cravatt clonó la primera enzima degradadora de la anandamida, la FAAH (por sus siglas en inglés, la amida hidrolasa de ácidos grasos) (Di Marzo, 2006).

La historia continuó con hallazgos del papel de los cannabinoides (ver Figura 2), al conocer bien al sistema endocanabinoide se descubrió que éste sistema podía regular la actividad neuronal de otros sistemas de transmisores, entre ellos el

dopaminérgico, el GABAérgico y el glutamatérgico, en conjunto todos ellos han sido relacionados con las funciones de la ingesta alimentaria, la nocicepción y la modulación de las propiedades del consumo de drogas de abuso. También se encontró que los endocannabinoides juegan un papel importante en varias funciones cognitivas, como son los procesos anémicos, incluyendo la codificación de la memoria en la consolidación y extinción de la misma. Más recientemente se han relacionado a los endocannabinoides con funciones ejecutivas y cognitivas de alto orden como la atención, flexibilidad conductual, toma de decisión, control inhibitorio, planeación, estimación de tiempo y memoria de trabajo y conjuntamente con el control conductual (Pattiji, Wiskerke y Schoffemeer, 2008).

A partir de estos hallazgos, se han propuesto aplicaciones clínicas, por ejemplo en el control de la conducta alimentaria, donde el Rimonabant (antagonista de los receptores CB1) fue protagonista en el tratamiento de la obesidad. Este fármaco se evaluó en las pruebas clínicas RIO (Rimonabant in Obesity) y los resultados obtenidos se publicaron en los estudios de Van Gaal *et al.* (2005), Després, Golay y Sjöström (2005), Pi-Sunyer, Aronne, Heshmati, Devin y Rosenstock (2006), y Scheen, Finer, Hollander, Jensen y Van Gaal (2006), quienes demostraron que el Rimonabant (20 mg) administrado a humanos, es efectivo para el tratamiento de la obesidad, pues reduce la ganancia de peso, disminuye la medida de la cintura y ayuda a contrarrestar los síntomas del síndrome metabólico. Pero aún cuando el compuesto ha tenido resultados clínicamente favorables, los mecanismos mediante los cuales actúa no han sido plenamente descritos, lo que ha ocasionado que a la larga este fármaco se haya retirado del mercado en diversas partes del mundo debido a los efectos secundarios que provoca, entre los que se encuentran depresión, náuseas, ansiedad, vértigo, temblor y amnesia (Araújo, Aguiar y Silveira, 2006; Lisboa *et al.*, 2008; Viveros *et al.*, 2005).

Lo que muestra la historia de los cannabinoides es el proceso por el cual tuvieron que pasar los acontecimientos que ahora dan evidencia de la importancia del sistema endocanabinoide en la conducta alimentaria, aunque aún falta revisar

cuáles son los aspectos importantes de los cannabinoides, como su farmacología, vías de señalización y localización, para dar pie a las implicaciones del presente trabajo.

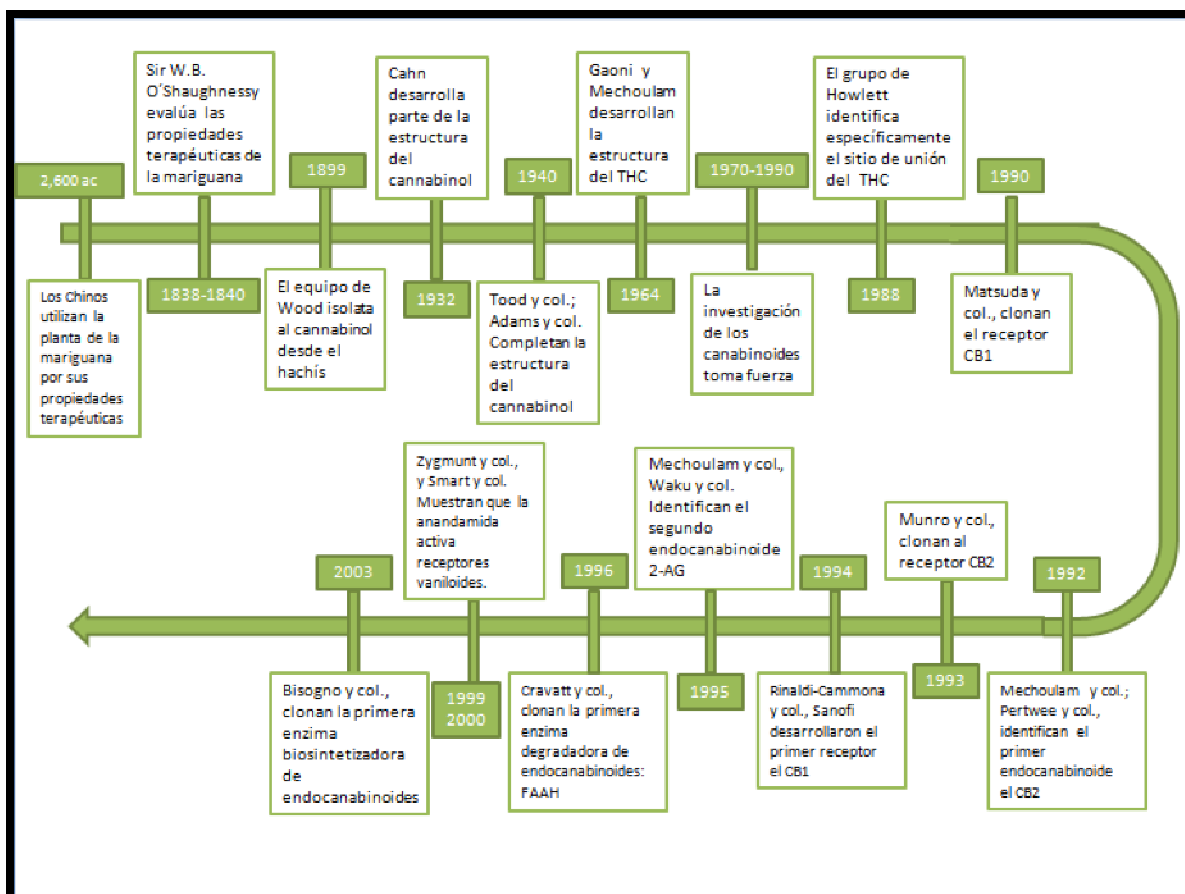


Figura 2. Muestra los hallazgos más importantes para la caracterización del sistema endocanabinoide (modificado por el presentado por Di Marzo, 2006).

2.3.2 Receptores a cannabinoides

2.3.2.1 Localización

En el año 2005, solamente se conocían dos sitios de unión para los principios activos de la planta de la marihuana: el receptor CB1 y el receptor CB2. Con la caracterización del THC se descubrió que los cannabinoides interactuaban con sus receptores y producían sus efectos por medio de proteínas G_i ¹, que inhibe a la adenilil cilclasa, es decir, son receptores acoplados a proteínas G inhibitorias (Nestler, Hyman, y Malenka 2009; Di Marzo, 2006).

Actualmente se sabe que el receptor CB1 se expresa densamente en el sistema nervioso central (SNC), mientras que el receptor CB2 se encuentra principalmente en tejido linfático y tejido periférico (ver Tabla 1). A la fecha, se sabe de la presencia de receptores CB1 fuera del SNC, y del CB2 en el SNC. Por ejemplo, el receptor CB1 ha sido localizado en adipocitos, células del músculo esquelético, hígado y tracto gastro intestinal (Gelfand y Cannon, 2006). Por su parte, el receptor CB2 ha sido asociado a la microglía de ratas y en células granulares del cerebelo (Kearn y Hilliard, 1997; Skaper et al, 1996; Svíženska, Dubovÿ y Šulcová, 2008).

Las estructuras en las que se ha reportado la presencia de los receptores CB1 y CB2 se muestran en las Tablas 1 y 2.

¹ Proteína llamada así por su capacidad de unir nucleótidos de guanina, específicamente formando guanosina trifosfato.

Tabla 1. Localización del receptor CB1 en el cerebro de mamíferos.

Intensidad	Localización
Densa	<p>Cerebro anterior: Estrato II, III, IV de la corteza somatosensorial, estrato II del giro de la corteza, piriforme, estrato II y IV de la corteza entorinal, estrato III de la corteza piriforme, regiones corticales del lóbulo frontal</p> <p>Estrato molecular del área CA1, CA2 y CA3 del cuerno de Ammon</p> <p>Zonas endependimial y subependimial del bulbo olfatorio, núcleo olfatorio anterior, comisura anterior (olfatoria)</p> <p>Amígdala</p> <p>Segmento interno del globo pálido, núcleo caudado y putamen</p> <p>Vía estriatonigral</p> <p>Núcleo entopeduncular</p> <p>Tallo cerebral:</p> <p>Sustancia nigra pars reticulata</p> <p>Sustancia gris periacueductal (IV ventrículo)</p> <p>Tracto y núcleo del trigémino</p> <p>Cerebelo:</p> <p>Estrato molecular</p> <p>Médula espinal:</p> <p>Cuerno dorsal y lamina X</p> <p>Ganglio de la raíz dorsal (neuronas medianas y largas)</p>
Moderada	<p>Cerebro anterior: Estrato V de la corteza somatosensorial, corteza asociativa temporal, cortezas motora y somatosensorial secundaria, cortezas visual y auditiva</p> <p>Capa polimórfica del giro dentado</p> <p>Núcleos subcorticales y septum</p> <p>Segmento externo del globo pálido, pálido ventral, claustró y estría terminal</p> <p>Diencefalo:</p> <p>Anterior, dorsomedial, medioventral y núcleo intralaminar del tálamo.</p> <p>núcleo habenular</p> <p>núcleo lateral y paraventricular del hipotálamo y tallo infundibular</p> <p>Tallo cerebral:</p> <p>Núcleo del tracto solitario</p> <p>Núcleo ambiguo</p> <p>Núcleo olivar inferior</p> <p>Médula espinal (asta dorsal de la médula, núcleo torácico intermediolateral)</p>
Baja	<p>Cerebro anterior: cortezas somatosensorial, visual y auditiva primaria</p> <p>Células de la capa granular del giro dentado</p> <p>Tubérculo olfatorio</p> <p>Pálido ventral</p> <p>Núcleo <i>accumbens</i></p> <p>Diencefalo:</p> <p>Núcleo talámico motor y sensorial</p> <p>Núcleo subtalámico</p> <p>Tallo cerebral:</p> <p>Area tegmental ventral</p> <p>Sustancia nigra pars compacta</p>

Tabla 1. Se muestra la distribución del receptor CB1 en el sistema nervioso de los mamíferos (Svíženská, Dubový y Šulcová, 2008).

Tabla 2. Localización del receptor CB2 en el cerebro de mamíferos.

Intensidad	Localización
Densa	<p>Cerebro anterior: neuronas de la capa III y V de las cortezas orbital, visual, motora y la corteza piriforme</p> <p>Isla de calleja</p> <p>Neuronas piramidales de CA2 y CA3 del hipocampo</p> <p>Núcleo olfativo anterior</p> <p>Amígdala</p> <p>Diencefalo:</p> <p>Núcleos ventral, lateral posterior, posterior y paracentral del tálamo</p> <p>Retina</p> <p>Tallo cerebral:</p> <p>Núcleo dorsal coclear</p> <p>Núcleo facial</p> <p>Cerebelo:</p> <p>Células de Purkinje</p> <p>Células granulares del cerebelo</p> <p>Ganglio de la raíz dorsal:</p> <p>neuronas de la rata neonata</p> <p>Neuronas medianas y largas</p>
Moderada	<p>Diencefalo: núcleo geniculado</p> <p>Tallo cerebral:</p> <p>Sustancia nigra pars reticulata</p> <p>Sustancia gris periacueductual</p> <p>Colículo inferior, interpeduncular, paratroclear y núcleo rojo</p> <p>Núcleo paralemniscal, núcleo dorsal del lemnisco lateral</p> <p>Núcleo pontino</p> <p>Núcleo paratroclear medial y lateral vestibular</p> <p>Núcleo reticular parvocelular</p> <p>Núcleo del tracto del trigémino</p> <p>Cerebelo:</p> <p>Dendritas de las células de Purkinje en la capa molecular</p>
Baja	<p>Diencefalo:</p> <p>Núcleos paraventricular y mediodorsal del tálamo</p> <p>Núcleos ventromedial y arqueado del hipotálamo</p>

Tabla 2. Muestra la localización del receptor CB2 en el sistema nervioso de mamíferos (Svíženská, Dubový y Šulcová, 2008).

2.3.2.2. Vías de Señalización

Los receptores a cannabinoides al ser activados cambian su estado conformacional, produciendo que la subunidad α de la proteína G se separe del complejo $\beta\gamma$, modificando la actividad de otras moléculas en la cascada de señalización, inhibiendo a la adenilil ciclasa (lo que reduce la acumulación del AMP cíclico), disminuyendo la concentración de Ca^{2+} intracelular y activando distintos canales de K^+ y modulando la fosforilación y activación de diferentes miembros de la familia de las MAPKs (por sus siglas en inglés, son proteínas cinasas activadas por mitógenos). Específicamente se ha reportado la regulación de las cinasas 1 y 2 (ERK 1/2 por sus siglas en inglés), p38 MAPK y la cinasa que fosforila la región N-terminal de c-Jun (JNK por sus siglas en inglés), el resultado de la activación de los receptores a cannabinoides es típicamente la despolarización de la neurona y la inhibición de la liberación de neurotransmisor, ya que estos se encuentran principalmente a nivel presináptico (Bosier, Giulio, Hermans y Lambert, 2010).

2.3.2.3 Síntesis y metabolismo

Los receptores a cannabinoides están acoplados a proteínas G_i , tienen siete dominios transmembranales y son de naturaleza inhibitoria (G_i).

Se mencionaron dos endocannabinoides anteriormente: la anandamida y el 2-AG. La síntesis de los endocannabinoides inicia con la despolarización inducida por el influjo de Calcio (Ca^{2+}) y la consecuente activación de enzimas responsables de la generación de anandamida ó 2-AG, la fosfolipasa D para el caso de la primera y la fosfolipasa C para el 2-AG. Los cannabinoides son posteriormente difundidos al espacio sináptico y activan a sus receptores, para luego ser removidos de las sinapsis por transportadores para su inactivación. Las enzimas responsables del metabolismo de la anandamida y el 2-AG son la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH, por sus siglas en inglés) y la lipasa monoacilglicerol (MGL, por sus siglas

en inglés), respectivamente (ver Figura 3). Se sabe que los endocannabinoides son mediadores de señalización retrógrada, ya que estos se sintetizan bajo demanda en la postsinápsis (el gatillo de su síntesis es el incremento de la actividad celular) y activan a receptores presinápticos (Nestler, Hyman, y Malenka 2009).

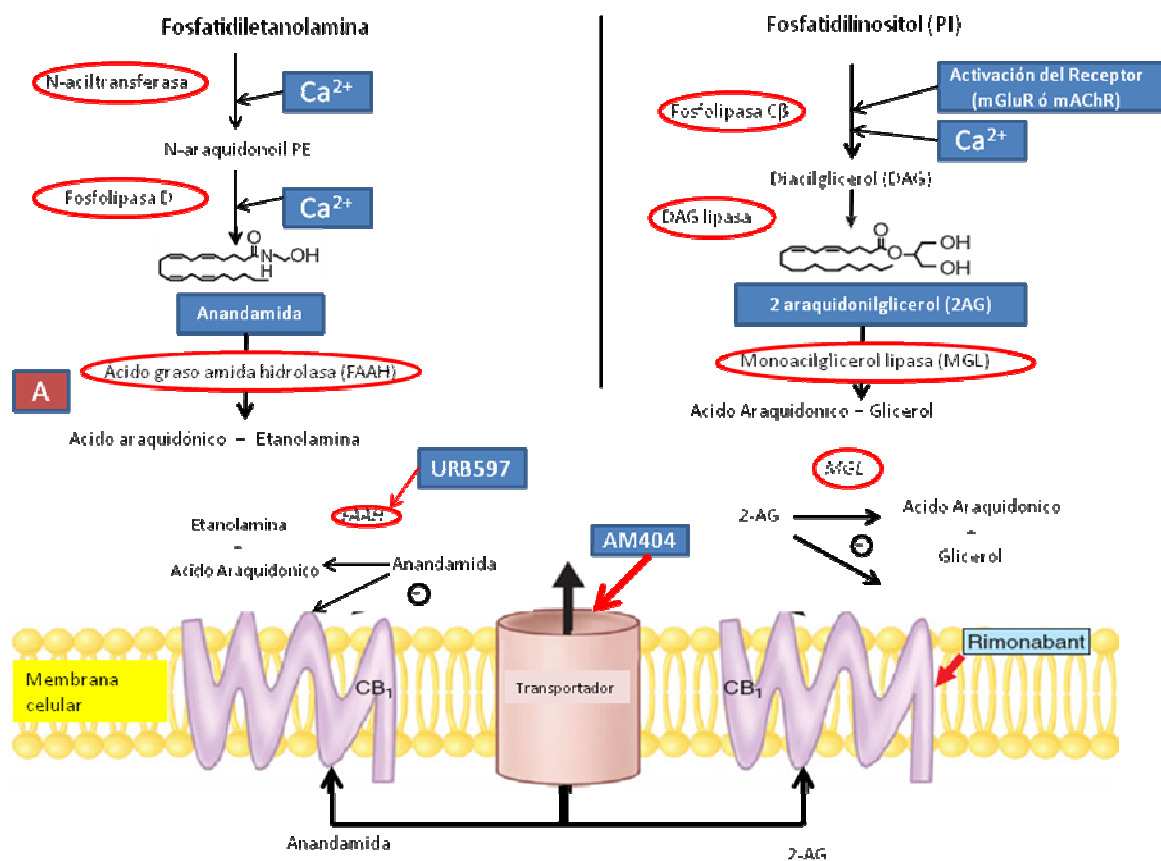


Figura 3. Se muestra la síntesis y metabolismo de los cannabinoides (modificado por el presentado por Nestler, Hyman y Malenka 2009).

2.3.2.4. Farmacología

Agonistas

Existen moléculas que tienen la función de activar las respuestas mediadas por sitios de unión, a estos agentes activadores se les conoce como agonistas y también los hay para los cannabinoides, se les clasifica en cuatro grupos de compuestos, en función de su estructura química: cannabinoides clásicos, no clásicos, aminoalquilindoles y eicosanoides.

El grupo de cannabinoides clásicos se caracterizan por tener una estructura de dibenzopirano, que son los derivados de la planta *cannabis sativa* (Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, canabinol y canabidiol). Existen los análogos sintéticos de cada uno, por ejemplo del Δ^9 -THC está el 11-hidroxi- Δ^8 -THC-dimetilheptilo (HU-210), el 11-hidroxi-hexahidrocannabinol-dimetilheptilo (HU-243) y la nabilona. El Δ^9 -THC sintético (dronabinol) y la nabilona han sido utilizados para fines clínicos (en USA, Canadá, Inglaterra y Suiza). Los cannabinoides no clásicos son análogos bicíclicos y tricíclicos del Δ^9 -THC que carecen de anillo piranósico. El principal fármaco de éste grupo es el CP55,940 aunque existen otros como el CP55,244 y el CP50,556 (levonantradol) y el desacetilevonantradol (DALN). El tercer grupo de compuestos canabimiméticos son los aminoalquilindoles, cuyo principal representante es el WIN 55,212-2. Esta familia incluye moléculas y estructura química que proviene de la pravadolina, que es muy distinta de los dos grupos anteriores, aunque se tiene evidencias que el WIN 55,212-2 interactúa con los receptores cannabinoides de manera distinta a como lo hacen los análogos clásicos; se ha descrito que los tres tipos de compuestos son capaces de desplazarse mutuamente de su unión a receptores CB1 y CB2. El último grupo se desarrollo a partir de un endocanabinoide la anandamida (araquidoniletanolamida), aunque también se conocen a otros como son la homo- γ -linoleniletanolamida, la 7,10,13,16-docosatetraeniletanolamida, el 2-araquidonilglicerol (2-AG) y 2-araquidonilgliceril éter (noladin éter). Estos compuestos se caracterizan por su alta sensibilidad a la hidrólisis enzimática a cargo de la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH),

dentro de este grupo se encuentran la metanandamida, la araquidonil-(2'-fluoroetil)amida (O-585) y la 2-metilaraquidonil-(2'-fluoroetil)amida (O-689) que son más sensibles a la acción de la FAAH que la misma anandamida. Por último se encuentran los cannabinoides eicosanoides, que tienen una mayor selectividad por los receptores CB1, como es la araquidonil-2'-cloroetilamida (ACEA) y la araquidonilciclopropilamida (ACPA), los dos potentes agonistas de alta eficiencia (Pazos y Mato, 2002 no aparece en referencias) (ver Tabla 3).

Tabla 3. Afinidad y Eficacia de los agonistas a receptores CB1 y CB2

	Afinidad (K _i , nM)*		Eficacia relativa	
	CB1	CB2	CB1	CB2
ACEA	1.4	>2000	++++	—
ACPA	2.2	715	++++	—
2-AG	58.3	145	+++	++
2-AG	13.9	58	++++	++
Anandamida	89	371	++++	+
CP55,940	0.58	0.69	+++++	+++++
HU-210	0.06	0.52	+++++	+++++
Metanandamida	18	868	++++	—
Δ ⁹ -THC	40.7	36.4	+++	+
WIN55,212-2	1.89	0.28	+++++	+++++

Tabla 3. *Valores bajos de K_i indicativos de una elevada afinidad por el receptor. En presencia de PMSF. En presencia de inhibidores de la hidrólisis enzimática de 2-AG. Modificado del presentado por Pazos y Mato, 2002.

Antagonistas

Existen también moléculas que son capaces de antagonizar los efectos naturales de la activación de los receptores CB1 y CB2, lo que ha generado una herramienta farmacológica muy potente para la caracterización de estas proteínas. Dentro de éstos compuestos se halla el más importante de todos, el SR141716A (Rimonabant), compuesto que fue de gran ayuda para el entendimiento del papel que tiene el sistema endocanabinoide con la alimentación en distintas áreas del cerebro, ya que es más afín al receptor CB1 que al CB2 (Svíženská, Dubový y

Šulcová, 2008). Aunado a esto, el Rimonabant ayudó a crear otros antagonistas a canabinoides, tal es el caso del AM 251 y el AM 281 que también antagonizan efectos canabimiméticos derivados de la activación de receptores CB1. Existen también los que son diferentes estructuralmente al Rimonabant como el LY320125. Para los receptores CB2 la molécula más potente y mejor caracterizada es el SR144528, además existe el AM 630 y el O-1184. Hay que puntualizar que el empleo de los antagonistas no siempre es el de bloquear, en ocasiones produce efectos contrarios a los evocados por los agonistas, como es el caso del Rimonabant al cual se le conoce por sus propiedades de agonista inverso (Pazos y Mato, 2002) (ver Tabla 4).

Tabla 4. Afinidad y Eficacia de los antagonistas a receptores CB1 y CB2

	Afinidad (K _i , nM)		Clasificación	
	CB1	CB2	CB1	CB2
AM-281	12	4200	A/I	—
AM-630	5152	31.2	—	A/I
LY320135	141	14900	A/I	—
MAFP	20	—	A	—
O-1184	5.2	7.4	A/P	A/I
SR141716A	5.6	>1000	A/I	—
SR14528	437	0.6	—	A(!?)

Tabla 4. A, antagonista competitivo; I, agonista inverso; P, agonista parcial. Modificado del presentado por Pazos y Mato, 2002.

2.4 El sistema endocanabinoide en el NAcS en la conducta alimentaria

Ahora se sabe que el sistema endocanabinoide está estrechamente relacionado con la alimentación desde los experimentos con humanos donde con el consumo de marihuana se provoca una hiperfagia, o con los hallazgos del Rimonabant como potente fármaco para contrarrestar la obesidad. Pero los descubrimientos requirieron de procesos, en 1977, Brown con su equipo de trabajo describieron el efecto dosis-dependiente del Δ^9 THC al incrementar la preferencia de las ratas por el alimento palatable y la ingesta de agua azucarada, con dosis de 0.25 y 0.40 mg/kg. En 1998 Williams y su grupo de investigadores al administrar Δ^9 THC vía oral a ratas presaciadas observaron que hubo una sobre ingesta a diferencia de las ratas tratadas con el vehículo que no comieron después de estar saciadas. En éste estudio se logró observar que el sistema endocanabinoide no solo estaba involucrado en la regulación alimentaria, sino también en situaciones de búsqueda y estados motivacionales por el alimento. Aunado a esto se hicieron experimentos en los cuales se evaluó por medio de agonistas y antagonistas los efectos del CB1 en el hipotálamo y encontraron que los agonistas eran capaces de producir hiperfagia y los antagonistas de prevenir dicho efecto (Cota, Tschöp, Horvarth y Levine, 2006).

Anteriormente se mencionaron los núcleos donde se expresan los receptores a cannabinoides, uno de ellos es el núcleo *accumbens*, es justamente éste núcleo el que se encarga de la regulación de las conductas que puedan generar placer (De Luca, Solinas, Bimpisidis, Goldberg y Chiara, 2011). Investigadores como Tallet, Blundell y Rodgers (2009) y Escartín, Cendejas, Cruz, González, Mancilla y Florán (2009), han reportado un componente canabinoide en el proceso de la regulación de la ingesta de alimento, donde la activación de los receptores CB1 produce consistentemente un aumento del consumo de alimento. De la misma forma, se ha descrito que este efecto hiperfágico es dependiente de la dosis y que paradójicamente las dosis altas de agonistas de receptores a cannabinoides pueden producir supresión de la ingesta de alimento. Para el caso del

Rimonabant, antagonista de los receptores CB₁ se ha reportado que su principal efecto es el de inhibir la ingesta de alimento, de hecho durante un tiempo fue empleado como uno de los fármacos más potentes para el tratamiento de la obesidad, ya que ayudaba en el peso corporal, reducía los niveles de colesterol de baja densidad, estabilizaba los triglicéridos, además de que disminuía la talla corporal, esto quiere decir que influía en los depósitos adiposos. El problema con dicho fármaco fue los efectos secundarios que conllevaba, efectos ansiogénicos (Cluny, *et al.*, 2011).

Otros puntos que relacionan al sistema endocanabinoide con la conducta alimentaria es la forma en que se comporta éste sistema en las patologías relacionadas con la alimentación como es la anorexia nerviosa donde Monteleone y colaboradores (2005) reportaron que los niveles plasmáticos de anandamida se incrementan significativamente en mujeres anoréxicas, y en sujetos con episodios de atracones (personas que presenta sobre peso y obesidad en ocasiones reportan tener dichos episodios) pero no en pacientes con bulimia. Además Siegfried *et al.* (2004) observaron que ocurría un polimorfismo en el gen del receptor CB1 para contribuir a la susceptibilidad a diferentes tipos de anorexia nerviosa (restrictiva o purgativa). Y en la mutación del aminoácido del gen es el que codifica a la amida hidrolasa de ácidos grasos, la cual es la enzima principal para la inactivación de los endocanabinoides, misma que relacionaron con drogas de abuso en el 2002 y en el 2005 con sobre peso y obesidad por Sipe y su equipo de colaboradores (como se citan en Cota, Tschöp, Horvarth y Levine, 2006).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sin duda, el sistema de los endocannabinoides forma parte fundamental de la regulación de la conducta alimentaria, tanto a nivel central como periférico. Es en general aceptado que los receptores CB1 no sólo son los principales responsables de los efectos hiperfágicos de los agonistas cannabinoides a nivel central, sino que también son parte fundamental de la regulación del balance energético a nivel periférico. Estos dos conceptos en conjunto son acordes con la idea de que los cannabinoides pueden afectar la ingesta de alimento a corto y/o largo plazo, lo que ayuda a entender el efecto terapéutico del Rimonabant. Ya que cuando dicho antagonista fue empleado como tratamiento contra la obesidad, inicialmente disminuía la ingesta de alimento por un mecanismo central y posteriormente se incrementaba el gasto energético por un mecanismo periférico, lo que se reflejaba en una consistente disminución de la ganancia de peso. Además, el hallazgo de que los animales que no expresan el receptor CB1 (KO CB1) son resistentes a la obesidad inducida por dieta, apoya la hipótesis de que los cannabinoides pueden jugar un papel importante en el desarrollo patofisiológico de la obesidad que es dependiente de la sobreingesta de alimento (Quarta *et al.*, 2010).

A este respecto, la obesidad es con frecuencia asociada con la ingesta de alimento palatable, que es rico energéticamente, con altos contenidos de carbohidratos y grasas. La palatabilidad del alimento puede inducir sobrealimentación *per se* y cuando esto se asocia con disminución del gasto energético (menor actividad física), en la mayoría de los casos se produce sobrepeso u obesidad. Es interesante que algunos pacientes obesos también tengan un sistema canabinoide más activo.

A pesar de que el patrón de expresión de los receptores CB1 en el sistema nervioso central es difuso, su presencia en regiones responsables de la regulación de la conducta alimentaria como el hipotálamo y el estriado ventral (especialmente en la región *shell* del núcleo *accumbens*), nos permite suponer que el efecto hiperfágico de los cannabinoides puede ser más complejo de lo que parece.

A partir de lo anterior, es posible proponer la hipótesis de que los cannabinoides, además de que pueden estimular la ingesta de alimento por mecanismos homeostáticos (por ejemplo inhibiendo la saciedad en el hipotálamo), también pueden producir hiperfagia por un mecanismo que es independiente de la homeostasis energética y que se relaciona directamente con el procesamiento de las propiedades sensoriales del alimento, es decir, los cannabinoides pueden incrementar el valor reforzante del alimento que depende de su sabor, haciendo que el alimento palatable sea más atractivo (hedónicamente positivo). De acuerdo con este razonamiento, en el presente trabajo se propone el uso de un modelo animal que permita evaluar la regulación de la ingesta de alimento por un mecanismo que no dependa de la motivación energética (homeostática), es decir, que el sujeto consuma el alimento sólo por sus propiedades hedónicamente positivas (por su palatabilidad).

3.1 Objetivos

General: Estudiar los efectos de la activación de los receptores a cannabinoides CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* y determinar si estos efectos dependen de cambios en las propiedades hedónicas del alimento

Particulares

1. Evaluar los efectos de la activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* en animales alimentados con una dieta estándar.
2. Evaluar el componente hedónico de los efectos de la activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* mediante la evaluación de la ingesta de alimento palatable en animales presaciados.

3.2 Hipótesis

1. La activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* estimulará la ingesta de una dieta estándar.
2. La activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* estimulará la ingestión de alimento palatable aún cuando los sujetos hayan sido pre-saciados.

4. MÉTODO

4.1 *Sujetos*

Ratas macho de la cepa Wistar (37 en total) (proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM) ingenuas experimentalmente. Las ratas fueron mantenidas en cajas individuales en un bioterio con temperatura controlada ($21\pm 1^\circ\text{C}$) y con acceso libre al alimento y agua (a menos de que los sujetos fueran sometidos al protocolo de alimentación restringida, como en el experimento con dieta palatable). El ciclo de luz/oscuridad invertido de 12x12 h fue controlado automáticamente (las luces se apagaban a las 12:00 a.m.) y las observaciones conductuales se realizaron en la fase de luz del ciclo de luz/oscuridad. Los procedimientos experimentales cumplieron con lo especificado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) que contiene las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

4.2 *Dietas*

El alimento estándar consistió en alimento para roedores de laboratorio (Harlan 2018S), conteniendo una fórmula dietética de proteína al 18%, 3.4% de grasa poliinsaturada, 1.3% de grasa monoinsaturada y 0.9% de grasa saturada. El alimento altamente palatable se preparó con leche evaporada endulzada al 10% (leche Carnation® con 6% de grasa total, 3.75% de grasa saturada, 9.5% de carbohidratos, 6% de proteína y sacarosa al 10% adicionada en nuestro laboratorio).

4.3 *Fármacos*

Como agonistas de los receptores CB1 se emplearon el CP 55,940 [(-)-cis-3-[2-Hidroxi-4-(1,1-dimetilheptil)fenil]-trans-4-(3-hidroxipropil)ciclohexanol] y el ACEA [N-(2-Cloroetileno)-5Z,8Z,11Z,14Z-eicosatetraenamida]. El CP 55,940 fue disuelto inicialmente en DMSO y posteriormente fue diluido con solución salina al 0.9% (la solución final contenía 5% de DMSO); por su parte el ACEA se adquirió pre-

disuelto en etanol anhidro, por lo que esta solución se resuspendió en DMSO y se agregaron gotas de nitrógeno estando el contenedor bajo sonicación (para favorecer la evaporación del etanol), cuando la solución estuvo libre de etanol, el ACEA fue diluido con solución salina al 0.9% y la solución final contenía 5% de DMSO. También se empleó AM 251 [N-(Piperidina-1-yl)-5-(4-iodofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol-3-carboxamida] como antagonista de los receptores CB1; este último compuesto fue diluido con Tween 80 y DMSO (la solución final contenía 5% de DMSO y 1% de Tween 80). Todos los fármacos fueron adquiridos en Tocris Bioscience. Los volúmenes de inyección intraccumbens fueron de 0.5 μ l a un flujo de 0.2 μ l/min. Las soluciones de inyección fueron preparadas el mismo día que eran aplicadas (a partir de solución stock donde los fármacos estaban diluidos en DMSO).

4.4 Cirugía

Los animales fueron anestesiados con ketamina y xilasina (112.5 mg/kg y 22.5 mg/kg ip) para implantarles esterotáxicamente una cánula de microinyección en el área suprayacente al *shell* del núcleo *accumbens* (coordenadas Anteroposterior +1.52 mm y Lateromedial -0.7 mm con relación a Bregma, Dorsoventral -0.6 mm con relación a la dura madre) con referencia al Atlas de Paxinos y Watson (1986). Finalmente se les administró penicilina benzatínica (300,000 UI/kg im) para prevenir infecciones. Los animales tuvieron un periodo de recuperación operatoria de 3 días con alimento y agua *ad libitum*.

4.5 Programa de alimentación restringida

Los sujetos que fueron empleados para evaluar el componente hedónico de los efectos de la activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* fueron sometidos a un programa de alimentación restringida que consistió en (posterior a la fase de recuperación operatoria) privar de alimento por 22 horas a los animales, para posteriormente darles acceso al alimento estándar por una hora, y durante la hora siguiente proporcionar la dieta palatable. Debido a la

privación, durante la exposición al alimento estándar (primer hora después de la privación) los animales empleaban gran parte de este tiempo para alimentarse, produciendo en ellos un estado pre-saciorio, ya que los sujetos consumían alrededor del 75% de su ingesta diaria. De tal forma, cuando a los animales eran expuestos a la dieta palatable, estos la consumían principalmente por propiedades de palatabilidad y no por hambre, pues se encontraban pre-saciados. Los animales fueron habituados a estas condiciones durante 4 días consecutivos, para luego evaluar en las mismas condiciones los efectos de las manipulaciones farmacológicas.

Para validar el procedimiento se evaluó la adaptación de los sujetos al programa de alimentación restringida por medio de tres criterios: a) los animales debían seguir ganando peso corporal; b) mostrar la conducta anticipatoria al alimento (incremento de la actividad física previo a la exposición al alimento, como se describe en Moran y Tamashiro, 2007); c) consumir cantidades estables tanto del alimento estándar como de la dieta palatable.

4.6 Diseño y procedimiento

1. Para la evaluación de los efectos de la activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens* sobre la ingestión de alimento estándar, un total de 19 ratas fueron canuladas unilateralmente en el NAcS y, después del periodo de recuperación operatoria, fueron asignadas a 1 de 4 grupos independientes y recibieron alguno de los siguientes tratamientos intra-*accumbens*:

- a) Vehículo + vehículo (n= 4)
- b) Vehículo + CP 55,940 (0.25 µg) (n= 5)
- c) AM 251 (0.5 µg) + CP 55,940 (0.25 µg) (n= 5)
- d) AM 251 (0.5 µg) + vehículo (n= 5).

Las inyecciones intra-*accumbens* fueron administradas a las 10:00 h durante la fase de luz del ciclo luz/oscuridad, 10 minutos después, los sujetos fueron regresados a sus cajas habitación y se evaluó durante 2 horas (hora 1 y hora 2) la

ingestión de alimento estándar de laboratorio. Estos animales no fueron privados de alimento. Al final de las sesiones experimentales, los sujetos fueron sacrificados para la realización de la histología y la posterior verificación del sitio de canulación.

2. Para la evaluación del componente hedónico de la hiperfagia inducida por la activación de los receptores CB1 en el *shell* del núcleo *accumbens*, un total de 8 ratas fueron canuladas unilateralmente en el NAcS y, después del periodo de recuperación operatoria, fueron sometidas al programa de alimentación restringida, durante 4 días (habituaación). En este periodo de habituaación, se realizaron registros de duración continua (60 minutos) de la actividad de los sujetos 1 hora antes del acceso al alimento (en ausencia de alimento), se midió la actividad de los animales considerando 3 categorías conductuales mutuamente excluyentes: 1) actividad (locomoción, actividad no ambulatoria y acicalamiento); 2) inactividad y 3) husmeo (actividad exploratoria), al finalizar este registro, se colocó el alimento estándar pre-pesado en cada una de las cajas habitación y, finalmente, durante los siguientes 60 minutos se retiró el alimento estándar y se ofreció a los sujetos la dieta palatable. La ingestión de alimento estándar y palatable, así como el peso corporal de los sujetos fue evaluado diariamente durante el periodo de habituaación siempre a la misma hora. El consumo promedio de la dieta palatable durante el periodo de habituaación fue empleado para calcular el consumo basal, mismo que se empleó para calcular el porcentaje de cambio durante las sesiones experimentales (inyecciones intra-*accumbens*).

Después de la habituaación, los sujetos fueron asignados aleatoriamente a diferentes condiciones de acuerdo con un diseño de cuadrado latino con intervalo entre-prueba de 2 días. Las condiciones incluyeron inyecciones intra-*accumbens* del vehículo utilizado y de 3 diferentes dosis de ACEA (0.25, 0.5 ó 0.75 μg), cada rata fue inyectada 3 veces en sesiones independientes (una por sesión). Todas las inyecciones intra-*accumbens* fueron aplicadas al finalizar el acceso a la dieta

estándar y 10 minutos antes de que se diera acceso a la dieta palatable, de modo que solamente se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la ingesta de la dieta palatable. Al final de las sesiones experimentales, los sujetos fueron sacrificados para la realización de la histología y la posterior verificación del sitio de canulación.

3. Con la finalidad de determinar si los efectos de la dosis de 0.5 µg de ACEA (dosis intermedia efectiva) sobre la ingestión de la dieta palatable eran mediados por el receptor CB1, dos grupos independientes de ratas fueron canulados en la región *shell* del núcleo *accumbens* y recibieron los siguientes tratamientos:

- a) AM 251 (0.5 µg) + ACEA (0.5 µg) (n= 5)
- b) AM 251 (0.5 µg) + vehículo (n= 5)

4. Tras finalizar las sesiones experimentales, los sujetos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico, se extrajeron los cerebros y se llevó a cabo la histología para verificar los sitios de inyección; solamente los datos de los sujetos que recibieron las inyecciones en la región *shell* del núcleo *accumbens* fueron incluidos en el presente reporte (Figura 4).

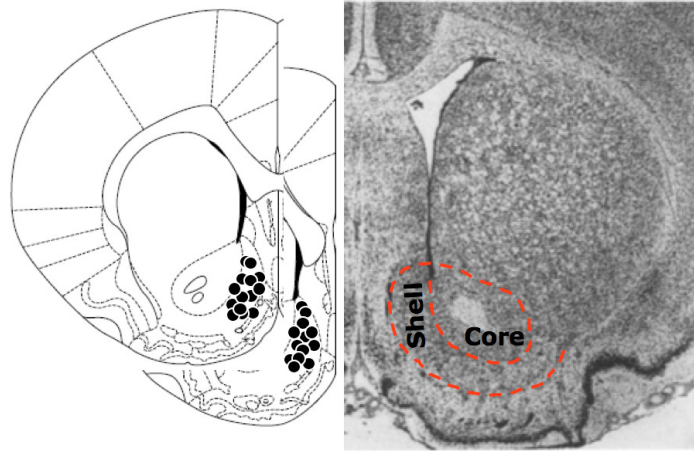


Figura 4. Representación esquemática de los sitios de inyección en el NAcS. Las líneas punteadas representan las dos porciones del núcleo accumbens, la corteza (*shell*) y el núcleo (*core*).

4.7 Análisis estadístico

Los datos conductuales (duración en segundos (s) de las categorías mutuamente excluyentes), de la ingestión de alimento (g, estándar y palatable) y del peso corporal obtenidos durante los días de habituación fueron expresados en términos de la media \pm el Error Estándar de la Media (EEM) y fueron analizados usando una ANOVA de una entrada de medidas repetidas. Los efectos de los diferentes tratamientos farmacológicos sobre el consumo de la dieta palatable fueron expresados como el porcentaje de cambio (con respecto al consumo basal promedio que se calculó durante el periodo de habituación, este valor fue el 100%), en la sección de resultados se muestran en términos de la media \pm EEM y se analizaron con un ANOVA de una entrada, para determinar las diferencias entre los diferentes tratamientos (dosis) se empleó la prueba *post hoc* de Tukey, en el caso de haber obtenido un ANOVA significativo. El criterio para determinar la significancia estadística fue de $p < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 Efectos de la activación de los receptores CB1 en el NAcS sobre la ingesta de alimento

De acuerdo con los resultados obtenidos, se encontró que en la primera hora de registro la ingesta de alimento fue significativamente diferente entre los tratamientos [$F_{(3,15)} = 24.73$; $p < 0.0001$], la prueba *post hoc* de Tukey detectó un incremento significativo de la ingesta de alimento estándar en el grupo tratado con CP 55,940 (0.25 μg) con respecto al grupo vehículo ($p < 0.001$); paralelamente, se observó que el pretratamiento con AM 251 (0.5 μg) revirtió el efecto de la administración de CP 55,940 (0.25 μg) y la administración de AM 251 (0.5 μg) por si misma estimuló la ingesta de alimento estándar (ver Figura 5 A). Durante la segunda hora de registro, los tratamientos no tuvieron efectos significativos (ver Figura 5 B).

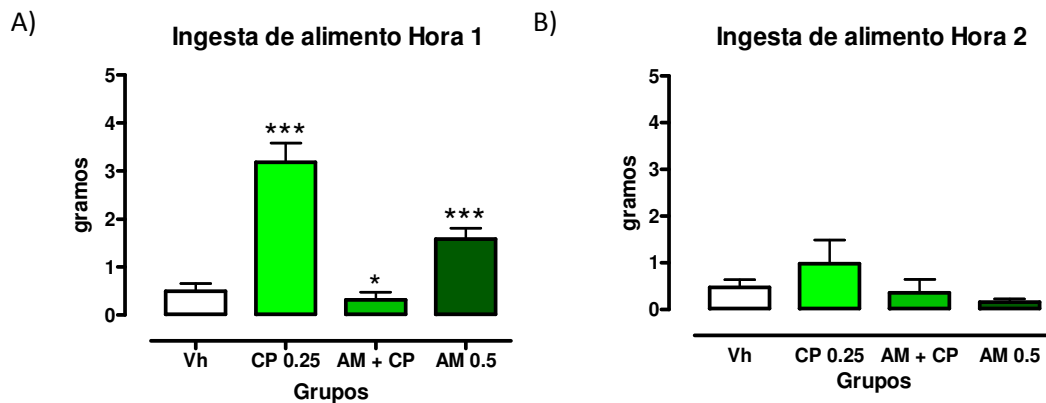


Figura 5. Ingesta de alimento estándar en términos de la media \pm EEM de los grupos con diferentes tratamientos durante la primer (A) y segunda (B) hora de registro. *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ vs el grupo CP 0.25.

5.2 Habitación al programa de alimentación restringida y consumo de alimento palatable

En el periodo de habitación, los sujetos incrementaron su actividad antes de que se le presentara el alimento estándar [$F_{(3,5)} = 6.54$; $p < 0.01$], específicamente en la actividad exploratoria (husmeo), esta variable se estabilizó en los días 3 y 4, lo que refleja la expresión del fenómeno de la actividad anticipatoria al alimento (ver Figura 6).

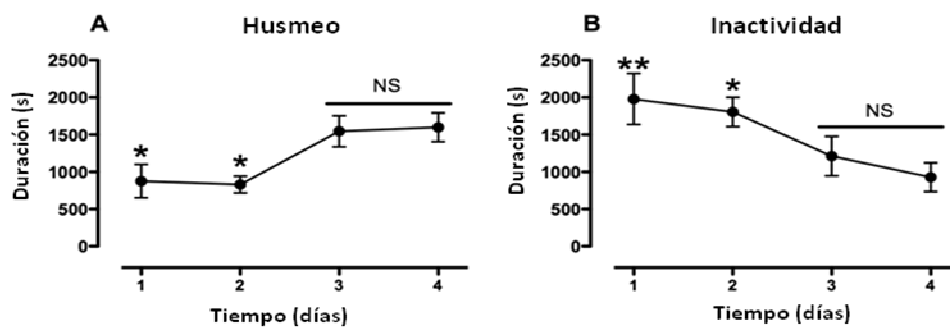


Figura 6. Se muestra la media \pm EEM de la duración acumulada de las categorías de husmeo (A) e inactividad (B) durante los 4 días de habitación. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ vs los días 3 y 4 del periodo de habitación.

Por su parte, la ingesta del alimento estándar se estabilizó [$F_{(3,7)} = 21.61$; $p < 0.001$] a partir del segundo día del periodo de habitación (en los días 2-4 no se incrementó significativamente). La dieta palatable igualmente se incrementó en el segundo día del periodo de habitación [$F_{(3,7)} = 6.24$; $p < 0.001$] y permaneció estable los días 2-4. El peso corporal fue monitoreado para verificar que el paradigma de privación alimentaria no afectara con el desarrollo de los animales perdiendo peso, observándose que los sujetos seguían ganado peso. Lo anterior muestra que los sujetos de experimentación se adaptaron al programa de alimentación restringida y a la exposición de la dieta palatable (ver Figura 7).

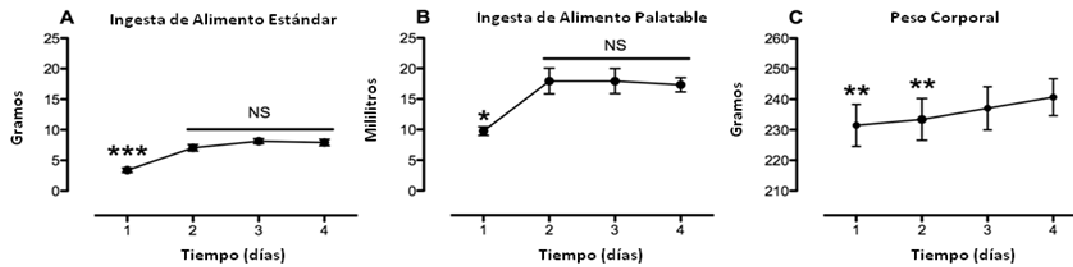


Figura 7. Se muestra la media \pm EEM de la ingesta (g) de alimento estándar (A), de alimento palatable (ml) (B) y del peso corporal (g) durante los 4 días de habituación. *** $p < 0.001$ y * $p < 0.05$ vs los días 2-4, ** $p < 0.01$ vs los días 3 y 4.

5.3 Efectos de la activación de los receptores CB1 del NAcS sobre la ingesta de la dieta palatable.

Los resultados se muestran en medias del porcentaje de cambio (el consumo basal promedio por sujeto era convertido a 100%, cada sujeto fue su propio control) de la ingesta del alimento palatable de las ratas que recibieron la administración intra-*accumbens* de los distintos fármacos.

En los sujetos tratados con ACEA (0.25, 0.5 y 0.75 μg) se observó que la ingesta del alimento palatable se incrementó significativamente de manera dosis-dependiente [$F_{(3,24)}=14.38$; $p < 0.001$] (ver Figura 8), cabe destacar que el consumo del alimento estándar (que se dio siempre previo al alimento palatable) no disminuía. (datos no mostrados).

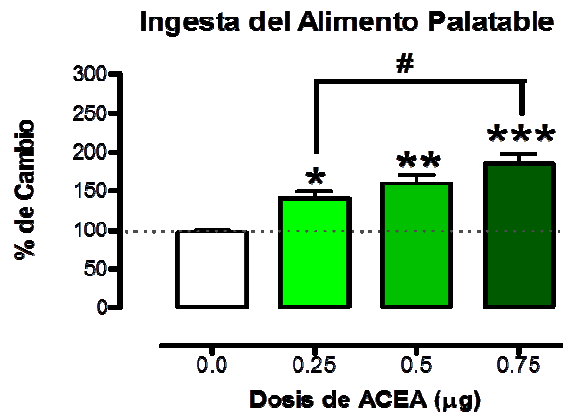


Figura 8. Porcentaje de cambio de la Ingesta de alimento palatable en términos de medias \pm EEM de los grupos tratados con diferentes dosis del agonista de los receptores CB1, ACEA. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ y * $p < 0.05$ vs el grupo vehículo (VH). # $p < 0.05$ dosis de 0.25 vs 0.75 μg .

5.4 El efecto estimulador de la activación de los receptores CB1 en NAcS sobre la ingesta de alimento palatable fue prevenido por el pretratamiento con AM 251

A partir de los resultados del experimento anterior, se seleccionó la dosis media efectiva de ACEA para obtener más evidencia farmacológica de que el receptor CB1 es el mediador de los efectos estimuladores de la ingesta de alimento palatable inducidos por el agonista canabinoide. Así, se observó que en los sujetos que recibieron la inyección intra-accumbens de ACEA (0.5 μg) el pretratamiento con AM 251 (0.5 μg) bloqueó por completo el efecto estimulador [$F_{(3,19)}=8.213$; $p < 0.001$]. El antagonista por sí mismo no produjo cambios significativos sobre la ingesta del alimento palatable (ver Figura 9).

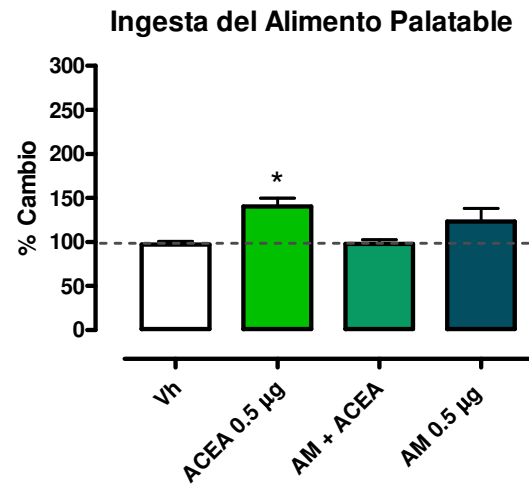


Figura 9. Porcentaje de cambio de la Ingesta de alimento palatable en términos de medias \pm EEM de los grupos con diferentes tratamientos. * $p < 0.05$ vs el grupo vehículo (Vh).

6. DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó sistemáticamente el efecto de la activación de los receptores CB1 de la región *shell* del núcleo *accumbens* para determinar si la hiperfagia inducida por canabinoides está relacionada con cambios en las propiedades hedónicas de alimento. En un primer momento, se realizó un experimento para mostrar que la activación de los receptores CB1 del NAcS estimula el consumo de una dieta estándar de laboratorio, administrando *in situ* CP 55,940, agonista de los receptores CB1. Nuestros resultados fueron consistentes con lo que se reporta en la literatura, pues al igual que la administración intra-*accumbens* de anandamida o 2-AG, la administración de CP 55,940 estimula la ingesta de alimento (Kirkham, Williams, Fezza y Di Marzo, 2002; Soria-Gómez *et al.*, 2007).

Posteriormente, con el diseño de un programa de alimentación restringida y la exposición a la dieta palatable se tuvo como principal objetivo implementar un protocolo alimentario que asegurara que la ingesta de alimento se diera principalmente por sus propiedades hedónicas (aislando en la medida de lo posible el componente energético y homeostático), por lo que primero se eligió un alimento que fuera lo suficientemente atractivo, sensorialmente hablando, para las ratas. A este respecto, en la literatura se encuentran trabajos que reportan el uso de alimentos palatables como cerezas confitadas (Melis *et al.*, 2007), manteca vegetal endulzada con sacarosa al 10% (Bello, Coughlin, Redgrave, Ladenheim, Moran y Guarda, 2012), alimento estándar (pellet) molido y mezclado con 33% de leche condensada, 7% de sacarosa y 27% de agua (Harrold, Elliot, King, Widdowson y Williams, 2002), entre otros. La característica que comparten todos estos alimentos es el sabor dulce, lo que en conjunto con la posibilidad de emplear una dieta líquida, resultó en un alimento sumamente atractivo para las ratas que técnicamente facilitaba la cuantificación de su consumo, por esta razón se optó por utilizar leche evaporada endulzada con sacarosa al 10%. Paralelamente, para que los sujetos consumieran ese alimento por el sabor y no por su contenido energético, se optó por restringir a los sujetos y posteriormente darles acceso al

alimento estándar, lo cual resultó, ya que después de las 22 horas de privación alimentaria, al presentar el alimento los sujetos se dedicaron a comer, bastando con una hora para consumir gran parte de la dieta diaria. Las observaciones realizadas durante el periodo de habituación proporcionan la evidencia de que los sujetos se adaptaron apropiadamente al protocolo alimentario de la presente investigación, ya que los patrones de consumo de alimento (ambas dietas) se estabilizaron entre los primeros 2 y 3 días de la habituación, además de que los animales continuaron ganando peso corporal. En consistencia con lo anterior, con este procedimiento se pudo reproducir el fenómeno de la hiperactividad anticipatoria al alimento descrita por Moran y Tamashiro (2007).

A partir de los resultados obtenidos en los experimentos de la ingesta de alimento estándar, se decidió emplear ACEA como agonista de los receptores CB1, debido a que este último tiene mayor afinidad por dichos receptores (Pazos y Mato, 2002). Así, encontramos que la activación de los receptores CB1 de la región *shell* del núcleo *accumbens* estimula de manera dosis-dependiente la ingestión de alimento palatable en los sujetos que se encontraban pre-saciados. Este hallazgo confirma, por un lado, el papel estimulador de la ingesta de alimento que tienen los canabinoides (Kirkham, Williams, Fezza y Di Marzo, 2002; Di Marzo, Bifulco y Petrocellis, 2004; Soria-Gómez et al., 2007), además de que proporcionan evidencia de que este efecto hiperfágico tiene un fuerte componente hedónico que depende de las propiedades sensoriales del alimento, por lo que se confirma la hipótesis de que los canabinoides también pueden producir hiperfagia por un mecanismo que es independiente de la homeostasis energética, aumentando la ingesta de alimento sensorialmente atractivo (hedónicamente positivo), probablemente incrementando el valor reforzante del alimento. Esta propuesta tiene sustento en los hallazgos de Melis *et al* (2007), quienes encontraron por medio de experimentos de microdiálisis que las concentraciones extracelulares de dopamina en el núcleo *accumbens* se incrementan en presencia de alimento palatable y que las inyecciones intra-*accumbens* de Rimonabant prevenían este efecto. En consistencia con lo anterior, Fulton (2010), menciona que la regulación

hedónica de la conducta sexual, el consumo de drogas de abuso y la ingesta de alimento comparten los mismos circuitos cerebrales, donde el núcleo *accumbens* es uno de los principales responsables del procesamiento de la información relacionada con los aspectos reforzantes de los estímulos, y que éstas a su vez dependen en gran medida del aumento de la liberación de dopamina en la región *shell* del núcleo *accumbens*, donde muy probablemente los receptores CB1 estén jugando un papel muy relevante.

7. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en los experimentos del presente trabajo, es posible llegar a las siguientes conclusiones:

1. La activación de los receptores CB1 del *shell* del núcleo accumbens es una señal estimuladora potente de la alimentación, tanto del alimento estándar como del palatable.
2. Uno de los mecanismos implicados en el efecto estimulador de los agonistas canabinoides consiste en incrementar las propiedades sensoriales hedónicamente positivas del alimento vía la activación de receptores CB1 localizados en la región *shell* del núcleo *accumbens*.

8. PERSPECTIVAS

A pesar de que en el presente estudio se contestaron algunas preguntas, los hallazgos sugieren nuevas interrogantes y obligan a replantear el concepto del sistema de los endocannabinoides como blanco terapéutico para el tratamiento de la obesidad, pues a pesar de que el uso clínico del Rimonabant ha sido retirado por sus efectos secundarios en el ámbito psicológico y psiquiátrico, la comprensión de los aspectos moleculares, farmacológicos y conductuales de la acción moduladora de los cannabinoides sobre la conducta alimentaria podría tener un impacto importante en la práctica clínica.

Uno de los aspectos que requieren investigación a profundidad es el de la relación de la actividad endocanabinoide con las propiedades reforzantes de los estímulos, de manera que se pueda determinar si la activación de los receptores CB1 de regiones límbicas también puedan estimular la ingestión de alimento por el incremento de las propiedades reforzantes del alimento y no sólo por el incremento sus propiedades sensoriales hedónicamente positivas. Aunado a lo anterior, sería igualmente relevante estudiar en un modelo animal si es que los sujetos que desarrollan obesidad por sobreingesta calórica responden con mayor intensidad a los estímulos reforzantes. En otras palabras, ¿los estímulos alimentarios reforzantes son más “reforzantes” en los sujetos propensos a desarrollar sobrepeso?, ¿existe un componente canabinoide en este fenómeno?, ¿el componente canabinoide en la regulación de la liberación de dopamina en el circuito de la recompensa funciona diferente en los sujetos obesos o con sobrepeso?

Finalmente, sería importante conocer la relevancia del sistema endocanabinoide tanto en el NAc y otros núcleos relacionados con los aspectos hedónicos del alimento y la implicación de otros sistemas como es el dopaminérgico, el sistema opioide, gabaérgico, igual entre sujetos con sobrepeso y normopeso en tratamientos crónicos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Araújo, M. F.; Aguiar, D. C. y Silveira, F. (2006). Anxiolytic-like of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. *Neuropharmacology*, 52, 958-965.
- 2 Bello, N.T.; Coughlin, J.W.; Redgrave, G.W.; Ladenheim, E.E.; Moran, T.H. y Guarda, A. S. (2012). Dietary conditions and highly palatable food access alter rat cannabinoid receptor expression and binding density. *Physiology & Behavior*, 105, 720-726.
- 3 Ben, M. (2006). Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. *Journal of Ethno-Pharmacology*, 105, 1-25.
- 4 Berdyshev, E.V.; Boichot, E. y Lagente, V. (1996). Anandamide, a new look on fatty acid ethanolamidas. *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling*, 15, 49-67.
- 5 Bosier, B.; Giulio, G.M.; Hermans, E. y Lambert, D.M. (2010). Functionally selective cannabinoid receptor signalling: Therapeutic implications and opportunities. *Biochemical & Pharmacology*, 80, 1–12.
- 6 Carlson, N.R. (2007). Fisiología de la Conducta. Madrid: Pearson. Cap. 12, 411-451.
- 7 Cluny, N. L., Chambers, A. P., Vemuri, V. K., Wood, J. T., Lindsay, L. K., Freni, C., Reimer, R. A., Makriyannis, A. y Sharkey, K. A. (2011). The neutral cannabinoid CB1 receptor antagonist AM4113 regulates body weight through changes in energy intake in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 7(3), 537–543
- 8 Corominas, J.; Pascual, J.A. (1985). Diccionario Crítico Etimológico Castellano e Hispánico. Madrid: Gredos. Vol. VII, 346-347.
- 9 Cota, D.; Tschöp, M.H.; Horvarth, T.L. & Levine, A.S. (2006). Cannabinoids, opioids and eating behavior: The molecular face of hedonism? *Brain Research Reviews*, 51, 85-107
- 10 De la Fuente, J. R. (2000). *Biología de la Mente*. México: F.C.E.

- 11 De Luca, M.A.; Solinas, M.; Bimpisidis, Z.; Goldberg, S.R. y Di Chiara, G. (2011). Cannabinoid facilitation of behavioral and biochemical hedonic test response. *Neuropharmacology*, 3, 1-8.
- 12 Després, J., Golay, A. & Sjöström, L. (2005), Effects of Rimonabant on Metabolic Risk Factors in Overweight patients with Dyslipidemia. *New England Journal Medicine*, 353 (20), 2121-2134.
- 13 Di Marzo, V. (2008). Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce ?. *Nature: Reviews, drugs discovery*, 7, 438-455
- 14 Di Marzo, V. (2006). A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. *Trends in Pharmacological Science*, 27(3), 134–140.
- 15 Di Marzo, V., Bifulco, M. y De Petrocellis, L. (2004). The Endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews*, 3, 771–784.
- 16 Di Marzo, V., Goparaju, S. K., Wang, L., Liu, J., Batkai, S., Jarai, Z., et al. (2001). Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*, 410(6830), 822–825.
- 17 El Khoury, M.E.; Giorgovski, V.; Moutsimilli, L.; Giros, B. y Tzavara, E. T. (2012). Interactions between the cannabinoid and dopaminergic systems: Evidence from animal studies. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry ¿Faltan datos?*
- 18 Escartín-Pérez, E.R.; Cendejas-Trejo, N.M.; Cruz-Martínez, A.M.; González-Hernández, B.; Mancilla-Díaz, J.M. y Florán-Garduño, B. (2009). Role of cannabinoid CB1 receptors on macronutrient selection and satiety in rats. *Physiology and Behavior*, 96, 646–650.
- 19 Fitzgerald, M.L.; Shobin, E. y Pickel, V. M. (2012). Cannabinoid modulation of the dopaminergic circuitry: Implications for limbic and striatal output. *Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, in press.
- 20 Fulton, S. (2010). Appetite and Reward. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31, 85-103.
- 21 García, M. M. (2008). *Lecciones Preliminares de Filosofía*. México: Época.

- 22 Gardner, E. L. (2005). Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 81(2), 263-284. Espacio diferente
- 23 Gelfand G.E. y Cannon, C.P. (2006). Rimonabant: a cannabinoid receptor type 1 blocker for management of multiple cardiometabolic risk factors. *J Am Coll Cardiol*; 47:1919–26.
- 24 Harrold, J.A.; Elliot, J.C.; King, P.J.; Widdowson, P.S. y Williams, G. (2002). Down-regulation of cannabinoid-1 (CB1) receptors in specific extrahypothalamic regions of rats whit dietary obesity: a role for endogenous cannabinoids in driving appetite for palatable food? *Brain Research*. 952, 232-238.
- 25 Jiang, H.E.; Li, X.; Zhao, Y.X.; Ferguson, D.K.; Hueber, F.; Bera, S.; Wang, Y.F.; Zhao, L.C.; Liu, C.J.; & Li, C.S. (2006). A new insight into *Cannabis sativa* (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. *Journal of Ethno-Pharmacology*, 108, 414-422.
- 26 Kandel, E.; Schwartz, J.H. y Jessell, T.M. (2006). *Principios de Neurociencias*. USA: McGraw-Hill.
- 27 Kearn, C.S. y Hillard, C.J. (1997). Rat microglial cell express the peripheral-type cannabinoid receptor (CB2) which is negatively coupled to adenylyl cyclase. *Proceedings of the Symposium on the Cannbinoids*, Burlington, Vermont, International Cannabinoid Research Society, 57
- 28 Kirkham, T. C. y Williams, C. M. (2001). Endogenous cannabinoids and appetite. *Nutrition Research Reviews*, 14, 65-86.
- 29 Kirkham, T.C.; Williams, C.M., Fezza, F., y Di Marzo, V. (2002). Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in realtion to fasing, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *British Journal of Pharmacology*, 136, 550-557.
- 30 Lisboa, S. F., Resstel, L., Aguiar, D. C. & Guimães, F. S. (2008). Activation of cannabinoid CB1 receptors in the dorsolateral periaqueductal gray

- induces anxiolytic effects in rats submitted to the Vogel conflict tests. *European Journal of Pharmacology*, 593, 73-78.
- 31 McKim, W.A. (2000). *Drugs and Behavior. An introduction to behavioral pharmacology*, 4th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, 400p.
- 32 Melis, T.; Salvatora, S.; Sanna, F.; Boi, A.; Argiolas, A.; Melis, M.R. (2007). The cannabinoid antagonist SR 141716 (Rimonabant) reduces the increase of extra-cellular dopamine release in the rat nucleus accumbens induced by a novel high palatable food. *Neuroscience Letters*. 419, 231-235.
- 33 Monteleone, P.; Matias, I.; Martiadis, V.; De Petrocellis, L.; Maj, M. y Di Marzo, V. (2005). Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1216-1221.
- 34 Moran, T.H. y Tamashiro, K.L. (2007). Curt Richter: Spontaneous activity and food intake. *Appetite*, 49, 368-375.
- 35 Nestler, E.J.; Hyman, S.E. y Malenka, R.C. (2009). *Molecular Neuropharmacology, A foundation for Clinical Neuroscience*. USA: McGraw-Hill, 2° Edition, 205-209
- 36 Olaiz, G. F.; Rivera, J. D.; Shamah, T. L.; Rojas, R.; Villalpando, S. H.; Hernández, M. A.; Sepúlveda, J. A. (2006). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006*. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. 77-78.
- 37 Organización Mundial de la Salud (2003). *Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas. Informe de una consulta mixta de expertos OMS*. Ginebra:OMS, 916, 13-23
- 38 Pattij, T.; Wiskerke, J. y Scoffemeer, A. (2008). Cannabinoid modulation of executive functions, *European Journal of Pharmacology*, 585, 458–463.
- 39 Paxinos, G. y Watson, G. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. California:USA.
- 40 Pazos, A. y Mato, S. (2002). Farmacología de los receptores para cannabinoides. *Guía Básica sobre los Cannabinoides*, 3, 33-41.

- 41 Perello, M.; Chuang, J.; Scott, M. M. & Lutter, M. (2010). Translational Neuroscience Approaches to Hyperphagia. *The Journal of Neuroscience*, 30(35),11549–11554.
- 42 Pi-Sunyer, F., *et al.* (desatar el al.) (2006). Effect of the Rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in over weight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA*, 353, 2121-2134.
- 43 Quarta, C.; Bellocchio, M.; Mancini, G.; Mazza, R.; Cervino, C.; Brulke, *et al.* (2010). CB1 Signaling in Forebrain and Sympathetic Neurons Is a Key Determinant of Endocannabinoid Actions of Energy Balance. *Cell Press*, 11, 273-285.
- 44 Real Academia Española (22.^a Ed.) (2001). *Diccionario de la Lengua Española*. Madrid:Espasa
- 45 Rodríguez, R. (2010, Enero 22). Alerta por “epidemia” de obesidad en México. *El Universal*, 36
- 46 Scheen, A. J., Finer, N., Hollander, P., Jensen, M. D. & Van Gaal, L. F. (2006). Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet*, 368 (11), 1660-1672.
- 47 Seger, C. (2009). The Involvement of Corticostriatal Loops in Learning Across Tasks, Species, and Methodologies. *Advances in Behavioral Biology*, 58, 25-39
- 48 Siegfried, Z.; Kanyas, K.; Latzer, Y.; Karni, O.; Bloch, M.; Lerer, B. y Berry, E.M. (2004). Association study of cannabinoid receptor gene (CNR1) alleles and anorexia nervosa: difference between restricting and bingeing/purging subtypes. *Am. J. Med. Genet., Part B Neuropsychiatr. Genet.*, 125, 126-130.
- 49 Skaper, S.D.; Buriani, A.; Dal Toso, R.; Petrelli, L.; Romanello, S.; Facci, L.; *et al.* (1996). The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of

- excitotoxic death in cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 93:3984–9.
- 50 Soria-Gómez, E.; Matias, I.; Rueda-Orozco, P.E.; Cisneros, M.; Petrosino, S.; Navarro, L.; Di Marzo, V. y Próspero, O. (2007). Pharmacological enhancement of the endocannabinoid system in the nucleus accumbens shell stimulates food intake and increase c-Fos expression in the hypothalamus. *British Journal of Pharmacology*. 151, 1109-1116.
- 51 Svíženská, I.; Dubový, P. y Šulcová, A. (2008). Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures - A short review. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 90, 201-511
- 52 Tallet, A. J.; Blundell, E. J. y Rodgers, R. J. (2009). Effects of acute low-dose combined treatment with naloxone and AM 251 on food intake, feeding behavior and weight gain in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 91, 358–366.
- 53 Tallet, A. J.; Blundell, E. J. y Rodgers, R. J. (2010). Effects of acute low-dose combined treatment with rimonabant and sibutramine on appetite and weight gain in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 97, 92–100.
- 54 Van Dongen, Y.C.; Kolomiets, B.P.; Groenewegen, H.J.; Thierry, A.M. y Deniau, J.M. (2009). A subpopulation of Mesencephalic Dopamine Neurons Interfaces the Shell of Nucleus Accumbens and the Dorsolateral Striatum in Rats. *Advances in Behavioral Biology*, 58, 119-130.
- 55 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.
- 56 Viveros, M. P., Marco, E. M. & File, S. E. (2005). Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81, 331-342.

- 57 Williams, C. M., Rogers, P. J., y Kirkham, T. C. (1998). Hyperphagia in pre-fed rats following oral delta9-THC. *Physiology & Behavior*, 65(2), 343–346.
- 58 Wolf, J.A.; Moyer, J.T. y Finkel, L.H. (2009). The Effects of Dopaminergic Modulation on Afferent Input Integration in the Ventral Striatum Medium Spiny Neuron. *The Basal Ganglia IX, Advances in Behavioral Biology*, 58,169-190.