



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES**

**CAMBIOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE RATAS JOVENES  
EXPUESTAS A UNA DIETA DE CAFETERIA Y A LA ALTERACION DEL CICLO  
SUEÑO-VIGILIA.**

**TESIS**

Que para obtener el título de licenciado en Psicología presenta:

ESPITIA BAUTISTA ESTEFANIA NOEMI

OSNAYA RAMIREZ RODRIGO IVAN

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

MÉXICO D.F OCTUBRE 2013





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## ***Agradecimientos***

Al PAPIIT proyecto IN224911 por las becas otorgadas para finalización de tesis, ya que gracias a este apoyo pudimos realizar este trabajo de investigación.

Agradecemos a la Dra. Carolina Escobar por darnos la oportunidad de trabajar en su laboratorio... gracias por su apoyo.

**A mis padres:**

Mamá y papá gracias por convertirme en quien soy  
Y por todas las cosas que no soy  
Perdónenme por todas las cosas que no les he dicho  
Y por los momentos que olvidé

Mamá y papá les pido recuerden toda mi vida  
Que me enseñaron a amar y se sacrificaron  
Piensen en esos primeros y tempranos días  
Y cómo he cambiado a lo largo del camino

Y sé que creyeron en mí  
Y sé que tuvieron sueños  
Y lamento que les haya llevado tanto tiempo poder verlo  
Pero a pesar del tiempo, estoy donde estoy gracias a ustedes

Mamá y papá olviden los momentos en que los hice llorar  
Perdónenme por no hacer lo correcto,  
Por todas las tormentas que pude haber causado

Mamá y papá espero que esto los haga sonreír  
Espero que estén contentos con mi vida  
En paz con cada elección que he tomado  
Y con como he cambiado a lo largo del camino

Y sé que creyeron en todos mis sueños  
Y sé los debo todo a ustedes, mamá y papá....

LOS AMO MUCHO

**A mis hermanos:**

Que toda mi vida han estado ahí apoyándome, dándome consejos y haciendo que mi recorrido no sea tan difícil gracias a la enseñanza que cada uno me ha aportado. Siempre estaré ahí para ustedes.

**A mis sobrinos:**

Eliana, Alan y Angel, que han sido como mis hermanitos pequeños y me han dado tanta lata como muchas alegrías y eso no lo cambiaría por nada. A Isa y a Aby que las quiero como a mis propias hijas y han despertado en mi ese instinto maternal y que por ellas sé que puedo amar muchísimo. ¡Los amo mucho a todos!

### **A mis amigos:**

Abi y Jessy por estar ahí cada que las necesito, por ser mis terapeutas y compañeras de drama, felicidad, aventura, tristeza... en fin, esta extraña cosa llamada vida.

A los cachudos: Migue, Ale, Billy, Tavo, Cristóbal, Leisy y Nelly por hacerme el tiempo súper divertido desde la preparatoria.

Erika Lorenzo y Rosa Guerra mis amigochas de la uni, con las que compartí horas y horas de clase, nado y baile. A Erika Gutiérrez por ser parte de mi formación como profesionista y como persona crítica.

A Iván Osnaya por acompañarme en este interminable viaje llamado vida, donde hemos compartido nuestra formación como psicofisiólogos (muy pronto también como doctorantes) y nuestra amistad que para mí es una de las más especiales hasta ahora. Muchas gracias por todo.

A mi colega Mario Velasco por invitarme a ser parte de su investigación, por tantas horas de plática y trabajo. Gracias a ello estamos titulados.

Estefanía Espitia.

Dedico esta tesis a mi familia, en especial a mi padres ya que ellos siempre estuvieron a mi lado desde que comencé mi carrera como estudiante, enseñándome cómo es que cada paso que das, sólo es el primer escalón de una escalera infinita en la cual llegar al último peldaño puede ser muy difícil, pero la lucha por llegar ahí es interna y es lo que definió la forma en la que veo la vida hoy en día.

Por cada vez que llegaba a mi casa después de un examen en la primaria, secundaria, preparatoria y le mostraba a mi papa mis calificaciones y el me decía: “la próxima vez saca 11”, gracias por eso, por la motivación de dar siempre más y más, a mi mamá que siempre se ha sentado al lado mío para darme su conocimiento, desde el día que me enseñó a dibujar hasta el día que me enseñó a resolver ecuaciones de 1er grado y todas las veces que tuvo que escuchar las múltiples presentaciones que realicé durante la licenciatura, gracias por ser la maestra más importante en mi vida, pues no sólo me enseñaste a ser buen estudiante...me enseñaste a ser buen ser humano.

A mi hermana Alejandra Osnaya porque desde que éramos niños fue un ejemplo a seguir tanto como persona como estudiante, porque cuando ella obtenía buenas notas en la escuela yo también quería obtener buenas notas, cuando ella deseaba ingresar a una licenciatura yo también deseaba lo mismo, gracias por ser un ejemplo a seguir, por cada risa, enseñanza, juegos y golpes.

A mis amigos más importantes por ayudarme y tratar de entenderme cuando llegue a faltarles por estar metido en los libros, a los profesores que en la facultad me dirigieron a el camino en el que hoy estoy, en especial a la Dra. Escobar que me dio la oportunidad de realizar este trabajo en su laboratorio....gracias por el apoyo.

Por último pero no menos importante a mis compañeros de laboratorio por compartir una misma meta: Sergio Diego, Cinthya ,Susana y todos los que han ido emigrando a otros laboratorios, pero en especial a Mario Velasco y a Estefanía “Estefa” Espitia con quienes realice este trabajo y que sin su ayuda, comprensión, trabajo y esfuerzo esta tesis no hubiera sido posible, gracias a ustedes dos pero sobre todo a Estefa pues tú fuiste la que en todos estos años

de conocernos ha tenido que escuchar mis quejas, tristezas, alegrías y demás...gracias por todo.

A ti Madahi Palma por *compartir* tu tiempo conmigo...porque desde el día que comenzamos a platicar y a conocernos me has regalado sonrisas eternas y sueños invaluable, gracias por cada día que pasamos juntos en el laboratorio, por tus alegrías, tus sueños que me compartes y por cada momento que te das para escucharme, sobre todo por el apoyo que me brindaste cuando me preparaba para ingresar al posgrado, gracias por cada momento y por estar a mi lado.

**R. Iván Osnaya**

## INDICE

ACRÓNIMOS.....	1
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
1- <b>Obesidad.....</b>	7
<i>1.1-Consecuencias de la obesidad.....</i>	7
2- <b>Estilos de vida en adolescentes.....</b>	8
3- <b>Alteración del ciclo sueño-vigilia.....</b>	10
<i>3.1- Privación de sueño y consumo de alimento.....</i>	10
<i>3.2- Privación de sueño en roedores.....</i>	12
4- <b>Mecanismos cerebrales para la ingestión de alimentos</b>	13
<i>4.1- Regulacion de la ingesta de alimentos por medio de las neuronas productoras de POMC y el peptido <math>\alpha</math>MSH.....</i>	16
<i>4.2- Sistema orexigénico.....</i>	17
5- <b>Dieta de cafetería.....</b>	21
<i>5.1 -Efectos sobre el peso corporal.....</i>	22
<i>5.2 –Efectos de la dieta de cafetería sobre sistemas neuronales.....</i>	23
<i>5.3 Efectos reforzantes de la dieta “sabrosa”.....</i>	23
6- <b>Estructuras límbicas y consumo de dieta de cafetería.....</b>	24
<i>6.1- Sistemas involucrados en adicciones y su relación con la ingesta de alimento sabroso.....</i>	26
<i>6.2- Cambios neuroplásticos: Proliferación de</i>	



<i>astrocitos</i> .....	29
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	33
<b>OBJETIVOS</b> .....	34
<b>HIPÓTESIS</b> .....	35
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	36
<b>Sujetos y condiciones</b> .....	36
<b>Diseño experimental</b> .....	36
<b>Protocolo de alteración del ciclo sueño- vigilia</b> .....	37
<b>Administración de dieta de cafetería</b> .....	37
<b>Ingestión de alimento y peso corporal</b> .....	38
<b>Fijación y procesamiento de tejidos</b> .....	38
<b>Técnica de Inmunohistoquímica</b> .....	38
<b>Análisis del tejido</b> .....	39
<b>Análisis estadístico</b> .....	40
<b>RESULTADOS</b> .....	41
<b>Ganancia de peso</b> .....	41
<b>Ingesta de alimento</b> .....	43
<b>Ingesta total</b> .....	44
<b>Consumo de alimento y dieta de cafetería</b> .....	45
<b>Consumo de dieta de cafetería</b> .....	46
<b>Consumo de agua con azúcar</b> .....	46
<b>Consumo de dieta de cafetería (componentes)</b> .....	47

<b>Inmunohistoquímica- Orexinas (APF).....</b>	<b>48</b>
<b>Orexinas (HL).....</b>	<b>50</b>
<b>α-MSH .....</b>	<b>52</b>
<b>Δ FOS-B (core).....</b>	<b>54</b>
<b>Δ FOS-B (shell).....</b>	<b>56</b>
<b>GFAP (shell).....</b>	<b>58</b>
<b>GFAP (core).....</b>	<b>60</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....</b>	<b>70</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>83</b>



## ACRÓNIMOS

• $\alpha$ -MSH.....	Hormona estimulante de melanocitos $\alpha$
• $\beta$ -MSH.....	Hormona estimulante de melanocitos $\beta$
• $\gamma$ -MSH.....	Hormona estimulante de melanocitos $\gamma$
• ABC.....	Avidina y peroxidasa de rábano Biotinilada
• AGRP.....	Proteína relacionada a Agouti
• AMPc.....	Adenosín monofosfato cíclico
• APF.....	Área perifornical
• Arc.....	Núcleo arqueado
• BST.....	Amígdala basolateral
• C.....	Control
• Caf.....	Cafetería
• Caf/rue.....	Cafetería y rueda
• CART.....	Péptido regulador de la transcripción de anfetamina y cocaína
• Cdk5.....	Caldmodulina dependiente de cinasa 5
• CPF.....	Corteza prefrontal
• CPFm.....	Corteza prefrontal medial
• DA-D1R.....	Receptor a dopamina 1
• DMH.....	Hipotálamo dorsomedial
• DR.....	Rafe dorsal
• ENSANUT.....	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
• GFAP.....	Proteína glial fibrilar acídica
• HDL.....	Lipoproteína de alta densidad
• HL.....	Hipotálamo lateral

• IMC.....	Índice de masa corporal
• LC.....	Locus coeruleus
• LDT.....	Núcleo tegmental laterodorsal
• PPT.....	Núcleo tegmental pedúnculo pontino
• MC3-R.....	Receptor a melanocortina 3
• MC4-R.....	Receptor a melanocortina 4
• MCH.....	Hormona concentradora de melanocortina
• mGluR5.....	Receptor metabotrópico glutamatérgico 5
• NAc.....	Núcleo accumbens
• NFkB.....	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
• NMDA.....	Receptor ácido N-metil-D-aspartato
• NPY.....	Neuropéptido Y
• NVM.....	Núcleo ventromedial del hipotálamo
• OMS.....	Organización mundial de la salud
• OrxA.....	Orexinas tipo A
• OrxB.....	Orexinas tipo B
• PB.....	Buffer de fosfatos
• PBS.....	Buffer de fosfato sódico
• PFA.....	Paraformaldehído
• POMC.....	Pro-opiomelanocortina
• PVN.....	Núcleo paraventricular
• Rec.....	Recuperación
• REM.....	Movimientos oculares rápidos
• RNAm.....	RNA mensajero

- Ru..... Rueda
- SNC..... Sistema nervioso central
- TMN..... Núcleo tuberomamilar
- VLPO..... Núcleo preóptico ventrolateral
- VTA..... Área tegmental ventral

## RESUMEN

La obesidad es una enfermedad multifactorial reconocida a nivel mundial, entre los múltiples factores que contribuyen a esta enfermedad se encuentra la falta de sueño. Tal es el ejemplo de los trabajadores nocturnos y adolescentes que se desvelan con el uso de la tecnología aunado al consumo de alimentos altos en grasas y azúcares en horarios no adecuados.

Se ha demostrado que la alteración del ciclo sueño-vigilia resulta en un mayor consumo de alimentos con alto contenido kilocalórico, lo cual lleva a cambios a nivel de señales metabólicas, como leptina e insulina; a su vez se ha descrito un cambio en los sistemas de neurotransmisión a nivel cerebral; en el hipotálamo lateral y el área perifornical se altera la producción de orexinas, las cuales están encargadas de dar una señal de activación y hambre al organismo; en el núcleo arqueado se modifican las neuronas productoras de pro-opiomelanocortinas (POMC) encargadas de dar señales de saciedad.

Por otra parte la privación de sueño también provoca una sensibilización en el circuito de recompensa, el cual se ha relacionado con el consumo de dietas altas en grasas y azúcares, esto sugiere que el consumo de alimento depende también de mediadores hedónicos; teniendo como evidencia la proyección de neuronas hipotalámicas a estructuras límbicas, como el núcleo accumbens y el área tegmental ventral. Estas últimas estructuras son activadas por el consumo de ciertas drogas provocando un proceso de neuroadaptación y plasticidad que puede observarse por la producción de proteína  $\Delta$  FOSB y proliferación de células gliales, vista con la expresión de la proteína glial fibrilar acídica (GFAP).

El objetivo de esta tesis es describir los cambios en los sistemas de neurotransmisión encargados de la ingestión de alimentos por mecanismos homeostáticos y hedónicos ante la alteración del ciclo sueño-vigilia y la ingestión de dietas con alto contenido calórico, por medio de la administración de dieta de cafetería y exposición a ruedas de actividad forzada en ratas jóvenes por 12 semanas se simuló las condiciones de alteración del ciclo sueño-vigilia e ingestión de dieta de cafetería (alimentos industrializados altos en grasa y azúcares) . Los resultados obtenidos muestran una mayor ganancia de peso, mayor ingestión de dieta de cafetería y disminución en el consumo de alimento chow; después de 12 semanas de protocolo se sometió a las ratas a condiciones estándar de sueño-vigilia y alimento chow *ad libitum* durante un mes, para observar si los efectos producidos por la dieta y alteración del ciclo sueño vigilia podrían ser revertidos.

La tendencia de los resultados en cuanto al consumo de dieta de cafetería coincide con los resultados de otros estudios dedicados a la administración de dietas altas en grasas y azúcares. El grupo sometido a alteración del ciclo sueño-vigilia por actividad forzada aunado a dieta de cafetería, mostró tendencias opuestas al grupo que solo consumió dieta de cafetería, sugiriendo que el hecho de estar bajo actividad forzada en la rueda funcionó como una señal moduladora a nivel central, pero no a nivel periférico. Futuros estudios con muestras mayores deben realizarse para poder obtener resultados representativos, a su vez se debe seguir recabando información en cuanto al mecanismo de la ingestión de alimentos y su interacción con las condiciones ambientales a las cuales están expuestos los organismos.

Palabras clave: Obesidad, dieta de cafetería, ingestión de alimentos.

## INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad multifactorial, entre sus causas se describe la alteración del ciclo sueño-vigilia, el sedentarismo y el consumo de alimentos altos en grasas y en carbohidratos. Por un lado las horas de sueño se han disminuido con el pasar de las décadas; el uso de la tecnología como las computadoras y los teléfonos celulares, las actividades recreativas nocturnas, así como la exigencia de cumplir con horarios establecidos en trabajos o escuelas, hacen que el tiempo para dormir disminuya. A su vez, el consumo de “comida chatarra” ha aumentado en los últimos años por la industrialización de estos alimentos; el acceso que se tiene a ellos aumenta día a día, teniendo al alcance alimentos no nutritivos y que a largo plazo su consumo podría convertirse en un mal hábito de vida.

El resultado de la suma de ambos factores puede verse reflejado en los trabajadores nocturnos, quienes tienen una actividad que los obliga a estar despiertos en sus horas de descanso, esto supone mayor tiempo destinado a realizar otras actividades como la ingestión de alimentos; algo semejante puede notarse en los adolescentes que se desvelan por el uso de las computadoras y pueden consumir alimentos con alto contenido energético durante el tiempo del desvelo, aumentando el riesgo de padecer obesidad a largo plazo.

Diversos estudios sugieren que tanto la alteración del ciclo sueño-vigilia como la ingestión de dietas altas en grasa modifican grupos neuronales involucrados en la regulación homeostática y en la respuesta hedónica a los alimentos. Estos cambios a largo plazo pueden resultar en alteraciones metabólicas, sobrepeso, así como el desarrollo de un proceso similar a las adicciones a la ingestión de dietas altas en grasas y azúcares.

Este proyecto tuvo como propósito simular las condiciones de alteración del ciclo sueño-vigilia e ingestión de alimentos altos en grasas y carbohidratos que tienen los jóvenes hoy en día y describir en un modelo experimental con ratas jóvenes los cambios en el sistema nervioso central (núcleo accumbens, núcleo arqueado e hipotálamo lateral) que se producen por la alteración de sueño



combinado a una dieta de cafetería, factores que pueden contribuir al desarrollo de obesidad.

El objetivo principal fue describir los cambios en los sistemas reguladores del consumo de alimento y de la respuesta hedónica en el sistema nervioso central; así como asociarlo a la ganancia de peso obtenida por una alteración del ciclo sueño-vigilia combinada a la ingestión de una dieta alta en grasa en ratas jóvenes.

## **1- Obesidad**

El sobrepeso y la obesidad se definen según la OMS como una acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal obtenido del peso en kg. entre la estatura expresada al cuadrado (IMC;kg/m<sup>2</sup>) es un indicador que se utiliza para clasificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso, mientras que un IMC igual o superior a 30 determina obesidad.

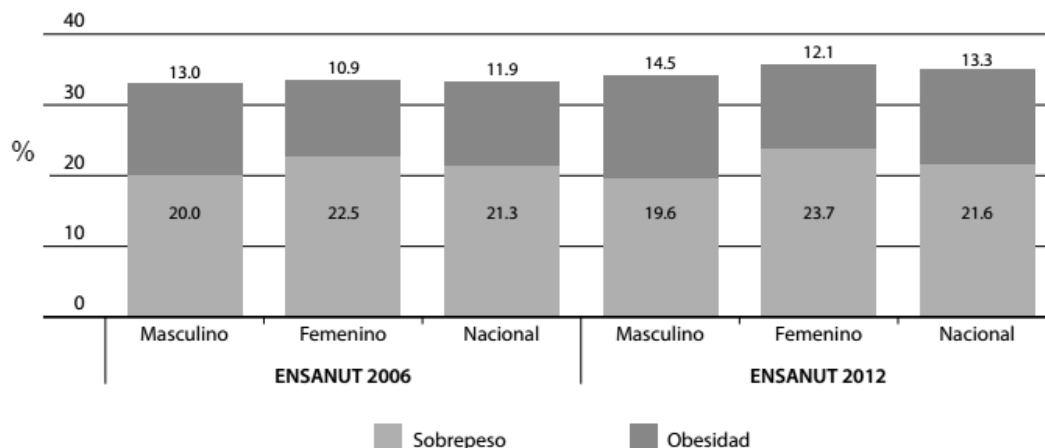
La obesidad es una enfermedad crónica, de origen multifactorial, en la que participan principalmente aspectos de tipo genético, ambiental, social, psicológico y de estilos de vida, que ocasionan profundas alteraciones metabólicas. Se ha propuesto que la obesidad ocurre por la pérdida de equilibrio en el balance energético ocasionada por el aumento en la ingestión de calorías y por una disminución en el gasto de las mismas (Morín y Lonngi, 2005); se estima que un cuarto de la población mundial adolescente padece sobrepeso u obesidad (Dietz y Robinson, 2005).

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición México 2012 encontró las siguientes proporciones en la población mexicana (Figuras 1, 2), en que se observa la comparación de sobrepeso y obesidad del año 2006 y 2012, en población adolescente (definida como la población de 10 a 19 años cumplidos); así como el estado nutricional de la población adulta mexicana.

### **1.2- Consecuencias de la obesidad**

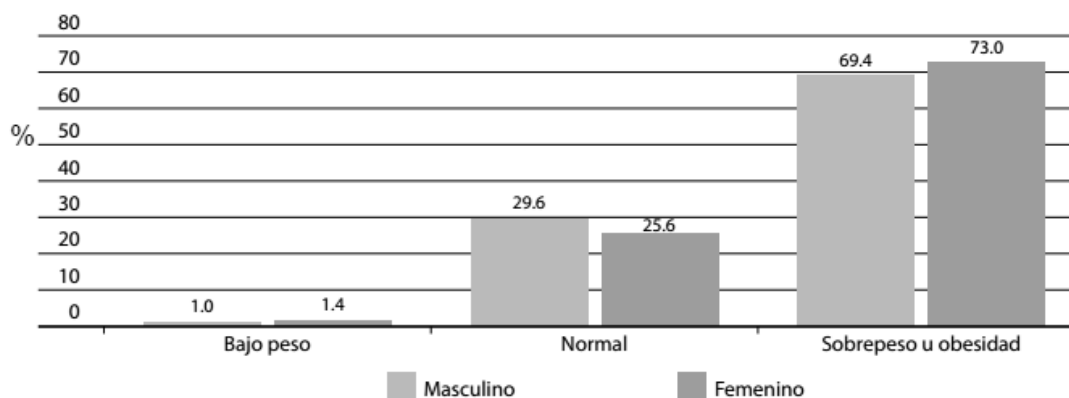
Las consecuencias de esta enfermedad son diversas, entre las que se encuentran mayor propensión a padecer hipertensión arterial (Spiegel *et al.*, 2010), resistencia a la insulina (Leproult y van Cauter, 2010), hiperlipidemia (Rolls *et al.*, 1980), diabetes mellitus tipo 2 (Sclafani y Springer, 1976) y síndrome metabólico (Froy, 2010), este último caracterizado por varios signos, como hipertensión arterial, glucosa elevada, triglicéridos altos, niveles bajos de HDL y obesidad abdominal. En México se puede observar una elevada prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 y de hipertensión en poblaciones de diferentes edades y sexo (ENSANUT, 2012).

### Prevalencia de sobrepeso y obesidad



**Figura 1.** Prevalencia de sobrepeso (amarillo) y obesidad (gris) en población de 12 a 19 años de edad de la ENSANUT México 2006 y ENSANUT México 2012, por sexo, de acuerdo con los criterios propuestos por la OMS en México. Modificado de ENSANUT, 2012.

### Estado nutricional en México

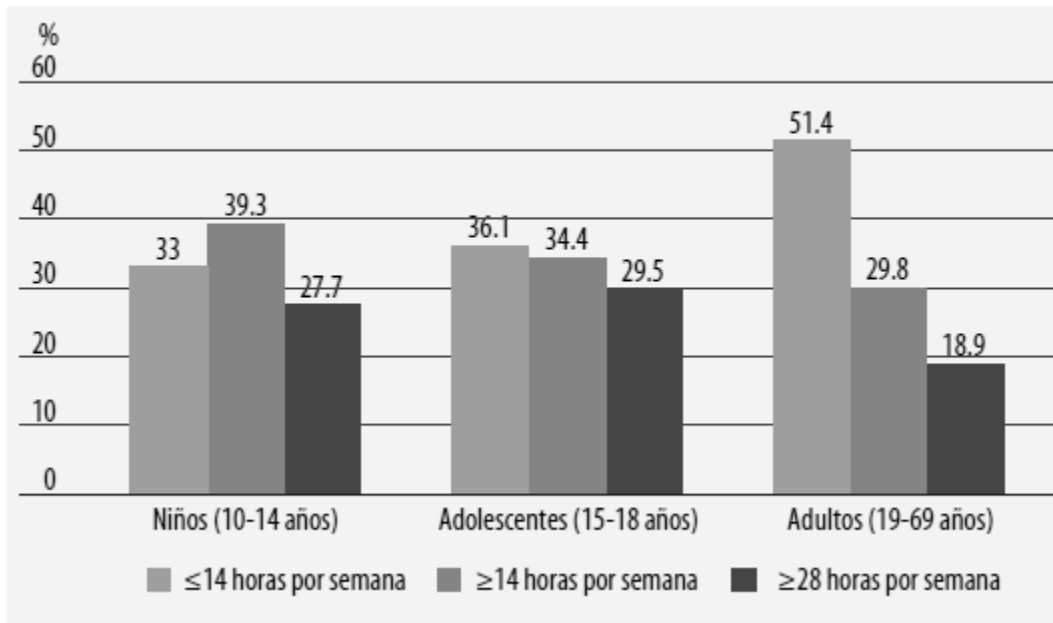


**Figura 2.** Distribución del estado nutrición de hombres y mujeres de 20 años o más, de acuerdo a la clasificación del IMC en México. Bajo peso o desnutrición, peso normal y sobrepeso u obesidad, de acuerdo al índice de masa corporal. Modificado de ENSANUT, 2012.

## 2- Estilos de vida en adolescentes

El estilo de vida actual es un factor importante que propicia la obesidad, este incluye el sedentarismo, definido como el número de horas que se pasa frente a una computadora, televisión, celular, etc. (ENSANUT, 2012; Figura 3); así como el consumo de alimentos altos en grasa y carbohidratos, que son hábitos cada día más comunes en países desarrollados (Shlisky *et al.*, 2012).

### Prevalencia de tiempo frente a una pantalla



**Figura 3.** Prevalencia del tiempo (horas) invertido en estar frente a una pantalla (televisión, películas, novelas, computadora y videojuegos) en personas de 10 a 69 años en México. Modificado de ENSANUT, 2012.

Entre los hábitos antes mencionados, destaca el consumo de alimentos ricos en grasa y carbohidratos como la dieta de cafetería, que son alimentos industrializados que prevalecen en la sociedad occidental con elevado contenido energético, carentes de fibra dietética y “sabrosas” (Sampey *et al.*, 2011). Su consumo predomina en los adolescentes (Weiss *et al.*, 2010) y se ha demostrado que este tipo de alimentos es preferido por personas con sobrepeso (Cuba *et al.*, 2011).

Dentro del estilo de vida adolescente se encuentran una serie de actividades muy recurrentes como lo son; asistir a fiestas/reuniones, uso de computadoras, ver televisión, inactividad física, disminución en la cantidad de sueño (Spiegel *et al.*, 1999) y preferencia por consumir alimentos industrializados ricos en carbohidratos y grasas saturadas (Sampey *et al.*, 2011). En particular la adolescencia es un período crucial para el desarrollo de malos hábitos en los

estilos de vida, que muchas veces continúan durante la edad adulta e influye en los riesgos de padecer enfermedades crónicas como la obesidad (Akman *et al.*, 2010).

### **3- Alteración del ciclo sueño-vigilia**

En los últimos 40 años, las horas de sueño entre los adolescentes han disminuido notablemente (Qidwai *et al.*, 2010), de acuerdo a las cifras obtenidas sólo el 33% de esta población duerme las nueve horas recomendadas (Bonnet y Arand, 1995).

La disminución del sueño, ya sea total o parcial, tiene consecuencias adversas a corto y largo plazo sobre la salud (Van Cauter, 2005), entre ellas causa elevación de la presión arterial, sobrepeso y obesidad (Chaput *et al.*, 2006; Agras *et al.*, 2004; Knutson, 2005; Eisenmann *et al.*, 2006; Knutson y Lauderdale, 2007; Fasting *et al.*, 2008) lo cual puede llevar al desarrollo de enfermedades como diabetes mellitus tipo 2 (Spiegel *et al.*, 1999). Esta última, por su prevalencia, es cada vez más reconocida como un problema de salud global (James *et al.*, 2004), que influye de forma directa sobre algunas de las principales causas de muerte a nivel mundial (WHO, 2013).

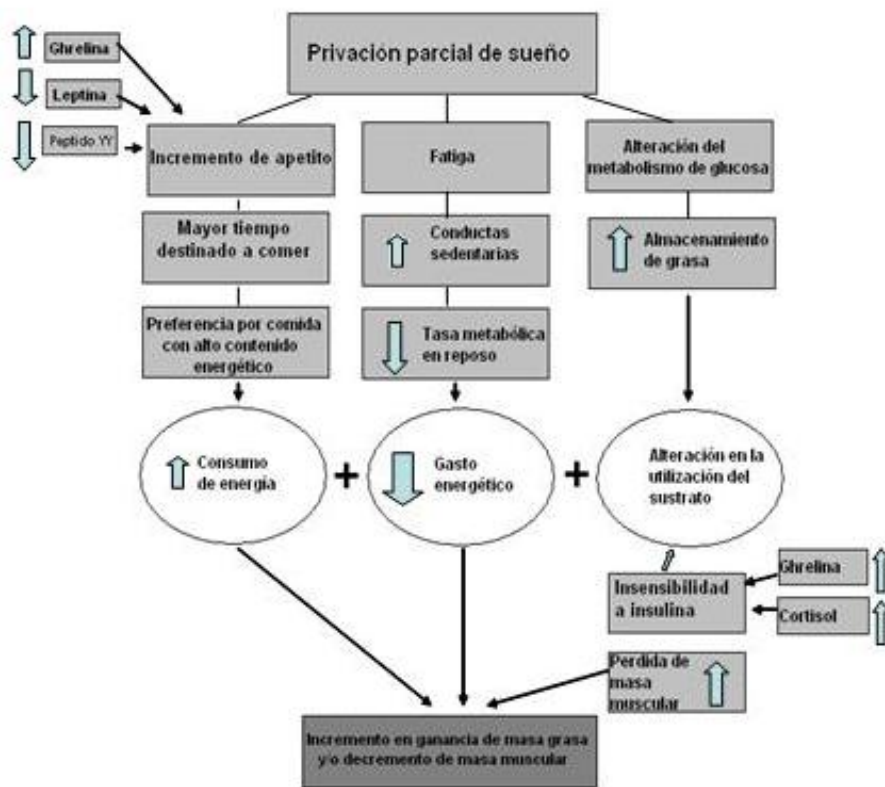
Las investigaciones clínicas en ambientes controlados demostraron que adultos privados de sueño por 6 días presentaban indicadores metabólicos de resistencia a la insulina, además de un apetito alterado y dirigido al consumo de alimentos altos en calorías, también mostraron que estos mismos individuos expuestos a un proceso controlado de 8 horas de sueño restaurador durante seis días recuperaron los valores metabólicos establecidos para un hombre saludable (Spiegel *et al.*, 2004). Otros estudios (Penev *et al.*, 2005; Spiegel *et al.*, 2004) señalan que son necesarias de 1-2 noches completas de sueño para la recuperación cognitiva del sueño ya sea por fragmentación, privación total o privación parcial en un periodo de hasta 90 horas de privación de sueño.

#### **3.1- Privación de sueño y consumo de alimento**

El sobreconsumo de alimentos parece ser la explicación más plausible de por qué quienes duermen menos tienden a ganar más peso. Se ha reportado que

la falta de sueño afecta la secreción de algunas hormonas que regulan el apetito, por ejemplo, la falta de sueño provoca un decremento en los niveles de leptina (saciedad), incrementa los niveles de grelina (hambre), altera la homeostasis de la glucosa (Spiegel *et al.*, 2010) y altera el sistema de orexinas. También la reducción de las horas de sueño puede contribuir a la ganancia de peso y a la obesidad incrementando el tiempo destinado a comer por la noche (Figura 4).

En investigaciones recientes se ha demostrado, que individuos privados de sueño tienden a ingerir más calorías, independientemente de los cambios en los niveles de leptina y grelina, lo cual sugiere que esto depende también de mediadores hedónicos por el alimento además de los homeostáticos (Nedeltcheva *et al.*, 2009).



**Figura 4.** Mecanismos que asocian la privación parcial de sueño con cambios metabólicos y de consumo de alimento que llevan a la obesidad. Modificado de Chamorro, 2011.

### **3.2- Privación de sueño en roedores**

Existen diversas manipulaciones que intentan reproducir condiciones de privación de sueño, entre ellos se utiliza la plataforma invertida (Hanlon *et al.*, 2010) y la rueda de actividad forzada (Salgado-Delgado *et al.*, 2008). Los estudios realizados con la rueda de actividad forzada mostraron que cuando se exponen ratas a 8 horas diarias de actividad forzada en rueda durante la fase de sueño por 4 semanas se altera el patrón temporal de actividad y de consumo de alimentos; las ratas mostraron una pérdida en el ritmo de glucosa y un ritmo invertido de triglicéridos; en contraste un grupo expuesto a la misma rueda de actividad forzada durante su fase de vigilia no mostró tales cambios y exhibió ritmos metabólicos similares a los de los controles. Estos datos sugieren que la actividad combinada con la alimentación durante las horas de sueño alteran las funciones metabólicas del organismo (Salgado-Delgado *et al.*, 2008).

En modelos animales se ha observado que tanto la privación total de sueño como la privación de sueño REM producen alteraciones en los patrones de consumo de alimentos (Bhanot *et al.*, 1989, Everson *et al.*, 1989), este aumento en la ingestión de alimentos podría deberse al incremento en el gasto de energía debido a que se mantiene el estado de vigilia por un periodo más largo de tiempo. Se ha sugerido que el sistema motivacional también juega un papel importante en dicho fenómeno, de tal forma que la ingestión de alimentos está influenciado por dos sistemas diferentes: el homeostático y el motivacional (Kenny, 2011).

Es por esto que uno de los temas de importancia para futuras investigaciones debe ser explorar los mecanismos homeostáticos y no homeostáticos que llevan al sobreconsumo de energía, es decir, los mecanismos involucrados con el valor reforzante del alimento que son alterados por la disrupción del sueño.

#### **4- Mecanismos cerebrales para la ingestión de alimentos**

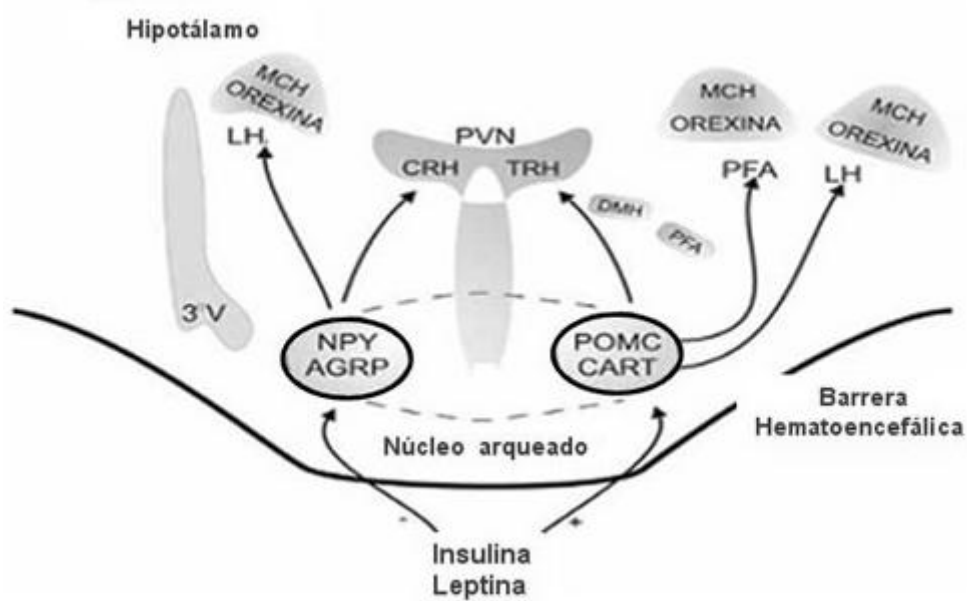
Los circuitos relacionados con el consumo de alimentos están regulados por señales periféricas que son sensadas por el hipotálamo. Sabemos que el aporte energético obtenido de los alimentos consumidos puede ser transformado en reserva calórica y almacenarse en el tejido adiposo en forma de triglicéridos o en tejido muscular y hepático en forma de glucógeno, como fuente de energía de rápido consumo o bien en forma de proteínas las cuales serán usadas como fuente de energía sólo en casos severos de desnutrición (Canello *et al.*, 2004).

Las señales que llevan información sobre el estado de la grasa corporal a áreas del cerebro se originan principalmente en el tejido adiposo, como en el caso de la leptina y desde el páncreas, como el caso de la insulina; estos factores circulan en proporción a la masa grasa corporal y son referidos como “señales de adiposidad” (Canello *et al.*, 2004).

El área encargada de procesar las señales de homeostasis del organismo, es el hipotálamo, siendo el principal centro regulador de la ingestión de alimentos (Figura 5). Las estructuras anatómicas más importantes en el sistema de regulación de alimentación son los núcleos ventromedial, dorsomedial, paraventricular, hipotálamo lateral y núcleo arqueado, donde se encuentran receptores de señales periféricas como los de leptina, teniendo una señal para el control de la ingestión de alimentos (Dietrich *et al.*, 2009; Satya *et al.*, 1999), aunque también se reportan receptores de leptina en el circuito de recompensa, principalmente el Área Tegmental Ventral (VTA), regulando la producción de dopamina (Kenny, 2011).



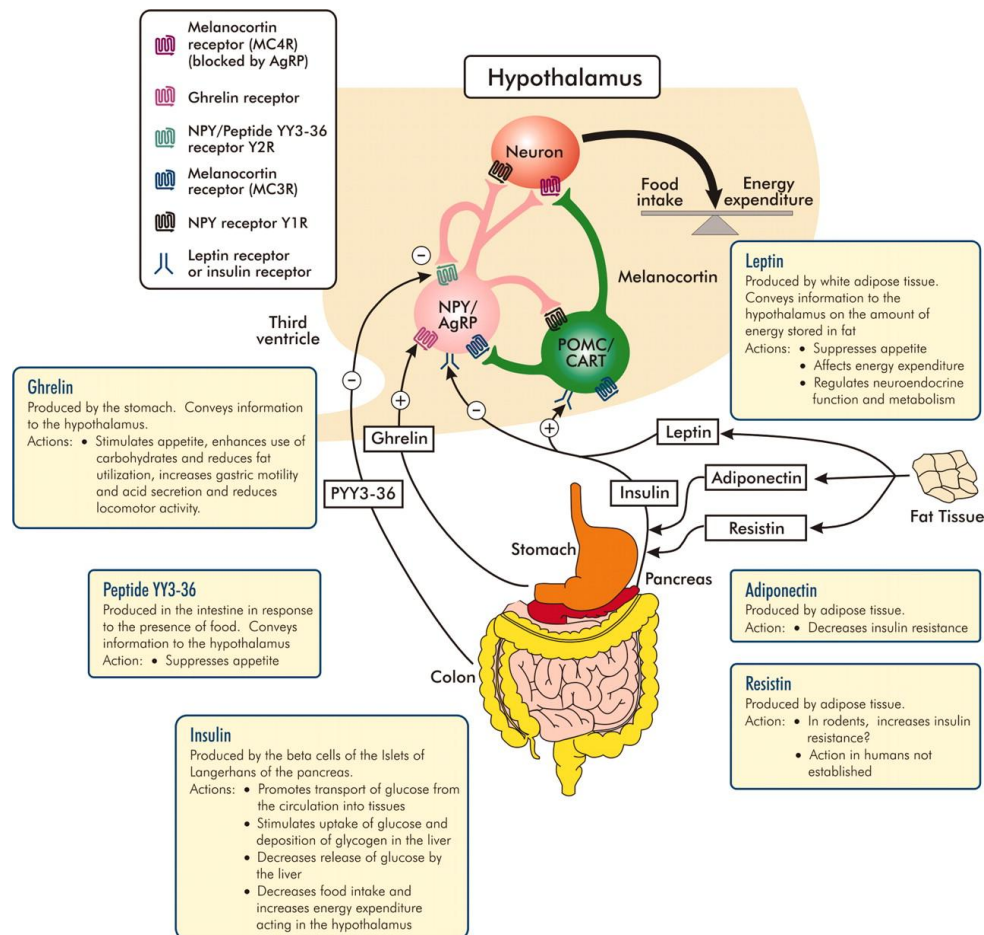
El núcleo ventromedial (NVM) y el hipotálamo lateral se han descrito como centros de la saciedad y el hambre respectivamente; estos núcleos tienen interacciones con otras áreas implicadas con el comportamiento de la ingestión en el mismo hipotálamo y fuera de él, como el sistema límbico (Satya *et al.*, 1999). El núcleo dorsomedial media tanto la estimulación como la inhibición de la alimentación y depende, de manera específica, de la leptina. El núcleo paraventricular está implicado en la liberación de señales orexigénicas, estimulantes, la interacción de neurotransmisores y neuromoduladores inhibidores del apetito (Barreto *et al.*, 2001).



**Figura 5.** Esquema de los centros hipotalámicos implicados en el control del hambre y algunos de sus neurotransmisores. Las señales periféricas son detectadas por el hipotálamo, las señales como los niveles de leptina e insulina se detectan por el núcleo arqueado situado en la base del hipotálamo medial, modulando la liberación de NPY (neuropéptido Y) y AGRP (proteína relacionada agouti) al núcleo para- ventricular (PVN) para estimular la alimentación; también libera POMC (pro-opiomelanocortinas) y CART (péptido regulador de la transcripción de anfetamina y cocaína) al PVN para inhibir la alimentación. En el hipotálamo lateral (LH) se liberan orexinas y MCH (hormona concentradora de melanina) para estimular la alimentación y respuestas de recompensa. Las líneas continuas representan una comunicación directa entre las diversas áreas cerebrales, mientras que las punteadas muestran un balance entre la producción de los neurotransmisores Tomado de Cintra *et al.*, 2007.

El núcleo arqueado está ubicado en la base del hipotálamo medial y está relacionado con la producción de neuropéptido Y (NPY) y pro-opiomelanocortinas (POMC), que ejercen efectos opuestos sobre la ingestión de alimentos. El NPY estimula la ingestión de alimentos y la POMC la inhibe.

La leptina regula la liberación de NPY y de POMC. En la vía del NPY la leptina suprime la expresión y liberación del NPY, que resulta en una disminución del consumo de alimentos y un aumento de la actividad metabólica (Kalra y Kalra, 2003; Williams *et al.*, 2004). Por el contrario la leptina activa a las células productoras de POMC estimulando su liberación (Figura 6).



**Figura 6.** Efectos de las señales periféricas sobre el núcleo arqueado del hipotálamo. El núcleo arqueado se encarga de mantener la homeostasis entre la ingesta de alimentos y el gasto energético. Tomado de Schwartz y Morton, 2002.

#### **4.1- Regulación de la ingesta de alimentos por medio de las neuronas productoras de POMC y el péptido $\alpha$ -MSH**

El péptido  $\alpha$ -MSH se forma a partir de pro-opiomelanocortina (POMC), cuya expresión puede regularse por leptina (Bjorbaek y Hollenberg, 2002), estimulando la expresión de POMC en las neuronas del núcleo arqueado, estas neuronas proyectan sus axones que contienen  $\alpha$ -MSH a las neuronas que presentan receptores MC4-R de otras partes del hipotálamo y fuera de él. El sistema de melanocortinas tiene un agonista inverso endógeno, AgRP, el cual es co-expresado en la misma población neuronal que el NPY. AgRP actúa sobre el MC3-R y MC4-R para aumentar el consumo de comida y la disminución del gasto de energía (Horvath *et al.*, 2004).

Cuando aumentan los niveles de leptina, un porcentaje de neuronas productoras de POMC se activan, estas neuronas de POMC pueden dar origen a  $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -MSH y  $\gamma$ -MSH las cuales pueden actuar como agonistas endógenos para los receptores de melanocortinas MC3 y MC4, compitiendo así con AgRP (Adán *et al.*, 2006). Se sabe que las células POMC (particularmente por la liberación de la hormona estimulante de melanocitos) inhiben el consumo de alimentos, generando respuestas de saciedad (Ziotopeoulou *et al.*, 2000). Se sugiere también por sus proyecciones al núcleo accumbens, que puede ser una interfaz entre los procesos homeostáticos y los procesos hedónicos asociados al consumo de dietas altas en grasa y azúcares.

Lin y colaboradores en 2000 encontraron que la exposición a largo plazo a alimentos altos en grasas resulta en insensibilidad a leptina tanto a nivel periférico como central, dado que los niveles de receptores para leptina en el encéfalo disminuyen. Después de una exposición crónica a alimentos altos en grasa se observa sobreconsumo, así como un mayor índice de obesidad asociado a la reducción de los receptores de leptina. Esto provoca una falla en la estimulación al sistema POMC del núcleo arqueado hipotalámico. La respuesta del sistema de melanocortinas a la comida alta en grasas puede depender del tipo de dieta, duración de exposición a la misma y composición.

Aunque no se ha especificado de qué manera el tipo de dieta afecta la respuesta del sistema de melanocortinas.

Al consumir una dieta alta en grasas se esperaría que el sistema de POMC tenga un incremento como respuesta de saciedad, también se esperaría que la expresión de AgRP disminuya, apoyando la señal de saciedad e ingiriendo menor cantidad de alimento, sin embargo en experimentos en donde se expone a roedores a alimentos altos en grasa, de uno a siete días, se ha encontrado que los niveles de RNAm de AgRP disminuyen, mientras que RNAm de POMC se encuentran sin cambios (Densmore, 2006). Los cambios en la producción de POMC son poco consistentes entre diversas investigaciones hay quienes han encontrado disminución de los niveles de RNAm (Gout *et al.*, 2008), otros han encontrado aumentos de RNAm (Huang *et al.*, 2003) y quienes no han encontrado efectos o cambios en los niveles de RNAm (Wang *et al.*, 2002).

Hansen en el 2001 encontró una reducción de la expresión de  $\alpha$ -MSH, producto de las POMC, en el núcleo paraventricular del hipotálamo después de 20 semanas de exposición a una dieta alta en grasas en ratas, posteriores estudios encontraron esta misma disminución en el núcleo arqueado en ratones (Enriori *et al.*, 2007).

Por otra parte, la inactivación del receptor MC4, específico de las POMC resulta en hiperfagia y obesidad (Huszar *et al.*, 1997). Otros estudios han reportado que una dieta con 80% de grasa en comparación con una dieta del 60% de contenido graso los niveles de RNAm para el receptor MC4 eran mayores (Kinzig *et al.*, 2005).

El problema que podría llevar a estos resultados contradictorios, es el hecho de que las dietas que se han probado pueden ser heterogéneas y variables en su composición, lo que hace difícil medir con exactitud la ingesta calórica y de macronutrientes.

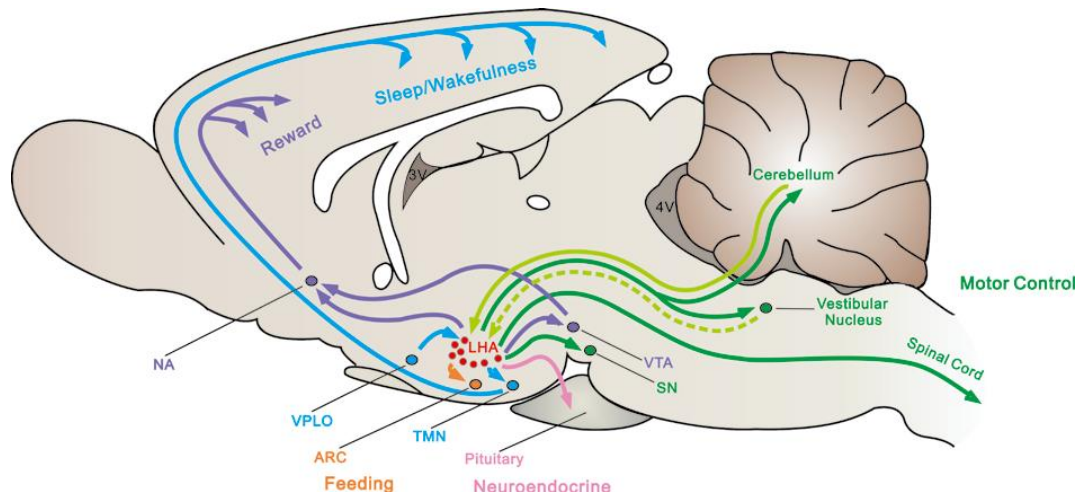
#### **4.2- Sistema orexigénico**

Las orexinas son hormonas neuropéptidas que se han encontrado en el núcleo dorsomedial del hipotálamo, en el área perifornical y en el hipotálamo lateral. El

sistema orexigénico cuenta con dos ligandos: OrxA y OrxB, el primero es selectivo a orexinas tipo A, mientras que el segundo no es selectivo. Ambos receptores son metabotrópicos y pueden ser encontrados en diversas partes del encéfalo, particularmente asociadas con estados de alertamiento, vigilia, ingestión de alimentos e incluso en algunas áreas relacionadas con la recompensa a drogas de abuso y adicciones (Mondal *et al.*, 1999; ver Figura 7).

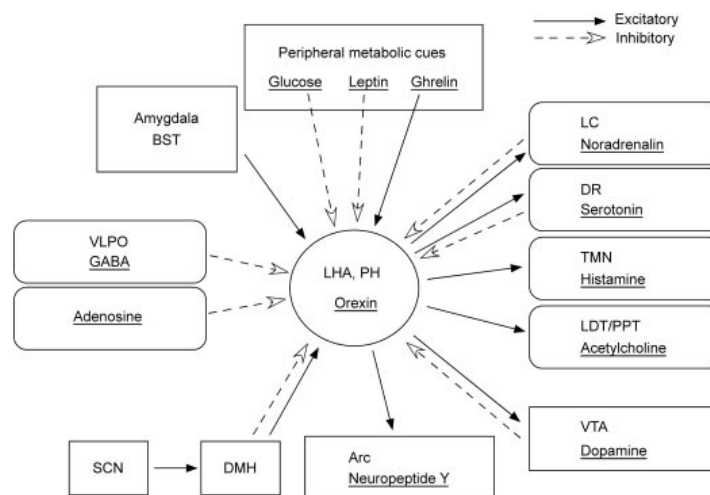
La función de las orexinas se ha determinado por el lugar donde estas se encuentran, en el hipotálamo hay dos estructuras donde hay células productoras de orexinas, el área perifornical y el hipotálamo lateral. El área perifornical se ha asociado con funciones como el alertamiento y vigilia; por otra parte, el hipotálamo lateral tiene funciones de relevo para poder registrar el valor reforzante de los alimentos que consumimos; con ello podemos decir que las orexinas tienen diferentes funciones en el encéfalo dependiendo del lugar en donde sean producidas y el lugar de acción de las mismas (Zhang *et al.*, 2013).

La capacidad de respuesta en las neuronas productoras de orexinas tanto a glucosa como a leptina, entre otras señales metabólicas periféricas, sugiere que estas células podrían actuar como un sensor para el estado metabólico de los animales (Tsujino y Sakurai, 2009). A su vez las células productoras de orexinas proyectan a las células dopaminérgicas del mesencéfalo, esta conexión podría ser importante para la activación emocional, así como para las respuestas de recompensa y motivación para la búsqueda de alimentos (Tsujino y Sakurai, 2009).



**Figura 7.** Funciones centrales del sistema orexigénico. Orexinas secretadas por neuronas del hipotálamo juegan un papel crucial en la regulación de funciones fisiológicas somáticas y no-somáticas involucradas en la conducta de ingesta de alimentos, el ciclo sueño-vigilia (azul), la recompensa (púrpura) así como el control motor (verde oscuro). Tomado de Zhang, 2013.

Las neuronas productoras de orexinas proporcionan un vínculo crucial entre el sueño, la absorción de energía, la homeostasis, los sistemas de recompensa y la emoción. La producción de orexinas en el área perifornical participa en la regulación del sueño y los estados de vigilia por la interacción recíproca entre las células de los núcleos colinérgicos del cerebro (Figura 8).



**Figura 8.** Aferencias y eferencias de las neuronas orexigénicas en la interface de sueño, el sistema de recompensa y la homeostasis energética. Las neuronas del HL y el hipotálamo posterior están localizadas de tal forma que proveen una conexión entre el sistema límbico, la homeostasis energética y las neuronas monoaminérgicas y colinérgicas del tallo cerebral. Las flechas continuas marcan las conexiones excitatorias, mientras que las punteadas denotan las inhibitorias. Tomado de Tsujino y Sakurai, 2009.

Otro papel muy importante del sistema orexigénico es el que tiene sobre la ingestión de alimentos, niveles aumentados de orexinas estimulan en roedores la ingestión de alimentos, mientras que la falta de orexinas resulta en anorexia (Tsujino y Sakurai, 2009).

En cuanto al papel que tiene el sistema orexigénico sobre el sueño, se ha reportado que la privación de sueño aumenta la actividad del sistema orexigénico, lo que podría promover un mayor tono del sistema nervioso simpático y aumentaría la actividad de grupos neuronales estimuladores del apetito (mediados por neuropéptido Y) en el núcleo arqueado hipotalámico (Chamorro *et al.*, 2011). Por lo tanto, una menor cantidad de sueño podría resultar en aumento de la actividad del sistema orexigénico hipotalámico y cambios en la organización de los estados de sueño. Además, una menor cantidad de sueño resulta en mayor somnolencia y sensación de fatiga diurna y menor gasto energético. El conjunto de estos cambios podría contribuir a mayor ganancia de peso y riesgo de obesidad (Chamorro *et al.*, 2011; ver figura 5).

Se sabe que el consumo de dietas altas en grasas causa un aumento de la grasa corporal y aumento de peso, se ha encontrado también un elevado número de neuronas positivas de Fos-orexinas en ratones hembra expuestos a dietas altas en grasas durante un periodo largo de tiempo (Pirnik *et al.*, 2008). Tsuneki y colaboradores en 2010, también mostraron que ratones knock out de orexinas expuestos a dieta alta en grasas desarrollaban obesidad, intolerancia a la glucosa y resistencia a insulina en hembras.

Los primeros estudios con orexinas mostraron que la administración sistémica de éstas, aumenta la ingesta de alimentos, mientras que la privación de alimentos aumenta el RNAm de orexinas en el hipotálamo (Sakurai *et al.*, 1998). Además, la administración de antagonistas a orexinas tipo A disminuye la ingestión de alimentos (Haynes *et al.*, 2000; Rodgers *et al.*, 2001); estudios recientes muestran que antagonistas a receptores de orexinas tipo 1 reducen el consumo de alimentos altos en grasa (Nair *et al.*, 2008.).

Diversos grupos han demostrado que el bloqueo de orexinas tipo A atenúa la respuesta operante para dieta alta en grasas, es decir palanquean menos comparados con sus grupos control bajo las mismas condiciones (Borgland *et al.*, 2009; Nair *et al.*, 2008), lo cual sugiere un efecto a nivel de la conducta motivada, puesto que al administrar antagonistas de orexinas tipo A no se observan efectos sobre la respuesta de palanqueo ante comida chow, el efecto solo es efectivo ante alimentos ricos en grasa (Nair *et al.*, 2008; Hollander *et al.*, 2008).

Se cree que el sistema hipotalámico orexigénico esta posicionado de tal forma que puede interactuar con la vía mesolímbica, se han descrito proyecciones del hipotálamo lateral localizadas en VTA (Bardo *et al.*, 2011); y las terminales orexigénicas contactan con células positivas a hidroxilasa de tirosina (Fadel y Deutch, 2002). Incluso se ha demostrado por medio de inmunohistoquímica, que la administración intra-VTA de orexinas tipo A resulta en un aumento de Fos en neuronas dopaminérgicas localizadas en la porción caudo-medial del VTA (Vittoz *et al.*, 2008) y se ha descrito un aumento de dopamina en la región shell del núcleo accumbens, sin encontrar cambios en la región core (Narita *et al.*, 2006) también se describe este aumento en la corteza prefrontal medial. Inclusive se ha involucrado a las orexinas en la potenciación de los receptores NMDA en el sistema de recompensa indicando un papel en la plasticidad neuronal a largo plazo (Borgland *et al.*, 2006). Otros estudios también han descrito la presencia de receptores a orexinas en núcleo accumbens (Martin *et al.*, 2002), VTA (Bardo *et al.*, 2011) y en CPFm (Marcus *et al.*, 2001).

De esta forma se puede entender al sistema orexigénico como multifuncional, ya que ejerce efectos sobre diversas conductas: sueño, alertamiento, ingestión de alimentos y sobre los mecanismos involucrados en los efectos reforzantes de sustancias.

## **5. Dieta de cafetería**

Como mencionamos anteriormente, la dieta de “cafetería” es altamente “sabrosa”, rica en grasa y/o azúcares refinadas, por lo que se ha comprobado que este tipo de alimentos promueven un mayor consumo en volumen y menos



saciedad postprandial. A su vez, la percepción de sabor de los alimentos contribuye de forma importante al consumo excesivo, la ganancia de peso (Kenny, 2011a) y a largo plazo a obesidad y a las enfermedades que ésta acarrea; este tipo de alimentos es consumido principalmente por niños y adolescentes. French y cols. en 2001 encontraron que el 75% de los adolescentes estadounidenses entre las edades de 11 y 18 años comen en restaurantes de comida rápida por lo menos una vez a la semana; mientras que Cimadon y cols. en 2010 indican que el 70% de los estudiantes brasileños entre 9 y 18 años de edad, consumen comida rápida cuatro veces o más por semana.

Para entender mejor los mecanismos que asocian la homeostasis alterada con la obesidad en humanos, se han desarrollado modelos experimentales con ratas, expuestas a dietas con alto contenido en grasa y carbohidratos (Kennedy *et al.*, 2010; Rolls *et al.*, 1980). Tradicionalmente estos modelos consisten en administrar dietas ricas en carbohidratos o en grasa y comparar sus efectos con animales control expuestos a dietas balanceadas. También existen modelos experimentales en que se exponen las ratas a una dieta de cafetería en donde los animales tienen mayor disponibilidad y variedad de alimentos “sabrosos”, enriquecidos en contenido energético y que los humanos también consumimos (Sampey *et al.*, 2011; Ong *et al.*, 2013).

### **5.1 -Efectos sobre el peso corporal**

Los modelos experimentales en donde se exponen a roedores a una dieta de cafetería (Kennedy *et al.*, 2010; Rolls *et al.*, 1980) reportan mayor ingesta de alimento, índices elevados en glucosa y colesterol (Sampey *et al.*, 2011), así como disminución en la concentración de grelina (Haddock *et al.*, 2011).

Otros trabajos en donde utilizan dietas de cafetería (Friemel *et al.*, 2010; Prats *et al.*, 1987) reportan que las ratas al ser expuestas a este tipo de dietas de 90 a 120 días aumentan de peso e incrementan sus niveles de glucosa y exhiben signos de intolerancia a la glucosa. También desarrollan conductas hiperfágicas similares a los episodios de *binge* (atracción) que se observan en el consumo de las drogas de abuso.

## **5.2 -Efectos de la dieta de cafetería sobre sistemas neuronales**

Geiger y colaboradores en 2009 encontraron que después de exponer a ratas durante un periodo de 15 semanas a dieta de cafetería los niveles de dopamina extracelular en núcleo accumbens se encontraban disminuidos, lo cual podría llevar a un sobreconsumo de alimento y a su vez a mayor ganancia de peso. Se encontró también que en el núcleo accumbens y el estriado dorsal la transmisión dopaminérgica se encontraba deprimida y que el hecho de comer dieta de cafetería restablecía dichos déficits temporalmente. Por otra parte se ha encontrado que los cambios en el sistema nervioso central debidos a la dieta de cafetería son dependientes del sexo del animal.

Ong y colaboradores (2013) reportaron aumento del ARNm para hidroxilasa de tirosina en ratas hembras jóvenes que habían sido expuestas a una dieta de cafetería durante 8 semanas, lo cual no se encontró en machos, también reporto una reducción de los receptores  $\mu$  a opioides en machos expuestos a dieta de cafetería, lo cual no se encontró en hembras.

Los estudios antes mencionados sugieren efectos sobre diversos sistemas de neurotransmisión involucrados en la recompensa, es por esto que es de gran importancia conocer que otros sistemas se ven afectados con este tipo de dietas.

## **5.3 Efectos reforzantes de la dieta “sabrosa”**

La alimentación se ve influida no solo por mecanismos homeostáticos, sino también por el valor hedónico del alimento, el cual puede motivar el consumo y la búsqueda de la misma (Zheng y Berthoud, 2007; Saper *et al.*, 2002) por lo tanto, el consumo excesivo de alimento “sabroso” provoca un proceso similar al que se observa en ciertos tipos de adicción, como respuestas neuroadaptativas en el circuito de recompensa del cerebro. Se propone que las drogas de abuso activan los mecanismos hedónicos que son activados por la ingestión de comida, por lo tanto, la obesidad y la drogadicción podrían depender del mismo sustrato neuronal (Johnson y Kenny, 2010). De esta forma, investigaciones proponen que el sobre consumo de alimentos ricos en grasas

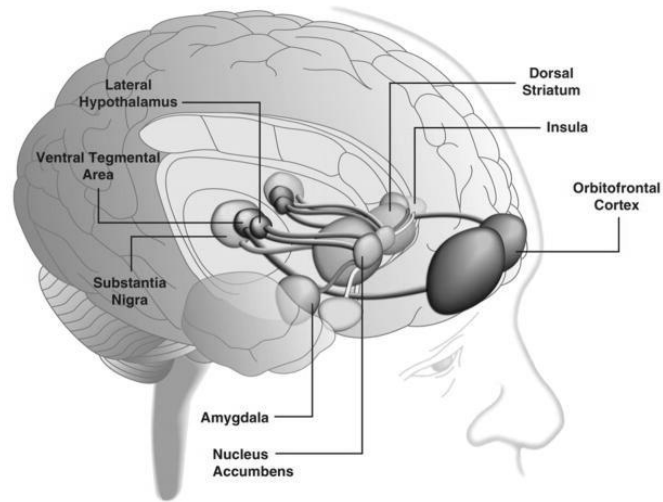
y azúcares podría estar relacionado con un déficit en el circuito de recompensa del cerebro (Johnson y Kenny, 2010).

Para entender mejor los mecanismos que asocian la adicción al alimento con la obesidad en humanos, se han desarrollado modelos experimentales con ratas, expuestas a dietas con alto contenido en grasa y carbohidratos (Spiegel *et al.*, 1999; Johnson y Kenny, 2010). Tradicionalmente estos modelos consisten en administrar este tipo de dietas y comparar sus efectos con animales control expuestos a dietas balanceadas (Spiegel *et al.*, 1999).

## **6. Estructuras límbicas y consumo de dieta de cafetería**

Se han descrito diversas áreas cerebrales, además del hipotálamo, involucradas en la ingestión de alimentos y que se encuentran en el llamado circuito de recompensa (involucrado en el consumo de drogas de abuso) son la corteza gustatoria primaria y secundaria que envían sus eferencias al núcleo accumbens, el cual a su vez se ve influenciado por entradas de información dopaminérgicas provenientes del sistema mesolímbico y nigroestriatal (fig. 9; Kenny, 2011). Estos circuitos estriatales participan en los procesos de ingestión de comida “sabrosa” así como en el consumo de drogas de abuso (Volkow *et al.*, 2011).

Una de las estructuras cerebrales más importantes que da el valor reforzante a los diferentes estímulos que nos rodean es el núcleo accumbens, el cual está dividido por sus conexiones y neuroquímicamente: la parte core y la parte Shell, dónde la parte Shell presenta conexiones de carácter límbico y recibe entradas glutamatérgicas de hipocampo y amígdala centromedial, así como aferencias dopaminérgicas de VTA. La parte core es una extensión de estriado dorsal y se relaciona con funciones motoras; recibe aferencias glutamatérgicas de corteza motora y aferencias dopaminérgicas de la sustancia negra; envía sus proyecciones gabaérgicas al pálido ventral, señal que forma parte de los bucles motores cortico-estriado-pálido-talámicos de carácter extrapiramidal (Fernández-Espejo, 2000).



**Figura 9.** Se ha considerado a la corteza orbitofrontal y la amígdala como estructuras que codifican información relacionada al valor reforzante del alimento. La ínsula procesa información relacionada al sabor de la comida y su valor hedónico. El núcleo accumbens y el estriado dorsal, que reciben entradas dopaminérgicas del VTA y la sustancia negra, regulan las propiedades motivacionales e incentivas del alimento. El hipotálamo lateral puede regular las respuestas reforzante hacia la comida “sabrosa” y las conductas de búsqueda de alimento. Estas estructuras cerebrales actúan de una manera sistemática para regular el aprendizaje acerca de las propiedades hedónicas del alimento, enfocando la atención y los esfuerzos para obtener recompensas por alimento y regular el valor incentivo de los estímulos ambientales que predicen la disponibilidad del alimento. Tomado de Kenny, 2011

En roedores expuestos durante 15 semanas a una dieta alta en grasas, presentaban sobreconsumo de esta dieta y niveles disminuidos de dopamina en el núcleo accumbens después del consumo de esta dieta, estos niveles medidos por medio de HPLC. Además encontraron que al exponer nuevamente el alimento chow a animales obesos la liberación de dopamina era menor, lo cual lleva a las ratas obesas a consumir preferentemente la dieta alta en grasas, normalizando de esta forma los niveles de dopamina (Geiger *et al.*, 2009). Es por esto que el sistema mesolímbico puede jugar un papel muy importante al determinar la preferencia por un cierto tipo de dieta.

### **6.1- Sistemas involucrados en adicciones y su relación con la ingesta de alimento sabroso**

Si los patrones de ingestión de dietas altas en grasa y/o sacarosa siguen la estructura de la administración de drogas de abuso, se esperaría encontrar cambios similares a nivel del sistema nervioso central. Un cambio que se ha descrito en la literatura para el consumo de diversas drogas de abuso es el de la expresión de  $\Delta$ FosB en áreas como el núcleo accumbens (Nestler, 2008); además de la expresión de esta proteína  $\Delta$ FosB por la administración de drogas, también se ha visto la expresión diferencial con la exposición a reforzadores naturales como el ejercicio en rueda y la administración de dietas altas en grasa y sacarosa (Teegarden y Bale 2007, Wallace *et al.*, 2007; Werme *et al.*, 2002). En otros protocolos de estrés crónico también se ha observado un aumento de la expresión de esta proteína (Perrotti *et al.*, 2004; Vialou *et al.*, 2007).

Es por esto que encontrar este cambio en animales expuestos a dietas altas en grasas/sacarosa podría dar pistas que lleven a encontrar los mecanismos que comparten el sobreconsumo de este tipo de dietas y la administración de drogas de abuso.

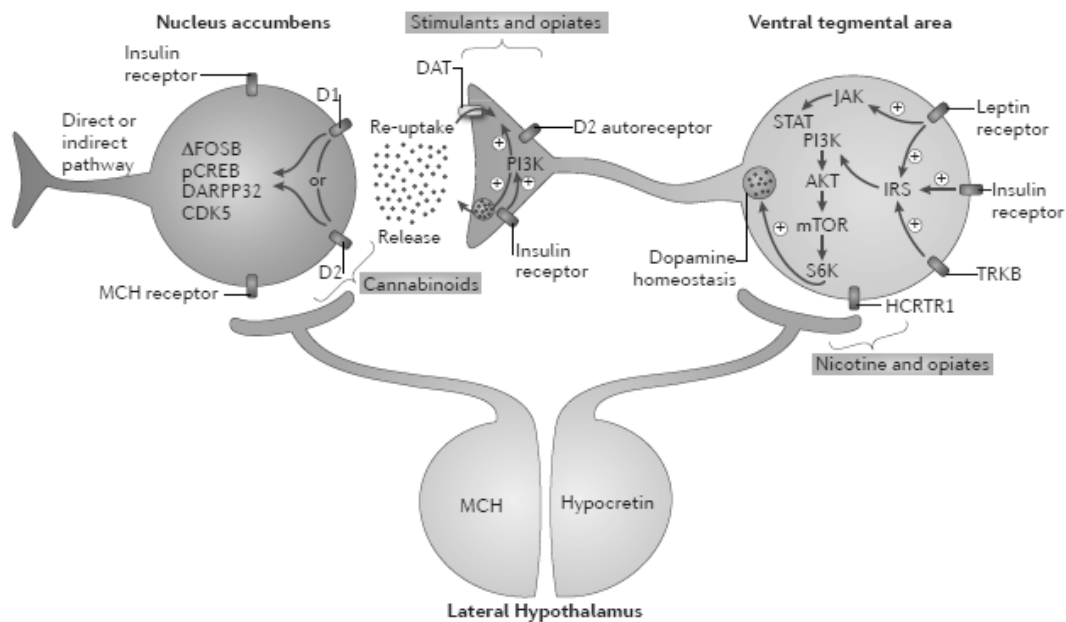
Después de la administración aguda de drogas de abuso, las proteínas de la familia fos se inducen rápidamente en regiones específicas del encéfalo, estas respuestas se ven específicamente en el núcleo accumbens y el estriado ventral. Todas las proteínas de la familia fos muestran tolerancia, es decir, se reduce su inducción en comparación con la primera exposición a la sustancia (Nestler, 2008).

La proteína  $\Delta$ FosB persiste en las neuronas por lo menos varias semanas después de la última exposición a las drogas de abuso, de esta forma se podría decir que  $\Delta$ FosB ayuda a iniciar y mantener el estado adictivo (Chen *et al.*, 1997) actuando como factor de transcripción de genes encargados de la densidad dendrítica (calmodulina dependiente de quinasa 5 Cdk5) y el crecimiento de espinas dendríticas (factor nuclear potenciador de las cadenas

ligeras kappa de las células B activadas NFkB) (Bibb *et al.*, 2001; Norrholm *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2006).

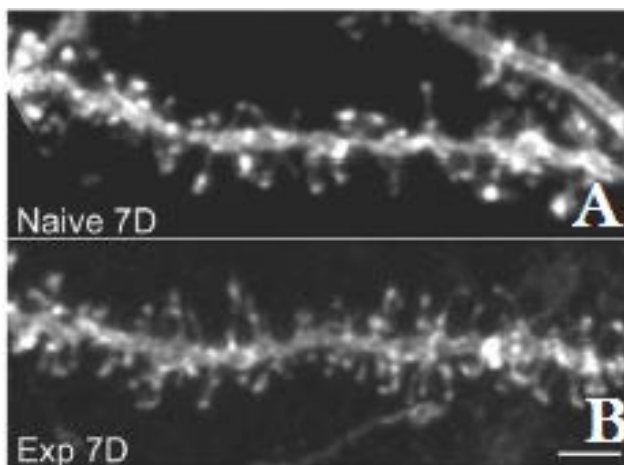
Ratones que sobreexpresan  $\Delta$ FosB mostraron actividad locomotora mayor en respuesta a la administración aguda y crónica de cocaína. En paradigmas de condicionamiento de preferencia de lugar se ha observado una mayor sensibilidad a los efectos reforzantes de cocaína y morfina en estos ratones (Kelz *et al.*, 1991).

Así como otras drogas de abuso generan incremento en la expresión de  $\Delta$ FosB ciertos reforzadores naturales pueden generar incrementos similares, esto podría deberse a que el consumo de drogas y los reforzadores naturales actúan sobre el mismo sistema en el sistema nervioso central (Kelley, 2004). Incluso se ha encontrado que la actividad sexual causa sensibilidad cruzada a otras drogas de abuso como las anfetaminas (Olsen, 2011).



**Figura 10.** Señales intracelulares en el núcleo accumbens y el VTA de la vía dopaminérgica que regulan la ingesta de alimentos y el uso de drogas Tomado de Kenny, 2011.

La actividad sexual genera plasticidad similar a la que se encuentra en el consumo de psicoestimulantes; incremento de densidad dendrítica, alteraciones en el tráfico de receptores glutamatérgicos y disminución en la fuerza sináptica en la corteza prefrontal (CPF) de proyecciones del núcleo accumbens shell (Fig. 11; Pitchers *et al.*, 2013). La expresión de  $\Delta$ FosB y el incremento en la densidad espinosa se expresa en los receptores D1 y depende de estos; por otra parte se ha encontrado que expresiones altas de  $\Delta$ JunD reduce la espinogénesis en núcleo accumbens por la experiencia sexual y de abstinencia (Pitchers *et al.*, 2013).



**Figura 11.**

Cambios neuroplásticos influenciados por  $\Delta$  FosB. En la imagen se observa el crecimiento de espinas dendríticas en núcleo accumbens Shell y core en animales expuestos a actividad sexual durante 7 días (B) en comparación con un grupo control (A). Estos mismos animales presentaban sensibilidad cruzada a anfetaminas. Tomado de Pitchers *et al.*, 2013.

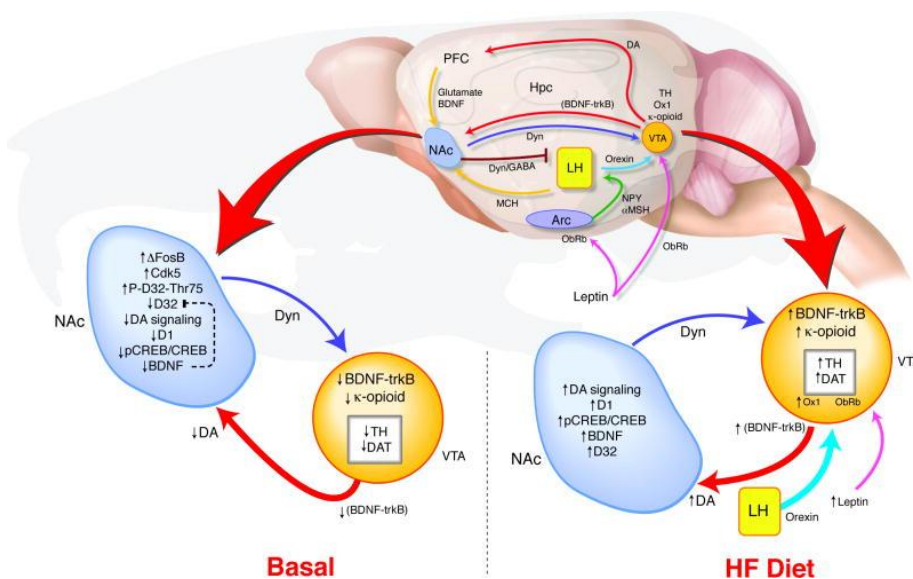
La inducción de  $\Delta$ FosB por reforzadores naturales es esencial para que se pueda observar la sensibilidad cruzada a psicoestimulantes, potencialmente vía espinogénesis en el núcleo accumbens durante un periodo de abstinencia.  $\Delta$ FosB podría fungir como factor de transcripción para activar diversos genes involucrados en densidad sináptica y la fuerza de las sinapsis en núcleo accumbens (Pitchers *et al.*, 2013).

La expresión de la proteína  $\Delta$  FosB en el estriado y diversas áreas del encéfalo está asociada a la recompensa. Dicho proceso también sucede con reforzadores naturales como la conducta sexual (McClung *et al.*, 2003), y se cree que también podría suceder en el consumo de dietas con contenido alto en grasas/sacarosa, lo cual podría llevar a sobreconsumo de alimentos y a un problema de obesidad.

En ratones que sobreexpresaban  $\Delta$  FosB se observó un déficit en la producción de dopamina en células del mesencéfalo que proyectan aferencias al estriado; de esta forma se ha inferido que el aumento de  $\Delta$  FosB lleva a un incremento del valor motivacional de la comida de esta forma el consumo de alimentos con alto contenido energético restablecería los niveles de dopamina (Fig. 12 tomada de Teegarden *et al.*, 2008). Resultados similares se han encontrado en paradigmas en donde el reforzador es cocaína (Colby *et al.*, 2003).

## 6.2- Cambios neuroplásticos: Proliferación de astrocitos

GFAP es una proteína que forma parte de los filamentos intermedios que es expresada en numerosos tipos celulares del sistema nervioso central incluyendo los astrocitos, entre sus funciones se ha descrito que forman parte de la comunicación celular entre la interacción astrocito-neurona así como un papel en el funcionamiento de la barrera hematoencefalica (Fuch y Weber, 1994).



**Figura 12.** Bajo condiciones basales la sobreexpresión de  $\Delta$ FosB lleva a la disregulación en la traducción de señales de dopamina y la expresión de genes en el núcleo accumbens, alterando la retroalimentación del VTA y los cambios en la expresión de genes relacionados a dopamina en el VTA. Tomado de Teegarden *et al.*, 2008.



La expresión de GFAP podría incidir sobre la plasticidad alterando el proceso de estabilidad del astrocito. A pesar de que se ha relacionado la expresión de GFAP con correlatos neuronales de lesión celular (Eng *et al.*, 2000), también se le ha asociado con neuroplasticidad no relacionada a lesión.

Los astrocitos desempeñan una variedad de funciones en la regulación de la transmisión sináptica: desactivan transmisores sinápticos a través de la actividad de sus transportadores, retirándolos y reciclándolos de la hendidura sináptica.

La plasticidad sináptica en el sistema límbico es una pieza importante que permite al animal adaptarse y llevar a cabo conductas dirigidas a objetivos específicos. En el caso del abuso de drogas también puede inducir cambios sinápticos en el sistema límbico (Chen *et al.*, 2010), lo cual se esperaría encontrar en el sobreconsumo de alimentos ricos en grasa/sacarosa.

A través de mecanismos “inadecuados” de aprendizaje, las drogas de abuso actúan sobre el circuito de recompensa e inducen formas de plasticidad sináptica de larga duración que puede servir para conducir la búsqueda persistente de drogas (Chen *et al.*, 2010). Ante dicha plasticidad se puede observar un aumento en células gliales, como el caso de los astrocitos, de los cuales se sabe dan forma a la plasticidad sináptica a través de intervenciones reciprocas entre los mismos y las neuronas adyacentes, con la finalidad de proveer soporte trófico y un mantenimiento homeostático del medio extracelular, para esto necesitan de la proteína GFAP (Scott y Kalivas, 2003).

La producción elevada de GFAP que se ha encontrado en el consumo de drogas podría deberse a que la astroglia contiene receptores de dopamina y glutamato; al verse estimulados los receptores DA-D1 incrementa la actividad de adenilato ciclasa el cual puede estimular la síntesis de GFAP a través de la vía de AMPc (Scott y Kalivas, 2003).

Esta vía glial recientemente identificada para la regulación de la plasticidad sináptica es mediada a través de la activación del receptor mGluR5, el cual es un importante receptor para mediar algunos comportamientos presentados en

sujetos que consumen drogas de abuso, por lo tanto, el astrocito tiene el potencial de promover la plasticidad sináptica (Haydon *et al.*, 2009).

Se ha reportado un incremento de GFAP en el área tegmental ventral después de un periodo corto de abstinencia a cocaína, morfina y metanfetamina. En el consumo de cocaína en ratas se ha encontrado un aumento de GFAP durante periodos de abstinencia de 3 semanas (Hebert y O'Callaghan, 2000). En un experimento realizado por D'Ascenzo y colaboradores (2007) se detectaron astrocitos en el núcleo accumbens por medio de inmunohistoquímica (GFAP) en ellos también se identificó la expresión del receptor mGluR5, el cual a través de cascadas de calcio podría estar promoviendo la gliotransmisión.

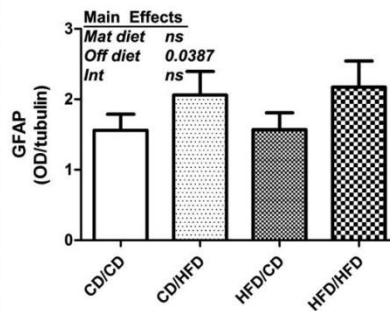
Hay evidencia significativa que demuestra que los astrocitos desempeñan un papel activo en la regulación de la transmisión sináptica y plasticidad sináptica, por lo que es importante conocer la determinación relativa de gliotransmisión y la transmisión sináptica en la mediación de las adaptaciones del cerebro que subyacen a las acciones adictivas de las sustancias de abuso (Haydon *et al.*, 2009) y al consumo de alimentos "sabrosos".

En protocolos que someten a ratas a la administración de dietas que inducen obesidad por dos meses, han visto por medio de doble inmunohistoquímica, un aumento notable de receptor de la leptina en astrocitos en el área hipotalámica dorsomedial y el núcleo arqueado (Hung *et al.*, 2009). Otro estudio mostró que después de la administración de una dieta alta en grasas por 2 semanas había aumentado la expresión GFAP en el hipotálamo (Higuchi *et al.*, 2010).

Por otra parte estudios en los que se ha observado el efecto de la dieta alta en grasas previo al nacimiento y post-natal han encontrado un aumento en el tamaño de los astrocitos en la corteza (White *et al.*, 2011), mientras otros han encontrado una disminución en la expresión de los mismos en el hipocampo, acompañado de deterioro cognitivo (Stranahan *et al.*, 2008).

Cabe aclarar que la respuesta inflamatoria en el cerebro también se ha relacionado con el estrés agudo y crónico, promoviendo la expresión de citocinas pro-inflamatorias en el hipocampo y la corteza frontal de roedores (Johnson *et al.*, 2002; Munhoz *et al.*, 2006). La administración de dietas altas

en grasa y el efecto sobre los astrocitos en el cerebro podría ser explicado por los procesos de inflamación dados por estrés oxidativo de las células ante este tipo de dietas. Se ha demostrado que elevados niveles de corticosterona en ratas, provocan reactividad de la microglía y se reportan marcadores de proliferación astrocítica (de Pablos *et al.*, 2006; Frank *et al.*, 2007).



**Figura 13.** Efectos de la dieta materna y de la descendencia sobre la expresión de GFAP en corteza. Se puede observar como los animales que han sido expuestos a una dieta alta en grasas durante la gestación y después del nacimiento muestran una hipertrofia en las células gliales en corteza (marcaje con GFAP) Tomado de Stranahan *et al.*, 2008.

El papel de GFAP en el sistema de recompensa aun no ha sido descrito por completo, por lo cual se necesita más información acerca de las regiones cerebrales que se ven afectadas ante la exposición a una dieta altas en grasas y carbohidratos y como es que GFAP está actuando sobre estas regiones.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los antecedentes indican que la dieta de cafetería así como el acortamiento de horas de sueño son factores que influyen en la presencia de obesidad y sobrepeso, modelos animales han demostrado que la alteración del ciclo sueño-vigilia promueve el consumo de este tipo de dietas, lo cual podría causar cambios en el sistema de orexinas y POMC. Estos sistemas neuronales tienen comunicación con el sistema de recompensa, específicamente con el núcleo accumbens, encargado de modular la respuesta hedónica hacia este tipo de alimentos, mediante procesos de neuroplasticidad similares a los encontrados en el consumo de sustancias de abuso; como la producción de  $\Delta$ -FOSB y la expresión de GFAP en las células gliales.

Esta investigación tuvo como propósito simular con un modelo experimental las condiciones de alteración del ciclo sueño-vigilia y la ingestión de dieta de cafetería que tienen los jóvenes hoy en día y describir en ratas jóvenes los cambios en el peso corporal, en el sistema de ingestión de alimentos y el sistema de recompensa que se producen por la alteración del ciclo sueño-vigilia aunado a una dieta de cafetería.

## OBJETIVOS

### Objetivo general:

Describir cambios en sistemas reguladores de la homeostasis y de la respuesta hedónica al alimento en la ganancia de peso corporal y en el sistema nervioso; efecto de la alteración del ciclo sueño-vigilia diario combinado a la ingestión de una dieta de cafetería en ratas jóvenes.

### Objetivos particulares:

- Caracterizar la ganancia de peso corporal en ratas jóvenes expuestas a la combinación de alteración del ciclo sueño-vigilia diario con dieta de cafetería.
- Comprobar que la combinación de alteración del ciclo sueño-vigilia diario con dieta de cafetería potencia la ganancia de peso y los cambios a nivel de sistema nervioso que se observan por la sola ingestión de dieta de cafetería.
- Determinar cambios de células positivas a orexinas en hipotálamo lateral y área perifornical de los encéfalos de ratas jóvenes expuestas a una alteración del ciclo sueño-vigilia con dieta de cafetería.
- Determinar cambios en células positivas a  $\alpha$ -MSH en núcleo arqueado de los encéfalos de ratas jóvenes expuestas a una alteración del ciclo sueño-vigilia aunado a dieta de cafetería.
- Determinar cambios en la producción de proteína  $\Delta$ -FOSB en el núcleo accumbens (core y shell) de encéfalos de jóvenes expuestas a una alteración del ciclo sueño-vigilia aunado a dieta de cafetería.
- Determinar cambios en la producción de proteína GFAP en el núcleo accumbens (core y shell) de jóvenes expuestas a una alteración del ciclo sueño-vigilia aunado a dieta de cafetería.

## HIPÓTESIS

H<sub>1</sub>: La dieta de cafetería aunada a la alteración del ciclo sueño-vigilia, generará aumento en el peso corporal.

H<sub>2</sub>: La dieta de cafetería aunada a la alteración del ciclo sueño-vigilia modificará los sistemas de neurotransmisión a nivel hipotalámico y límbico involucrados con la conducta de ingestión de alimentos.

H<sub>3</sub>: El número de células positivas a orexinas, aumentará en el hipotálamo lateral y área perifornical en ratas bajo condiciones de una dieta de cafetería aunada a la alteración del ciclo sueño-vigilia.

H<sub>4</sub>: El número de células positivas a  $\alpha$ -MSH, será menor en el núcleo arqueado en ratas bajo condiciones de alteración del ciclo sueño-vigilia con dieta de cafetería.

H<sub>5</sub>: Los niveles de proteína  $\Delta$  FOS-B, serán mayores en el núcleo accumbens (core y shell) en ratas expuestas a alteración del ciclo sueño-vigilia con dieta de cafetería.

H<sub>6</sub>: Los niveles de proteína GFAP, serán mayores en el núcleo accumbens (core y shell) en ratas expuestas a alteración del ciclo sueño-vigilia con dieta de cafetería.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Sujetos y condiciones**

Se usaron ratas Wistar macho de entre 120-140 g. de peso (5-6 semanas de edad) al inicio del estudio, las cuales se alojaron en cajas de acrílico individuales (40 X 50 X 20 cm) dentro de lockeres con capacidad para 8 animales y con flujo continuo de aire ubicados en un cuarto de registro. Los sujetos se mantuvieron en un ciclo de 12-hrs luz y 12-hrs oscuridad (07:00 am se enciende luz/19:00 pm se apaga luz), con temperatura regulada ( $23.5 \pm 1.5$  C°), acceso libre al agua y comida estándar (Rodent Laboratory Chow 5001, Purina, Minnetanka, MN).

Los experimentos siguieron los protocolos avalados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, en estricta conformidad con las normas mexicanas, Norma Oficial NOM-062-ZOO-1999, que se ajustan a los protocolos internacionales para el manejo de animales. Se tomaron las medidas necesarias para reducir el número de animales.

### **Diseño experimental**

Para este estudio se utilizaron un total de 40 ratas macho que fueron asignadas aleatoriamente a 5 grupos de 8 integrantes cada uno. Las manipulaciones se realizaron de lunes a viernes por 12 semanas:

Control (C): las ratas permanecieron en sus jaulas habitación bajo las condiciones estándar descritas.

Rueda (Ru): las ratas se sometieron a un protocolo de alteración del ciclo sueño vigilia que consistió en permanecer diariamente durante las primeras 4 horas de su fase de descanso, en unas ruedas que rotan lentamente.

Cafetería (Caf): las ratas recibieron una dieta de cafetería durante las primeras 4 horas de la fase de luz, que representa las primeras 4 horas de descanso.

Cafetería y rueda (Caf/rue): las ratas se sometieron a la combinación del protocolo de alteración del ciclo sueño vigilia que consistió en permanecer por

4 horas en unas ruedas que rotan lentamente, y de recibir en las ruedas dieta de cafetería.

Recuperación (Rec): las ratas se sometieron al mismo protocolo que el grupo de Caf/rue, y terminadas las 12 semanas fueron expuestas a un periodo de recuperación de 4 semanas, en el cual se cambiaron la dieta de cafetería y la exposición a la rueda, por condiciones estándar.

### **Protocolo de alteración del ciclo sueño- vigilia**

En la fase experimental los grupos Ru, Caf/rue y Rec, se sometieron de lunes a viernes a 4 horas de actividad ligera en una rueda giratoria al inicio del día que es su fase de reposo, en horario establecido de 7am a 11am. La rueda giratoria (33 cm de ancho x 33 cm de largo) cuenta con cuatro subdivisiones concéntricas que permiten alojar individualmente a 4 ratas por rueda, y gira a una velocidad de 0.33 rpm. Debido a la velocidad de la rueda las ratas no tienen que moverse todo el tiempo, incluso pueden acostarse y pueden comer y beber libremente, pero no pueden dormir (mas detalles en Salgado-Delgado *et al.*, 2010). Cumplidas 4 horas las ratas Ru, Caf/rue y Rec fueron regresadas a sus cajas habitación y permanecieron en condiciones *ad libitum* de alimento estándar y agua. La exposición a las ruedas fue de lunes a viernes, sábado y domingo las ratas permanecieron el día completo en sus cajas habitación.

### **Administración de dieta de cafetería**

Los grupos Caf, Caf/rue y Rec fueron expuestos a una dieta de cafetería, durante las 4 primeras horas de la fase de luz. Los menús se integraron de:

- 1) Galletas Giro (Gamesa®) + Galletas Crackets (Gamesa®)
- 2) Papas saladas (Sabritas®) + Salchicha de cerdo (Alys®).

Todos los menús fueron acompañados de agua azucarada al 12%. Los menús se alternaron y se administraron de lunes a viernes (Ver anexo 1).



## **Ingestión de alimento y peso corporal**

A lo largo del experimento, una vez por semana se registró el peso de los animales, así como el consumo de alimento estándar y agua de un día completo. También se determinó el consumo de cada uno de los menús de dieta de cafetería y agua azucarada.

## **Fijación y procesamiento de tejidos**

A la semana 12 del protocolo experimental los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico (anestésico) y se les extrajo el cerebro, que fue fijado en paraformaldehído (PFA) al 4% por 6 semanas.

A las 6 semanas, los cerebros se crio-protegieron con sacarosa al 30% por un mínimo 3 días y se cortaron en congelación a -18°C con un criostato (Leica CM1850 , capacidad de congelación a -40°C, Medidas (An x Al x P): 670 x 1165 x 695 mm) a 40  $\mu$ m. Las secciones se colectaron en 4 series organizadas de anterior a posterior en pozos que contenían solución de buffer fosfatos PB al 0.1 Molar y Ph 7.2 + 0.9% NaCl (PBS).

## **Técnica de Inmunohistoquímica**

Para el procedimiento de inmunohistoquímica se seleccionaron las secciones que contenían al hipotálamo y el núcleo Accumbens. Se extrajeron los cortes de los pozos y se depositaron en tinas en las que se realizaron tres lavados de 10 minutos c/u con PBS. Cuando concluyó el último lavado, los cortes que contenían el núcleo Accumbens fueron colocados en tubos Eppendorf para su incubación con anticuerpos, detectando proteína  $\Delta$  FOS-B (1:1000) y GFAP (1:1500); los cortes correspondientes al núcleo arqueado, hipotálamo lateral y área perifornical se incubaron con los anticuerpos para; orexinas (1:2500) y  $\alpha$ -MSH (1:5000). Los anticuerpos se diluyeron en solución PBS con Tritón X-100 al 0.003% y gelatina al 0.01 (PBSGT). Los cortes se incubaron a 4° C por 48 horas. Pasado este tiempo, los cortes fueron depositados nuevamente en tinas y se realizaron tres lavados de 10 min c/u con PBS. Después, los cortes fueron colocados en tubos Eppendorf y se incubaron con anticuerpo biotinilado secundario 1:200, en solución PBSGT por 2 horas. En seguida, los cortes

fueron depositados en tinas para una nueva serie de tres lavados de 10 min c/u con PBS, y después se incubaron con el complejo macromolecular Avidina y peroxidasa de rábano Biotinilada (ABC) en solución PBSGT 9:1000 por otras de 2 horas a temperatura ambiente. Al finalizarse la última incubación, los cortes se depositaron en tinas y se les realizó una última serie de tres lavados de 10 min c/u con PBS, para finalmente revelar la reacción con el cromógeno Diaminobenzidina diluida en solución de Trizma (pH 7.2) más 35µl de peróxido de hidrógeno al 30%; cuando se obtuvo un nivel de tinción suficiente (pasados 10 min), los cortes fueron lavados en PBS para detener la reacción.

Una vez teñidos, los cortes se montaron en portaobjetos gelatinizados, cada portaobjetos se marcó con las características respectivas del sujeto. Los portaobjetos se deshidrataron en una serie de alcoholes y xilol y se cubrieron con cubreobjetos y medio de montaje para microscopía Entellan para su posterior observación al microscopio.

### **Análisis del tejido**

El análisis de cada uno de los marcadores neuronales se realizó en 2 cortes de cada área evaluada (4 fotografías, 2 fotografías equivalían a un corte) con el programa ImageJ, esto se hizo con una *n* de 4 sujetos por cada grupo, en total eran 8 cortes por cada sujeto resultando 2 cortes por cada marcador. En el caso de las células que expresan actividad oréxigenica y  $\alpha$ -MSH el conteo fue manual con la herramienta “multi point”; el marcaje de la proteína  $\Delta$ FOSB fue contado de forma automática usando la herramienta “analyze particles” en la cual se establecen los parámetros de “tamaño y circularidad” que se desea sean medidos, por otra parte, para la proteína GFAP se obtuvo la densidad integrada por área, cada fotografía se dividió en 4 cuadrantes y se obtuvo un promedio de la densidad integrada por cada corte.

Los portaobjetos se observaron con un microscopio de luz en las zonas específicas para cada estructura. Se utilizó el atlas de Paxinos y Watson (2007) como referencia para localizar las áreas cerebrales de interés. Posteriormente se tomaron fotografías con un objetivo de 10 y 20X de las regiones delimitadas

con una cámara digital conectada a un microscopio Olympus BX41 para que las células pudieran ser cuantificadas.

### **Análisis estadístico**

Los datos de la ganancia de peso y el consumo en kilocalorías a lo largo de las 12 semanas, se evaluaron con un ANOVA de medidas repetidas y prueba *post hoc* Tukey-Kramer. El número de células positivas a cada anticuerpo se representó en medias  $\pm$ Error estándar ( $M \pm SEM$ ) y se compararon con un ANOVA de una vía seguida de una prueba *post hoc* de Tukey-Kramer con una P significativa al 0.05. Así mismo se realizó una prueba T de Student para las comparaciones entre el grupo de cafetería rueda y el grupo de recuperación en los marcadores neuronales.

## RESULTADOS

A lo largo del protocolo experimental se hizo el seguimiento de peso de los animales semanalmente, la tabla 1 muestra la ganancia de peso obtenida a lo largo de 11 semanas, donde se puede observar que los dos grupos que consumieron dieta de cafetería tuvieron un aumento de peso mayor al control. Se encontró una diferencia significativa entre grupos [ $F_{(3,27)}= 5.826$ ,  $p < 0.05$ ] y entre grupos en diferentes puntos temporales a lo largo de las 11 semanas [ $F_{(1,27)}=1914.491$ ,  $p < 0.05$ ].

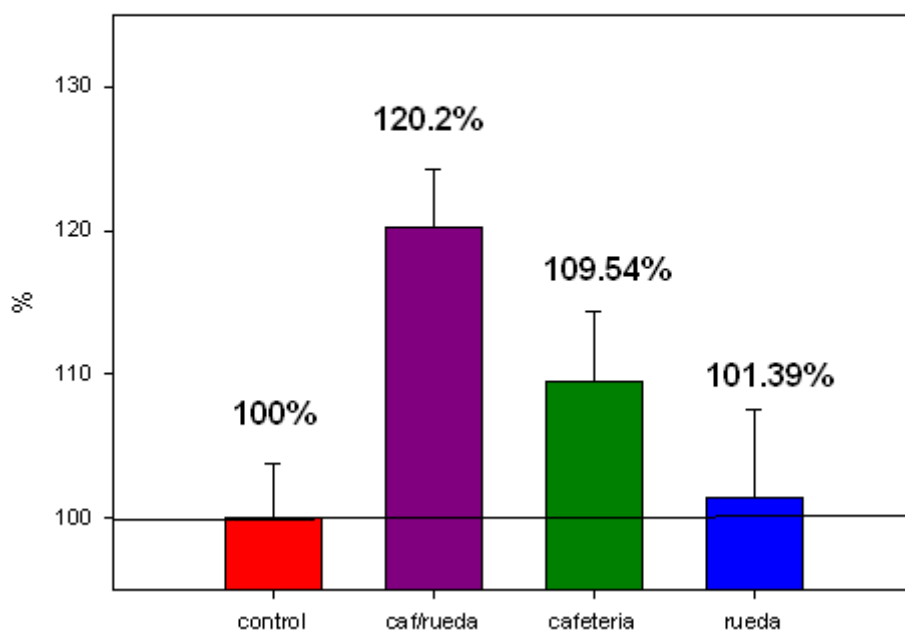
Tabla 1. Ganancia de peso por semana para los 4 grupos

Semana/ tratamiento	Control (n=8)	Cafetería/rueda(n=8)	Cafetería(n=8)	Rueda(n=8)
1	59.571	72.250 <sup>#</sup>	45.750	24.875 *
2	78.286	113.938 <sup>*#ω</sup>	81.250	87.225
3	86.143	148.563 <sup>* ω</sup>	135.000*	116.875*
4	125.214	178.438*	161.438*	151.875
5	154.000	207.725 <sup>* ω</sup>	194.313*	169.750
6	185.000	234.250 <sup>* ω</sup>	215.563	189.500
7	210.229	256.500	234.875	212.063
8	236.429	268.750	248.813	220.750
9	256.857	301.250 <sup>ω</sup>	268.188	240.188
10	263.286	316.500 <sup>* ω</sup>	279.313	257.750
11	265.286	318.875*	290.625	269.000

\* Diferencia con el control, # Diferencia con Cafetería, ω Diferencia con rueda.,  $p < 0.05$ .

De acuerdo a la ganancia de peso obtenida en la última semana se puede observar que el grupo de cafetería con actividad forzada en rueda tiene un aumento del 20.2%; el grupo que solo consumió cafetería en el locker aumentó 9.54%; mientras que el grupo de actividad forzada en rueda sólo obtuvo una ganancia del 1.69%. Dicha proporción fue obtenida en comparación con el grupo control (Figura 14)

## Proporción ganancia de peso

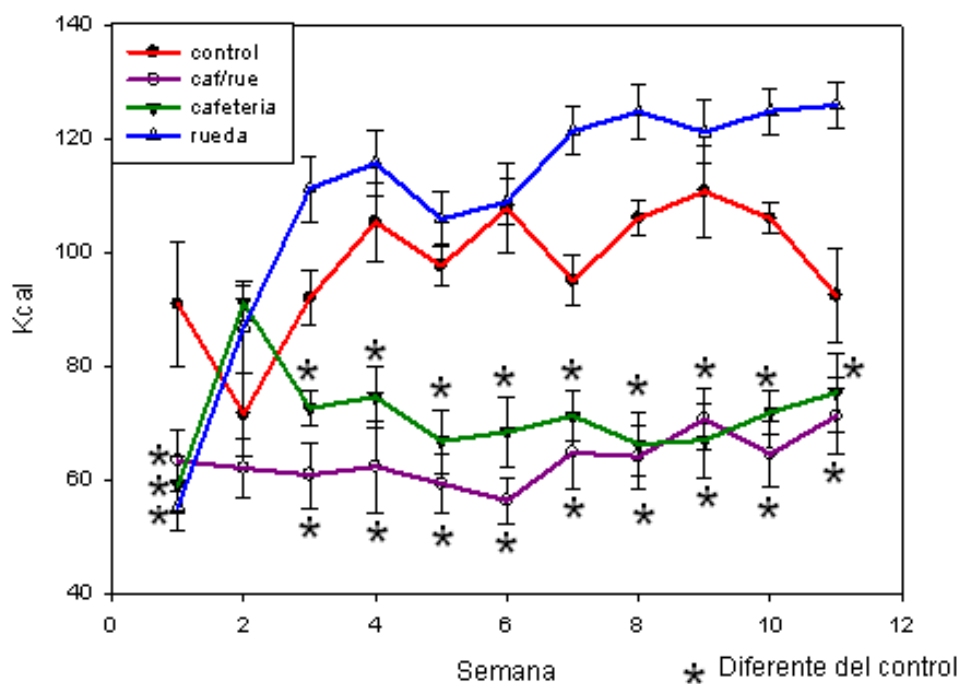


**Figura 14.** Proporción de ganancia de peso obtenida en la última semana del protocolo, tomando al Control como 100%.  $M \pm SEM$ .

A lo largo del protocolo se registró el consumo de dieta chow, la figura 15 muestra las kilocalorías resultantes de la ingestión de pellets a lo largo de 11 semanas. Podemos observar que a partir de la tercera semana, los animales que ingirieron dieta de cafetería mantuvieron un consumo menor a los grupos que no consumían dicha dieta. Se encontró una diferencia significativa entre grupos [ $F_{(3,27)}= 86.579$ ,  $p < 0.05$ ] y entre grupos en diferentes puntos temporales a lo largo de las 11 semanas [ $F_{(1,27)}= 4273.328$ ,  $p < 0.05$ ].

Además de la ingestión de dieta chow, también se registró el consumo de dieta de cafetería, con lo que se obtuvo un total de kilocalorías consumidas a lo largo del protocolo representadas en la figura 16. Se encontró una diferencia significativa entre los grupos Caf/rue y Cafetería diferentes del control [ $F_{(3,27)}= 3.259$ ,  $p < 0.05$ ] y entre grupos en diferentes puntos temporales a lo largo de las 11 semanas [ $F_{(1,27)}= 2076.276$ ,  $p < 0.05$ ].

## Ingesta diaria pellets

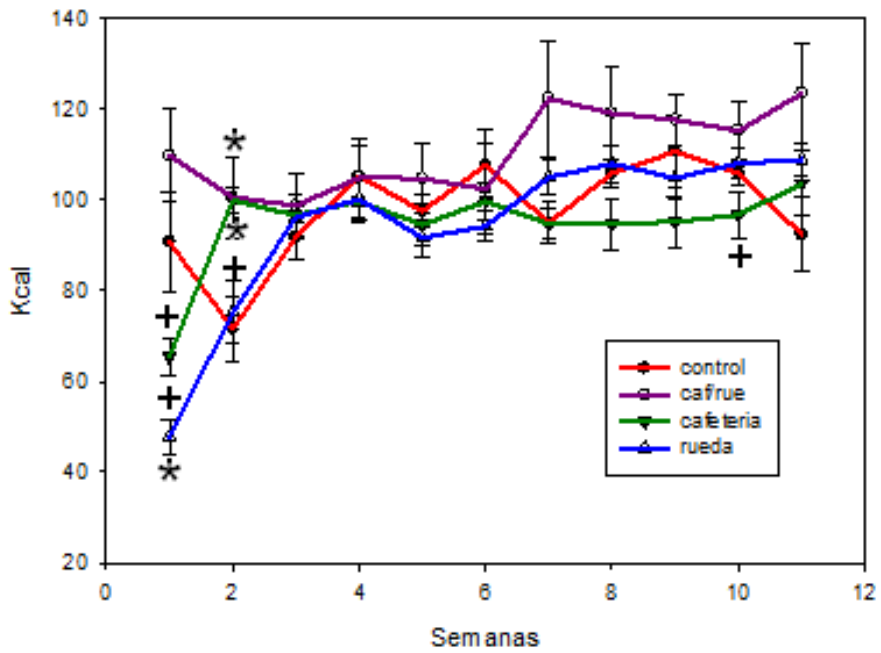


**Figura 15.** Kilocalorías consumidas de comida chow a lo largo de 11 semanas. Los grupos Caf/rue y Cafetería tuvieron una ingestión menor de comida chow en comparación con los grupos Control \* $p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ .

Es importante mencionar que estas diferencias sólo son evidentes en las primeras dos semanas del protocolo, de la tercer a la séptima semana todos los grupos consumieron cantidades similares de kilocalorías totales diarias, a partir de la semana 8 se observó una tendencia del grupo Caf/rue a consumir mayor cantidad total de kilocalorías, sin embargo la prueba *post hoc* no indicó diferencias significativas entre grupos, con excepción entre los grupos Caf/rue y Cafetería en la semana 10.

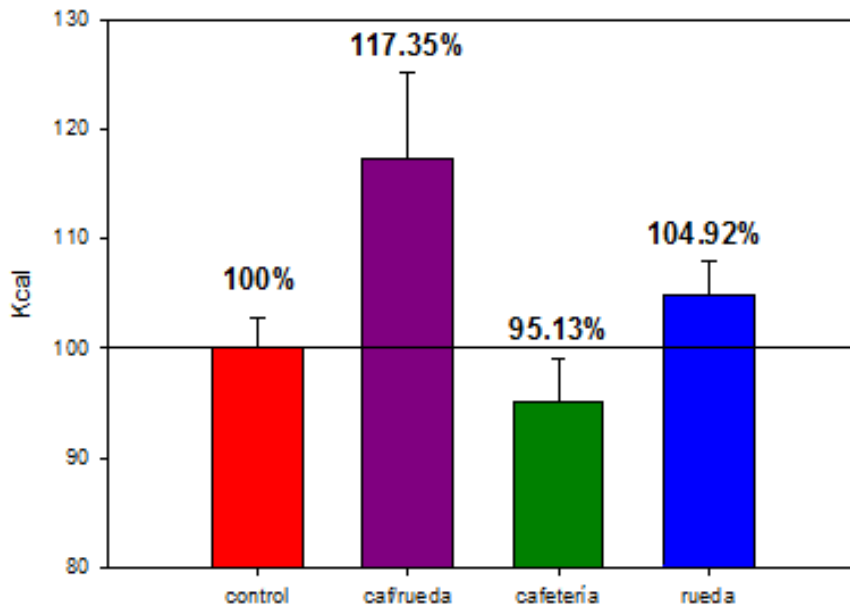
Para evidenciar esta tendencia se obtuvo el promedio de las kilocalorías consumidas en las últimas 5 semanas del protocolo, la figura 17 muestra que el grupo de Caf/rue consumió un 17.35% más que el grupo control, el grupo de rueda consumió un 4.92% más que el grupo control y el grupo que tuvo acceso a la dieta de cafetería sin actividad forzada a rueda mostró un consumo de 4.87% menor que el control. Dicha proporción fue obtenida en comparación con el grupo control.

### Ingesta diaria total



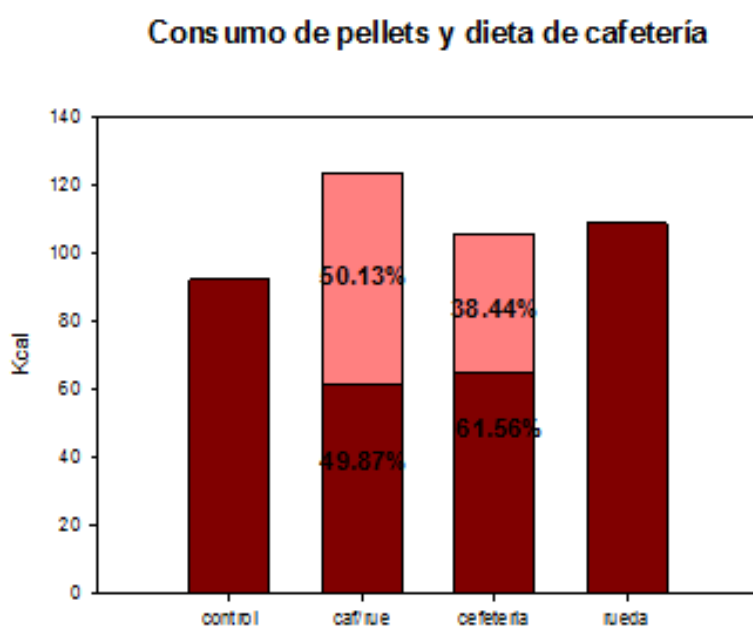
**Figura 16.** Ingestión total diaria representada en kilocalorías. (\*) Representa las diferencias encontradas en comparación al grupo Control y (+) representa las diferencias encontradas en comparación con el grupo de Caf/rueda, \* $p < 0.05$  y  $^+p < 0.05$ .  $M \pm SEM$ .

### Proporción consumo total



**Figura 17.** En comparación con el grupo control, se puede observar como el grupo de cafetería rueda consumió en promedio un 17.35 % mas Kcal e incluso el grupo que solo tenía acceso a la dieta de cafetería en sus cajas consumió menos kilocalorías en comparación con el control hacia el final del protocolo.  $M \pm SEM$ .

En la figura 18 se muestra el porcentaje de kilocalorías consumidas en la última semana, tanto de dieta chow así como de la dieta de cafetería. En el grupo Caf/rue, el 50.13% de la ingesta kilocalórica total fue aportado por la dieta de cafetería (en un periodo de 4 horas), mientras que el 49.87% fue aportado por la dieta chow. Por otro lado, el grupo que sólo consumió la dieta de cafetería en el locker, el 38,44% de la ingesta kilocalórica total consumida, fue aportada por la dieta de cafetería (en un periodo de 4 horas) y el 49.87% fue aportado por la dieta chow.

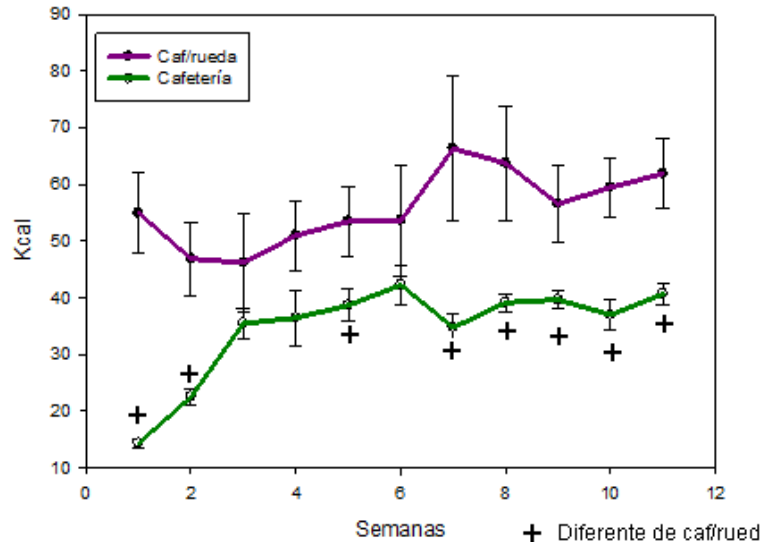


**Figura 18.** Proporción de kilocalorías consumidas por la dieta Chow o de cafetería, medida en la última semana del protocolo, en color rosa se puede observar la cantidad de kilocalorías provenientes de la dieta de cafetería, mientras que el color café representa las kilocalorías provenientes de la dieta chow.

En cuanto a los grupos que tuvieron acceso a la dieta de cafetería, podemos observar en la figura 19 que el grupo Caf/rue, consumió más kilocalorías que el grupo Cafetería con diferencias en diversos puntos temporales (semanas 1-2, 5, 7-11). Se encontró una diferencia significativa entre grupos [ $F_{(1,14)}= 9.236$ ,  $p < 0.05$ ] y a lo largo de los puntos temporales de las 11 semanas [ $F_{(1,14)}= 139.005$ ,  $p < 0.05$ ].



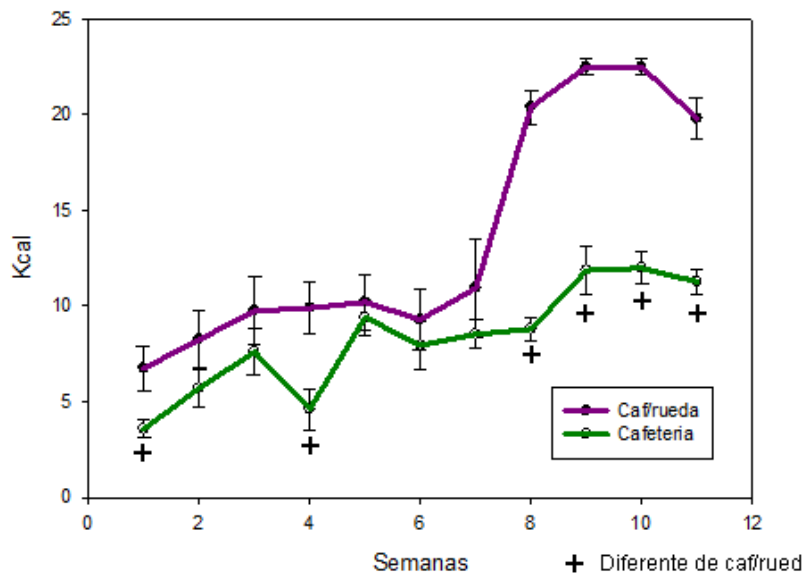
### Consumo de dieta de cafetería



**Figura 19.** Consumo de dieta de cafetería en kilocalorías. Se puede observar que el grupo de Caf/rue consumió más kilocalorías que el grupo de cafetería del tipo de dieta  $^+p<0.05$ .  $M \pm SEM$ .

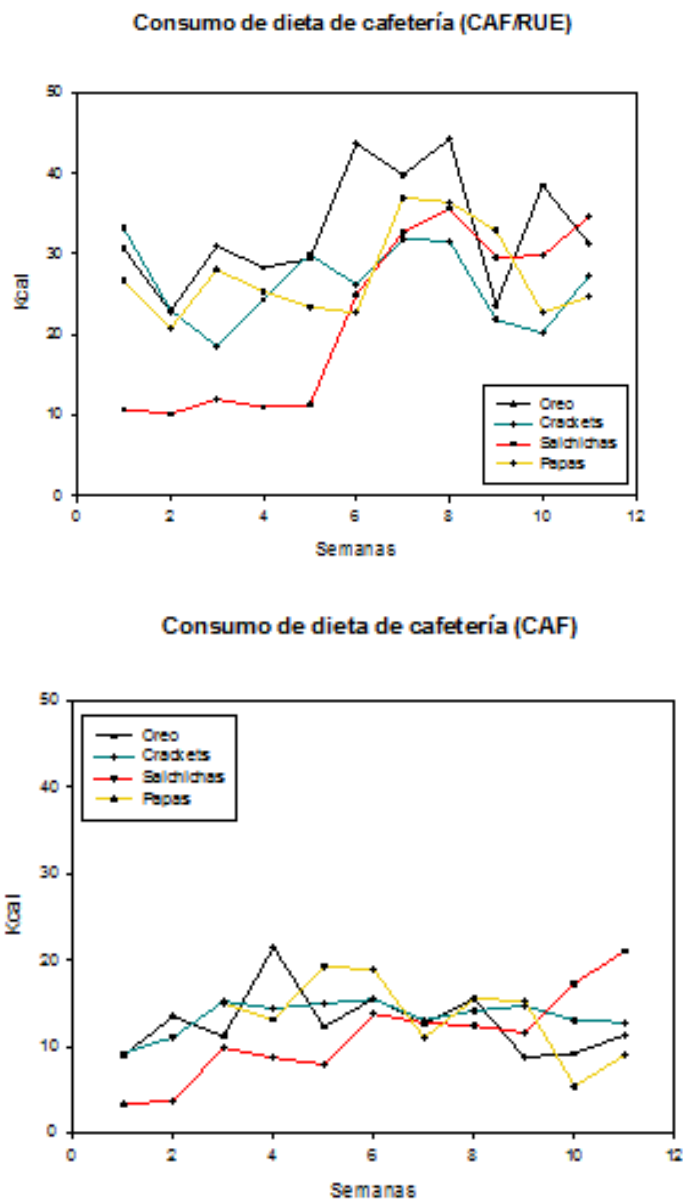
Un comportamiento similar se encontró en el consumo de agua con sacarosa al 12%, en la figura 20 se muestra que el grupo Caf/rue, consumió más kilocalorías en diferentes puntos temporales (semanas 1, 4, 8-11). Se encontró una diferencia significativa entre grupos [ $F_{(1,14)}= 9.236$ ,  $p <0.05$ ] y entre los diferentes puntos temporales a lo largo de las 11 semanas [ $F_{(1,14)}= 139.005$ ,  $p<0.05$ ].

### Consumo agua con azúcar al 12%



**Figura 20.** Consumo de agua azucarada (12%) en kilocalorías. Se puede observar que el grupo de Caf/rue consumió más kilocalorías de este tipo de dieta que el grupo Cafetería  $^+p<0.05$ .  $M \pm SEM$ .

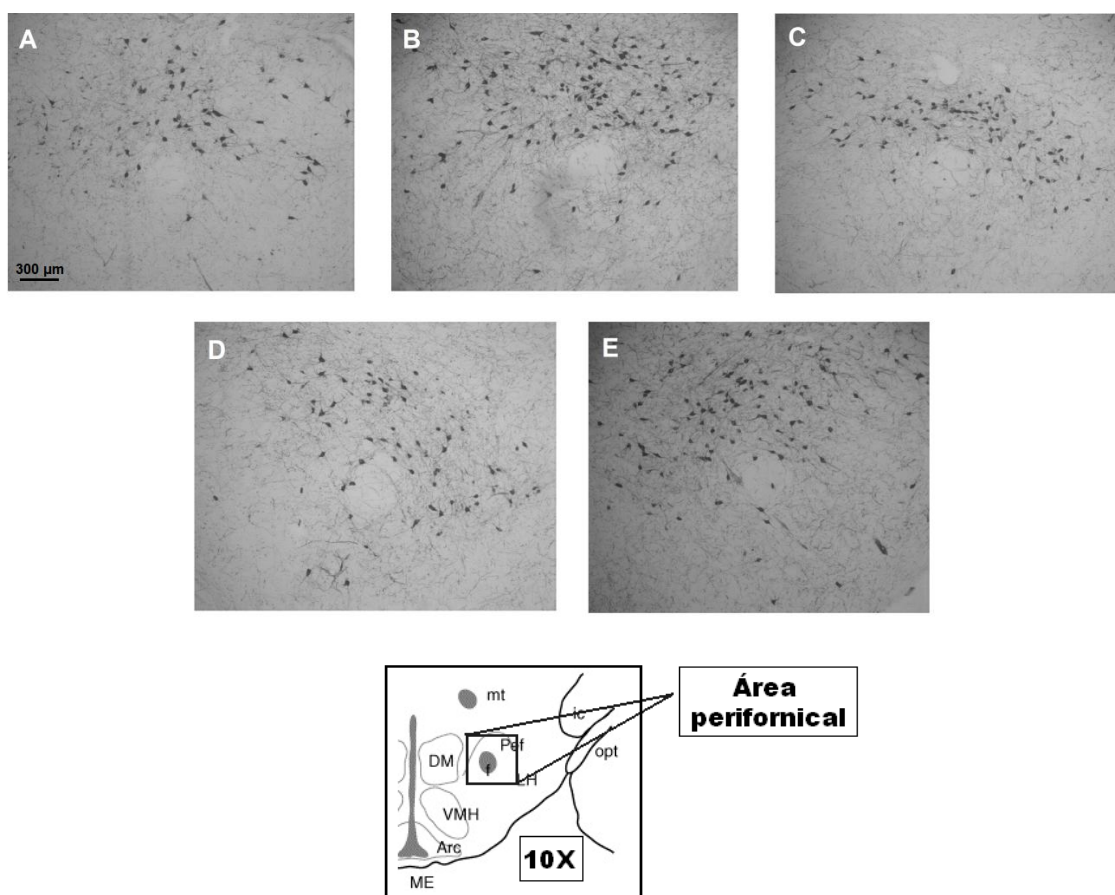
La figura 21 muestra el consumo de kilocalorías que aportó cada uno de los alimentos que componían la dieta de cafetería en el grupo Caf/rue; (izquierda) y Cafetería (derecha) debemos tomar en cuenta que cada uno de estos alimentos proporciona diferentes cantidades de kilocalorías por gramo, teniendo en cuenta que las papas proporcionan 5.2 kilocalorías por gramo, las galletas Oreo 5 kilocalorías por gramo, las galletas Crackets 4.8 kilocalorías por gramos y las salchichas 1.61. Es importante observar que el grupo Caf/rue consumió mucho más de todos los alimentos que el grupo Cafetería, que tuvo un consumo constante de los alimentos a lo largo del protocolo (incluso con las salchichas).



**Figura 21.** Consumo en kilocalorías de cada uno de los alimentos administrados en la dieta de cafetería a través de las 11 semanas en el grupo de Caf/rue (arriba) y Cafetería (abajo).

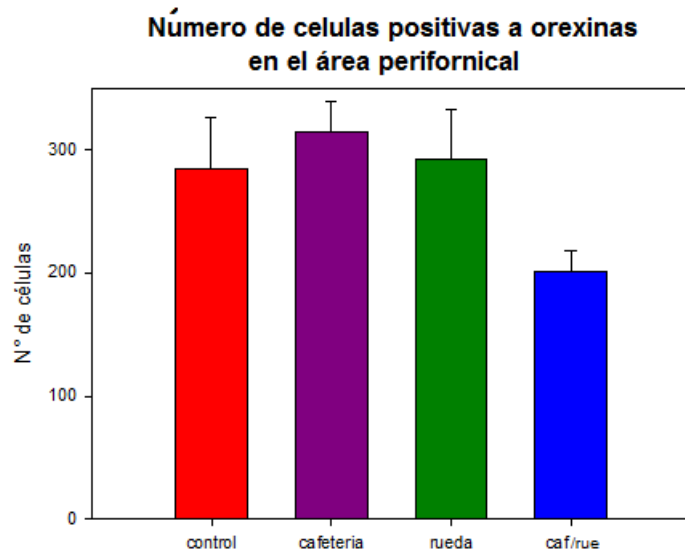
## Inmunohistoquímica

Después de 12 semanas de exposición a las distintas dietas se obtuvieron los cerebros y se procesaron para inmunohistoquímica para diversos anticuerpos. La figura 22 nos muestra la distribución de las células positivas a inmunoreactividad a orexinas en el área perifornical.



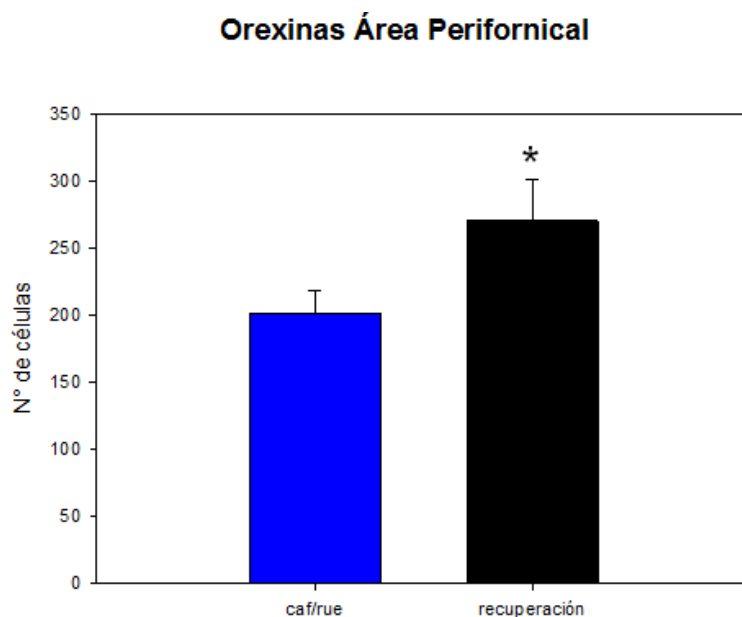
**Figura 22.** Imagen que muestra la distribución de células positivas a orexinas en el área perifornical (10X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

El conteo de células positivas a orexinas en el área perifornical indicó un menor número de células en el grupo Caf/rueda, mientras que los demás grupos mostraron valores similares (Figura 23). El ANOVA de una vía indicó que no hubo diferencia significativa entre los grupos [ $F_{(3,15)}= 0.231$ ,  $p=0.231$ ].



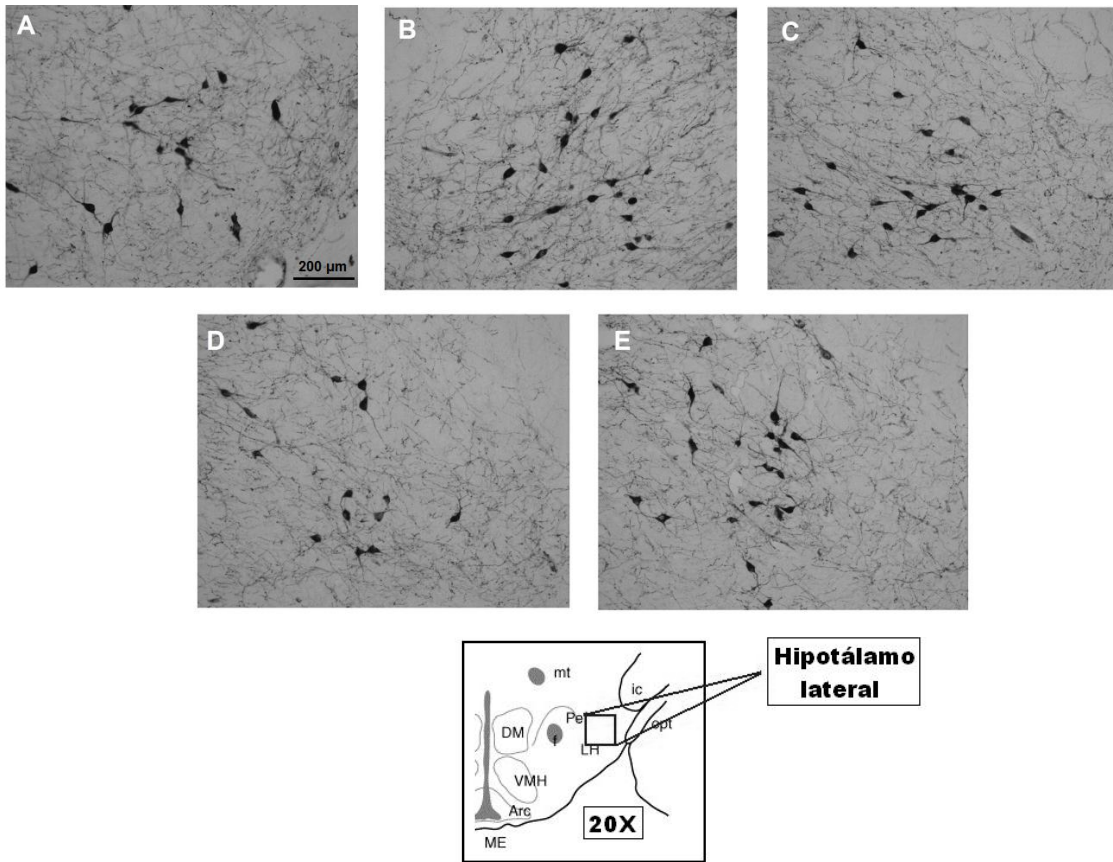
**Figura 23.** Número de células positivas a orexinas ( $M \pm SEM$ ) en el área perifornical del hipotálamo registradas al final de 12 semanas del protocolo para cada grupo. No se encontraron diferencias significativas.

La figura 24 compara el número de células positivas a orexinas en el área perifornical entre el grupo Caf/rueda y el grupo Caf/rueda sometido posteriormente a recuperación por cuatro semanas, éste ultimo presentó una mayor cantidad de células positivas [ $t = -10.470$ ,  $p < 0.05$ ] alcanzando valores similares al control (ver Figuras 12 y 13).



**Figura 24.** Número de células positivas a orexinas en el área perifornical del hipotálamo ( $M \pm SEM$ ). El grupo de Recuperación mostró un mayor número de células positivas a orexinas  $*p < 0.05$ .

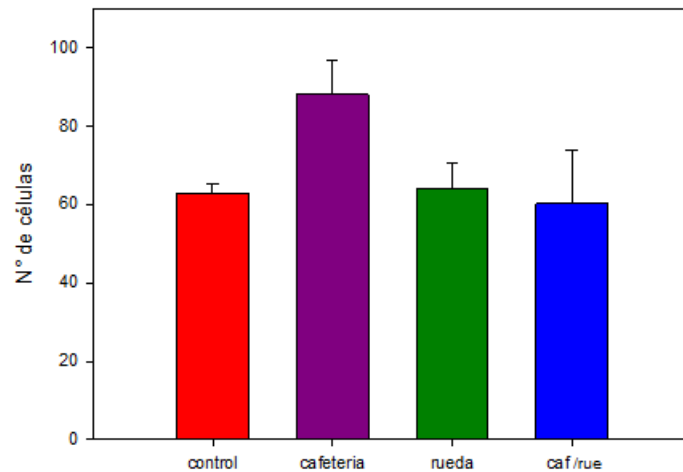
Se realizo conteo de las células positivas a orexinas en el hipotálamo lateral.  
(ver Figura 25).



**Figura 25.** Imagen que muestra la expresión de orexinas en el hipotálamo lateral (20X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

En la figura 26 se muestra el número de células positivas a orexinas en el hipotálamo lateral. No se encontraron diferencias significativas entre grupos, pero se puede observar una tendencia a la alta en células positivas en el grupo que estuvo expuesto a condiciones de dieta de cafetería [ $F_{(3,15)}=0.934$ ,  $p=0.454$ ].

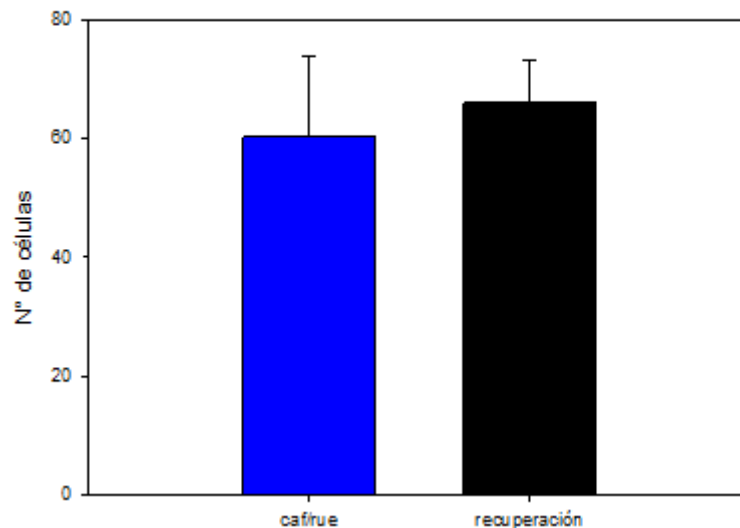
### Células positivas a orexinas en el Hipotálamo Lateral



**Figura 26.** Número de células positivas a orexinas en el hipotálamo lateral ( $M \pm SEM$ ). No se encontró diferencia significativa entre los grupos.

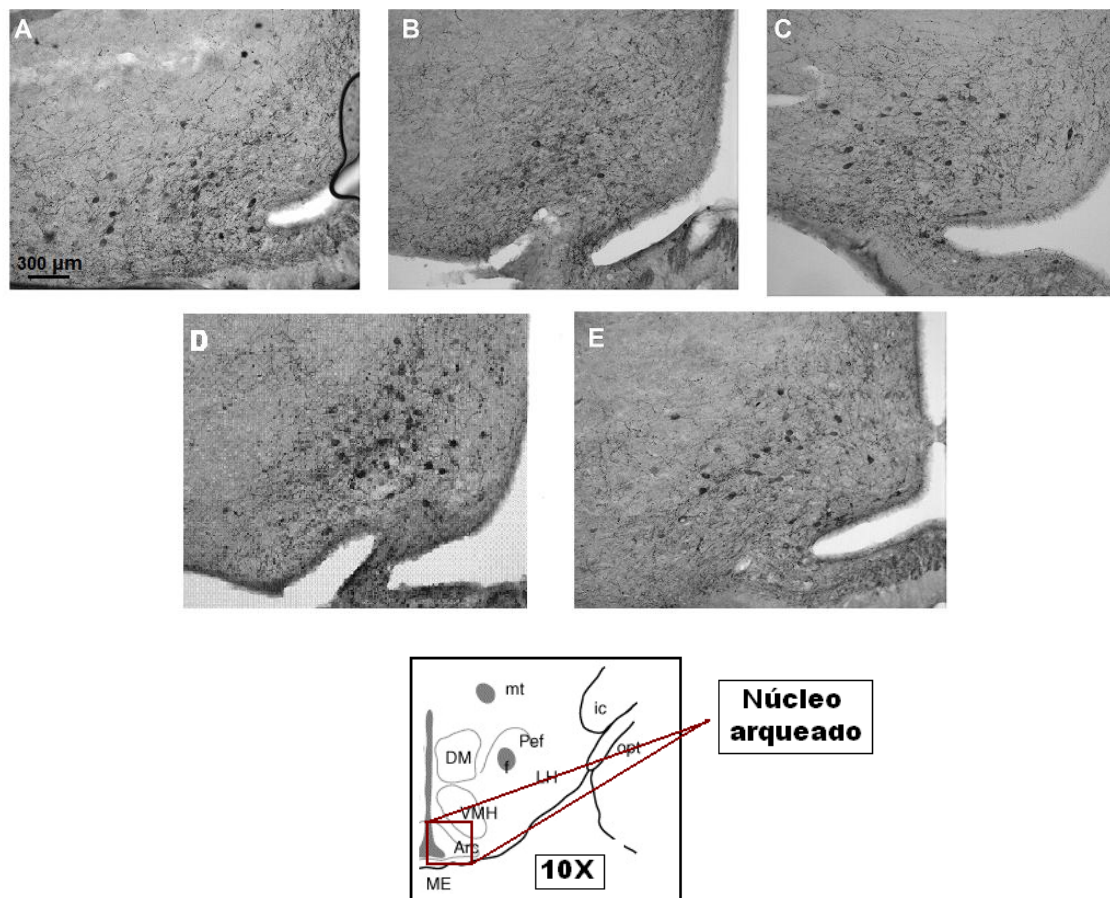
La figura 27 muestra la comparación de células positivas a orexinas entre el grupo que consumía Caf/rueda y el grupo de recuperación, donde podemos observar que no hay una diferencia significativa en la cantidad de células después de 4 semanas de recuperación [ $t=-0.487$ ,  $p=0.643$ ].

### Orexinas Hipotálamo Lateral



**Figura 27.** Número de células positivas a orexinas en el hipotálamo lateral registradas a la doceava semana del protocolo ( $M \pm SEM$ ). No se encontró diferencia significativa entre los grupos.

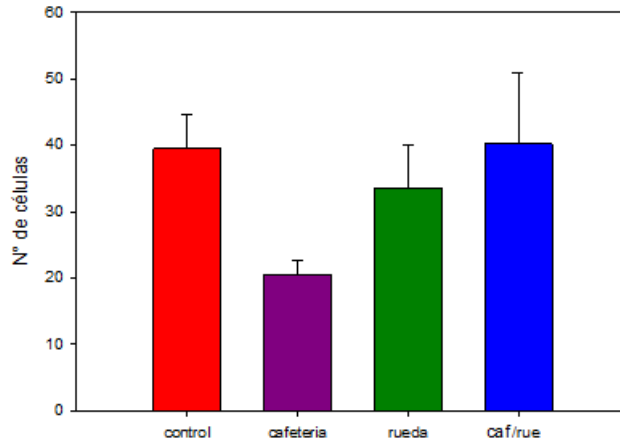
Las células positivas a  $\alpha$ -MSH se observaron en el núcleo arqueado del hipotálamo (ver Figura 28).



**Figura 28.** Imagen que muestra la expresión de alfa MSH en el núcleo arqueado del hipotálamo (10X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

La figura 29 muestra el número de células positivas a  $\alpha$ -MSH en el núcleo arqueado del hipotálamo. Se puede observar un tendencia a la baja en las células positivas en el grupo de Cafetería, sin embargo el ANOVA de una vía no indicó diferencias estadísticamente significativa entre grupos [ $F_{(3,15)}=1.7655$ ,  $p=0.207$ ].

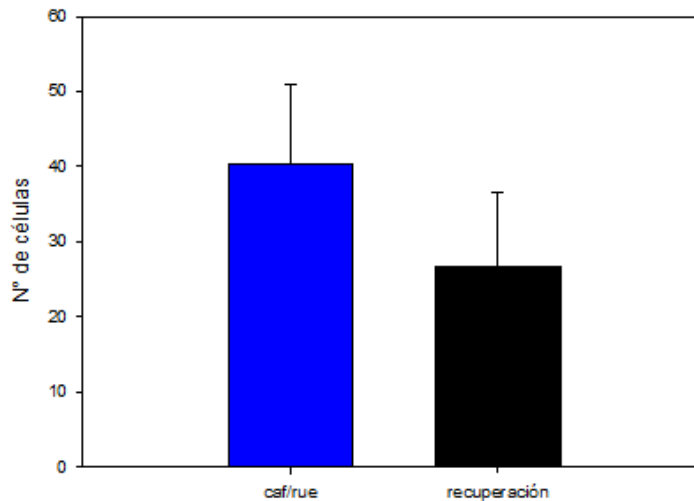
### Alfa MSH Núcleo Arqueado



**Figura 29.** Número de células positivas a  $\alpha$ - MSH en el núcleo arqueado del hipotálamo registradas a la doceava semana del protocolo ( $M \pm SEM$ ).

La figura 30 nos muestra la comparación del número de células positivas a  $\alpha$ -MSH en el núcleo arqueado entre el grupo Caf/rueda con el grupo de recuperación, donde podemos observar que no hay una diferencia significativa en la cantidad de células después de 4 semanas de recuperación [ $t=1.039$ ,  $p=0.346$ ].

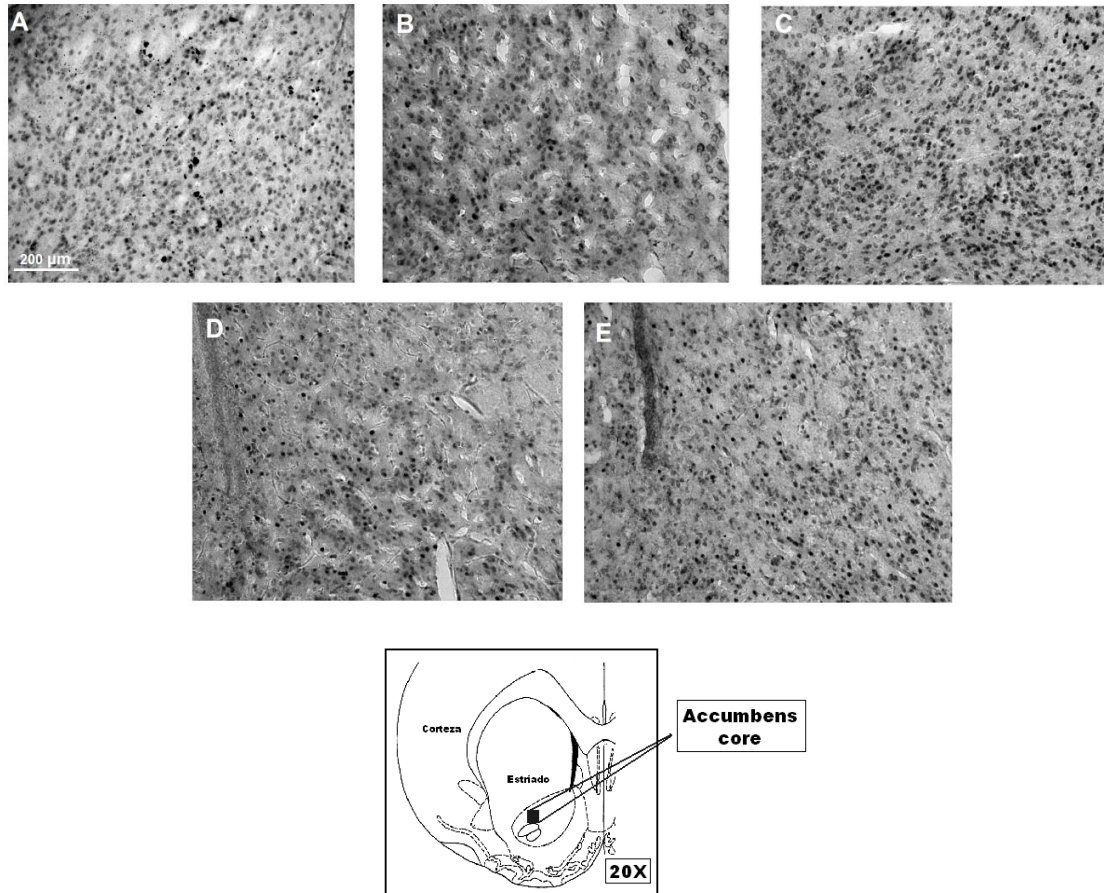
### Alfa MSH Núcleo Arqueado



**Figura 30.** Número de células positivas a alfa MSH en el núcleo arqueado del hipotálamo ( $M \pm SEM$ ). No se encontró diferencia entre grupos.

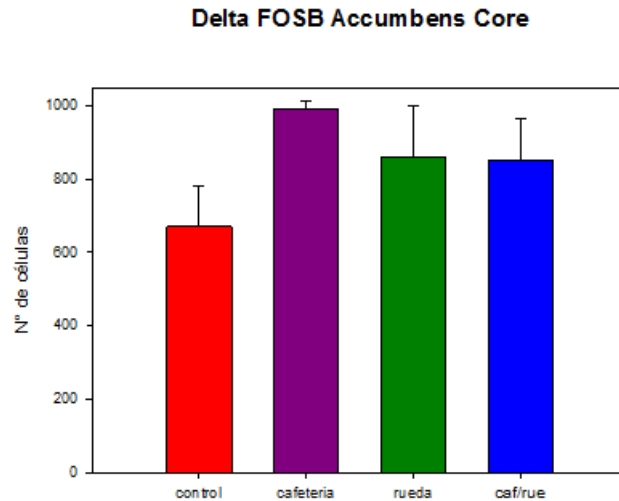


La acumulación de la proteína  $\Delta$  FOS-B se exploró en el núcleo accumbens en sus dos subregiones Core y Shell. En ambos se pudo apreciar que la proteína se expresaba en los núcleos celulares (ver Figura 31 y 34).



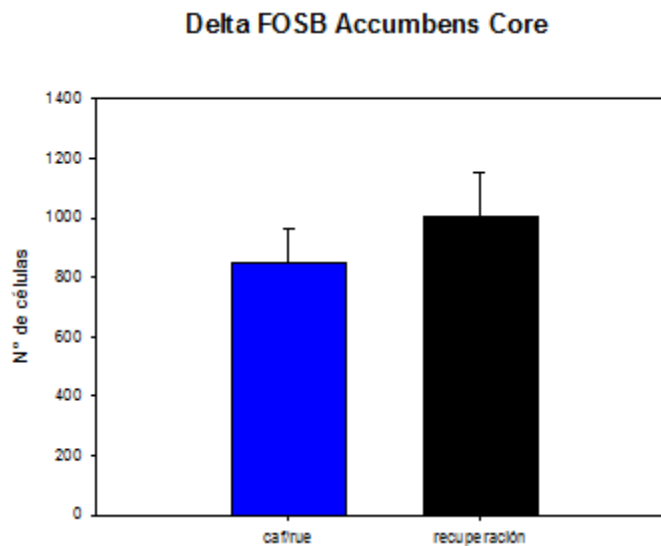
**Figura 31.** Imagen que muestra la expresión de  $\Delta$ FOSB en la región core del núcleo accumbens (20X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

La figura 32 muestra la cantidad de la proteína  $\Delta$  FOS-B en la región core del núcleo accumbens. El grupo que muestra una mayor cantidad de proteína  $\Delta$  FOS-B es el grupo Cafetería, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa [ $F_{(3,15)} = 1.543$ ,  $p = 0.254$ ].

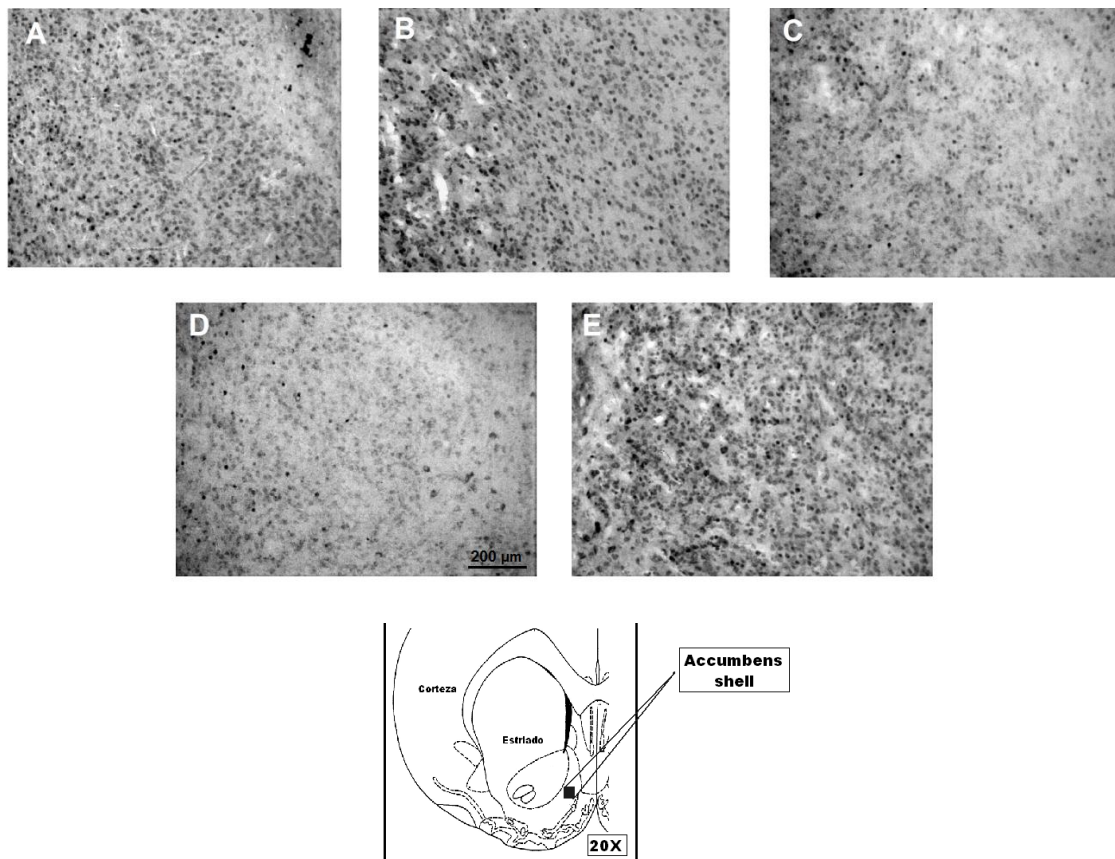


**Figura 32.** Expresión de  $\Delta$  FOS-B en la región core del núcleo accumbens registrada a la doceava semana del protocolo ( $M \pm SEM$ ).

La figura 33 muestra la cantidad de proteína  $\Delta$ FOSB en la región core del núcleo accumbens comparando el grupo Caf/rueda con el grupo de recuperación, no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos [ $t=-0.436$ ,  $p=0.678$ ].



**Figura 33.** Expresión de  $\Delta$ FOSB en la región core del núcleo accumbens ( $M \pm SEM$ ). Comparación entre el grupo Caf/rueda y el grupo de 4 semanas de recuperación

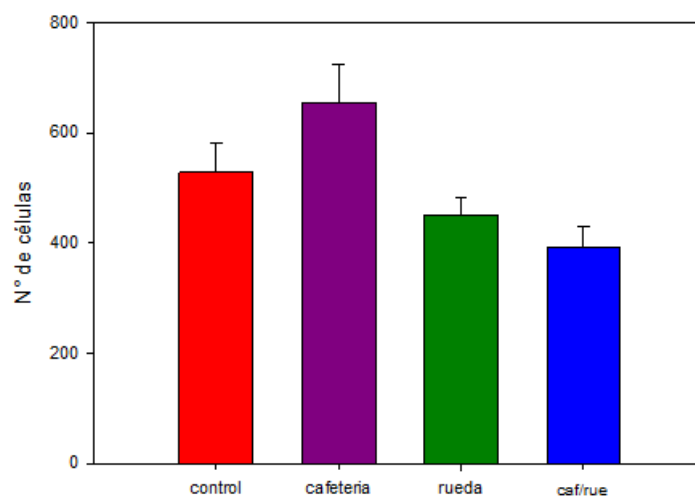


**Figura 34.** Imagen que muestra la expresión de  $\Delta$ FOSB en la región Shell del núcleo accumbens ( $M \pm SEM$ ) (20X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

La figura 35 muestra la cantidad de  $\Delta$  FOS-B en el núcleo accumbens región shell. El grupo que muestra mayor expresión de esta proteína es el que estuvo expuesto a dieta de Cafetería, por otra parte, los que presentaron menor expresión fueron el grupo de Cafetería/rueda y de rueda sola, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos [ $F_{(3,15)}=2.796$ ,  $p=0.086$ ].

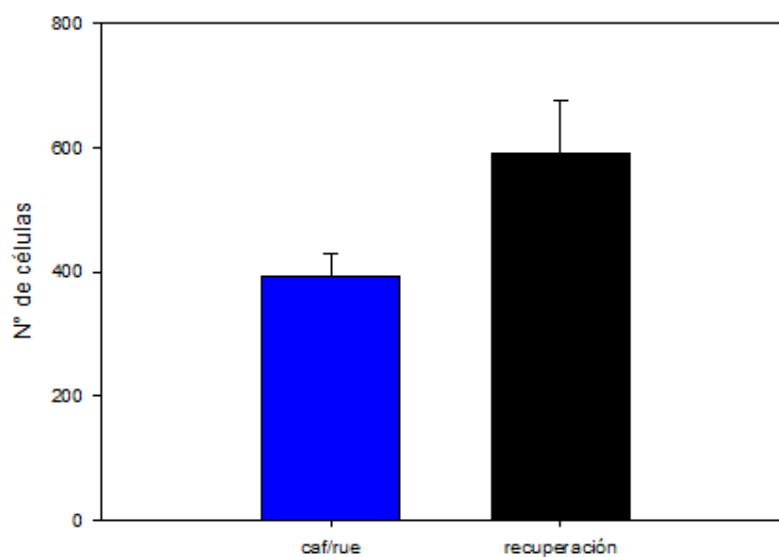
La figura 36 muestra la cantidad de proteína de  $\Delta$ FOSB en el núcleo Accumbens región shell. Se muestra solo la comparación entre el grupo que consumía cafetería con actividad forzada en rueda y el grupo de recuperación, se puede observar un aumento en la cantidad de proteína después de 4 semanas de recuperación, dicho aumento no mostro significancia estadística [ $t= -1.530$ ,  $p= .177$ ].

### Delta FOSB Accumbens Shell



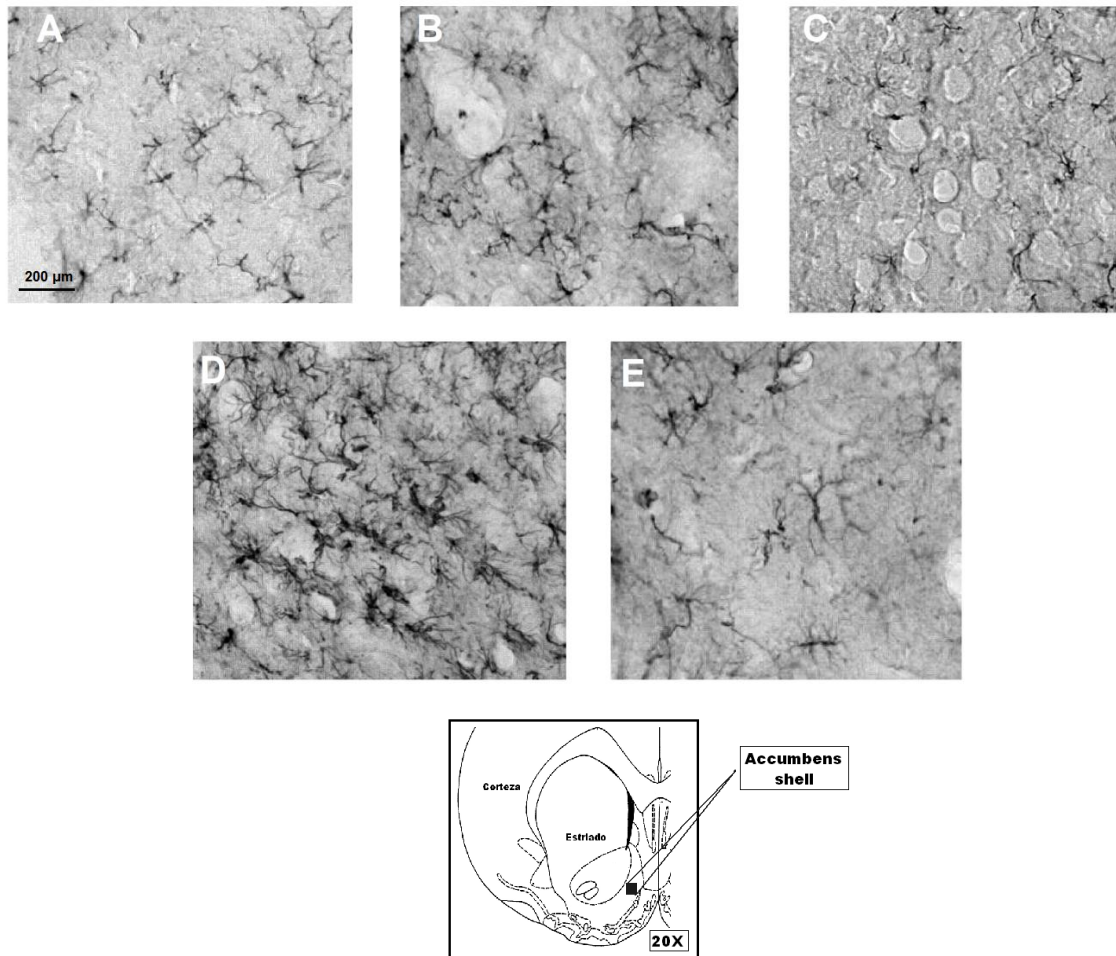
**Figura 35.** Expresión de  $\Delta$  FOS-B en la región shell del núcleo accumbens ( $M \pm$  SEM). No se encontraron diferencias entre grupos.

### Delta FOSB Accumbens Shell



**Figura 36.** Expresión de  $\Delta$ FOSB en la región shell del núcleo accumbens ( $M \pm$  SEM). No se encontró diferencia entre los grupos.

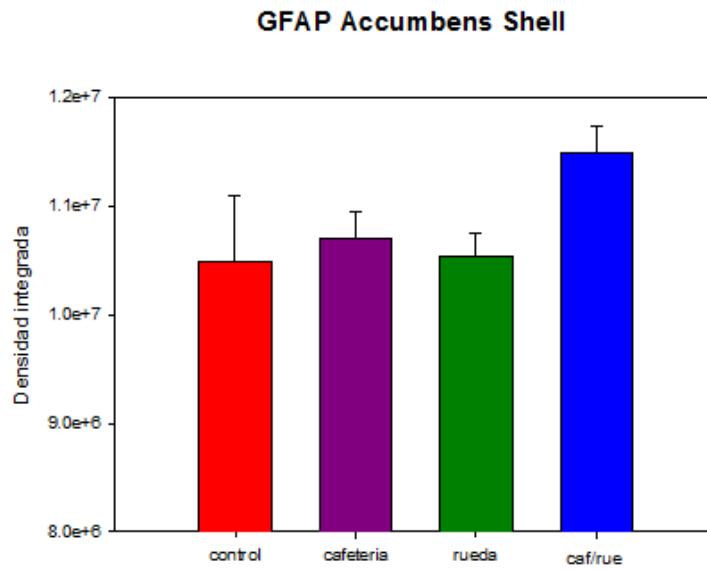
Se observó la expresión de GFAP en el núcleo accumbens en sus dos subregiones. Este péptido nos permitió visualizar los astrocitos y sus prolongaciones (ver Figura 37 para la subregión Shell y Figura 40 para la subregión Core).



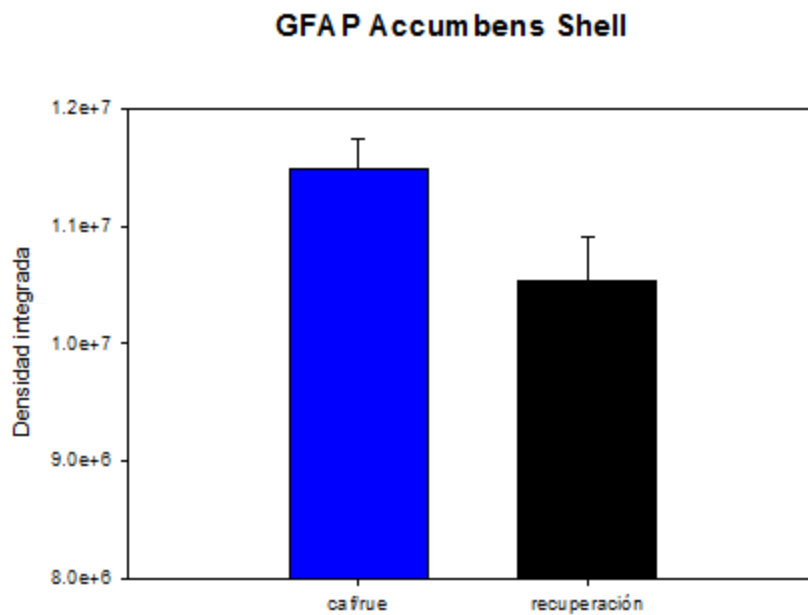
**Figura 37.** Densidad integrada de GFAP en la región Shell del núcleo accumbens (20X). (A) Control, (B) Cafeteria, (C) Rueda, (D) Cafeteria/rueda, (E) Recuperación.

Debido a la dificultad de contar el número de astrocitos se utilizó la densidad óptica integrada. La figura 38 muestra la densidad integrada de la proteína GFAP en el núcleo accumbens región shell. El grupo que muestra mayor cantidad de proteína es el grupo de Caf/rueda, no se encontró diferencias estadísticas entre grupos [ $F_{(3,15)}=2.796$ ,  $p=0.086$ ].

La figura 39 muestra la densidad integrada de la proteína GFAP en el núcleo Accumbens región Shell comparando el grupo Caf/rueda con el grupo de recuperación, se puede observar un decremento en la proteína después de 4 semanas de recuperación, pero dicho decremento no resulta significativo [ $t=2.222$ ,  $p=0.077$ ]. El valor resultante del grupo de recuperación alcanzó valores similares al control.

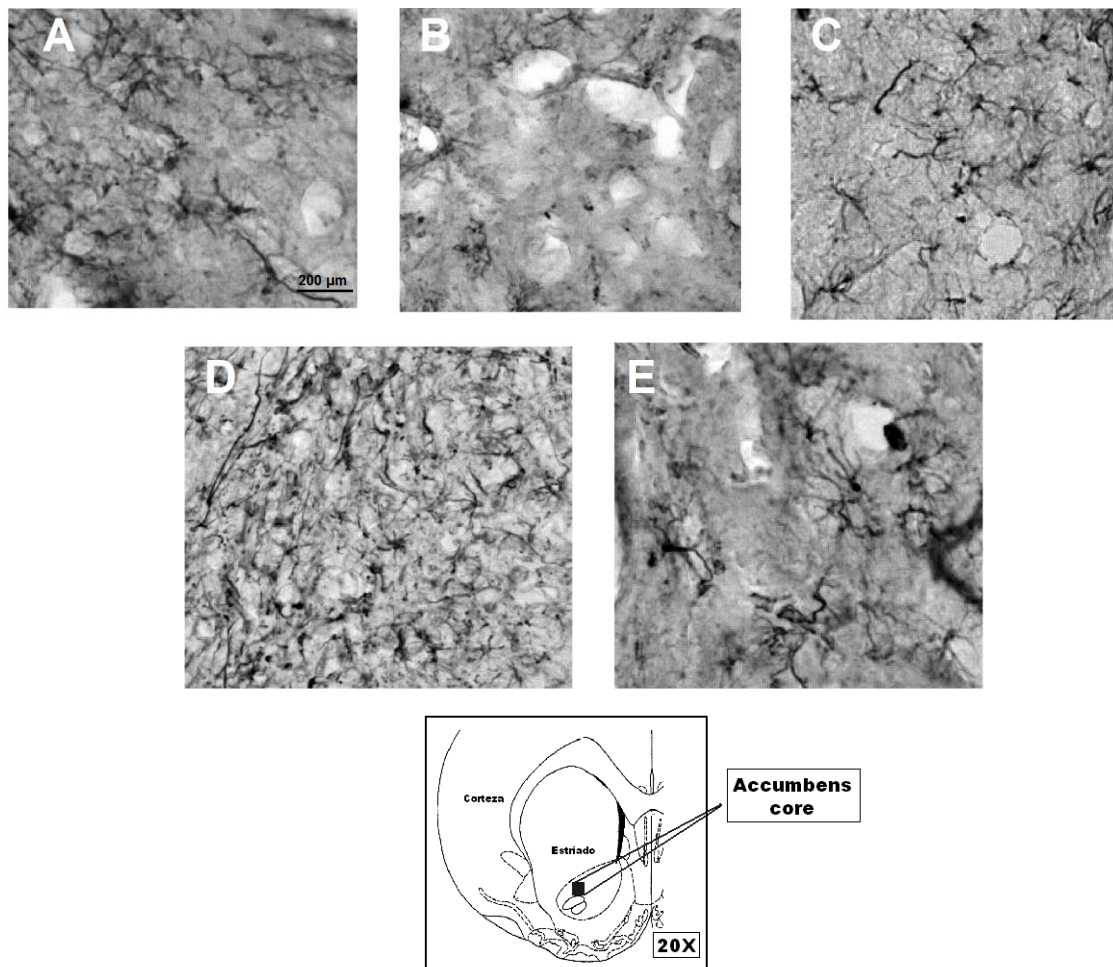


**Figura 38.** Expresión de GFAP en la región shell del núcleo accumbens ( $M \pm SEM$ ). No observo diferencias entre grupos.



**Figura 39.** Densidad integrada para GFAP en el núcleo accumbens región Shell ( $M \pm SEM$ ). No se encontró diferencia significativa entre grupos.

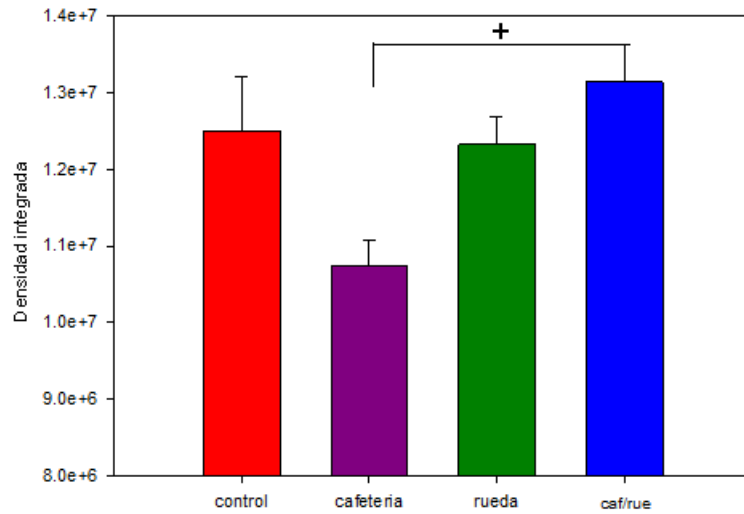
Al igual que la subregión accumbens Shell, hubo una amplia expresión de astrocitos en el accumbens Core (Figura 40), por lo que también se utilizó la densidad óptica integral para evaluar la densidad de astrocitos.



**Figura 40.** Imagen que muestra la expresión de GFAP en la región core del núcleo accumbens (20X). (A) Control, (B) Cafetería (C) Rueda, (D) Cafetería/rueda, (E) Recuperación.

La figura 41 muestra la densidad integrada de la proteína GFAP en el núcleo accumbens región core. El grupo cafetería mostró valores significativamente menores a los demás grupos, esto fue confirmado por el ANOVA de una vía que indicó que diferencias entre grupos [ $F_{(3,15)}=4.254$ ,  $p<0.05$ ]. El análisis *post-hoc* Tukey HSD mostró que el grupo de cafetería es significativamente diferente del grupo de Caf/rueda.

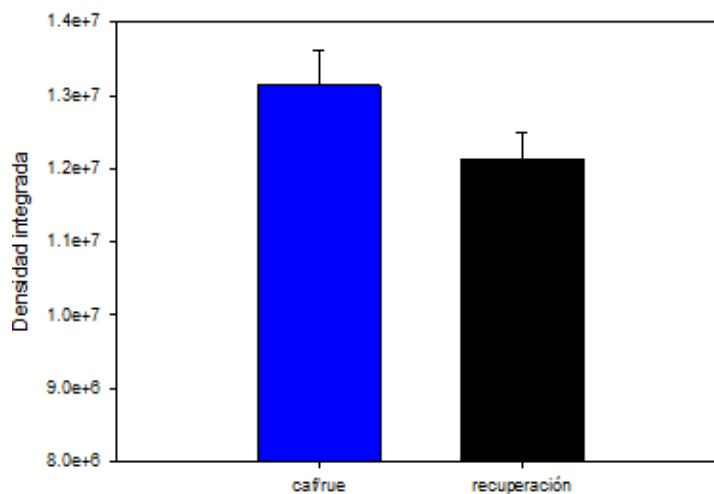
### GFAP Accumbens Core



**Figura 41 .** Expresión de GFAP en la región core del núcleo accumbens ( $M \pm SEM$ ). Se encontró una diferencia significativa entre los grupos Cafetería y Caf/rueda  $^+p < 0.05$ .

La figura 42 muestra la densidad integrada de proteína GFAP en el núcleo Accumbens región core comparando el grupo Caf/rueda con el grupo de recuperación, se puede observar una reducción en la densidad integrada de la proteína después de 4 semanas de recuperación, pero dicha reducción no resultó estadísticamente significativa [ $t=1.539$ ,  $p=0.184$ ]. Considerando los otros grupos, los valores del grupo recuperación fueron similares al grupo control.

### GFAP Accumbens Core



**Figura 42.** Densidad integrada de GFAP en el núcleo accumbens región core para los grupos Cafetería/rueda y Recuperación ( $M \pm SEM$ ). No se encontró diferencia entre los grupos.



## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que la combinación de un retraso de 4 horas al inicio del sueño combinado con una dieta de cafetería tiene efectos significativos sobre la ganancia de peso en ratas. El consumo de la dieta de cafetería tuvo un efecto por sí mismo en la ganancia de peso, lo cual previamente se había encontrado en la literatura con este tipo de dietas, por otro lado, la suma de la actividad forzada durante el periodo de descanso maximizó este efecto de ganancia de peso, resultando así una mayor ganancia para las ratas que se mantenían en el grupo de Caf/rueda.

La tesis de licenciatura de Velasco en 2013 complementó nuestros resultados, aportando datos acerca de la grasa retroabdominal de tres de los grupos que manejamos en nuestra investigación, encontrando una mayor acumulación de grasa en el grupo de Recuperación, siguiéndole el grupo de Caf/rueda en comparación con el grupo control. Asimismo a estos tres grupos se les midió los niveles de triglicéridos encontrando que los grupos de Caf/rueda y Recuperación tenían valores significativamente mayores en comparación al grupo control, pero al momento de regresar a los animales a condiciones de alimentación estándar de esta medida se recuperaron los valores normales de triglicéridos, pero no del peso. Al realizar el Test de Tolerancia a la Glucosa, se encontró que los grupos de Cafetería y Recuperación tenían los valores más altos, sin regresar a su línea base después de 120 min inyectado el bolo de glucosa intraperitonealmente, lo que nos indica que estos grupos son incapaces de almacenar rápidamente la glucosa dentro de las células (Velasco, 2013).

Se ha descrito que las ratas con acceso a dieta de cafetería aumentan de peso por consumir mayor contenido calórico y por las propiedades reforzantes que tienen este tipo de alimentos, los cuales propician un sobreconsumo que no coincide con el gasto energético (Pandit *et al.*, 2012). Por otra parte el efecto en el grupo de cafetería/rueda podría deberse a que el animal se mantiene durante más horas despierto, lo cual le permite destinar más tiempo a comer, a su vez que se generan señales diferentes entre la cantidad de energía que se consume y la cantidad de energía que se gasta (Chamorro *et al.*, 2011). Se ha

demostrado que la privación de sueño también tiene efectos sobre el sistema de recompensa, en especial sobre el sistema dopaminérgico, esto podría llevar a un mayor sobreconsumo de alimentos “sabrosos”. Por otra parte, la privación de sueño parcial o total incrementa la ingestión de comida chow durante las 24 horas del día, de acuerdo a estudios con roedores (Hanlon *et al.*, 2010).

Los grupos que tenían acceso a dieta de cafetería consumían una gran cantidad de este tipo de alimento durante las 4 horas de exposición, resultando el consumo total para el grupo de cafetería en 38.44% correspondiente a la dieta de cafetería, mientras que para el grupo de cafetería/rueda dicho consumo ocupó el 50.13% de su consumo total. Nuestros datos coinciden con el reporte de Parylack *et al.* (2012) que encontró que ratas expuestas a periodos restringidos de alimentación (10 minutos) a una dieta alta en grasas y azúcares llegan a consumir hasta el 40% de la ingesta kilocalórica total. En consecuencia el consumo de dieta chow fue disminuyendo en los grupos que consumían dieta de cafetería a lo largo de las semanas, en contraste con los grupos control y rueda en que se mantuvo estable el consumo de comida chow consumido a lo largo del protocolo experimental, lo cual ya se ha observado en estudios previos (Cottone *et al.*, 2008). Debido a este ajuste compensatorio, los animales con dieta de cafetería no mostraron una diferencia significativa en cuanto al total de kilocalorías diarias, es decir, la ingesta kilocalórica diaria se mantuvo para los 4 grupos durante el protocolo experimental, dichos resultados pueden ser vistos desde una perspectiva de la homeostasis fisiológica, pues este tipo de ratas ha demostrado esta propiedad de “regulación” en cuanto a la ingesta kilocalórica (Avena *et al.*, 2007).

Anteriormente se mencionó que la dieta de cafetería para este estudio estaba compuesta de dos tipos de menús: salchichas-papas fritas y galletas Oreo-galletas Ritz. Lo que se encontró a lo largo del protocolo fue una preferencia por el consumo del menú que contenía salchichas y papas, pero en especial se encontró un mayor consumo de salchichas a lo largo del protocolo, observándose un consumo relativamente estable las primeras seis semanas pero a partir de esta semana el consumo aumenta progresivamente. Dicha preferencia por las salchichas se podría explicar por las propiedades que tiene

este tipo de alimento en cuanto a textura, olor, sabor y consistencia. Esta preferencia por la comida alta en grasas se ha encontrado en otras investigaciones (Timofeeva *et al.*, 2009).

Cabe destacar el hecho de que en diversos protocolos en los cuales se ha trabajado con dietas altas en grasas y azúcares (Avena *et al.*, 2012; Parylack *et al.*, 2012) se expone a los animales por periodos no mayores de seis semanas a la dieta. En este tipo de protocolos han tratado de encontrar posibles patrones conductuales tipo “atracción” de sacarosa (Colantuoni *et al.*, 2002) pero los resultados han diferido a los de las dietas altas en grasas. Una posible explicación sería el tiempo de exposición, ya que como podemos ver en el presente estudio, los animales expuestos a dieta de cafetería comenzaron a consumir una mayor cantidad de salchichas a partir de la sexta semana, esto da paso a realizar protocolos enfocados al tiempo de exposición a la dieta ya que en el caso de los alimentos altos en grasas tal vez se necesite un mayor tiempo de exposición para poder observar el atracción que se observa con el consumo de dietas altas en sacarosa.

La producción de orexinas está relacionada con la ingestión de alimentos y la recompensa, estas fueron detectadas en dos áreas: hipotálamo lateral (HL) y en el área perifornical (APF), cada una de estas áreas juega un papel diferencial en la conducta. El HL se ha relacionado y asociado a la conducta de ingestión de alimentos y recompensa de diversas drogas de abuso (Bardo *et al.*, 2011; Estabrooke *et al.*, 2001; Pasumarthi *et al.*, 2006) mientras que el APF se ha relacionado más con el alertamiento (Harris y Aston-Jones, 2006).

Si bien no se encontró una diferencia significativa entre grupos en el APF, se puede observar una baja en la expresión de orexinas en el grupo de caf/rueda, dicha tendencia, al ser comparada con el grupo de recuperación (el cual estuvo expuesto a las mismas condiciones de caf/rueda pero con un periodo de recuperación de un mes con chow ad libitum) resulta significativa, es decir, al paso de un mes de haber retirado la dieta de cafetería los niveles de orexinas tipo 1 regresan al estado basal (control) una proporción aproximadamente del 30% en comparación al grupo de cafetería/rueda. Cabe destacar que dichos

niveles de orexinas tipo 1 en el APF se han encontrado relacionados con alertamiento, de esta forma se podría inferir que al paso de 12 semanas ante dieta de cafetería y alteración de sueño disminuyen la expresión de orexinas en APF, provocando que el animal esté menos alerta ante los estímulos que lo rodean y tras un mes de recuperación (o abstinencia a este tipo de dieta) el animal muestre un restablecimiento de la expresión de orexinas.

La expresión de neuronas orexigénicas en el HL no resultó significativa estadísticamente entre grupos, sin embargo se puede observar una tendencia a la alta en expresión de estas neuronas en el grupo de cafetería, como se mencionó anteriormente el papel del HL sobre la ingestión de alimentos y la recompensa se ha encontrado en diversas drogas de abuso, lo cual se esperaba observar en las dietas altas en grasa/azúcares, el hecho de que el grupo de cafetería mostrara un mayor número de células orexigénicas podría deberse a las propiedades del alimento (Bello *et al.*, 2002). El hecho de que el grupo de caf/rueda no muestre este aumento en las neuronas orexigénicas podría deberse a la privación de sueño, ya que como se ha descrito anteriormente la privación parcial de sueño decreta la expresión de dopamina en el núcleo accumbens (Hanlon *et al.*, 2010) el cual recibe proyecciones del HL y que a su vez manda aferencias al VTA (Zhang *et al.*, 2013), de esta forma la disminución en dopamina provocada por la privación de sueño podría estar interfiriendo con el aumento en la expresión de orexinas en el HL para las ratas del grupo caf/rueda.

En el caso del péptido  $\alpha$ -MSH no se encontraron diferencias significativas entre grupos, sin embargo se puede observar una tendencia a la baja en este péptido en el grupo de cafetería, de haber resultado significativa esta tendencia se estaría demostrando una consistencia con los trabajos en los que se han dado dietas altas en grasa/azúcares (la Fleur *et al.*, 2011) y altos en grasa (Huang *et al.*, 2003) en donde se reporta que la ingestión crónica de dieta alta en grasa disminuye la síntesis de POMC y  $\alpha$ -MSH, en particular en el núcleo arqueado del hipotálamo, lo cual resultaría en una inhibición del mecanismo de saciedad del organismo (Lin *et al.*, 2000).

Se sabe que la función de  $\alpha$ -MSH es la de un anorexigénico, es decir, inhibe la ingesta de alimentos. Al encontrarse este péptido disminuido resultaría un déficit metabólico en el cual las señales de saciedad están bajas y se puede propiciar el sobreconsumo. Cabe destacar que el grupo de caf/rueda no mostró la tendencia a la baja que mostró el grupo de cafetería, incluso los niveles de  $\alpha$ -MSH para este grupo se mantuvieron similares a los del grupo control, una posible explicación para este fenómeno sería el hecho de que estos animales al estar despiertos durante más tiempo tienen un mayor gasto de energía por lo cual, los requerimientos energéticos del sistema serían mayores, llevando así a un sobreconsumo de alimentos pero sin la señal de  $\alpha$ -MSH para detener dicha ingestión (Chamorro *et al.*, 2011).

Cabe destacar que la expresión de  $\alpha$ -MSH en el grupo de recuperación disminuyó mostrando niveles de expresión similares a los obtenidos por los animales que solo consumían cafetería en sus cajas, lo que se podría interpretar como un aumento en las señales internas de hambre.

En cuanto a la expresión de la proteína  $\Delta$ FosB no se encontraron diferencias significativas en las regiones core y shell del núcleo accumbens, sin embargo se observó una tendencia a la alta en el grupo de cafetería para ambas regiones. El núcleo accumbens juega un papel importante en el circuito de recompensa y la expresión de la proteína  $\Delta$ FosB en esta área se ha visto relacionado con el uso y abuso de drogas (Nestler, 2008; Chen *et al.*, 1997). Por otra parte esta proteína se ha visto relacionada con plasticidad sináptica dependiente de reforzadores naturales (comida, sexo) similar a la que se encuentra en el consumo de psicoestimulantes; con incremento de densidad dendrítica, con alteraciones en el tráfico de receptores glutamatérgicos y decremento en la fuerza sináptica en la corteza prefrontal (CPF) de proyecciones del núcleo accumbens región Shell (Pitchers *et al.*, 2013). De esta forma el incremento de  $\Delta$ FosB en estas regiones del núcleo accumbens podrían sugerir un aumento en la plasticidad sináptica. Dado que los resultados no mostraron diferencias significativas, estas interpretaciones deben ser tomadas con cautela a su vez que se requiere más investigación para poder esclarecer el papel de  $\Delta$ FosB en el sobreconsumo de este tipo de dietas.

GFAP ha mostrado ser parte importante en el proceso de neuroplasticidad (Chen *et al.*, 2010) en nuestros resultados se encontró que para la región shell del núcleo accumbens no hubo diferencia significativa entre grupos, sin embargo el grupo de cafetería/rueda mostró una tendencia a la alta en la intensidad de densidad de esta proteína en el Shell. Para la región core se observó que los grupos de cafetería y rueda mostraron menor intensidad de densidad en comparación al grupo de caf/rueda. Dichos resultados dan soporte a la idea de cambios neuroplásticos por la exposición a dietas altas en grasas (Higuchi *et al.*, 2010) pero no explican por qué dicho aumento en GFAP para el grupo de caf/rueda no se observó en el grupo que sólo tuvo acceso a la dieta de cafetería.

En ratas obesas se ha reportado un aumento en GFAP en hipocampo, hipotálamo y corteza prefrontal, así como signos de inflamación; lo cual también se ha descrito en sujetos que reportan signos de síndrome metabólico (Tomassoni *et al.*, 2013). Estos resultados sugieren que el organismo sufre de estrés oxidativo por la peroxidación de lípidos en el cerebro, dando paso a una gliosis reactiva causando un daño cerebral. Otros estudios sugieren que el cambio en esta proteína es relevante por la forma, distribución y la evaluación de la inflamación que tienen los astrocitos, ya que no disminuye o aumenta el número de astrocitos, sino que afecta la estructura y su remodelación (Tynan *et al.*, 2013)

En cuanto a los resultados obtenidos se demostró el efecto de la interacción entre dieta de cafetería y actividad forzada/privación de sueño sobre la conducta de ingestión de alimentos y sobre la ganancia de peso, resultados que se habían observado anteriormente en la literatura por separado, pudiéndose observar que la suma de ambos factores es perjudicial para el aumento de peso y que esto sea un factor desencadenante para tener síndrome metabólico o diabetes.

## CONCLUSIONES

La combinación de dieta de cafetería con privación de sueño durante las primeras horas de la fase de descanso de la rata potenció el efecto de la dieta de cafetería resultando en estos animales, mayor consumo de la dieta y mayor aumento de peso corporal; esto sugiere que comer en horarios distintos al de actividad (como es la noche en el caso de los humanos) propicia el aumento de peso corporal y riesgo a desarrollar enfermedades metabólicas.

Los cambios observados en los cerebros de ratas expuestas a la dieta de cafetería mediante inmunohistoquímica, muestran una tendencia similar a los reportados en la literatura: disminución de la producción de  $\alpha$ -MSH y aumento de la producción de orexinas. Mientras que para las proteínas  $\Delta$ FosB y GFAP no se encontraron los cambios que se han reportado en la literatura, por lo que a nivel neurológico no pudimos confirmar un patrón similar a la adicción, aunque sí tendencias muy claras.

Contrariamente a lo esperado, el grupo cafetería/rueda no mostró los cambios cerebrales esperados, en comparación con el grupo de cafetería. Una razón podría ser la alteración del ciclo sueño vigilia que pudo llevar los valores en una dirección contraria, como un factor que ayuda al organismo a tener señales cerebrales adecuadas que lo lleven al equilibrio, aunque el animal sigue teniendo sobreconsumo y aumento de peso, por lo que tal vez no sea suficiente o los órganos periféricos no estén recibiendo la señal correctamente.

Se requieren más estudios que nos permitan comprender los cambios hipotalámicos resultantes de la combinación de alteración del sueño y dieta de cafetería y obesidad, así como investigar el efecto de la alteración del ciclo sueño-vigilia sobre la ingestión de alimentos, tanto en la ingestión de tipo homeostática como la ingestión de tipo hedónica y cómo es que ambos sistemas trabajan en conjunto para regular el consumo de alimentos.

En futuras investigaciones se debe dar un peso importante al tipo de macronutrientes que componen la dieta que se administre, ya que la literatura ha demostrado que dependiendo de los componentes de la dieta se pueden

obtener resultados diferenciales e incluso contradictorios, por lo cual este punto debe tomarse en cuenta cuando se trabaja con dietas altas en grasas/azúcares. Otra opción es estudiar los efectos diferenciales de este tipo de alteración de sueño con otras técnicas de privación de sueño, así como modificar o aumentar las horas de privación o alteración, es decir protocolos de 8 o 12 horas de privación y evaluar el consumo de este tipo de alimentos, metabolismo y peso de los animales.



## LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Cabe destacar que los resultados obtenidos en el análisis neuronal se pudieron haber visto influenciados por la técnica misma, ya que la técnica inmunohistoquímica no muestra la actividad neuronal, sólo es un marcaje de identidad celular, lo cual no indica una relación funcional, el implemento de otro marcador de actividad neuronal como c-Fos podría dilucidar más acerca del papel de las neuronas que están activas y las que no, de esta forma la comparación entre células podría dar mayor información sobre su capacidad de respuesta.

Para futuras investigaciones se deberían de usar grupos de animales con una  $n$  mayor, ya que para este estudio este factor pudo haber sido una variable que no permitiera que los resultados fueran estadísticamente significativos.

Por otra parte al querer aplicar estos resultados a la especie humana nos encontraremos con un problema, ya que las dietas de cafetería que consumen los humanos es muy diversa y con una gran cantidad de macronutrientes que muchas veces se desconoce, es por esto que al trabajar con este tipo de dietas se deben tomar muchas precauciones para evitar errores de interpretación.

## REFERENCIAS

- Adan R. A, Tiesjema B, Hillebrand J.J., la Fleur, S.E., Kas, M.J., de Krom, M., (2006). The MC4 receptor and control of appetite. *Br. J. Pharmacol.* 149: 815–827.
- Agras WS., Hammer LD., McNicholas F and Kraemer HC (2004) Risk factors for childhood overweight: a prospective study from birth to 9.5 years. *Pediatr J.* 145, 20-25.
- Akman-M., Akan-H., İzbirak-G., Tanrıöver-Ö., Mine-S., Yıldız-A., Tektaş-A., Vitrinel-A and Hayran-O (2010) Eating patterns of Turkish adolescents: a cross-sectional survey. *Nutri J.* 9, 1-5.
- Arble DM, Bass J, Laposky AD, Vitaterna MH, and Turek FW (2009). Circadian Timing of Food Intake Contributes to Weight Gain. *Obesity*; 17(11).
- Avena NM, Bocarsly ME, Rada P, Kim A, Hoebe BG (2007). After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior* 94: 309–315.
- Avena NM, Bocarsly ME and Hoebel BG (2012). Animal models of sugar and fat bingeing: Relationship to food addiction and increased body weight. *Psychiatric Disorders: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 829.
- Bardo M. T, Stairs D. J, Prendergast M. A. (2011) Environmental-induced differences in corticosterone and glucocorticoid receptor blockade of amphetamine self-administration in rats. *Psychopharmacology*; 218(1):293-301.
- Barreto L, et al. (2001). Obesidad: fisiología de la ingesta (Primera parte). *Revista Colombiana de Cirugía Plástica y Reconstructiva. RCCP Vol. 7 No. 2*
- Bello NT, Lucas LR, Hajnal A (2002). Repeated sucrose access influences dopamine D2 receptor density in the striatum. *Neuroreport*; 13 (12): 1575-1578.
- Bhanot JL, China GS, Singh B, Sachdeva U, Kumar VM (1989). REM sleep deprivation and food intake. *Indian J Physiol Pharmacol.*; 33:139–145.
- Bibb, J. A. et al. (2001) Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5. *Nature* 410,376–380. (doi:10.1038/35066591)
- Bjorbaek C, Hollenberg AN. (2002) Leptin and melanocortin signaling in the hypothalamus. *Vitam Horm*; 65:281-311.
- Bonnet-MH; Arand-DL. (1995) We are chronically sleep deprived. *Sleep J.* 18, 908–911.

- Borgland SL, Chang SJ, Bowers MS, Thompson JL, Vittoz N, Floresco SB, et al. (2009) Orexin A/ hypocretin-1 selectively promotes motivation for positive reinforcers. *J Neurosci*;29:11215– 11225.
- Borgland SL, Taha SA, Sarti F, Fields HL, Bonci A, (2006). Orexin A in the VTA is critical for the induction of synaptic plasticity and behavioral sensitization to cocaine. *Neuron*;49:589–601.
- Cancello R, Tounian A, Poitou Ch, Clement K. (2004) Adiposity signals, genetic and body weight regulation in humans. *Diabetes Metab* ;30(3):215-27.
- Chamorro RA, Durán SA, Reyes SC, Ponce R, Algarín CR, Peirano PD. (2011) Sleep deprivation as a risk factor for obesity. *Rev. Med. Chile.* 139(7):932-940.
- Chaput JP., Brunet M and Tremblay A. (2006). Relationship between short sleeping hours and childhood overweight/obesity: results from the 'Quebec en Forme' project. *Obes J.* 30,1080-1085.
- Chen J, Kelz MB, Hope BT, Nakabeppu Y, Nestler EJ. (1997). Chronic Fos-related antigens: stable variants of deltaFosB induced in brain by chronic treatments. *J Neurosci*;17: 4933-4941.
- Chen B, Hopf FW, Bonci A. (2010) Synaptic plasticity in the mesolimbic system: Therapeutic implications for substance abuse. *Ann N Y Acad Sci.*1187: 129–139.
- Cimadon HM, Geremia R, Pellanda LC. (2010) Dietary habits and risk factors for atherosclerosis in students from Bento Gonçalves (state of Rio Grande do Sul). *Arq Bras Cardiol*;95:166–172.
- Cintra DE, Ropelle ER , Pauli JR. Regulación central de la ingestión alimentaria y el gasto energético: acciones moleculares de la insulina, la leptina y el ejercicio físico. *Rev Neurol* 2007; 45(11):672-682.
- Colantuoni C, Rada P, McCarthy J, Patten C, Avena NM, Chadeayne A, and Hoebel BG (2002). Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obesity research* vol. 10 no. 6.
- Colby, C. R., Whisler, K., Steffen, C., Nestler, E. J. & Self, D. W. (2003) Striatal cell type-specific overexpression of deltaFosB enhances incentive for cocaine. *J. Neurosci.* 23, 2488–2493.
- Cottone P, Sabino V, Steardo L and Zorrilla EP (2008). Opioid-dependent anticipatory negative contrast and binge-like eating in rats with limited access to highly preferred food. *Neuropsychopharmacology* 33:524–535.
- Cuba J, Ramírez T, Olivares B, et al. (2011) Estilo de vida y su relación con el exceso de peso, en los médicos residentes de un hospital nacional. *An. Fac. Med*; vol.72, no.3, p.205-210.

- D'Ascenzo M, Fellin T, Terunuma M, Revilla-Sanchez R, Meaney DF, Auberson YP, Moss SJ, Haydon PG. (2007) mGluR5 stimulates gliotransmission in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- de Pablos, R.M., Villaran, R.F., Arguelles, S., Herrera, A.J., Venero, J.L., Ayala, A., Cano, J. Machado, A., (2006). Stress increases vulnerability to inflammation in the rat prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 26, 5709–5719.
- Densmore, V.S., Morton, N.M., Mullins, J.J., Seckl, J.R., (2006). 11 Beta hydroxysteroid dehydrogenase type 1 induction in the arcuate nucleus by high-fat feeding: a novel constraint to hyperphagia?. *Endocrinology* 147: 4486–4495.
- Dietrich MO, Horvath TL. Feeding signals and brain circuitry. *Eur J Neurosci.* 2009 (9):1688-96.
- Dietz-WH y Robinson-TN (2005) Overweight children and adolescents. *N Engl J Med.* 352. 2100-2109.
- Eisenmann JC., Ekkekakis P and Holmes M (2006) Sleep duration and overweight among Australian children and adolescents. *Acta Paediatr.* 95, 956-63.
- Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL (2000). Glial fibrillary acidic protein: GFAP thirty one years (1969-2000). *Neurochem ;25(9-10):1439-51.* Review.
- Enriori, P.J., Evans, A.E., Sinnayah, P., Jobst, E.E., Tonelli-Lemos, L., Billes, S.K., Glavas, M.M., Grayson, B.E., Perello, M., Nilni, E.A., Grove, K.L., Cowley, M.A., (2007). Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. *Cell Metab.* 5: 181–194.
- Estabrooke IV, McCarthy MT, Ko E, Chou TC, Chemelli RM, Yanagisawa M, Saper CB, Scammell TE (2001). Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state. *J Neurosci;* 21:1656–62.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Resultados por entidad federativa, Distrito Federal. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública-Secretaría de Salud, 2007.
- ENSANUT, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, resultados principales:  
[http://ensanut.insp.mx/resultados\\_principales.php#.UVugShdOz64](http://ensanut.insp.mx/resultados_principales.php#.UVugShdOz64).
- Everson CA, Bergmann BM, Rechtschaffen A (1989). Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep;* 12:13–21.
- Fadel J, Deutch AY (2002). Anatomical substrates of orexin-dopamine interactions: lateral hypothalamic projections to the ventral tegmental area. *Neuroscience.* 111(2): 379-87.

- Fasting-MH., Pilsen-TI., Colmen-TL and Vik-T (2008). Life style related to blood pressure and body weight in adolescence: cross sectional data from the Young-HUNT study, Norway. *BMC Public Health*. 9, 111.
- Fernández-Espejo E. (2000) ¿Cómo funciona el núcleo accumbens? *Revista de neurología*.:30 (9):845-849.
- Frank, M.G., Baratta, M.V., Sprunger, D.B., Watkins, L.R., Maier, S.F., (2007). Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS proinflammatory cytokine responses. *Brain Behav. Immun*. 21, 47–59.
- French SA, Story M, Neumark-Sztainer D, et al. (2001) Fast food restaurant use among adolescents: associations with nutrient intake, food choices and behavioural and psychosocial variables. *Int J Obes.*;25:1823–1833.
- Friemel C., Spanagel R and Schneider M (2010). Reward sensitivity for a palatable food reward peaks during pubertal developmental in rats. *Front Behav Neuro*. 4,1-10.
- Froy-O (2010) Metabolism and Circadian Rhythms: Implications for Obesity. *Endo. J*. 31, 1-24.
- Fuchs, E., Weber, K. (1994) Intermediate Filaments: Structure, Dynamics, Function and Disease. *Annu. Rev. Biochem*. 63: 345-382.
- Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, Moyer MC, Hoebel BG, Pothos EN (2009) Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. *J. Neuroscience*. 159(4):1193-1199.
- Gout, J., Sarafian, D., Tirard, J., Blondet, A., Vigier, M., Rajas, F., Mithieux, G., Begeot, M., Naville, D., (2008). Leptin infusion and obesity in mouse cause alterations in the hypothalamic melanocortin system. *Obesity*. (Silver. Spring) 16: 1763–1769.
- Haddock R, Grayson T., Morris M., Howitt L., Chadha P and Sandow S. (2011) .Diet-Induced obesity impairs endothelium-derived hyperpolarization via altered potassium channel signaling mechanisms. *PLoS One*. 6, 1-13.
- Hanlon C. E, Benca M. R, Baldo A. and Kelley A. (2010). REM sleep deprivation produces a motivational deficit for food reward that is reversed by intra-accumbens amphetamine in rats. *Brain Res Bull*, October 30; 83(5): 245–254.
- Hansen, M.J., Ball, M.J., Morris, M.J., (2001). Enhanced inhibitory feeding response to alpha-melanocyte stimulating hormone in the diet-induced obese rat. *Brain Res*. 892: 130–137.
- Harris, G.C., Aston-Jones, G. (2006) Arousal and reward: dichotomy in orexin function. *Trends Neurosciences*.29, 571-577.

- Haydon PG, Blendy J, Moss SJ, Jackson FR (2009) Astrocytic control of synaptic transmission and plasticity: a target for drugs of abuse?. *Neuropharmacology*. 2009; 56(Suppl 1): 83–90.
- Haynes AC, Jackson B, Chapman H, Tadayyon M, Johns A, Porter RA, Arch JR. (2000) A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regul Pept*;96:45–51. [PubMed: 11102651]
- Hebert, M.A., O'Callaghan, J.P. (2000) .Protein phosphorylation cascades associated with metamphetamine-induced glial cell activation. *Ann N.Y. Acad. Sci*, 914., 238-262.
- Higuchi S, Irie K, Mishima S, Araki M, Ohji M, Shirakawa A, Akitake Y, Matsuyama K, Mishima K, Mishima K, Iwasaki K, Fujiwara M (2010). The Cannabinoid 1–receptor silent antagonist O-2050 attenuates preference for high-fat diet and activated astrocytes in mice. *J Pharmacol Sci* 112, 369 – 372
- Hollander JA, Lu Q, Cameron MD, Kamenecka TM, Kenny PJ. (2008) Insular hypocretin transmission regulates nicotine reward. *Proc Natl Acad Sci U S A*;105:19480–19485.
- Horvath TL, Diano S, Tschöp M. Brain circuits regulating energy homeostasis. (2004) *Neuroscientist* 10(3):235-46.
- Huang XF, Han M, South T, Storlien L (2003). Altered levels of POMC, AgRP and MC4-R mRNA expression in the hypothalamus and other parts of the limbic system of mice prone or resistant to chronic high-energy diet-induced obesity. *Brain Res*. 992(1):9-19.
- Hsuchou H, He Y, Kastin AJ, Tu H, Markadakis EN, Rogers RC, Fossier PB, Pan W.(2009) Obesity induces functional astrocytic leptin receptors in hypothalamus. *Brain* 2009: 132; 889–902.
- Huszar, D., Lynch, C.A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J.H., Fang, Q., Berkemeier, L.R., Gu, W., Kesterson, R.A., Boston, B.A., Cone, R.D., Smith, F.J., Campfield, L.A., Burn, P., Lee, F., (1997). Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 88: 131–141.
- Instituto Nacional de Salud Pública (2012) Encuesta nacional de salud y nutrición 2012. Estado de nutrición, anemia y seguridad alimentaria en la población mexicana. Recuperado el 03 de febrero de 2013 de [http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2012\\_Nutricion.pdf](http://ensanut.insp.mx/doctos/ENSANUT2012_Nutricion.pdf)
- James-W., Jackson-R., Mhurchu-C., Kalamara-E., Shayeghi-M., Rigby-N., Nishida-C and Rodgers-A (2004) Overweight and obesity (high body mass index). In *Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors*. WHO. 97, 596-598.

- Johnson, J.D., O'Connor, K.A., Deak, T., Stark, M., Watkins, L.R., Maier, S.F., (2002). Prior stressor exposure sensitizes LPS-induced cytokine production. *Brain Behav. Immun.* 16, 461–476..
- Johnson PM. and Kenny PJ., (2010) Addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats: Role for dopamine D2 receptors. *Nat Neurosci.*; 13(5): 635–641.
- Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS (1999). Interacting appetite regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev.* ;20(1):68-100
- Kalra SP, Kalra PS. (2003) Neuropeptide Y: a physiological orexigen modulated by the feedback action of ghrelin and leptin. *Endocrine*;22(1):49-56.
- Kelley A. E. (2004) Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron* 44:161–179.
- Kelz MB, Chen J, Carlezon WA Jr, Whisler K, Gilden L, Beckmann AM, et al (1991) . Expression of the transcription factor deltaFosB in the brain controls sensitivity to cocaine. *Nat*; 401:272-276.
- Kennedy-A., Ellacot-K., King-V and Hasty-A (2010) Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis Model Mech.* 3,156–66.
- Kenny, P J. (2011) Common cellular and molecular mechanisms in obesity and drug addiction. *Nature Reviews Neuroscience* 12, 638-651.
- Kenny PJ (2011a). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron*; 69(4):664-79.
- Kinzig, K.P., Scott, K.A., Hyun, J., Bi, S., Moran, T.H., (2005). Altered hypothalamic signaling and responses to food deprivation in rats fed a low carbohydrate diet. *Obes. Res.* 13: 1672–1682.
- Knutson-KL (2005) Sex differences in the association between sleep and body mass index in adolescents. *Pediatr J.* 147, 830-834.
- Knutson K and Lauderdale D. (2007) Sleep duration and overweight in adolescents: self-reported sleep hours versus time diaries. *Pediatrics* 119;e1056. DOI: 10.1542/peds.2006-2597.
- la Fleur SE, Luijendijk MC, van Rozen AJ, Kalsbeek A, Adan RA (2011). A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin

unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *Int J Obes* ; 35(4):595-604.

Lee, K.W., Kim, Y., Kim, A. M., Helmin, K., Nairn, A. C. and Greengard, P. (2006) Cocaine-induced dendritic spine formation in D1 and D2 dopamine receptor-containing medium spiny neurons in nucleus accumbens. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 3399–3404. (doi:10.1073/pnas.0511244103)

Leproult R and Van Cauter E. (2010) Role of Sleep and Sleep Loss in Hormonal Release and Metabolism. *Endocr Dev.* 17, 11–21.

Lin S, Storlien LH, Huang XF. *Brain Res.* (2000) .Leptin receptor, NPY, POMC mRNA expression in the diet-induced obese mouse brain. 875(1-2): 89-95.

Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK, (2001). Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol*;435: 6–25.

Martin G, Fabre V, Siggins GR, De Lecea L, (2002). Interaction of the hypocretins with neurotransmitters in the nucleus accumbens. *Regul Pept*; 104:111–117.

McClung CA, Nestler EJ (2003). Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB. *Nat Neurosci* ;6:1208-1215.

Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Yanagisawa M, Matsukura S, (1999). Widespread distribution of orexin in rat brain and its regulation upon fasting. *Biochem Biophys Res Commun* ;256:495–499.

Morin-R and Lonngi-G (2005) *Farmacoterapia de la Obesidad*. Primera edición. Lito-Grafo. Mex., D.F. Pp 134.

Munhoz, C.D., Lepsch, L.B., Kawamoto, E.M., Malta, M.B., Lima Lde, S., Avellar, M.C., Sapolsky, R.M., Scavone, C., (2006). Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. *J. Neurosci.* 26, 3813–3820.

Nair SG, Golden SA, Shaham Y, (2008). Differential effects of the hypocretin 1 receptor antagonist SB 334867 on high-fat food self-administration and reinstatement of food seeking in rats. *British Journal of Pharmacology* ;154:406–416.

Narita M, Nagumo Y, Hashimoto S, Narita M, Khotib J, Miyatake T, Sakurai T, Yanagisawa M, Nakamachi T, Shioda S, Suzuki T, (2006). Direct involvement of orexinergic systems in the activation of the mesolimbic dopamine pathway and related behaviors induced by morphine. *J Neurosci*; 26:398–495.



- Nedeltcheva AV, Kilkus JM, Imperial J, Kasza K, Schoeller DA, Penev PD . (2009) Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks. *Am J Clin Nutr*; 89:126-133.
- Nestler EJ. (2008). Transcriptional mechanisms of addiction: role of delta FosB. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* ; 363:3245-3255.
- Norrholm, S. D., Bibb, J. A., Nestler, E. J., Ouimet, C. C., Taylor, J. R. and Greengard, P. (2003) Cocaine-induced proliferation of dendritic spines in nucleus accumbens is dependent on the activity of cyclin-dependent kinase-5. *Neuroscience* 116, 19–22. (doi:10.1016/S0306-4522(02)00560-2)
- Olsen CM (2011) Natural rewards, neuroplasticity, and non-drug addictions. *Neuropharmacology* 61:1109 –1122.
- OMS, Organizacion Mundial de la Salud (2013). Recuperado de <http://www.who.int/features/qa/18/es/> el 14/04/2013.
- Ong ZY, Wanasuria AF, Lin MZ, Hiscock J, Muhlhausler BS (2013). Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system. *Appetite* ;65:189-99.
- Pandit R, Mercer JG, Overduin J, la Fleur SE, Adan RA (2012). Dietary factors affect food reward and motivation to eat. *Obes Facts*.;5(2):221-242.
- Parylak SL, Cottone Pa, Sabino V, Rice KC, Zorrilla EP (2012). Effects of CB1 and CRF1 receptor antagonists on binge-like eating in rats with limited access to a sweet fat diet: Lack of withdrawal-like responses. *Physiology & Behavior* 107 :231–24.
- Pasumarthi R, Reznikov LR, Fadel J (2006). Activation of orexin neurons by acute nicotine. *Eur J Pharmacol* ;535:172–6.
- Paxinos y Watson (2009) The rat brain. In stereotaxic coordinates. Compact sixth edition. Published by Elsevier Inc. San Diego, CA, USA.
- Penev-P., Spiegel-K., Marcinkowski-T and Van Cauter-E (2005) Impact of Carbohydrate-Rich Meals on Plasma Epinephrine Levels: Dysregulation with Aging. *Clin Endocri & Met J.* 90, 6198-6202.
- Perrotti, L. I., Hadeishi, Y., Ulery, P., Barrot, M., Monteggia, L., Duman, R. S. and Nestler, E. J. 2004 Induction of DFosB in reward-related brain regions after chronic stress. *J. Neurosci.* 24, 10 594–10 602. (doi:10.1523/JNEUROSCI.2542-04.2004)

- Pirnik, Z., Bundzikova, J., Mikkelsen, J. D., Zelezna, B., Maletinska, L., & Kiss, A. (2008). Fos expression in hypocretinergic neurons in C57B1/6 male and female mice after long-term consumption of high fat diet. *Endocrine Regulations*, 42, 137–146.
- Pitchers KK, Vialou V, Nestler EJ, Laviolette SR, Lehman MN, Coolen LM (2013). Natural and drug rewards act on common neural plasticity mechanisms with  $\Delta$ FosB as a key mediator. *J Neurosci*;33(8):3434-42.
- Prats-E., Castellá-J., Iglesias-R and Alemany-M (1987) Energy intake of rats fed a cafeteria diet. *Physiol & Behav.* 45, 263-272.
- Qidwai-W., Ishaque-S., Shah-S and Rahim-M (2010) Adolescent Lifestyle and Behaviour: A Survey from a Developing Country. *Plos One J.* 5(9), 1-6.
- Richards JK, Simms JA, Steensland P, Taha SA, Borgland SL, Bonci A, et al. (2008) Inhibition of orexin-1/ hypocretin-1 receptors inhibits yohimbine-induced reinstatement of ethanol and sucrose seeking in Long-Evans rats. *Psychopharmacology*; 199:109–117.
- Rodgers; Halford; Souza, Nd; Souza, Cd; Piper; Arch; Upton, N.; Porter; Johns, A.; Blundell. (2001) SB-334867, a selective orexin-1 receptor antagonist, enhances behavioural satiety and blocks the hyperphagic effect of orexin-A in rats. *Eur J Neurosci*;13:1444–1452.
- Rolls-B., Rowe-EA and Turner-RC (1980) Persistent obesity in rats following a period of consumption of a mixed, high energy diet. *J Physiol.* 290, 415-437.
- Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. (1998) Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*;92:573–585.
- Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Buijs MR, Escobar C. (2008) Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. *Neuroscience*.;154(3): 922-931..
- Salgado Delgado R, Nadia S, Angeles Castellanos M, Buijs RM, Escobar C (2010). In a rat model of night work, activity during the normal resting phase produces desynchrony in the hypothalamus. *J Biol Rhythms*; 25(6):421-431.
- Sampey B., Vanhoose A., Winfield H., Freerman A., Muehlbauer M., Fueger P., Newgard C and Makowski L. (2011) Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Oby J.* 18, 1-9.

- Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. (2002) The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron*;36: 199–211
- Schwartz MW and Morton GJ. (2002) Obesity: keeping hunger at bay. *Nature*; 8;418(6898):595-597.
- Sclafani-A and Springer-D (1976) Dietary in adult Rats: Similarities to Hypothalamis and Human Obesity Síndromes. *Physiol & Behav.* 17, 461-471.
- Scott M.B., Kalivas P.W. (2003). Forebrain astroglial plasticity is induced following withdrawal from repeated cocaine administration. *European journal of neuroscience*, vol. 17, pp 1273-1278
- Sharf R, Maysa Sarhan, and Ralph J. DiLeone, (2009). Role of orexin/hypocretin in dependence and addiction. Department of Psychiatry, Ribicoff Research Facilities, Yale University School of Medicine, New Haven, CT Brain Res.08.028.
- Shlisky JD, Hartman TJ, Kris-Etherton PM, Rogers CJ, Sharkey NA, Nickols-Richardson SM (2012). Partial sleep deprivation and energy balance in adults: an emerging issue for consideration by dietetics practitioners. *J Acad Nutr Diet.*;112(11):1785-97.
- Spiegel-K., Leproult-R., L'Hermite-Bale´ M., Copinschi-G., Penev-P and Van Cauter-E (2004) Leptin levels are dependent on sleep duration: Relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *Clin Endocrinol Metab J.* 89, 5762-71.
- Spiegel-K., Leproult-R and Van Cauter-E (1999) Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *The Lancet J.* 343, 1435-39.
- Spiegel-K., Tasali-E., Leproult-R and Van Cauter-E (2010) Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5, 253–261.
- Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann RS, Egan JM, Mattson MP (2008). Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus.*; 18(11):1085-1088.
- Teegarden, S. L. and Bale, T. L. ( 2007) Decreases in dietary preference produce increased emotionality and risk for dietary relapse. *Biol. Psychiatry* 61, 1021–1029. (doi:10.1016/j.biopsych.2006.09.032)
- Teegarden, S. L., Nestler, E. J. & Bale, T. L. (2008) Delta FosB- mediated alterations in dopamine signaling are normalized by a palatable high-fat diet. *Biol. Psychiatry* 64, 941–950.

- Timofeeva E, Baraboi ED., Poulin AM and Richard D (2009). Palatable high-energy diet decreases the expression of cannabinoid type 1 receptor messenger RNA in specific brain regions in the rat. *Journal of Neuroendocrinology* 21, 982–992.
- Tomassoni D., Nwankwo IE., Gabrielli MG., Bhatt S., Muhammad AB., Lokhandwala MF., Tayebati SK and Amenta F. (2013) Astrogliosis in the brain of obese Zucker rat: A model of metabolic syndrome. *Neuroscience Letters*, Vol 543, 24 May 2013, Pages 136–14
- Tsuneki, H., Wada, T., & Sasaoka, T. (2010). Role of orexin in the regulation of glucose homeostasis. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 198, 335–348.
- Tsujino N, Sakurai T. (2009) Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacol Rev* ;61:162-76.
- Tynan RJ., Beynon SB., Hinwood M., Johnson SJ., Nilsson M., Woods JJ. and Walker FR. (2013) Chronic stress-induced disruption of the astrocyte network is driven by structural atrophy and not loss of astrocytes. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. *Acta Neuropathol* DOI 10.1007/s00401-013-1102-0
- Van Cauter-E. (2005) Endocrine physiology. In *Principles and Practice of Sleep Medicine*, 4th edn (eds Kryger, M., Roth, T. and Dement, w. C.) 266–282 (elsevier–saunders, Philadelphia).
- Velasco Ramos Mario Alberto (2013) Modelo de síndrome metabólico inducido por disminución de sueño y dieta de cafetería en ratas jóvenes. Tesis de licenciatura; Facultad de estudios superiores Iztacala, UNAM.
- Vialou, V.F., Steiner, M.A., Krishnan, V., Berton, O. and Nestler, E. J. (2007) Role of DFosB in the nucleus accumbens in chronic social defeat. *Soc. Neurosci. Abs.*, 98.3.
- Vittoz N, Schmeichel B, Berridge C, (2008). Hypocretin /orexin preferentially activates caudomedial ventral tegmental area dopamine neurons. *Eur J Neurosci* ;28:1629–40.
- Volkow, N. D., Wang, G. J. & Baler, R. D. (2011). Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. *Trends Cogn. Sci.* 15, 37–46

- Wallace, D., Rios, L., Carle-Florence, T. L., Chakravarty, S., Kumar, A., Graham, D. L., Perrotti, L. I., Bolaños, C. A. and Nestler, E. J. (2007) The influence of DFosB in the nucleus accumbens on natural reward behavior. *Soc. Neurosci. Abs.*, 310.19.
- Wang, H., Storlien, L.H., Huang, X.F. (2002). Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282: E1352–E1359
- Weiss-A., Xu-F., Storfer-I., Thomas-A., Levers-C and Redline-S (2010) The Association of Sleep Duration with Adolescents' Fat and Carbohydrate Consumption. *Sleep J.* 33, 1201-9.
- Werme, M., Messer, C., Olson, L., Gilden, L., Thore'n, P., Nestler, E. J. and Brene', S. (2002) DFosB regulates wheel running. *J. Neurosci.* 22, 8133–8138.
- White CL, Pistell PJ, Purpera MN, Gupta S, Fernandez-Kim SO, Hise TL (2011). Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: Contributions of maternal diet. *Neurobiology of Disease* 35, 3–13
- WHO, World International Healt. Cause-specific mortality, 2008: World Bank income group by country. Recuperado en <http://apps.who.int/gho/data/view.main.10015> el 15/04/2013.
- Williams G, Cai XJ, Elliott JC, Harrold JA.(2004) Anabolic neuropeptides. *Physiol Behav.*;81 (2):211.
- Woods SC, Seeley RJ, Porte Jr DP, Schwartz MW (1998). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*; 280:1378-1383.
- Zachariou V, Bolanos CA, Selley DE, Theobald D, Cassidy MP, Kelz MB, et al (2006) . DeltaFosB: An essential role for DeltaFosB in the nucleus accumbens in morphine action. *Nat Neurosci*; 9:205-211.
- Zhang Y, Yu L, Zhuang X, Zhu N, Wang J. (2013). Central functions of the orexinergic system. *Neurosci Bull.* ; 12264-012-1297-4.
- Zheng H, Berthoud HR. (2007) Eating for pleasure or calories. *Curr Opin Pharmacol*;7:607–612.
- Ziotopoulou M, Mantzoros CS, Hileman SM, Flier JS. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2000). Differential expression of hypothalamic neuropeptides in the early phase of diet-induced obesity in mice. *Oct*;279(4):E838-45. PMID: 11001766.

## ANEXO

Análisis nutrimental de los alimentos que comprenden la dieta de cafetería expresados por gramo de alimento.

<b>Composición de la Dieta de Cafetería</b>									
<b>Alimento/Valor por gramo</b>	<b>Kcal</b>	<b>Grasa</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Fibra dietética</b>	<b>Azúcares</b>	<b>Grasas saturadas</b>	<b>Colesterol mmg</b>	<b>Sodio mmg</b>
<b>Salchicha</b>	1.61	1.0	0.09	0.09	0.00	0.00	0.03	-----	0.01
<b>Crackets</b>	4.8	0.21	0.64	0.07	0.02	0.10	0.11	0.00	11.10
<b>Oreo</b>	5.0	0.20	0.72	0.06	0.03	0.36	0.12	0.00	3.9
<b>Chips</b>	5.2	0.32	0.52	0.04	0.04	0.00	0.16	0.00	5.6
<b>Azúcar</b>	4.0	--	--	--	--	--	--	--	--

Composición de los pellets. Muestra los principales componentes de los pellets expresados por gramo de alimento.

<b>Composición del chow</b>									
<b>Alimento/ valor por gramo</b>	<b>Kcal</b>	<b>Grasas</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Fibra dietética</b>	<b>Azúcares</b>	<b>Grasas saturadas</b>	<b>Colesterol mmg</b>	<b>Sodio mmg</b>
<b>Pellets</b>	4.07	0.05	0.48	0.23	0.05	0.31	0.057	0.0002	0.004