



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

**"Papel de los receptores a dopamina D4 del núcleo accumbens en la regulación de la motivación por el alimento palatable"**

**Proyecto con apoyo de DGAPA IN224214**

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA  
P R E S E N T A (N)

**Lizbeth Uberla Jimenez**

Director: Dr. **Refugio Cruz Trujillo**

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

Dra. **Verónica Elsa López Alonso**



**Los Reyes Iztacala, Edo de México, Julio 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento al director de esta tesis, el Dr. Refugio Cruz Trujillo quién con paciencia y dedicación me oriento a lo largo de esta etapa permitiéndome crecer como estudiante y persona. Porque con su apoyo, consejos y dirección he llegado a concluir una de mis grandes metas. Con el más sincero cariño gracias.

Asimismo deseo agradecer al Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez por haberme dado la oportunidad de integrarme al proyecto y recibirme de la mejor manera. Por todas las veces que con paciencia y esmero soluciono mis dudas siempre impulsándome a aprender un poco más. Porque además de influir en mi crecimiento profesional, siempre me brindó su apoyo moral para continuar y finalizar con éxito esta etapa. Con el más sincero cariño gracias por la confianza.

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

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

Finalmente a todas las personas que se cruzaron en mi camino y me dieron palabras de aliento y su confianza.

## DEDICATORIAS

*“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste”*

*Marie Curie*

*“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como la oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”*

*Albert Einstein*

Le dedico esta tesis con todo mi amor y cariño a mi hijo, quién sin saberlo y aun siendo tan pequeño se convirtió en mi mayor motivación y apoyo. No fue fácil el camino recorrido pero juntos hicimos que valiera el esfuerzo. Eres mi impulso para ser mejor cada día como profesionista y como madre, pues me has enseñado que en esta vida no existe mayor obstáculo que uno mismo. Por ti cada día tiene sentido.

Al padre de mi hijo, por apoyarme en todas mis decisiones, sin juzgarme y siempre dándome una palabra de aliento para continuar a pesar de las complicaciones.

A mis padres que me han apoyado incondicionalmente en cada etapa de mi vida, quienes con sus consejos y enseñanzas me han forjado, inculcándome que con perseverancia y esfuerzo todo es posible. Y que la única llave que abre cualquier puerta es el estudio. Gracias por todo el amor y paciencia pues fueron clave para culminar con éxito este proyecto.

## RESUMEN

En los últimos años, la obesidad y el sobrepeso se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial. Con el fin de esclarecer los factores que predisponen a la ganancia de peso excesivo, se han realizado investigaciones a nivel psicológico, conductual, farmacológico y neuroquímico. A partir de lo anterior, se ha sugerido que los procesos motivacionales y las propiedades reforzantes del alimento palatable se encuentran estrechamente vinculados con el desarrollo de sobrepeso y obesidad. A nivel central, la regulación del procesamiento de la información de las propiedades motivacionales y reforzantes del alimento depende principalmente de estructuras cerebrales como el núcleo accumbens shell (NAcS) donde la transmisión dopaminérgica juega un papel preponderante. En consistencia con lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo estudiar el papel de los receptores a dopamina D4 en el NAcS en la regulación de la motivación por el alimento palatable en ratas. Para cumplir dicho objetivo, se evaluó el efecto que tiene la activación local de los receptores D4 del NAcS con el agonista específico PD 168,077 sobre la motivación por el alimento palatable, mediante el procedimiento operante que permite conocer los puntos de ruptura. De acuerdo con nuestros resultados, la activación de los receptores D4 del NAcS con administración local del PD 168,077 incrementa la motivación por el alimento palatable, lo que nos lleva a concluir que los receptores D4 en esta región forman parte del sistema neuroquímico mediante el cual la dopamina estimula la ingestión de alimento por medio del aumento de sus propiedades reforzantes.

*Palabras Clave:* obesidad, núcleo accumbens, dopamina, RD4, motivación, agonista, alimento palatable.

## Abstract

In recent years, obesity and overweight has become a health problem worldwide. In order to clarify the factors that predispose to excessive weight gain, research has been conducted on the psychological, behavioral, pharmacological and neurochemical level. From the foregoing, it has been suggested that motivational processes and the reinforcing properties of palatable food are closely linked to the development of overweight and obesity. At the central level, regulation of information processing of motivational and reinforcing properties of food mainly depends on brain structures like the nucleus accumbens shell (NAcS) where dopaminergic transmission plays a major role. Consistent with the above, the present research aimed to study the role of dopamine D4 receptors in the NAcS in regulating motivation for palatable food in rats. To meet this objective, the effect of local D4 receptor activation of NAcS with the specific agonist PD 168.077 on the motivation for food palatable by the operating procedure that allows to know the breakpoints was evaluated. According to our results, the activation of the receptor D4 NAcS with local administration of PD 168.077 increases the motivation for palatable food, which leads us to conclude that the D4 receptor is the region are part of the neurochemical system whereby the dopamine stimulates food intake by increasing its reinforcing properties.

Keywords: obesity, nucleus accumbens, dopamine, RD4, motivation, agonist, palatable food.

# ÍNDICE

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introducción .....                                            | 1  |
| 2. Antecedentes .....                                            | 4  |
| 2.1 Conducta Alimentaria .....                                   | 4  |
| 2.1.1 Procesos Motivacionales .....                              | 5  |
| 2.1.2 Evaluación de la motivación con paradigmas operantes ..... | 6  |
| 2.2 Núcleo Accumbens .....                                       | 8  |
| 2.2.1 Circuito de la recompensa .....                            | 10 |
| 2.2.2 Neurotransmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens ..   | 12 |
| 2.2.3 Receptores a dopamina D4 en el núcleo accumbens.....       | 13 |
| 2.3 Dopamina .....                                               | 16 |
| 2.3.1 Síntesis, metabolismo y liberación.....                    | 16 |
| 2.3.2 Receptores a dopamina.....                                 | 18 |
| 2.3.3 Control de la alimentación por receptores a dopamina ..... | 18 |
| 2.3.4 Dopamina y las propiedades reforzantes del alimento .....  | 21 |
| 3. Planteamiento del problema .....                              | 22 |
| 3.1 Objetivo general .....                                       | 23 |
| 3.2 Objetivos particulares .....                                 | 23 |
| 3.3 Hipótesis .....                                              | 23 |
| 4. Método .....                                                  | 24 |
| 4.1 Sujetos .....                                                | 24 |
| 4.2 Dieta .....                                                  | 24 |

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3 Cirugía estereotáxica .....                                                                                                                  | 24 |
| 4.4 Entrenamiento conductual.....                                                                                                                | 25 |
| 4.5 Fármacos .....                                                                                                                               | 26 |
| 4.6 Micro-inyecciones .....                                                                                                                      | 26 |
| 4.7 Histología .....                                                                                                                             | 26 |
| 4.8 Diseño y Procedimiento .....                                                                                                                 | 27 |
| 4.9 Análisis de datos .....                                                                                                                      | 29 |
| 5. Resultados .....                                                                                                                              | 30 |
| 5.1 Paradigma operante para la evaluación de la motivación por el alimento palatable .....                                                       | 30 |
| 5.2 Efectos de la activación de los receptores a dopamina D4 en el Shell del núcleo accumbens sobre la motivación por el alimento palatable..... | 32 |
| 6. Discusión .....                                                                                                                               | 36 |
| 7. Conclusiones .....                                                                                                                            | 40 |
| 8. Perspectivas .....                                                                                                                            | 41 |
| 9. Referencias .....                                                                                                                             | 42 |

# 1. INTRODUCCIÓN

La obesidad y el sobrepeso se han convertido en un problema de salud que afecta tanto a países de primer mundo como a los que se encuentran en vías de desarrollo. Tal es el caso de México, que ocupa a nivel mundial el segundo lugar en obesidad en adultos y el primer lugar en obesidad infantil. La Organización Mundial de la Salud (2015), estimó que cerca de 1,900 millones adultos de 18 años o más padecen sobrepeso, de los cuales 600 millones son obesos. Desafortunadamente, la obesidad y el sobrepeso conllevan diversos padecimientos crónicos como la diabetes, trastornos del aparato locomotor, cáncer y enfermedades cardiovasculares. Cabe resaltar que esta última fue la principal causa de mortalidad en el 2012 en México.

En la mayoría de los casos, el sobrepeso y la obesidad surgen a partir de un desequilibrio homeostático entre la cantidad de alimento ingerido y la cantidad de energía utilizada. Sin embargo, dicho desequilibrio puede ser ocasionado por diversos factores que se relacionan entre sí, por ejemplo, el incremento en el consumo de “comida rápida”, el sedentarismo, las limitaciones para cocinar y comprar comida saludable, las extensas jornadas de trabajo, la poca actividad física, así como una dieta rica en grasas, lípidos y azúcares. Otro factor relevante es la palatabilidad del alimento, misma que a su vez depende tanto del gusto sensorial como del estado psicológico del individuo y que ejerce un fuerte efecto sobre la elección de los alimentos (Instituto Mexicano para la Competitividad, 2015; Vizmanos, Hunot & Capdevila, 2006).

A nivel cerebral, la regulación de la ingesta de alimento es principalmente mediada por el hipotálamo y sus diversos núcleos y neurotransmisores. Estructuras como la amígdala, la corteza cerebral y el núcleo accumbens (entre otros), también contribuyen con dicha regulación a través de péptidos, hormonas y otras moléculas señalizadoras (Carlson, 2005). De tal forma, el estudio de los mecanismos y procesos implicados en la regulación de la alimentación son un

tema de gran interés, ya que potencialmente se podrían generar alternativas de solución ante la problemática de la obesidad y el sobrepeso.

Los reportes recientes sobre el papel de la dopamina y sus receptores en el control del comportamiento alimentario, sugieren que algunos componentes del sistema dopaminérgico son potenciales blancos para mejorar los actuales tratamientos farmacológicos contra la obesidad. En consistencia con lo anterior, se han realizado diversos estudios como el de Tejas et al. (2010), quienes al activar los receptores D2 y D3 en el núcleo paraventricular hipotalámico con el agonista no selectivo quinpirole y selectivo quinolorane, encontraron que disminuía significativamente la ingesta de alimento. Con respecto al receptor D4, se ha encontrado un efecto opuesto, pues se ha demostrado que la activación de estos receptores en el núcleo paraventricular induce inhibición en la liberación de glutamato y estimula la ingesta de alimento mediante la inhibición de la saciedad (Tejas et al., 2014). En consecuencia, el papel de la dopamina en la conducta alimentaria es algo complejo, pues es comprendido que la transmisión dopaminérgica es necesaria para dar inicio al proceso alimenticio, mientras que la activación selectiva de receptores dopaminérgicos puede inhibir o estimular la ingestión de alimento, dependiendo del subtipo de receptor activado.

Por otra parte, se ha mostrado la expresión de los receptores a dopamina D4 en el núcleo accumbens, región cerebral que permite la integración entre la motivación y la acción motora, participando así en diversos procesos como la regulación de la ingestión de alimento y la recompensa, entre otras (Svingos et al 2000; Broderick y Piercey, 1998; Succo et al. 2007). Lo anterior adquiere gran importancia ante la necesidad de comprender la acción que ejerce la dopamina, vía los receptores D4 expresados en el shell del núcleo accumbens (NAcS, por sus siglas en inglés), para contribuir con la regulación de los procesos necesarios para la expresión del fenómeno de motivación por el alimento palatable.

Así, la presente investigación tuvo como objetivo estudiar el papel de los receptores a dopamina D4 en el NAcS en la regulación de la motivación por el alimento palatable en ratas. Para alcanzar este objetivo, los sujetos de la presente

investigación fueron inicialmente entrenados en programas de reforzamiento de razón fija 1 y 5 (RF1 y RF5), para posteriormente ser canulados estereotáxicamente y activar farmacológicamente a los receptores a dopamina D4 directamente en el NAcS mediante microinyecciones locales del agonista de estos receptores. Inmediatamente después de la manipulación farmacológica, fueron sometidos a un programa de reforzamiento de razón progresiva con la finalidad de evaluar el efecto de los tratamientos sobre la motivación por el alimento palatable a través de los puntos de ruptura. Hasta donde sabemos, el presente estudio es de los primeros en describir la participación de los receptores a dopamina D4 en el NAcS en la modulación del componente reforzante del alimento.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Conducta Alimentaria

Para poder subsistir, los seres vivos dependen de diversas funciones biológicas vitales, dentro de las cuales destaca la alimentación. Esta es una conducta influenciada por el contexto social, cultural y psicológico, ya que la industrialización de los países y el aumento en las jornadas laborales, han modificado los patrones alimentarios, así que las personas al no tener tiempo para cocinar recurren al consumo de alimentos precocidos de fácil acceso, como por ejemplo la comida rápida o chatarra (Vizmanos, Hunot & Capdevila, 2006).

El proceso de alimentación también depende de factores neurobiológicos y endocrinos. En el sistema nervioso central, el hipotálamo es el principal responsable de procesar las señales del estado energético del organismo para la regulación del apetito y para mantener el equilibrio homeostático entre la ingestión de alimento y el gasto de energía, mediante la integración de impulsos opuestos: el apetito y la saciedad. El fenómeno alimentario es un impulso básico multifactorial que consta de cuatro etapas (procesos y/o estados motivacionales). La primera es el hambre, que se refiere a las sensaciones fisiológicas que indican al organismo la necesidad de alimento. La segunda etapa, el apetito, es el proceso que inicia la búsqueda y elección de alimento. La tercer etapa consiste en dejar de comer a través del proceso de saciación o satisfacción, que depende directamente del tipo de alimento que se ingiere para que cese la alimentación. Por último, se encuentra la saciedad, que es el estado de inhibición de la ingestión de alimento y se mide por medio del periodo de tiempo que transcurre entre la finalización de una comida y el inicio de otra (Turró, 1912)

A pesar de lo anterior, la regulación del comportamiento alimentario no sólo depende de procesos homeostáticos. El alimento puede ser atractivo no sólo por sus características nutrimentales, ya que en ocasiones puede ser consumido sólo por su sabor (aun en ausencia de hambre fisiológica). A este respecto, regiones como el núcleo accumbens y la amígdala, confieren al alimento cualidades

reforzantes o aversivas que dependen de la actividad de las neuronas dopaminérgicas localizadas en el tallo cerebral, específicamente en el área tegmental ventral (ATV). De tal forma, la regulación del apetito y la saciedad depende de diversas variables, como la disminución de nutrientes (por ejemplo, la hipoglucemia), los factores sensoriales y las propiedades hedónicas del alimento (Palma & Iriarte, 2012; Malacara, 2004; Carlson, 2005).

### 2.1.1 Procesos Motivacionales

Desde el origen de los tiempos, los seres humanos se han preguntado ¿porqué hacemos lo que hacemos?, es decir, que es lo que nos lleva a actuar de determinada manera. Para poder dar una respuesta, se ha recurrido al proceso de la motivación, que en el sentido amplio del concepto se refiere a los impulsos o instintos que dirigen la conducta hacia metas. Partiendo de que el fin de la motivación es alcanzar o cumplir un objetivo, se debe tomar en cuenta el tipo de necesidad que se busca satisfacer, ya sea por motivos primarios (biogénicos) o secundarios. Los impulsos primarios son de naturaleza innata y cumplen con la función de supervivencia e incluyen a la alimentación, el sueño y la conducta reproductiva. Por su parte, los motivos secundarios, se basan en los conocimientos que se adquieren a partir de las experiencias. La conducta motivada de un sujeto se produce a partir de factores ambientales en conjunto con factores internos biológicos, cognitivos y de aprendizaje (Ardila, 2012).

Para que se desencadene el proceso motivacional, es necesaria la ocurrencia de un estímulo que lo gatille. Este puede ser externo, es decir, cuando a un objetivo se le atribuye ser meta a consecuencia de que genera una atracción/deseo en el sujeto debido a sus características. También puede ser un estímulo interno cuando hay una situación de carencia (real o no) en algunos de los componentes del organismo, generando una necesidad. La elección de un objetivo depende del valor incentivo que posea para el individuo, el esfuerzo que requiera conseguirlo y la probabilidad que haya de obtenerlo. Por su parte, las conductas o actividades a las que recurra para alcanzar dicho objetivo serán denominadas como dinamismo

conductual, tomando en cuenta tanto la intensidad como la duración de las mismas (Palmero, 1997; Palmero, 2008; Palmero, Gomez, Carpi & Guerrero, 2008).

### 2.1.2 Evaluación de la motivación con paradigmas operantes

Las teorías del impulso general como las de Hull, hablan de un estado de motivación animal originado a partir de un desequilibrio orgánico que genera estrés y tensión, es decir, una necesidad que impulsa al sujeto a realizar alguna conducta. Si dicha ejecución conlleva un efecto reforzador o benéfico en la reducción de la necesidad, su posibilidad de ocurrencia aumenta. Aunado a lo anterior, Tolman incluyó el concepto de motivación de incentivo estableciendo que los estímulos ambientales pueden adquirir propiedades motivacionales por medio de su asociación con los reforzadores, por lo que si la aparición de un estímulo como consecuencia de una respuesta resulta en una mayor probabilidad de que la respuesta ocurra en el futuro, el estímulo recibe el nombre de reforzador positivo, el cual puede ser incondicionado, debido a que no se requiere de que el sujeto haya tenido una experiencia previa con este (por ejemplo, agua o comida) (Paredes & López, 2014).

En estudios como el de Richter (1922), es posible apreciar lo anterior, ya que al provocar estados metabólicos alterados y posteriormente exponerlos a una prueba de selección de alimento (cuyo contenido nutricional poseía los elementos necesarios para contrarrestar la deficiencia metabólica ocasionada), y también alimento sin estas características, traía como resultado que los animales seleccionaran el alimento que modificaba el estado metabólico alterado. Este fenómeno de auto-selección, sirvió como base para proponer la existencia de un mecanismo conductual con función de autorregulación dirigida a mantener la homeostasis de los organismos (López, 2007).

Lo anterior dio pauta a que otros investigadores como Skinner (1956), profundizaran en el patrón alimentario de los animales, permitiéndole crear el primer mecanismo para medir una “comida”, mediante el registro acumulativo de la

caja de Skinner. Dichos experimentos consistían en entrenar a las ratas a presionar una palanca para obtener una cantidad de comida, solamente comían en una ocasión cada día, siempre a la misma hora (privación de 24 horas) y dicha sesión experimental finalizaba cuando dejaban de presionar la palanca por más de 30 minutos. Por medio del registro acumulado era posible determinar en una gráfica el número total de respuestas obtenidas en función de tiempo. Actualmente este registro puede ser reemplazado por contadores eléctricos que sólo cuantifican el número total de respuestas dentro de un determinado período de tiempo, y/o los cronómetros que pueden registrar el tiempo entre respuestas (Reynolds, 1973).

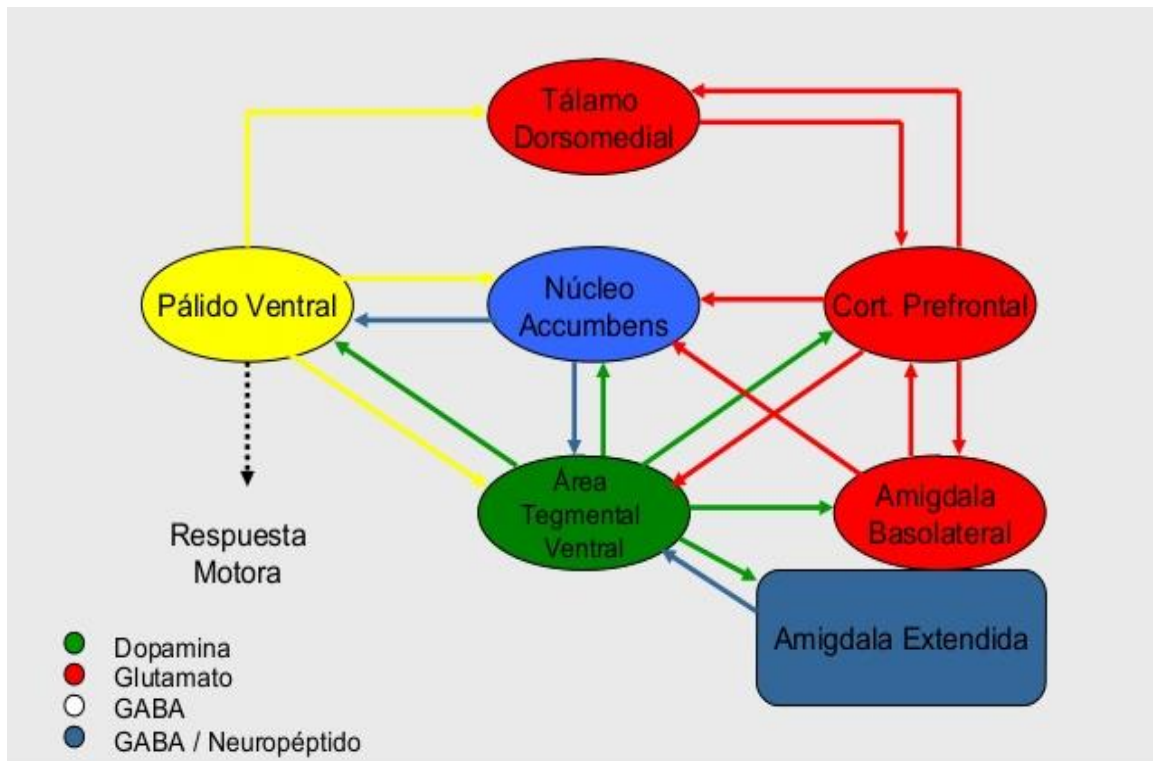
Por otro lado, para obtener una completa descripción o explicación de cualquier conducta, se debe establecer un programa de reforzamiento, ya que con estos se tienen efectos regulares, ordenados y profundos sobre la tasa de respuesta. Existen los programas de razón en donde el sujeto debe emitir un número determinado de respuestas antes de que una emisión sea reforzada, bajo estos no es de relevancia el tiempo que le tome hacerlo. Cabe mencionar que la razón puede ser variable o fija. Cuando está operando un programa de razón variable, el número de respuestas requerido para el reforzamiento varía de una manera irregular pero siempre manteniendo una característica repetitiva; mientras que un programa de razón fija requiere consistentemente del mismo número de respuestas por cada reforzamiento (Reynolds, 1973).

Adicionalmente, en el estudio de la motivación de la conducta alimentaria se deben tomar en cuenta algunas variables que pueden influir de manera significativa en la tasa de respuesta del sujeto, tales como la privación (tiempo), la saciedad y las cualidades del reforzador (sabor, olor, textura), pues pueden habilitar o inhabilitar la función de los estímulos como reforzadores. Ejemplo de lo anterior es el estudio realizado por González et al. (2015), que tuvo como objetivo evaluar el amaranto como una alternativa a los reforzadores que se utilizan en la actualidad en los laboratorios experimentales con roedores. Empleando tres tipos de alimento con cualidades diferentes (pellets estándar, pellets de sacarosa o

amaranto), compararon la preferencia de consumo, la motivación y el valor reforzante, mediante cuatro experimentos con laberinto radial (privación 23 hrs) y consumo libre en 11 ratas de la cepa Wistar. Los resultados mostraron que el amaranto tiene un alto valor reforzante, ya que se observó preferencia por su consumo comparado con los demás alimentos.

## 2.2 Núcleo Accumbens

Se sabe que el núcleo accumbens es una región clave en la integración de la motivación y la acción motora. Esta región participa en la regulación de diversos procesos como la ingesta de alimento, el comportamiento sexual, la recompensa, la auto-administración de drogas, la respuesta al estrés, etc., siendo el estado emocional un mediador para que se ejecuten dichas conductas. El núcleo accumbens es una estructura telencefálica ubicada en las zonas basales del encéfalo anterior con dos campos diferentes, el *core* (centro) que se enfoca en comportamiento locomotor y recibe proyecciones glutamatérgicas de la corteza motora y dopaminérgicas de la sustancia negra, y el *shell* (corteza) donde se encuentran conexiones de carácter límbico, que a su vez recibe entradas glutamatérgicas desde el hipocampo y la amígdala centromedial, así como dopaminérgicas desde es el área tegmental ventral (ATV). De esta manera, la región *shell* recibe aferencias de la corteza prefrontal (infralímbica y prelímbica ventral) saliendo hacia el pálido ventromedial, innervando al núcleo dorsomedial del tálamo, el cual envía fibras hacia la corteza prefrontal (prelímbica dorsal) que a su vez proyecta fibras glutamatérgicas al *core* que modifican y determinan patrones de actividad motora. La proyección dopaminérgica proveniente del ATV, ejerce efectos modulatorios sobre la actividad neuronal de la región *shell*, estabilizando a la célula y facilitando la creación de potenciales de acción (Fernández, 2000) (figura 1).



*Figura 1. Se muestran las proyecciones e inervaciones dopaminérgicas (verde), glutamatérgicas (rojo), GABAérgicas (amarillo y azul) del núcleo accumbens (Tejeda, 2015).*

Si bien el núcleo accumbens recibe aferencias dopaminérgicas principalmente de la zona del ATV, se tiene evidencia de que la mayoría de las neuronas de proyección son neuronas espinosas medianas que contienen GABA como el principal neurotransmisor, tanto presinápticamente como postsinápticamente (Ulluque, 1999; Zhang, Balmadrid & Kelley, 2003; Meredith, Pennartz, & Groenewegen, 1993; Shuntaro, Koshikawa & Kobayashi, 2011). La inhibición de la actividad neuronal de las neuronas espinosas medianas en el núcleo accumbens por la estimulación de los receptores GABA<sub>A</sub> o GABA<sub>B</sub> dentro del *shell* induce el consumo de alimento sólido de laboratorio, carbohidratos, grasa y sacarosa sin alterar el consumo de agua (Stratford & Kelley, 1999). Adicional a lo anterior, se ha mostrado la presencia de neurotransmisores excitadores en las sinápsis de las neuronas espinosas medianas, tales como el ácido glutámico. El glutamato induce la liberación de dopamina en el núcleo accumbens, mientras que el bloqueo de

receptores a glutamato tipo NMDA, AMPA y kainato dentro de dicho núcleo, genera la reducción de la excitación de las neuronas espinosas medianas, provocando una potente respuesta de alimentación, por lo que se ha sugerido que los receptores a glutamato desempeñan un papel importante en la regulación de la actividad motora y de alimentación por su influencia en la transmisión dopaminérgica (Ulluque, 1999; Zhang, Balmadrid & Kelley, 2003; Kelley & Swanson, 1997; Maldonado-Irizarry, Swanson, & Kelley, 1995; Stratford & Kelley, 1999; Stratford, Swanson & Kelley, 1998) (tabla 1).

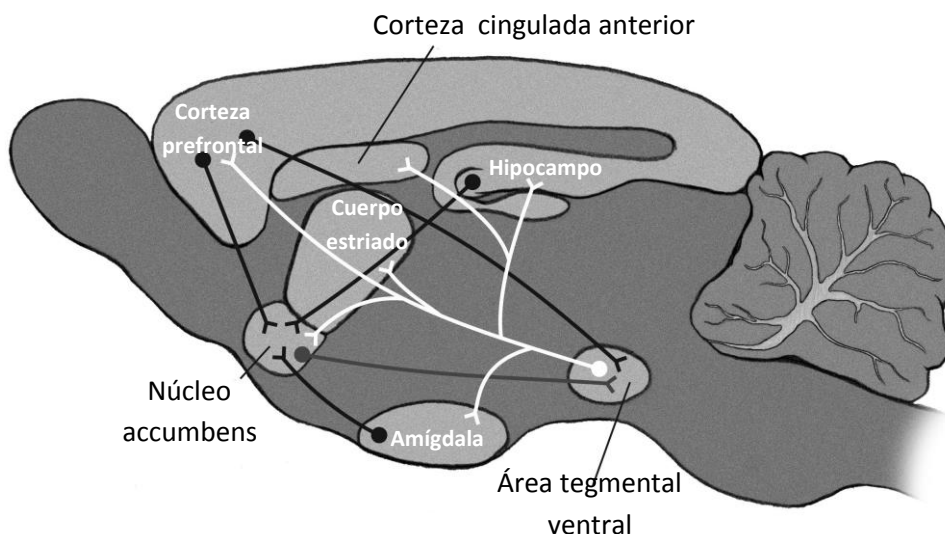
| Substancia neuroactiva | Receptores        | Origen                                | Presunta acción                             | Objetivo                                         |
|------------------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Glutamato              | AMPA/kainato      | HPF, Amy, Th, PFCx                    | Excitación rápida                           | Neuronas de proyección e interneurona GABAérgica |
| Glutamato              | NMDA              | HPF Amy, Th, PFCx                     | Excitación lenta                            | Neuronas de proyección (espinosa)                |
| GABA                   | GABA <sub>A</sub> | Interneuronas. Neuronas de proyección | Inhibición rápida                           | Neuronas de proyección (espinosa)                |
| GABA                   | GABA <sub>B</sub> | Interneuronas. Neuronas de proyección | Hiperpolarización, reducción de EPSP y IPSP | Neuronas de proyección (espinosa)                |
| Dopamina               | D1                | ATV                                   | Reducción de EPSP e IPSP                    | Neuronas de proyección (espinosa)                |
| Dopamina               | D2                | ATV                                   | Reducción de EPSP                           |                                                  |
| Acetilcolina           | M1                | Interneuronas ACh                     | Despolarización y reducción de IPSP         |                                                  |
| Acetilcolina           | M3                | Interneuronas ACh                     | Reducción de EPSP                           |                                                  |

*Tabla 1. Acciones electrofisiológicas de transmisores y moduladores en el núcleo accumbens. Abreviaturas: acetilcolina (ACh); amígdala (Amy); formación hipocámpal (HPF); corteza prefrontal (PFCx); tálamo (Th); área tegmental ventral (ATV) (Meredith et al., 1993).*

### 2.2.1 Circuito de la recompensa

Cuando un individuo realiza alguna conducta que le es placentera, como por ejemplo ingerir un alimento que resulte palatable, ocasiona que se active en el

cerebro el sistema de recompensa, el cual se compone del ATV, el núcleo accumbens, el pálido ventral, el hipocampo, el hipotálamo y la amígdala. Se trata de un mecanismo que conecta la parte ventral del cerebro medio con la parte ventral y anterior del encéfalo, siendo sus principales vías de conexión la mesolímbica y las mesocorticales. Al activar a las neuronas dopaminérgicas del ATV (ante la presencia de reforzadores primarios o secundarios), se envían breves impulsos eléctricos (llamados potenciales de acción) a una determinada terminal axonal, lo que genera a través de una serie de fenómenos eléctricos y químicos, la liberación de un neurotransmisor (dopamina) hacia diversas estructuras cerebrales, entre ellas el núcleo accumbens. Además de enviar señales, las neuronas de la ATV también reciben información electroquímica de la vía mesocorticolímbica que libera el neurotransmisor excitador glutamato, estimulando a su vez la liberación de dopamina. Cabe mencionar que los axones del núcleo accumbens liberan un neurotransmisor inhibitorio, denominado GABA (ácido gamma-aminobutírico), que silencia las neuronas de la ATV y por ende impide que la dopamina se libere (figura 2) (Ulloque, 1999; Linden 2011; Ayesta, 2002; Guardia, Surkov & Cardús, s.f.), constituyendo un circuito de retroalimentación negativa que regula la actividad del sistema.



*Figura 2. Circuito de la recompensa. El dibujo representa un corte sagital del encéfalo de la rata (dirección anterior a posterior de izquierda a derecha). La vía principal del circuito del placer está formado por las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral*

*(ATV) y sus axones, representados por las líneas blancas, que proyectan al núcleo accumbens, la corteza prefrontal, el núcleo estriado dorsal, la amígdala y el hipocampo. Las neuronas del ATV reciben impulsos excitadores de la corteza prefrontal e impulsos inhibidores del núcleo accumbens (Linden, 2011).*

### 2.2.2 Neurotransmisión dopaminérgica en el núcleo accumbens

Por medio de estudios de hibridación ha sido posible identificar en neuronas del núcleo accumbens receptores a dopamina D1-like y D2-like. Los primeros están contenidos en las proyecciones eferentes tanto del pálido ventral como del área tegmental ventral, mientras que los D2-like se expresan selectivamente en las neuronas que inervan el pálido ventral (Lu, Ghasemzadeh, & Kalivas, 1998). Varias líneas de evidencia sugieren que las acciones de refuerzo de las drogas de abuso se deben, al menos en parte, a la modulación de la señalización de dopamina en el núcleo accumbens, pues se ha encontrado que la administración de Anfetamina, cocaína y opiáceos aumentan la respuesta instrumental, lo que a su vez se asocia con una mayor liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Zetterstrom, Sharp, Collin & Ungerstedt, 1988; Lyness, Friedle & Moore, 1979; Hurd, Weiss, Koob & Ungerstedt, 1989; Hoebel, et al. 1983; Fulton, 2010; Zhang et al., 2003). Sin embargo, en algunos estudios se ha encontrado que la infusión de Anfetamina en el accumbens disminuye la ingestión espontánea de alimento (Bakshi & Kelley, 1991; Kelley & Delfs, 1991; Kelley & Delfs, 1991a). Por otra parte, la inhibición de la actividad dopaminérgica en el núcleo accumbens shell reduce fuertemente la voluntad de trabajar en un programa de razón progresiva (Aberman et al., 1998; Hamill et al., 1999).

Al igual que con drogas de abuso, la eficacia de refuerzo de los alimentos puede ser modulada por alteraciones en la transmisión dopaminérgica. Por ejemplo, mediante el bloqueo de los receptores D1/D2/D3 pueden disminuir las respuestas instrumentales y la preferencia de lugar condicionado por la comida, aunque no logra afectar la reactividad de sabor (Aberman et al., 1998; Barbano, Le Saux & Cador, 2009; Cheeta, Brooks & Willner, 1995; Treit & Berridge, 1990; Spyraiki, Fibiger & Phillips, 1982). Aunado a lo anterior, las lesiones específicas de

neuronas dopaminérgicas de ratas producidas por la administración de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en el núcleo accumbens, disminuyen significativamente el comportamiento dirigido a un objetivo para la alimentación y, aunque no influye en las medidas de reactividad de sabor, aumenta ligeramente el consumo de alimento (Salomón et al., 1991; Kolta, Shreve & Uretsky, 1989; Aberman et al., 1988; Hamill et al., 1999). Por medio del uso de microdiálisis *in vivo* se ha medido la concentración de dopamina extracelular en ratas con restricción de alimento, encontrándose niveles de dopamina elevados tanto cuando los sujetos presionaban la palanca como durante y después del consumo de alimento. Los datos anteriores sugieren que la dopamina es muy importante para mantener un comportamiento dirigido a un objetivo (Hernandez & Hoebel, 1988; Bassareo & Di Chiara, 1999).

### 2.2.3 Receptores a dopamina D4 en el núcleo accumbens

Debido a que el presente trabajo se enfoca principalmente en la función de los receptores a dopamina D4, se hablará de manera específica sobre sus vías de señalización y acción farmacológica. Dicha vía inicia con la unión de la dopamina al receptor en la cadena amino terminal extracelular, lo cual activa la proteína Gi a la que se encuentra acoplado. Es así como del heterotrímero  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$  se desacopla, resultando en que la subunidad  $\alpha$  inactive a la adenilil ciclasa y con esto disminuyan las concentraciones intracelulares de AMPc. Lo anterior inactiva a la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA), dejando de fosforilar canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L. Al disminuir la entrada de calcio intracelular, disminuye a su vez la liberación del neurotransmisor en la terminal sináptica. Cabe mencionar que además, la subunidad  $\alpha$  inactiva canales de  $\text{K}^+$  dependientes de voltaje, teniendo como resultado la hiperpolarización de la neurona, mientras que el complejo  $\beta$ - $\gamma$  activa la vía de las MAP-cinasas (Tejas, 2008) (figura 3).



| Subtipo de receptor | Información estructural | Vía de señalización                                                                                                                               | Agonistas (Ki, nM)                                                                    | Antagonistas (Ki, nM)                                            |
|---------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| D1                  | 446 a.a.                | Gs (incrementa AMPC )<br>Gq (activa PLC)<br>Incrementan canales de Ca <sup>2+</sup> Tipo L<br>Decrementan corrientes de K <sup>+</sup>            | Dopamina ( 2300 nM)<br>SKF 38393 (1 nM)                                               | SCH 23390 (0.2 nM)<br>SCH 39166 (1.2 nM)<br>LE300 (0.5 nM)       |
| D5                  | 477 a.a.                | Gs (incrementa AMPC )<br>Incrementa canales de Ca <sup>2+</sup> Tipo L                                                                            | Dopamina ( 50-500 nM)<br>SKF 38393 (0.5 nM)<br>A 68930 (2.1 nM)                       | SCH 23390 (0.3 nM)<br>SCH 39166 (2.0 nM)                         |
| D2                  | 443 a.a.                | Gi/o (disminuye AMPC )<br>Gi/q (incrementa IP3 / DAG )<br>Incrementa liberación de ácido araquidónico<br>Decrementa corrientes de Na <sup>+</sup> | Dopamina (2000 nM)<br>Quinelorane (5.7 nM)<br>Quinpirole (4.8 nM)                     | L 741626 (2.4 nM)<br>Risperidona (3.13 nM)                       |
| D3                  | 400 a.a.                | Gi/o (disminuye AMPC )<br>Incrementa corrientes de K <sup>+</sup>                                                                                 | Dopamina (30 nM)<br>PD 128907 (2.3 nM)<br>Quinelorane (3.4 nM)<br>Quinpirole ( 24 nM) | Nafadotride (0.52 nM)<br>GR 103691 (0.3 nM)<br>NGB 2904 (0.5 nM) |
| D4                  | 419 a.a.                | Gi/o (disminuye AMPC )<br>Decrementa canales de Ca <sup>2+</sup> Tipo L<br>Decrementa corrientes de K <sup>+</sup>                                | Dopamina (5-50 nM)<br>PD 168077 (8.7 nM)<br>Quinpirole ( 30 nM)                       | LY 745870 (0.43 nM)<br>LY 741742 (3.5 nM)                        |

*Tabla 2: Receptores dopaminérgicos, señalización y farmacología (Missale et al. 1998; Bahena et al. 2000; Tejas, 2008).*

En el núcleo accumbens, los receptores a dopamina D4 se localizan principalmente en los axones y terminales de los axones presinápticos. Debido a que la mayoría de estos receptores no co-localizan con sitios de expresión de la tirosina hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de dopamina), se asume que su función principal es la modulación de la liberación de neurotransmisores no catecolaminérgicos. Cabe mencionar que al encontrar al receptor D4 a lo largo de segmentos discretos de la membrana plasmática, pero no en la membrana presináptica, indica que los receptores D4 se activan de una manera paracrina, un modo de acción que se ha sugerido anteriormente para la dopamina (Svingos et al., 2000). Asimismo, por medio de estudios *in vivo* de voltametría se ha demostrado que el antagonista del receptor a dopamina D4, el PNU-101387G, disminuye la transmisión dopaminérgica dentro del núcleo accumbens; mientras que un agonista selectivo del receptor de la dopamina D4, el PD-168077, aumenta la concentración de dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Broderick y Piercey, 1998; Succo et al. 2007).

## 2.3 Dopamina

La dopamina es el neurotransmisor catecolaminérgico de mayor abundancia en el sistema nervioso central (SNC), constituye cerca del 80% de las catecolaminas en el cerebro de los mamíferos, además de que es considerado uno de los más importantes debido a que participa en la modulación de una gran variedad de funciones, como la actividad motora y sensorial, la alimentación, la emoción y afectividad, la cognición, el reforzamiento positivo, la motivación y la actividad neuroendocrina. En el sistema nervioso periférico, dicho neurotransmisor modula funciones cardíacas y renales, el tono vascular, la liberación de catecolaminas, la secreción de hormonas, así como la motilidad gastrointestinal (Missale et al. 1998).

### 2.3.1 Síntesis, metabolismo y liberación

La dopamina es un neurotransmisor sintetizado y liberado por la neuronas dopaminérgicas de la sustancia *nigra pars compacta*, del ATV y del hipotálamo. Cada área envía proyecciones a núcleos relacionados con el control motor, los circuitos límbicos y el control endócrino, respectivamente. La dopamina es sintetizada a partir del aminoácido tirosina, mismo que es transformado a L-dopa por la tirosina hidroxilasa, posteriormente la L-dopa es descarboxilada para formar dopamina, la cual es almacenada en vesículas sinápticas. Durante la propagación del potencial de acción a la terminal, el influjo del ión calcio provoca la fusión de las vesículas y la liberación del neurotransmisor que activa sus receptores pre y postsinápticos. Finalmente, tras su captura al interior de la terminal (vía el transportador de dopamina, DAT), la dopamina es desactivada por metabolismo enzimático dependiente, principalmente, de la monoaminoxidasa (MAO) tipo B (Missale et al. 1998; Bahena et al. 2000) (figura 3).

## Sinápsis dopaminérgica

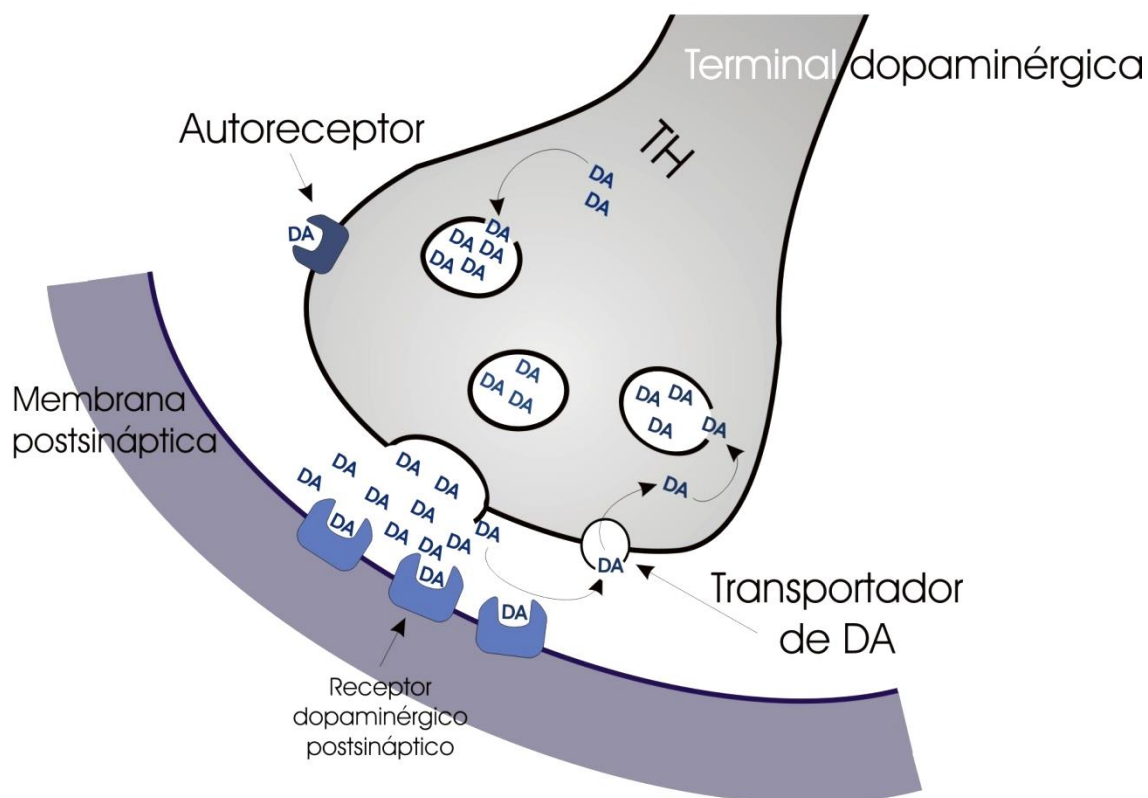


Figura 3. Modelo de sinapsis dopaminérgica. Entidades moleculares presinápticas y postsinápticas asociadas con la síntesis, liberación, señalización y, recaptura de la dopamina (Tejas, 2008). TH= tirosina hidroxilasa, DA= dopamina.

### 2.3.2 Receptores a dopamina

Los receptores a dopamina son de tipo metabotrópico y están agrupados en dos familias, D1-like y D2-like. La principal diferencia entre las dos familias de receptores radica en su capacidad para estimular o inhibir a la adenilil ciclase, dependiendo de su acople a proteínas G, ya sea por  $G_{s/olf}$  (estimuladoras, familia D1) y  $G_{i/o}$  (inhibitorias, familia D2). La familia de receptores D1 está conformada por dos subtipos, los D1 y D5, se trata de receptores de alta homología en sus aminoácidos y conformación. La familia de receptores D2 está constituida por los subtipos de receptor D2, D3 y D4. El receptor D2 tiene 2 isoformas el  $D2_{short}$  y  $D2_{long}$ , que aparentemente tienen diferente localización en las neuronas: los primeros en el soma y los segundos en las terminales nerviosas (Neve, Seamans & Trantham-Davidson, 2004).

### 2.3.3 Control de la alimentación por receptores a dopamina

El papel de los receptores D1 en la regulación de la ingesta de alimento se ha estudiado mediante la administración sistémica o central (microinyección cerebral) de agonistas y antagonistas de estos receptores. Los agonistas selectivos de los receptores D1 como el SKF 38393, producen reducción del consumo de alimento a dosis que por si mismas no producen efectos motores (e.g. estereotipias; Gilbert & Cooper, 1985), efecto que al parecer es selectivo sobre el alimento palatable (Rusk & Cooper, 1989). De la misma forma, se ha reportado que el A-77636 (agonista selectivo de los receptores D1), inhibe la ingestión de alimento, específicamente reduciendo el tamaño de la porción ingerida (g) y su duración (Cooper, Francis & Rusk, 1990). De acuerdo con lo anterior, hay evidencia de que la activación de los receptores de la familia D1 produce parte de los efectos hipofágicos de la dopamina (Cooper et al., 1990; Zarrindast, Owji & Hosseini-Nia, 1991; Terry & Katz, 1992; Cheng & Kuo, 2003; Verty, McGregor & Mallet, 2004b); aunque por la falta de agonistas y antagonistas selectivos para cada subtipo (D1 y D5), se ha dificultado el esclarecimiento de la contribución específica de cada receptor.

Por su parte, sobre los receptores de la familia D2-like (subtipos D2, D3 y D4), se sabe que su activación inespecífica puede producir efectos hipofágicos. Tal es el caso del subtipo D2, que al ser activado con el agonista selectivo N-0437, reduce significativamente el consumo de alimento endulzado de ratones y ratas con alimentación estándar, efecto que puede prevenirse con el pretratamiento con antagonista YM-09151-2 (Rusk & Cooper, 1988). En algunos estudios se han evaluado los efectos de la administración de bromocriptina (agonista con mayor afinidad por el subtipo de receptor D2), encontrándose que este disminuye significativamente la ingesta de alimento y el peso corporal en ratas obesas Zucker (*fa/fa*; modelo animal de obesidad genética producida por una mutación en el gene que codifica para el receptor a leptina) y en ratas obesas inducidas por dieta (DIO, por sus siglas en inglés; Davis et al., 2009). Estos efectos hipofágicos de la dopamina han sido asociados a los hallazgos de que la co-activación de los receptores D1 (con SKF 38393) y D2 (con bromocriptina) disminuye significativamente la expresión NPY en los núcleos supraquiasmático, paraventricular y arqueado del hipotálamo (Bina & Cincotta, 2000). Además, se sabe que las neuronas dopaminérgicas pueden modular negativamente la actividad del neuropéptido Y (NPY) a nivel del núcleo arqueado (Guy & Pelletier, 1988) y del área perifornical hipotalámica (Gillard, Dang & Stanley, 1993), sugiriendo así que la acción de la dopamina disminuye la señal orexigénica de este péptido. Observaciones realizadas en nuestro laboratorio, indican que la acción de la dopamina sobre los receptores D2/D3, también puede explicar los efectos anorexigénicos de la dopamina, ya que la activación sistémica de los receptores D2/D3 con el agonista quinpirole, disminuye el consumo de alimento en ratas con alimentación restringida (Tejas, 2014). A pesar de lo anterior, la acción de la dopamina parece ir más allá de la modulación del consumo de alimento como tal, pues experimentos con ratas sometidas a un paradigma en el que se les permite elegir un alimento palatable o uno estándar, han mostrado que la activación de los receptores D2 suprime específicamente la preferencia por el alimento palatable (Cooper & Al-Naser, 2006), lo que sugiere que la influencia de la dopamina sobre la conducta ingestiva incluye cambios en la respuesta

hedónica, probablemente vía receptores D2 localizados en núcleos relacionados con el reforzamiento como el núcleo accumbens (Nakajima & Patterson, 1997).

Por otro lado, en un estudio retrospectivo en pacientes con esquizofrenia se encontró que el tratamiento crónico con el antipsicótico clozapina (antagonista D4) tenía como efecto secundario la ganancia de peso corporal, lo que sugirió que el receptor a dopamina D4 estaba involucrado con la regulación de la ingesta de alimento y el peso corporal (Lindstrom, 1989). Posteriormente, se realizaron estudios con antipsicóticos como clozapina, sulpiride, risperidona, haloperidol etc., observándose que esos compuestos producen cambios en el peso corporal de ratones, lo que apoya la hipótesis de que los receptores dopaminérgicos D4 contribuyen con la regulación de la ingesta de alimento y del peso corporal (Baptista et al., 2002; Kaur & Kulkarni, 2002; Lee & Clifton, 2002).

En un estudio realizado en nuestro laboratorio (Tejas, et al., 2014), se mostró que la activación selectiva de los receptores a dopamina tipo D4 en el núcleo paraventricular del hipotálamo estimula el consumo de alimento estándar, dicho efecto fue atribuido a la inhibición de la expresión de la saciedad conductual por un mecanismo que involucra la inhibición de la liberación de glutamato en dicha región del hipotálamo. Asimismo, cuando ratas de laboratorio son alimentadas con una dieta obesogénica (40% calorías provenientes de grasa) durante 20 semanas, la obesidad inducida por dieta se acompaña del aumento significativo de la expresión del ARNm que codifica para el receptor D4 en el núcleo ventromedial del hipotálamo y en el área septal lateral (Huang, Yu, Zavitsanou, Han & Storlien, 2005). Los hallazgos anteriores adquieren relevancia al considerar que existen proyecciones glutamatérgicas que se originan en el núcleo ventromedial del hipotálamo y que llegan al núcleo paraventricular (Csaki, Kocsis, Halasz & Kiss, 2000), lo que sugiere fuertemente que parte de la modulación del comportamiento alimentario de la dopamina hipotalámica mediada por receptores D4 se lleva a cabo presinápticamente y es de naturaleza orexigénica.

### 2.3.4 Dopamina y las propiedades reforzantes del alimento

El consumo de alimento por sí mismo puede incrementar la concentración de dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Hernandez & Hoebel, 1988; Hoebel, Hernandez, Schwartz, Mark & Hunter, 1989). Este fenómeno ha sido explicado a través de las propiedades reforzantes del alimento, especialmente de aquellos con características de alta palatabilidad (principalmente alimento rico en carbohidratos y/o grasas). La palatabilidad del alimento, su contenido energético y el tamaño de las raciones pueden producir sobreingesta de alimento (Cooper, Al-Naser & Clifton, 2006). En el cerebro, especialmente en el circuito de la recompensa, la transmisión dopaminérgica constituye el sustrato neuroquímico de las propiedades reforzantes de los estímulos, incluyendo al alimento y a las drogas de abuso, estímulos que incrementan la concentración de dopamina en el espacio sináptico del núcleo accumbens. Así, se distinguen dos funciones importantes reguladas por la dopamina, la primera es la recompensa, que es un estímulo que el cerebro interpreta como intrínsecamente positivo (algo de lo cual se puede obtener algún provecho). El segundo proceso es el del reforzamiento, que es producido por un estímulo que incrementa la probabilidad de que una conducta asociada a éste se repita cuando dicho estímulo esté presente (Kandel, Schwartz & Jessell, 2002).

Sobre esto último, se han realizado distintos estudios en los que se han evaluado las propiedades reforzantes de los alimentos en personas obesas y no obesas. Los resultados obtenidos muestran que en las personas obesas o con sobrepeso, las propiedades reforzantes del alimento son mayores, por lo cual la ingesta de energía es también alta (Epstein, Temple, Neaderhiser, Salis, Erbe & Leddy, 2007).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dado que la obesidad se ha convertido en un problema de salud mundial que se relaciona con la aparición de enfermedades crónico degenerativas que aumentan la mortalidad, el estudio de los mecanismos neuroquímicos y conductuales reguladores de la alimentación abren la posibilidad a la creación y mejoramiento de estrategias terapéuticas para el tratamiento de esta patología. Algunos de los mecanismos neuroquímicos asociados al control de la conducta alimentaria que más se han estudiado incluyen a la neurotransmisión dopaminérgica, debido a que la activación específica de los receptores a dopamina puede inhibir o estimular la ingesta de alimento a través de distintos mecanismos neuroquímicos y conductuales.

Aunado a lo anterior, se debe tomar en cuenta que la regulación de la ingesta de alimento también es influida por la motivación del sujeto, por lo que también se deben estudiar las estructuras cerebrales que integran este proceso, como el núcleo accumbens, que es el principal responsable de procesar la información para que el alimento adquiera o aumente sus cualidades reforzantes. Dichas propiedades reforzantes y de palatabilidad del alimento dependen principalmente de la actividad de las neuronas dopaminérgicas procedentes del VTA. Aun cuando se posee este conocimiento, no ha sido posible clarificar como la transmisión dopaminérgica mediada por receptores D4 del núcleo accumbens está involucrado en la modulación de la motivación por el consumo de alimento palatable.

En consistencia con lo anterior, la presente investigación sería una de las primeras en determinar el papel de los receptores a dopamina D4 en el shell del núcleo accumbens en la regulación de la motivación por el alimento palatable, para así brindar la posibilidad de realizar investigaciones a futuro que permitan el mejoramiento de los actuales tratamientos contra la obesidad.

### 3.1 Objetivo general

Estudiar en un modelo animal (ratas), el papel de los receptores a dopamina D4 del shell del núcleo accumbens en la regulación de la motivación por el alimento palatable a través de la evaluación de los puntos de ruptura con un programa de reforzamiento de razón progresiva.

### 3.2 Objetivos particulares

- a) Establecer un paradigma operante para la evaluación de la motivación por el alimento palatable en ratas por medio de un programa de reforzamiento de razón progresiva.
- b) Estudiar los efectos de la activación de los receptores a dopamina D4 en el shell del núcleo accumbens sobre la motivación por el alimento palatable.

### 3.3 Hipótesis

Si la dopamina a través de los receptores D4 participa en la modulación del procesamiento de las propiedades reforzantes del alimento, la activación local (en el núcleo accumbens shell) de estos receptores modificará los parámetros de la conducta operante (número de respuestas, reforzadores obtenidos), así como la motivación por el alimento palatable en ratas (puntos de ruptura).

## 4. MÉTODO

### 4.1 Sujetos

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar con un peso de entre 200 y 220 g al inicio de las sesiones de habituación. Las ratas fueron mantenidas individualmente en cajas habitación en el bioterio del Proyecto de Investigación en Nutrición con una temperatura controlada ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 x 12 horas invertido (las luces se apagan a las 12:00 p.m.). Los sujetos tuvieron libre acceso al alimento y agua durante su habituación al bioterio. Los procedimientos utilizados en este estudio cumplen con las normas de las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

### 4.2 Dieta

El alimento estándar consistió en pellets para roedores de laboratorio (Harlan 2018S), conteniendo en la fórmula dietética proteína al 18%, carbohidratos al 44.2%, 3.4% de grasa poliinsaturada, 1.3% de grasa monoinsaturada y 0.9% de grasa saturada. Durante las sesiones experimentales se emplearon como reforzadores pellets de sacarosa con sabor a chocolate (Dustless Precision Pellets, 45 mg, Sucrose, Chocolate Flavor, Bio-Serv).

### 4.3 Cirugía estereotáxica

Los sujetos fueron anestesiados con ketamina y xilasina (112.5 mg/kg y 22.5 mg/kg intraperitoneal) para implantarles estereotáxicamente una cánula de microinyección en el área suprayacente al shell del núcleo accumbens (coordenadas Anteroposterior +1.5 mm y Lateromedial -0.6 mm con relación a Bregma, Dorsoventral -6.0 mm con relación a la dura madre). Posterior a la cirugía, se les administró penicilina benzatínica (300,000 UI/kg im) para prevenir infecciones. Los animales tuvieron un periodo de recuperación operatoria de una semana con alimento y agua *ad libitum*.

## 4.4 Entrenamiento Conductual

Noventa minutos después del inicio de la fase oscura, los sujetos fueron entrenados con los programas de reforzamiento RF1 y RF5 (razón fija 1 y razón fija 5, respectivamente), para posteriormente ser expuestos a un programa de razón progresiva (RP).

En el programa de RF1, los sujetos permanecieron en las cajas operantes y, desde la interfase de un computador, se enviaron las señales de salida para que se expusiera dentro de la caja la palanca izquierda y se encendiera la luz general. En este programa se utilizaron como reforzadores para el palanqueo pellets de sacarosa con sabor a chocolate de 45 mg. El objetivo del programa RF1 consistió en entrenar a los sujetos para que presionaran la palanca por el reforzador (1 reforzador por 1 presión de la palanca). El periodo de entrenamiento con este programa fue desde 4 hasta 10 días, hasta que se alcanzó estabilidad del 80% en sus respuestas. Las sesiones tuvieron una duración de 30 minutos por cada día.

Una vez cumplido el criterio de estabilidad de la respuesta en el modelamiento con RF1, inició el entrenamiento con el programa RF5. La característica de este programa es que los sujetos tuvieron que palanquear 5 veces por un solo reforzador. El estímulo reforzador fueron los mismos pellets que en el programa RF1. Las sesiones tuvieron una duración de 30 minutos. El periodo de entrenamiento duró hasta que las respuestas alcanzarán la estabilidad del 80%, para posteriormente utilizar el programa RP.

El programa de RP consistió en la demanda creciente de respuestas para la obtención de 1 reforzador siguiendo una secuencia logarítmica (1, 2, 3, 5, 12, 18, 27, 40, 60, 90, 135, 200, 300, 450, 675, 1000; Guegan et al., 2012). Los reforzadores empleados fueron los mismos pellets que en los programas anteriores. El objetivo de este programa fue conocer qué tanto trabajo estaba dispuesto a realizar el sujeto experimental para obtener 1 reforzador, lo que representa una medida válida de motivación por el alimento palatable. Las unidades de medida de esta variable fueron los puntos de ruptura, que es el valor

máximo de palanqueos por reforzador, así como el número de reforzadores obtenidos en la respectiva sesión experimental.

## 4.5 Fármacos

Se emplearon el agonista y el antagonista de los receptores D4 (PD-168,077 y L-745870; N-[[4-(2-Cyanophenyl)-1-piperazinyl]methyl]-3-methylbenzamide maleate salt y 3-[[4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]methyl]-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine hydrochloride, respectivamente) (Sigma Chemical Co., Toluca, México). Para realizar la solución stock se pesaron 400 µg del fármaco (PD-168,077 / L-745870). Ambos fármacos se disolvieron por en 2 µL de dimetilsufóxido (DMSO) y 38 µL de solución salina al 0.9%. De esta solución madre se tomó una alícuota de 10 µL y se disolvió en 290 µL de solución salina al 0.9%, obteniendo una concentración final de 0.1 µg tanto de PD168,077 como de L-745,870 en un volumen final de 0.3 µL.

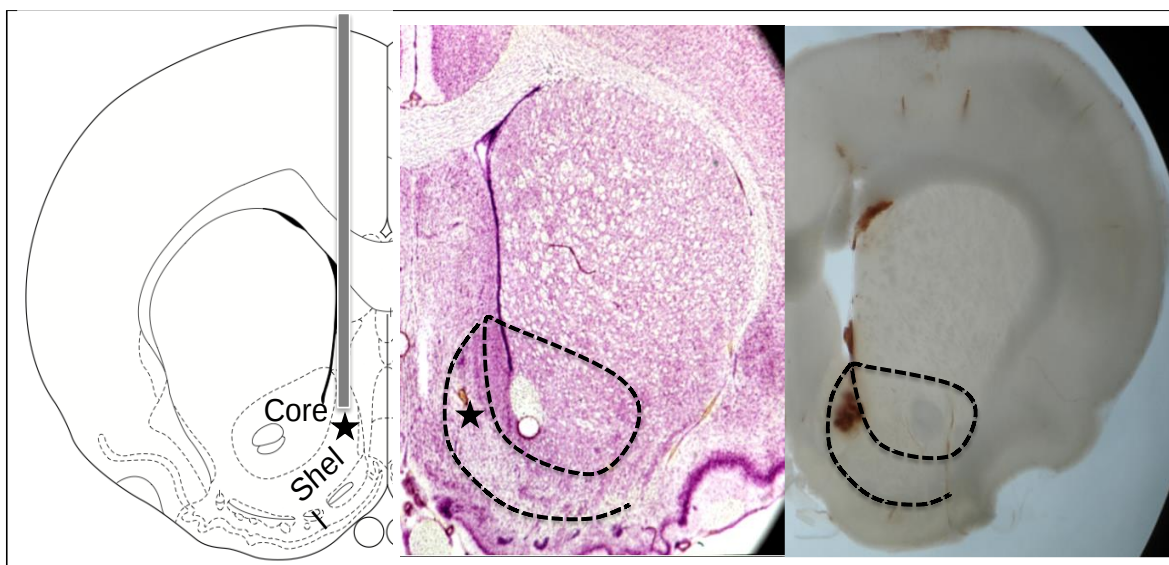
## 4.6 Micro-inyecciones

Veinte minutos antes de iniciar las sesiones experimentales en las cajas operantes, se administraron los fármacos (PD-168,077 y L-745870 a una concentración de 0.1 ug/0.3 uL) con la ayuda de una microjeringa de la marca Hamilton de 5 µL, que está acoplada a un catéter de polietileno unido a un microinyector que se coloca en la cánula guía para administrar el fármaco directamente en el núcleo accumbens shell (la velocidad de infusión fue de 0.1 µL por minuto). Para asegurar la difusión completa de los compuestos, el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía.

## 4.7 Histología

Posterior a las sesiones experimentales, las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital sódico intraperitoneal e inmediatamente decapitadas para extraer el cerebro, mismo que se colocó en una solución de formaldehído al 10% para fijar el tejido. Una vez fijado el tejido (al menos 24 horas después) se

realizaron cortes coronales de 300  $\mu\text{m}$  de grosor para verificar los sitios de inyección de los fármacos en la región Shell del núcleo accumbens (figura 4).



*Figura 4. Representación esquemática (izquierda) de los sitios de implantación de las cánulas de inyección en el NAcS donde el sitio de administración de los fármacos se representa con una  $\star$  y la cánula con una línea vertical gris. En el centro se muestra la fotografía de una sección de un corte coronal de cerebro de rata en el que se localizan las dos porciones del núcleo accumbens y a la derecha se muestra una fotografía representativa de un corte coronal en el que se aplicó una inyección en la porción shell del núcleo accumbens.*

## 4.8 Diseño y Procedimiento

Fase 1. Los sujetos fueron privados de alimento 90 minutos al inicio de la fase oscura y posteriormente fueron entrenados a palanquear en un programa de RF1 (duración 30 minutos, 1 palanqueo para obtener 1 reforzador). Una vez alcanzado el criterio del 80% de estabilidad de la tasa de respuestas (durante al menos 3 sesiones consecutivas), pasaron a la siguiente fase.

Fase 2. Los sujetos fueron privados de alimento 90 minutos al inicio de la fase oscura y posteriormente fueron expuestos durante tres sesiones a un programa

RF5 (duración 30 minutos), en el que debían emitir 5 respuestas para obtener 1 reforzador.

Fase 3. Los sujetos fueron canulados estereotáxicamente y tuvieron 1 semana de recuperación (agua y alimento *ad libitum*).

Fase 4. Posterior al periodo de recuperación, los sujetos fueron privados de alimento 90 minutos al inicio de la fase oscura y posteriormente fueron sometidos a un programa de reforzamiento RF5 (duración 30 minutos), una vez alcanzado el criterio del 80% de estabilidad de la respuesta (durante al menos 3 sesiones consecutivas), pasaron a la siguiente fase.

Fase 5. Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a 1 de 4 grupos (tabla 3), de igual manera fueron privados de alimento 90 minutos al inicio de la fase oscura y 10 minutos antes de la sesión experimental se les administraron intracanalmente los tratamientos (2 inyecciones con 10 minutos de separación). Posteriormente fueron expuestos al programa RP, con demanda creciente de palanqueo (1, 2, 3, 5, 12, 18, 27, 40, 60, 90, 135, 200, 300, 450, 675, 1000; Guegan et al., 2012), se registraron el número de respuestas y de reforzadores obtenidos, así como los puntos de ruptura (valor máximo de palanqueos emitidos para la obtención de un reforzador).

Los sujetos tuvieron 2 días de descanso y posteriormente fueron aleatorizados para asignarse a nuevos grupos que recibieron tratamientos intra-accumbens (2 inyecciones centrales con 10 minutos de separación), permanecieron en las mismas condiciones de privación de 1.5 horas. Posterior a los tratamientos intracanales fueron expuestos al programa PR. Una vez finalizadas las sesiones experimentales, los animales fueron sacrificados con una dosis de pentobarbital sódico y posteriormente decapitados para llevar a cabo la histología y verificar los sitios de inyección de los tratamientos.

| GRUPO | INYECCIÓN CENTRAL 1<br>(asignación aleatoria) | INYECCIÓN CENTRAL 2<br>(asignación aleatoria) |
|-------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1     | Vehículo + Vehículo (n=4)                     | Vehículo + Vehículo (n=4)                     |
| 2     | Vehículo + PD 168,077 (n=4)                   | Vehículo + PD 168,077 (n=4)                   |
| 3     | L 745,870 + PD 168,077<br>(n=4)               | L 745,870 + PD 168,077 (n=4)                  |
| 4     | Vehículo + L 745,870 (n=4)                    | Vehículo + L 745,870 (n=4)                    |

*Tabla 3: Asignación de grupos a cada condición.*

#### 4.9 Análisis de datos

Con el fin de determinar si el orden en que se administraron los tratamientos producía efectos, se compararon los subgrupos y, en ausencia de diferencias significativas (prueba t de student), se agruparon los sujetos que recibieron los mismos tratamientos, obteniendo así un tamaño muestral de  $n=8$  para cada condición. Para la determinación de la significancia de las diferencias entre las condiciones de las variables evaluadas (número de respuestas, reforzadores obtenidos y puntos de ruptura) en los diferentes grupos, se emplearon ANOVAs (independientes) de una entrada seguido de la prueba *post hoc* de Tukey para las comparaciones múltiples. La significancia de las diferencias del peso corporal entre los grupos se calculó con un ANOVA de medidas repetidas. El nivel de significancia para todas las pruebas fue de  $\alpha= 0.05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Paradigma operante para la evaluación de la motivación por el alimento palatable

El proceso de entrenamiento operante de los sujetos inició con la asociación de la palanca con la entrega del reforzador. Una vez que los sujetos aprendieron dicha relación, fueron expuestos a los programas de reforzamiento RF1 y RF5, este último en dos momentos, antes y después de la cirugía estereotáxica. Para garantizar que el desempeño de los sujetos de los distintos grupos en las tareas operantes era semejante y estable, se compararon el número de respuestas y de reforzadores obtenidos antes de proceder con las inyecciones intracanalares. Tanto el número de respuestas como el de reforzadores obtenidos no difirió significativamente entre los grupos antes de los tratamientos intra-accumbens (Figs. 5 y 6). Asimismo, el registro diario del peso corporal mostró que, a pesar de que los sujetos fueron privados de alimento antes de las sesiones de conducta operante, continuaron ganando peso y su desarrollo fue semejante entre los grupos (Fig. 7).

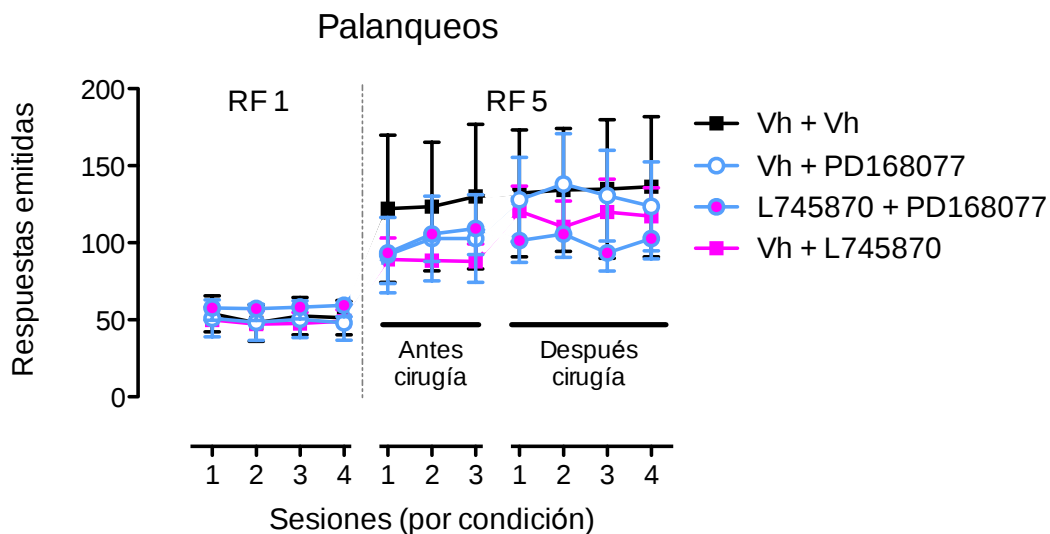


Fig. 5. Número de respuestas emitidas durante los programas de reforzamiento de razón fija de los sujetos que posteriormente fueron inyectados intracanalaramente en el shell del

núcleo accumbens. Vh + Vh  $n=8$ , Vh + PD-168,077  $n=8$ , L-745870 + PD-168,077  $n=8$ , Vh + L-745870  $n=8$ .

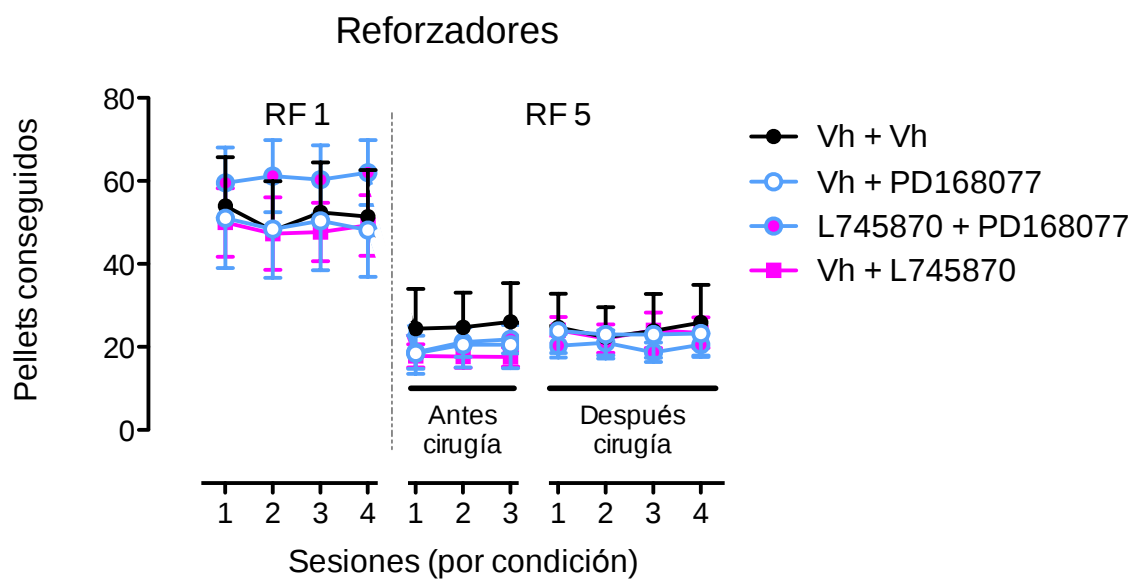


Fig. 6. Número de reforzadores obtenidos durante los programas de reforzamiento de razón fija de los sujetos que posteriormente fueron inyectados intracanalmente en el shell del núcleo accumbens. Vh + Vh  $n=8$ , Vh + PD168077  $n=8$ , L745870 + PD168077  $n=8$ , Vh + L745870  $n=8$ .

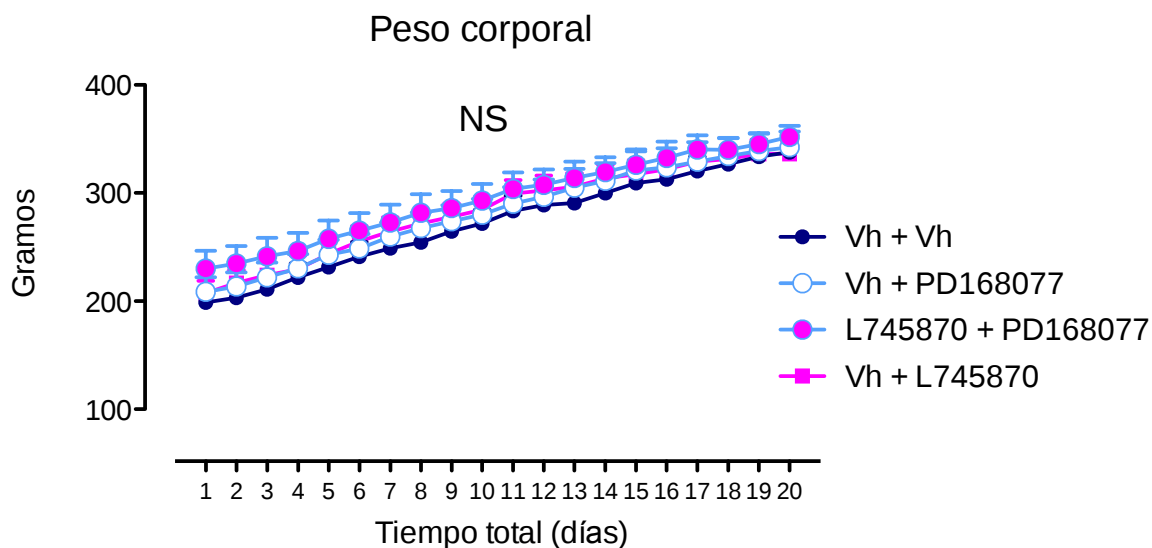


Fig. 7. Peso corporal de los sujetos durante el inicio del entrenamiento hasta la última sesión experimental. Vh + Vh  $n=8$ , Vh + PD168077  $n=8$ , L745870 + PD168077  $n=8$ , Vh + L745870  $n=8$ . NS= no significativo.

## 5.2 Efectos de la activación de los receptores a dopamina D4 en el shell del núcleo accumbens sobre la motivación por el alimento palatable

A continuación se presentan los resultados correspondientes a la administración local de PD 168,077 (agonista selectivo del receptor D4) en el shell del núcleo accumbens sobre la motivación por el alimento palatable, así como el análisis de los datos de los sujetos que no recibieron las inyecciones intra-accumbens. Los datos se expresan en términos de la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM).

De acuerdo con nuestros resultados, los tratamientos intra-accumbens produjeron efectos significativos tanto en el número de respuestas emitidas como en el número de reforzadores que obtuvieron los sujetos en las distintas condiciones [ $F_{(3,24)} = 6.302$ ;  $p < 0.01$  y  $F_{(3,24)} = 4.642$ ;  $p < 0.05$  respectivamente]. Las comparaciones múltiples revelaron el incremento significativo del número de respuestas en el grupo tratado con PD-168,077 (0.1  $\mu$ g) con respecto al grupo vehículo y al resto de los grupos (Fig. 8 A). Paralelamente, la activación de los receptores D4 del núcleo accumbens shell aumentó significativamente el número de reforzadores obtenidos (Fig. 8 B). En ambos casos, el pretratamiento con L-745870 (0.1  $\mu$ g) bloqueó por completo el efecto causado por el agonista PD-168,077 sobre el número de respuestas y de reforzadores obtenidos. El antagonista por sí mismo no produjo cambios significativos.

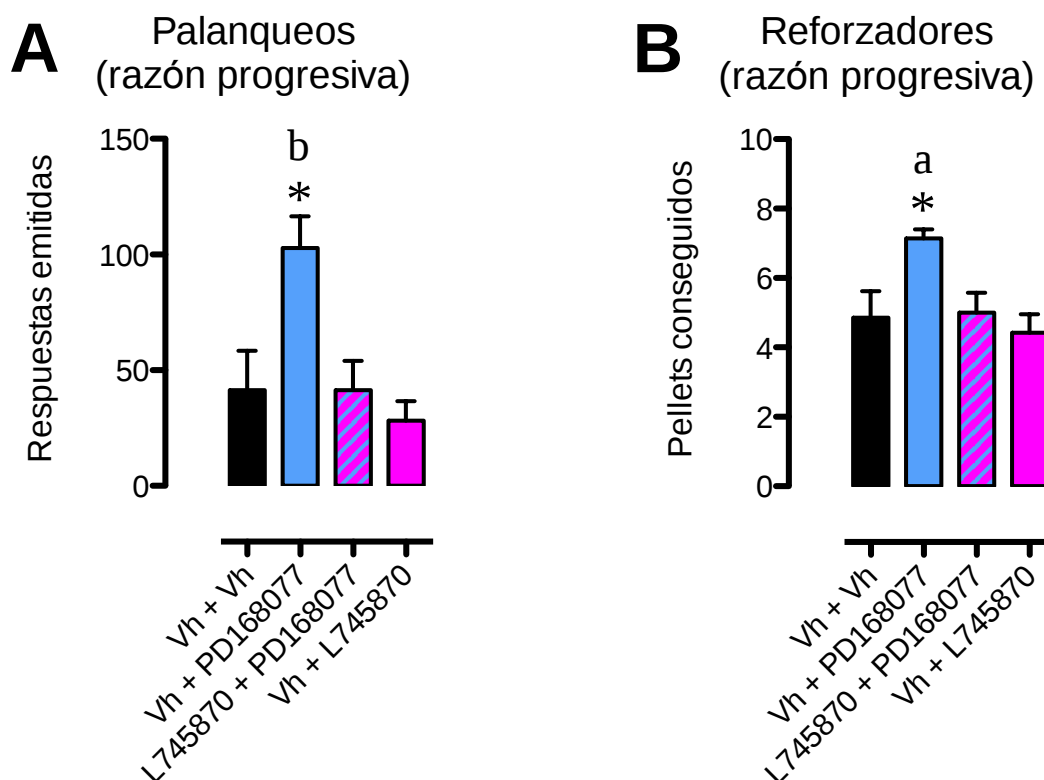


Fig. 8. Número de respuestas (A) y de reforzadores (B) obtenidos durante el programa de razón progresiva de los sujetos que recibieron los tratamientos en el shell del núcleo accumbens. Vh + Vh  $n=8$ , Vh + PD-168,077  $n=8$ , L-745870 + PD-168,077  $n=8$ , Vh + L-745870  $n=8$ . \*  $p < 0.05$  vs grupo Vh + Vh; <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs Vh + L-745870; <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs L-745870 + PD-168,077 y Vh + L-745870.

Para determinar si los tratamientos farmacológicos producían efectos sobre la motivación por el alimento palatable, comparamos los puntos de ruptura de los sujetos sometidos al programa de razón progresiva que recibieron inyecciones intra-accumbens. Encontramos que la activación de los receptores a dopamina D4 en el shell del núcleo accumbens incrementa significativamente los puntos de ruptura y el efecto es completamente prevenido por el pretratamiento con el antagonista L-745870 [ $F_{(3,24)}=4.257$ ;  $p < 0.05$ ]. El antagonista *per se* no produce efecto alguno (Fig. 9 A).

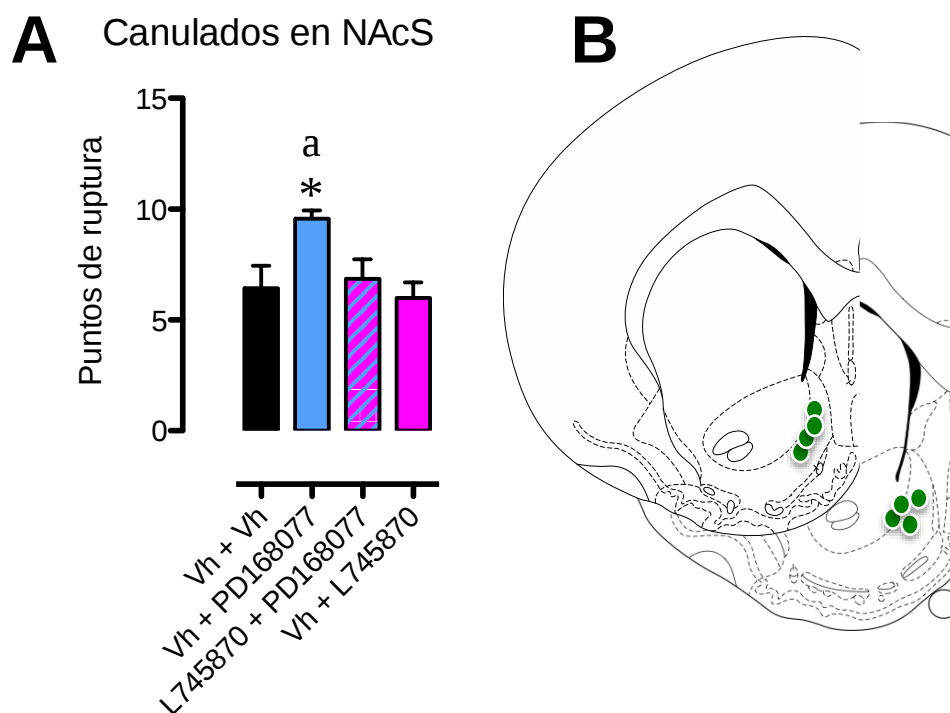


Fig. 9. Puntos de ruptura (A) obtenidos durante el programa de razón progresiva de los sujetos que recibieron los tratamientos en el shell del núcleo accumbens. Representación esquemática (B) de los sitios en los que fueron aplicadas las inyecciones (círculos verdes) dentro del shell del núcleo accumbens. Vh + Vh  $n=8$ , Vh + PD-168,077  $n=8$ , L-745870 + PD-168,077  $n=8$ , Vh + L-745870  $n=8$ . \*  $p < 0.05$  vs grupo Vh + Vh; <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs Vh + L-745870.

Finalmente, para verificar la especificidad de dicho efecto, evaluamos los puntos de ruptura de los sujetos que fueron implantados con la cánula de inyección fuera del núcleo accumbens shell. Al comparar dichos valores, no encontramos diferencias significativas entre los diferentes grupos (Fig. 10 A).

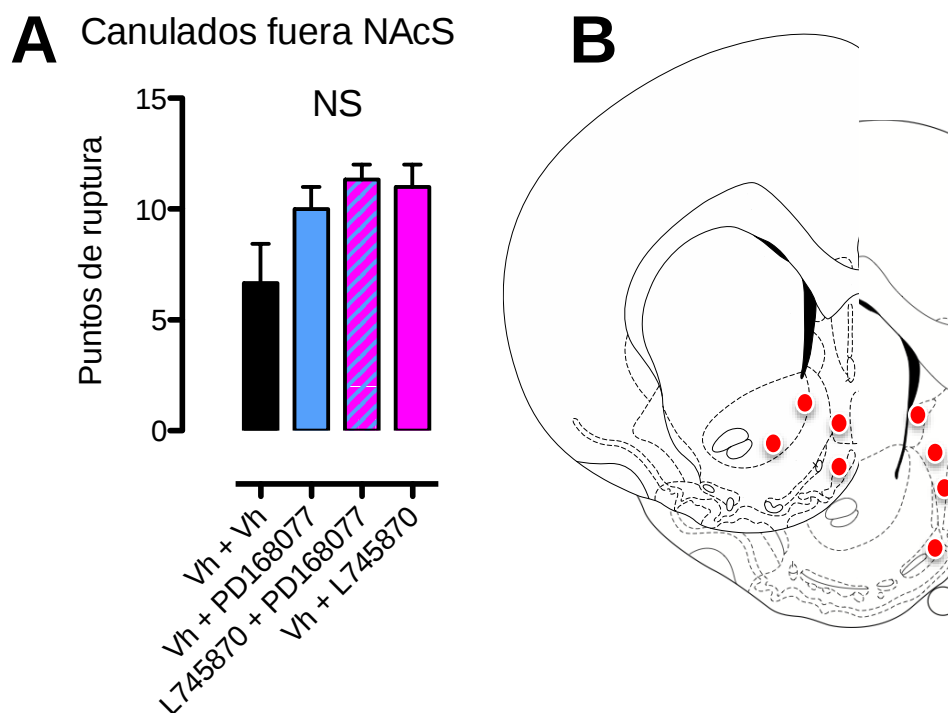


Figura 10. Puntos de ruptura (A) obtenidos durante el programa de razón progresiva de los sujetos que recibieron los tratamientos fuera del shell del núcleo accumbens. Representación esquemática (B) de los sitios en los que fueron aplicadas las inyecciones (círculos rojos) fuera del shell del núcleo accumbens. Vh + Vh  $n=3$ , Vh + PD-168,077  $n=4$ , L-745870 + PD-168,077  $n=3$ , Vh + L-745870  $n=2$ .

## 6. DISCUSIÓN

El estudio de los mecanismos neuroquímicos asociados al control de la conducta alimentaria ha favorecido el esclarecimiento de las funciones de la transmisión dopaminérgica en el control alimentario. Así, ahora sabemos que la dopamina puede inhibir o estimular la ingestión de alimento en función del subtipo de receptor al que se una, inhibiendo el consumo de alimento al activar receptores D2 y D3 ((Rusk & Cooper, 1988; Tejas, 2014; Cooper & Al-Naser, 2006; Nakajima & Patterson, 1997) o estimulándolo al activar a los receptores D1, D5 y D4 (Cooper et al., 1990; Zarrindast, Owji & Hosseini-Nia, 1991; Terry & Katz, 1992; Cheng & Kuo, 2003; Verty, McGregor & Mallet, 2004b; Tejas, 2014; Gilbert & Cooper, 1985; Rusk & Cooper, 1989; Cooper, Francis & Rusk, 1990; Tejas, 2008). En el caso particular de los receptores D4, su expresión en núcleos cerebrales específicos ((Huang, Yu, Zavitsanou, Han & Storlien, 2005; Tejas, et al., 2014) sugiere diferentes mecanismos de acción para modular al comportamiento alimentario, ya sea modificando procesos de la homeostasis energética (receptores expresados en el hipotálamo) (Tejas, et al., 2014) o presumiblemente produciendo cambios en la forma en la que se procesa la información de las cualidades reforzantes del alimento (núcleo accumbens). De acuerdo con nuestros resultados, los receptores a dopamina del tipo D4 de la región shell forman parte del sistema neuroquímico mediante el cual la dopamina estimula la ingestión de alimento por medio del aumento de sus propiedades reforzantes, ya que al activar a estos receptores, en el presente estudio encontramos que los puntos de ruptura (con alimento palatable) de los sujetos aumentaba significativamente.

Dado que el ARNm que codifica para el receptor D4 se encuentra densamente expresado en la corteza frontal, la amígdala y el hipocampo (Missale et al. 1998; Bahena et al. 2000), es altamente probable que las proyecciones glutamatérgicas de estas regiones que llegan al núcleo accumbens expresen presinápticamente la proteína del receptor D4. Estudios anatómicos han mostrado que las terminales de las aferentes dopaminérgicas hacia el núcleo accumbens no hacen contactos axoaxónicos con aferentes excitatorias, en vez de eso forman la mayoría de sus

sinapsis sobre las espinas dendríticas distales de las neuronas espinosas medianas (Smith y Bolam, 1990). Estas mismas espinas dendríticas reciben las entradas de las aferentes excitatorias (Freud et al., 1984; Sesack y Pickel, 1990), incluyendo las de la corteza prefrontal (Sesack y Pickel, 1992). Así que un aumento en la liberación de dopamina extracelular ocasionado por las propiedades reforzantes del alimento palatable podría ser suficiente para permitir la difusión de dopamina más allá del sitio del contacto sináptico directo e interactuar con los receptores dopaminérgicos D4 presinápticos presentes en las terminales de las aferentes corticales. Así, es posible sugerir que la administración local del PD 168,077 en el shell del núcleo accumbens activa receptores D4 presinápticos localizados en las terminales glutamatérgicas (Svingos et al, 2000), reduciendo la liberación de glutamato hacia las neuronas espinosas medianas GABAérgicas de la región shell, por lo que estas neuronas al no ser activadas tónicamente por el glutamato, permiten que se desinhiban las neuronas a las que envían sus proyecciones GABAérgicas, por ejemplo, las neuronas GABAérgicas y glutamatérgicas del hipotálamo lateral (Maldonado-Irizarry et al. 1995; Stratford y Kelly 1999).

Estudios han reportado que el bloqueo de receptores a glutamato tipo NMDA, AMPA y kainato dentro del NAcS, genera la reducción de la excitación de las neuronas espinosas medianas, provocando una potente respuesta de alimentación, por lo que se ha sugerido que los receptores a glutamato desempeñan un papel importante en la regulación de la actividad motora y de alimentación por su influencia en la transmisión dopaminérgica (Ulluque, 1999; Zhang, Balmadrid & Kelley, 2003; Kelley & Swanson, 1997; Maldonado-Irizarry, Swanson, & Kelley, 1995; Stratford & Kelley, 1999; Stratford, Swanson & Kelley, 1998). Aunado a lo anterior se sabe que la inhibición de la actividad neuronal de las neuronas espinosas medianas en el núcleo accumbens por la estimulación de los receptores GABA<sub>A</sub> o GABA<sub>B</sub> dentro del *shell* induce el consumo de alimento sólido de laboratorio, carbohidratos, grasa y sacarosa sin alterar el consumo de agua (Stratford & Kelley, 1999).

Tanto el aumento del número de respuestas emitidas, como el de la cantidad de reforzadores obtenidos y de los puntos de ruptura de los sujetos producido por la administración del agonista PD168,077 fueron bloqueados por el pretratamiento con el antagonista de los receptores D4, el L-745870, lo que sugiere fuertemente que el efecto que encontramos se debe a la activación selectiva de los receptores dopaminérgicos D4 y no a otro subtipo de receptor dopaminérgico como el D2 y D3 que también están presentes en shell del núcleo accumbens. Además, al no encontrar efecto del PD168, 077 cuando se administró fuera del NAcS, es muy probable que el receptor no se exprese o que no participe en la modulación de la motivación por el alimento palatable en esas regiones.

Al ser la presente investigación una de las primeras en determinar el papel de los receptores a dopamina D4 en el shell del núcleo accumbens en la regulación de la motivación por el alimento palatable, resulta necesario tener la certeza de que los procedimientos experimentales son suficientemente válidos. A este respecto, basándonos en lo que se reporta en la literatura (Paredes & López, 2014; Reynolds, 1973), primero establecimos un paradigma operante para la evaluación de la motivación por el alimento palatable por medio de un programa de reforzamiento de razón progresiva, que consistió en entrenar a los sujetos a palanquear en un programa de RF1 y RF5 antes de ser inyectados intracanalmente. Nuestros resultados mostraron que tanto en el número de respuestas emitidas como en el de reforzadores obtenidos fue semejante antes de los tratamientos intra-accumbens, además de que aun cuando los sujetos fueron privados de alimento al inicio de las sesiones operantes, continuaron ganando peso corporal. De tal forma, es posible asumir que los sujetos se adaptaron apropiadamente al paradigma operante establecido y la medida de motivación que obtuvimos en las sesiones experimentales son válidas y confiables.

Se sabe que la alimentación puede incrementar la concentración de dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Hernandez & Hoebel, 1988; Hoebel, Hernandez, Schwartz, Mark & Hunter, 1989) lo que a su vez ha sido vinculado a las propiedades reforzantes del alimento, especialmente de aquellos altamente

palatables (principalmente alimento rico en carbohidratos). Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten esclarecer como la activación de los receptores a dopamina D4 en el NAcS incrementan la motivación por el alimento palatable. Cabe mencionar que la palatabilidad del alimento, su contenido energético y el tamaño de las raciones constituyen factores asociados a la sobreingesta de alimento (Cooper, Al-Naser & Clifton, 2006) lo que conlleva a la obesidad y el sobrepeso.

Actualmente los tratamientos para la obesidad ya no solo se basan en la implementación de una dieta y actividad física, que si bien son esenciales para bajar de peso, ha sido necesario el apoyo de otros elementos como la terapia psicológica, permitiéndole al paciente generar/modificar hábitos alimenticios y de actividad física, las técnicas de conducta más utilizadas incluyen: auto-monitoreo de la ingesta y actividad física, manejo del stress, resolución de problemas relacionados con el peso. A nivel cognitivo es importante que se establezcan metas realistas en cuanto a la reducción de peso y el tiempo que tomara. Otro factor que se emplea en conjunto con los anteriores es la farmacoterapia, el uso de fármacos debe ser indicado cuando no se obtiene una respuesta adecuada a las modificaciones del estilo de vida. Con base en los resultados obtenidos en nuestra investigación es posible determinar que los receptores a dopamina D4 en el NAcS son una alternativa como blanco terapéutico para el tratamiento de la obesidad.

## 7. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos es posible establecer las siguientes conclusiones:

1. La activación específica de los receptores a dopamina D4 de la región shell del núcleo accumbens con el agonista selectivo PD168, 077 produce un incremento significativo en la tasa de respuesta, los reforzadores obtenidos y la motivación por el alimento palatable (puntos de ruptura).
2. El pretratamiento con el antagonista L-745870 previene el efecto generado por la activación de los receptores D4, lo que indica que el efecto es mediado específicamente por estos receptores.

## 8. PERSPECTIVAS

Aun cuando en la presente investigación se alcanzó el objetivo planteado y se respondió la pregunta de investigación, es necesario realizar nuevos experimentos donde se muestren los efectos que produce el bloqueo central de los receptores D4 (con un antagonista selectivo a estos receptores) de la región shell del núcleo accumbens sobre otros parámetros del comportamiento alimentario, por ejemplo, empleando otros paradigmas conductuales en los que pueda determinarse si esta manipulación farmacológica produce cambios en la alimentación espontánea, en la microestructura de la conducta alimentaria y/o en la secuencia de saciedad conductual. De particular relevancia sería estudiar dichas variables en una condición en la que pueda ocurrir sobreingesta de alimento, por ejemplo exponiendo a los sujetos experimentales a una dieta hipercalórica, en los conocidos modelos animales de obesidad inducida por dieta.

Finalmente, debido a que los receptores a dopamina del tipo D4 se localizan principalmente en las terminales presinápticas, sería relevante evaluar su participación en la modulación de la liberación de neurotransmisores no catecolaminérgicos por medio de experimentos donde se determinen *in vitro* los efectos de la activación de los receptores D4 sobre la liberación de neurotransmisores radiactivos (glutamato y GABA).

## 9. REFERENCIAS

1. Aberman, J. E., Ward, S. J., & Salamone, J. D. (1998). Effects of dopamine antagonists and accumbens dopamine depletions on time-constrained progressive-ratio performance *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 61, 341–348.
2. Ardila, R. (2012). La motivación en la conducta animal. *Revista Colombiana de Psicología*, 115-119.
3. Ayesta, F. J. (2002). Bases bioquímicas y neurobiológicas de la adicción al alcohol. *Adicciones*, 14(1), 63-78.
4. Bahena, T., Gonzalo, F., & Montaña J. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Rev Biomed*, 11(2), 39-60.
5. Bakshi, V. P., & Kelley, A. (1991). Dopaminergic regulation of feeding behavior: II. Differential effects of amphetamine microinfusion into the three striatal subregion. *Psychobiology*, 19, 233–242.
6. Baptista, T., Araujo de Baptista, E., Ying Kin, N. M., Beaulieu, S., Walker, D., & Joober, R. (2002). Comparative effects of the antipsychotics sulpiride or risperidone in rats. I: bodyweight, food intake, body composition, hormones and glucose tolerance. *Brain Research*, 957(1), 144-1451.
7. Barbano, M., Le Saux, M., & Cador, M. (2009). Involvement of dopamine, opioids in the motivation to eat: influence of palatability, homeostatic state, and behavioral paradigms. *Psychopharmacology*, 203, 475–487.
8. Bassareo, V., & Di Chiara, G. (1999). Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state. *Eur. J. Neurosci*, 11, 4389–4397.

9. Bina, K. G., & Cincotta, A. H. (2000). Dopaminergic agonists normalize elevated hypothalamic neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone, body weight gain, and hyperglycemia in ob/ob mice. *Neuroendocrinology*, 71(1), 68-78.
10. Broderick, P., & Piercey, M. (1998). Clozapine, haloperidol, and the D4 antagonist PNU-101387G: in vivo effects on mesocortical, mesolimbic, and nigrostriatal dopamine and serotonin release. *Journal of Neural Transmission*, 105, 749-767.
11. Carlson, R. N. (2005). Conducta de Ingesta. *Fisiología de la conducta*. México: Pearson.
12. Cooper, S. J., & Al-Naser, H. A. (2006). Dopaminergic control of food choice: contrasting effects of SKF 38393 and quinpirole on high-palatability food preference in the rat. *Neuropharmacology*, 50(8), 953-963.
13. Cooper, S. J., Al-Naser, H. A., & Clifton, P. G. (2006). The anorectic effect of the selective dopamine D1-receptor agonist A-77636 determined by meal pattern analysis in free-feeding rats. *European Journal of Pharmacology*, 532(3), 253-257.
14. Cooper, S. J., Francis, J., & Rusk, I. N. (1990). The anorectic effect of SK&F 38393, a selective dopamine D1 receptor agonist: a microstructural analysis of feeding and related behaviour. *Psychopharmacology (Berl)*, 100(2), 182-187.
15. Cheeta, S., Brooks, S., & Willner, P. (1995). Effects of reinforcer sweetness and the D2/D3 antagonist raclopride on progressive ratio operant performance. *Behav. Pharmacol*, 6, 127-132.
16. Cheng, J. T., & Kuo, D. Y. (2003). Both alpha1-adrenergic and D(1)-dopaminergic neurotransmissions are involved in phenylpropanolamine-

- mediated feeding suppression in mice. *Neuroscience Letters*, 347(2), 136-138.
17. Davis, L. M., Michaelides, M., Cheskin, L. J., Moran, T. H., Aja, S., & Watkins, P. A. (2009). Bromocriptine administration reduces hyperphagia and adiposity and differentially affects dopamine D2 receptor and transporter binding in leptin-receptor-deficient Zucker rats and rats with diet-induced obesity. *Neuroendocrinology*, 89(2), 152-162.
  18. Epstein, L. H., Temple, J. L., Neaderhiser, B. J., Salis, R. J., Erbe, R. W., & Leddy, J. J. (2007). Food reinforcement, the dopamine D2 receptor genotype, and energy intake in obese and nonobese humans. *Behavioral Neuroscience*, 121(5), 877-886.
  19. Fernández, E. (2000) ¿Cómo funciona el núcleo Accumbens? *Revista Neurológica*, 30(9), 845-49.
  20. Fulton, S. (2010). Appetite and Reward. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31, 85- 103.
  21. Gilbert, D. B., & Cooper, S. J. (1985). Analysis of dopamine D1 and D2 receptor involvement in d- and l-amphetamine-induced anorexia in rats. *Brain Research Bulletin*, 15(4), 385-389.
  22. Gillard, E. R., Dang, D. Q., & Stanley, B. G. (1993). Evidence that neuropeptide Y and dopamine in the perifornical hypothalamus interact antagonistically in the control of food intake. *Brain Research*, 628(1-2), 128-136.
  23. González, R. I., Paz, T.D., Fuentes, S. N., Lucio, P. M., Rodríguez, S. D., Torres, C. P., Zamora, A. O., Casasola, C. C., & Sánchez, C. H. (2015). El amaranto como fuente de reforzamiento: un estudio con roedores. *Acta de Investigación Psicológica*, 5(2), 60-71.

24. Guardia, J., Surkov, I., & Cardús, M. (s.f.). Bases neurobiológicas de la adicción. *Manual de Trastornos Adictivos*. España: Enfoque editorial S.C.
25. Guy, J., & Pelletier, G. (1988). Neuronal interactions between neuropeptide Y (NPY) and catecholaminergic systems in the rat arcuate nucleus as shown by dual immunocytochemistry. *Peptides*, 9(3), 567-570.
26. Hamill, S., Trevitt, J. T., Nowend, K. L., Carlson, B. B., & Salamone, J. D. (1999). Nucleus accumbens dopamine depletions and time-constrained progressive ratio performance: Effects of different ratio requirements. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64, 21–27.
27. Hernandez, L., & Hoebel, B. G. (1988). Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiology and Behavior*, 44(4-5), 599-606.
28. Hernandez, L., & Hoebel, L. (1988). Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sci.* 42,1705–1712.
29. Hoebel, B. G., Hernandez, L., Schwartz, D. H., Mark, G. P., & Hunter, G. A. (1989). Microdialysis studies of brain norepinephrine, serotonin, and dopamine release during ingestive behavior. Theoretical and clinical implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 575, 171-91; discussion 192-193.
30. Hoebel, B., Monaco, A., Hernandez, L., Aulisi, E., Stanley, B., & Lenard, L. (1983). Self-injection of amphetamine directly into the brain. *Psychopharmacology*, 81, 158–163.
31. Huang, X. F., Yu, Y., Zavitsanou, K., Han, M. & Storlien, L. (2005). Differential expression of dopamine D2 and D4 receptor and tyrosine hydroxylase mRNA in mice prone, or resistant, to chronic high-fat diet-induced obesity. *Molecular Brain Research*. 135(1–2), 150–161.

32. Hurd, Y., Weiss, F., Koob, G., & Ungerstedt, U. (1989). Cocaine reinforcement and extracellular dopamine overflow in rat nucleus accumbens: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* 498,199–203.
33. Instituto Mexicano para la Competitividad. (2015). Los costos de la Obesidad en México. Recuperado de [http://imco.org.mx/banner\\_es/kilos-de-mas-pesos-de-menos-obesidad-en-mexico/](http://imco.org.mx/banner_es/kilos-de-mas-pesos-de-menos-obesidad-en-mexico/)
34. Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2002). *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
35. Kaur, G., & Kulkarni, S. K. (2002). Studies on modulation of feeding behavior by atypical antipsychotics in female mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26(2), 277-285.
36. Kelley, A. E., & Swanson, C. J. (1997). Feeding induced by blockade of AMPA and kainate receptors within the ventral striatum: A microinfusion mapping study.. *Behavioural Brain Research*, 89(5), 107–113.
37. Kelley, A., & Delfs, J. (1991). Dopamine and conditioned reinforcement. I. Differential effects of amphetamine microinjections into striatal subregions. *Psychopharmacology*, 103, 187–196.
38. Kelley, A., & Delfs, J. (1991a). Dopamine and conditioned reinforcement. II. Contrasting effects of amphetamine microinjection into the nucleus accumbens with peptide microinjection into the ventral tegmental área. *Psychopharmacology*, 103, 197–203.
39. Kelley, A., Baldo, B., Pratt, W., & Will, M. (2005). Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. *Physiology & Behavior*, 86, 773-795.
40. Kolta, M., Shreve, P., & Uretsky, N. (1989). Effect of pretreatment with amphetamine on the interaction between amphetamine and dopamine neurons in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 28, 9–14.

41. Lee, M. D., & Clifton, P. G. (2002). Meal patterns of free feeding rats treated with clozapine, olanzapine, or haloperidol. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 71(1-2), 147-154.
42. Linden, J. D. (2011). El botón del placer. *La brújula del placer: porque los alimentos grasos, el orgasmo, el ejercicio, la marihuana, la generosidad, el alcohol, aprender y los juegos de azar nos sientan tan bien*. Barcelona: Paidós.
43. Lindstrom, L. H. (1989). A retrospective study on the long-term efficacy of clozapine in 96 schizophrenic and schizoaffective patients during a 13-year period. *Psychopharmacology (Berl)*, 99, S84-S86.
44. López, E., A. (2007). Análisis experimental en conducta alimentaria. *Anales de Psicología*, 23(2), 258-263.
45. Lu, X., Ghasemzadeh, M., & Kalivas, P. (1998). Expression of D1 receptor, D2 receptor, substance P and enkephalin messenger RNAs in the neurons projecting from the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 82, 767–780.
46. Lyness, W., Friedle, N., & Moore, K. (1979). Destruction of dopaminergic nerve terminals in nucleus accumbens: effect on D-amphetamine selfadministration, *Pharmacol. Biochem. Behav*, 11, 553–556.
47. Malacara, J. M. (2004). Mecanismos regulatorios de la ingestión de alimentos: ¿al fin un tratamiento a la vista? *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 12(4), 188-198.
48. Maldonado-Irizarry, C. S., Swanson, C. J., & Kelley, A. E. (1995). Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control feeding behavior via the lateral hypothalamus. *Journal of Neuroscience*, 15(12), 6779–6788.
49. Meredith, G., Pennartz, C. & Groenewegen, H. (1993). The cellular framework for chemical signalling in the nucleus accumbens. *Progress in Brain Research*, 99(1), 3-23.

50. Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78, 189-225.
51. Nakajima S., & Patterson R. L. (1997). The involvement of dopamine D2 receptors, but not D3 or D4 receptors, in the rewarding effect of brain stimulation in the rat. *Brain Research*, 760(1-2), 74-79.
52. Neve, K. A., Seamans, J. K., & Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine Receptor Signalling. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 24(3), 165-205.
53. Organización Mundial de la Salud. (2015). Obesidad y Sobrepeso. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
54. Palma, J. A., & Iriarte, J. (2012). Regulación del Apetito: bases neuroendocrinas e implicaciones clínicas, *Medicina Clínica*, 139(2), 70-75.
55. Palmero, F. (1997). Motivación: conducta y proceso. *Revista Electrónica de Motivación y Emoción*, 8(20). Recuperado de <http://reme.uji.es/articulos/numero20/1-palmero/texto.html#ftn4>
56. Palmero, F. (2008). El proceso de motivación. *Motivación y Emoción*. España: MCGRAW-HILL.
57. Palmero, F., Gomez, C., Carpi, A. & Guerrero, C. (2008). Perspectiva histórica de la psicología de la motivación. *Avances en la Psicología Latinoamericana*, 26(2), 145-170.
58. Paredes, C. & López, M. (2004). Factores motivacionales de la conducta aprendida. *Seminario Médico*, 56(2), 123-134.
59. Reynolds, G. S. (1973). *Compendio de condicionamiento operante*. Ciencia de la Conducta.

60. Rusk, I. N., & Cooper, S. J. (1988). Profile of the selective dopamine D-2 receptor agonist N-0437: its effects on palatability- and deprivation-induced feeding, and operant responding for food. *Physiology and Behavior*, 44(4-5), 545-553.
61. Rusk, I. N., & Cooper, S. J. (1989). The selective dopamine D1 receptor agonist SK&F 38393: its effects on palatability- and deprivation-induced feeding, and operant responding for food. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 34(1), 17-22.
62. Salamone, J., Steinpreis, R., McCullough, L., Smith, P., Grebel, D., & Mahan, K. (1991). Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology*, 104, 515–521.
63. Shuntaro, K., Koshikawa, N., & Kobayashi, M. (2011). D2-like dopamine receptors differentially regulate unitary IPSCs depending on presynaptic GABAergic neuron subtypes in rat nucleus accumbens Shell. *Journal Neurophysiology*, 107, 692–703.
64. Spyraiki, C., Fibiger, H., & Phillips, A. (1982). Attenuation by haloperidol of place preference conditioning using food reinforcement. *Psychopharmacology*, 77, 379–382.
65. Stratford, T. R., Swanson, C. J., & Kelley, A. (1998). Specific changes in food intake elicited by blockade or activation of glutamate receptors in the nucleus accumbens shell. *Behavioural Brain Research*, 93, 43–50.
66. Stratford, T., & Kelley, A. (1999). Evidence of a Functional Relationship between the Nucleus Accumbens Shell and Lateral Hypothalamus Subserving the Control of Feeding Behavior. *The Journal of Neuroscience*, 19(24), 1140-1148.

67. Succo, S., Sanna, F., Melis, T., Boi, A., Argiolas, A., & Melis, M. R. (2007). Stimulation of dopamine receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats induces penile erection and increases extra-cellular dopamine in the nucleus accumbens: Involvement of central oxytocin. *Neuropharmacology*, 52(3), 1034-1043.
68. Svingos, L. A., PeriaSamy, S., & Pickel, M. V. (2000). Presynaptic Dopamine D4 Receptor Localization in the Rat Nucleus Accumbens Shell. *Synapse*, 36(3), 222-232.
69. Tejas, J. J. G., Mancilla, D. J. M., Florán G. B., & Escartín P. R. E. (2010). Hypothalamic dopaminergic d2/d3 receptors are involved in feeding behavior regulation. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 36(2), 53-69.
70. Tejas, J. G. (2008). *Papel de la dopamina y de los receptores D4 del núcleo paraventricular hipotalámico en el control alimentario*. Tesis Maestría en Farmacología, CINVESTAV. México.
71. Tejas, J. J. G., Cruz, M. A. M., López, A. V., García, I. B., Mancilla, D. J. M., Florán, G. B., & Escartín, P. R. E. (2014). Stimulation of dopamine D4 receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats induces hyperphagia: Involvement of glutamate. *Psychology & Behavior*, 133, 272-281.
72. Tejeda, C. (2015). Neuroimagen en adicciones. Recuperado de <http://es.slideshare.net/clauidiatr1/diagnostico-por-imagen-en-adicciones>
73. Terry, P., & Katz, J. L. (1992). Differential antagonism of the effects of dopamine D1-receptor agonists on feeding behavior in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 109(4), 403-409.

74. Treit, D., & Berridge, K. (1990). A comparison of benzodiazepine, serotonin, and dopamine agents in the taste-reactivity paradigm. *Pharmacol. Biochem. Behav*, 37, 451–456.
75. Turró, R. (1912). *Orígenes del Conocimiento El Hambre*. Barcelona: Minerva.
76. Ulluque, A. R. (1999). Sistema cerebral del placer y la drogodependencia. *Revista Biomédica*, 19(4), 321-330.
77. Verty, A. N., McGregor, I. S., & Mallet, P. E. (2004b). The dopamine receptor antagonist SCH 23390 attenuates feeding induced by Delta9-tetrahydrocannabinol. *Brain Research*, 1020(1-2), 188-195.
78. Vizmanos, B., Hunot, C., & Capdevila, F. (2006). Alimentación y Obesidad. *Investigación y Salud*, 8(2) ,79-85.
79. Zarrindast, M. R., Owji, A. A., & Hosseini-Nia, T. (1991). Evaluation of dopamine receptor involvement in rat feeding behaviour. *General Pharmacology*, 22(6), 1011-1016.
80. Zetterstrom, T., Sharp, T., Collin, A., & Ungerstedt, U. (1988). In vivo measurement of extracellular dopamine and DOPAC in rat striatum after various dopaminereleasing drugs; implications for the origin of extracellular DOPAC. *Eur. J. Pharmacol*, 148, 327–334.
81. Zhang, M., Balmadrid, C., & Kelley, A. (2003). Nucleus Accumbens Opioid, GABAergic, and Dopaminergic Modulation of Palatable Food Motivation: Contrasting Effects Revealed by a Progressive Ratio Study in the Rat. *Behavioral Neuroscience*, 117(2), 202-211.