

69
2 es.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

ANALISIS MICROESTRUCTURAL DE LOS
EFECTOS DE LA ADMINISTRACION
INTRACEREBROVENTRICULAR DE MUSCIMOL Y
NALOXONA EN LA ALIMENTACION

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A:
ESCARTIN PEREZ, RODRIGO ERICK

ASESORES:

LIC. VERONICA ELSA LOPEZ ALONSO
M. EN C. JUAN MANUEL MANCILLA DIAZ
LIC. XOCHITL LOPEZ AGUILAR

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO CON FINANCIAMIENTO
DE DGAPA REG. No. IN207996

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO 1997

1998 258912



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron para la realización de este trabajo, principalmente las del Proyecto de Investigación en Nutrición.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A Verónica López A. y Juan Manuel Mancilla D. por su invaluable apoyo y confianza.

INDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 2 |
| INTRODUCCION..... | 3 |
| I.- ANTECEDENTES TEORICOS..... | 7 |
| a) <i>El Acido Gamma Aminobutírico (GABA) como uno de los principales neurotransmisores inhibidores.....</i> | 7 |
| b) <i>El papel funcional del GABA en la alimentación.....</i> | 12 |
| c) <i>Muscimol: Agonista de los receptores GABAérgicos.....</i> | 19 |
| d) <i>Naloxona: Antagonista de los receptores opiáceos.....</i> | 23 |
| e) <i>Hipotálamo: Aspectos funcionales y alimentación.....</i> | 26 |
| f) <i>Autoselección dietaria.....</i> | 32 |
| g) <i>El Análisis Microestructural como una alternativa metodológica en el estudio de la conducta alimentaria.....</i> | 36 |
| II.- METODO..... | 39 |
| a) <i>Procedimiento.....</i> | 40 |
| III.- RESULTADOS..... | 43 |
| IV.- ANALISIS DE RESULTADOS..... | 55 |
| V.- DISCUSION Y CONCLUSIONES..... | 60 |
| VI.- REFERENCIAS..... | 65 |
| VII.- ANEXOS..... | 72 |
| a) <i>Tablas.....</i> | 73 |
| b) <i>Instrumento.....</i> | 79 |
| c) <i>Canulación.....</i> | 80 |

FALTA PAGINA

No. **1**

RESUMEN

Diversos estudios han evidenciado la participación de algunos sistemas neuronales, tales como los GABAérgicos y los opiáceos endógenos, en la modulación de la conducta alimentaria. Al respecto se sugiere que la administración central de muscimol, agonista de los receptores GABA A, en el Núcleo Hipotalámico Ventromedial (HVM), produce un incremento de la ingesta en ratas debido al favorecimiento de las interacciones del neurotransmisor inhibitor GABA con sus receptores localizados en el HVM, atribuyéndoseles el control de la saciedad. Por otro lado, la administración intracerebroventricular de naloxona, antagonista opiáceo, dirigida a los receptores situados en el HVM, provoca un decremento en la alimentación como resultado del bloqueo de los opiorreceptores, los cuales son estrechamente vinculados a la modulación de la conducta alimentaria. En el presente trabajo se evaluaron los efectos de inyecciones en el HVM de Muscimol (25 ng) y Naloxona (30 µg) sobre la conducta alimentaria con el objetivo de establecer el papel funcional que tienen el GABA y los Opiáceos endógenos en la modulación central de la alimentación en los aspectos de ingesta, selección dietaria (Carbohidratos, Proteínas y Grasas) y sobre la microestructura alimentaria (Latencia, frecuencia y duración de episodios los alimentarios, además del tiempo entre los mismos, TEEPS). Los principales efectos encontrados por la aplicación de muscimol, se caracterizan por la disminución de la latencia e incremento de la ingesta, principalmente la de carbohidratos y grasas, alcanzando sus valores más elevados después de tres horas del tratamiento, además de incrementar la duración y frecuencia de los episodios alimentarios, disminuyendo los tiempos entre los mismos; la administración de naloxona provocó el incremento de la latencia, disminución de la ingesta, de la frecuencia y la duración de los episodios alimentarios, principalmente en las proteínas, carbohidratos y los totales en los primeros períodos de registro. En su totalidad, los resultados obtenidos sugieren que, por un lado, el tratamiento con muscimol afecta la microestructura alimentaria, debido a la inhibición de las neuronas GABAérgicas en el HVM responsables de la modulación de los procesos motivacionales que regulan a la ingesta de alimento (principalmente de carbohidratos y grasas); mientras que la administración de naloxona influye sobre la microestructura alimentaria en sentido opuesto como resultado del bloqueo de los opiorreceptores. Tales observaciones apuntan hacia el postulado de que los mecanismos neuronales tanto GABAérgicos como opiáceos juegan un rol importante en la regulación de la conducta alimentaria.

INTRODUCCION

La investigación de los procesos neuronales y su relación con aspectos conductuales, se ha convertido en una de las líneas con mayores posibilidades de mejorar significativamente los hasta ahora usados métodos de tratamiento en trastornos alimentarios como la anorexia y la bulimia, y, a pesar de que éstos son vinculados principalmente a factores socioculturales, es posible encontrar un correlato con la actividad a nivel central, en algunas áreas, con ciertos neurotransmisores y mecanismos de acción particulares. Mediante el esclarecimiento de dichos mecanismos de acción, es posible conceptualizar de manera más amplia y completa a los diferentes trastornos de la alimentación, para ampliar las posibilidades de intervención en conjunto con los tratamientos propiamente psicológicos.

Las manipulaciones farmacológicas realizadas desde hace algunos años en múltiples investigaciones, han apoyado el establecimiento de los roles específicos que tienen los diversos neurotransmisores en diferentes zonas con respecto a la alimentación, no únicamente en la ingestión de alimento (cantidad en gramos), sino en toda una serie de parámetros que definen más ampliamente a la alimentación. Ya que la conducta alimentaria en los humanos es compleja, la investigación con sujetos infrahumanos debe comprender diversos factores, tales como los de selección y consumo de diferentes nutrimentos y los meramente temporales, para poder así, analizar los efectos de diferentes fármacos antagonistas o precursores de la acción de neurotransmisores como la serotonina, las catecolaminas, las beta-endorfinas (opiáceos endógenos), y el GABA o ácido gamma

aminobutírico (principales responsables del control central de la conducta alimentaria), entre otros, sobre los procesos y estados motivacionales de la alimentación (hambre, apetito, satisfacción y saciedad).

Es así que Wurtman y Wurtman (1977, 1979) reportan que la administración de 5-HT o sus precursores, disminuyen selectivamente la ingesta de carbohidratos, lo que permite suponer que la serotonina forma parte fundamental del control neuroquímico para la autoselección de alimentos. De la misma forma, existen investigaciones que reportan el efecto supresivo de la naltrexona, antagonista opioide, sobre el consumo selectivo de alimentos preferidos por el sujeto (Cooper y Turkish 1989), tanto en ratas como en humanos.

Por otro lado, se ha reportado que la administración de fármacos como el muscimol, agonista de los receptores GABA, tiene efectos diferentes al ser aplicado en zonas específicas del hipotálamo, cuando se administra en el área media (HVM), la ingesta se incrementa, mientras que cuando es dirigido al área lateral (HL), ésta disminuye (Kelly, Rothstein y Grossman, 1979; Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile; 1980), por lo que tales investigaciones sugieren la existencia de distintos tipos de receptores GABA en el hipotálamo, es decir, los receptores localizados en el hipotálamo ventromedial son responsables del control de la saciedad y al ser inhibidos los sujetos comen más, y por el contrario, los receptores situados en el hipotálamo lateral al ser inhabilitados, los sujetos ingieren menos alimento por lo que se les atribuye la regulación del hambre.

Otra de las drogas investigadas que afectan la interacción de neurotransmisores con sus receptores y que se les atribuye la modulación de la ingesta de alimento, es la naloxona, antagonista de los receptores opiáceos endógenos (McCormack y Denbow, 1986; Levine, Grace y Billington, 1989; Kirkham, 1991), que al ser administrada en el área hipotalámica media (HVM), provoca un decremento de la alimentación, además de que se ha reportado que es capaz de bloquear los efectos hiperfágicos de algunos fármacos, lo que permite suponer una interacción con otros neurotransmisores (McCormack y Denbow, 1986; Naruse, Asami, y Koizumi, 1988).

Por lo regular, la investigación del control central de la alimentación, es evaluado únicamente con parámetros de ingesta en gramos, dejando de lado variables importantes que posibilitarían una conceptualización más compleja de lo que constituye la conducta de la alimentación, utilizando comúnmente técnicas que no evidencian cambios mínimos y/o específicos en ésta; en el caso del presente trabajo, al considerar a la alimentación como una secuencia compleja de eventos conductuales, fisiológicos y neuroquímicos en constante interacción, las técnicas y metodologías empleadas para la evaluación de los efectos de distintos fármacos sobre la alimentación, realizan medidas de distintos parámetros como la frecuencia, duración y tiempo entre los episodios alimentarios (Blundell, 1984; Mancilla, 1994), además de los cambios en la autoselección dietaria, y mediciones en distintos periodos posteriores a la administración del fármaco, permitiendo así apreciar los cambios mínimos en la compleja estructura de la alimentación.

Dado lo anterior, el objetivo del presente trabajo es el de establecer los efectos de la administración de Muscimol y Naloxona en el núcleo hipotalámico ventromedial sobre la microestructura alimentaria de ratas, y así mismo establecer el papel funcional que tiene el GABA y los Opiáceos endógenos en la modulación de la alimentación en los aspectos de ingesta, selección dietaria (Carbohidratos, Proteínas y Grasas) y sobre la microestructura alimentaria (Latencia, frecuencia y duración de episodios los alimentarios, además del tiempo entre los mismos, TEEPS). De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la hipótesis planteada en el presente trabajo es que si la activación de los receptores GABAérgicos y el bloqueo de los Opiáceos Endógenos en el sistema nervioso central, específicamente en el Núcleo Hipotalámico Ventromedial, forman parte fundamental en la modulación de la ingesta de alimentos, entonces mediante la manipulación farmacológica habrá cambios en la microestructura de la conducta alimentaria, los cuales podrán evidenciar las características del mecanismo neuronal involucrado.

I. ANTECEDENTES TEORICOS

El Acido Aminobutírico (GABA) como uno de los principales neurotransmisores inhibidores

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la glicina se encuentran entre las moléculas responsables de la inhibición postsináptica, como un mecanismo fundamental de la regulación de la actividad neuronal, esto, debido a la hiperpolarización resultante de la interacción de los neurotransmisores inhibidores con su receptor, dentro del sistema nervioso central de los mamíferos. Existe evidencia de que el GABA se concentra principalmente en el tejido nervioso, siendo responsable de su síntesis la enzima glutamato descarboxilasa (GAD); mediante la reacción catalizada producida por la GAD, descarboxilándose el carboxilo α del ácido glutámico, dando como resultado directo el GABA y CO_2 . La regulación de la actividad parece llevarse a cabo principalmente por su coenzima, el fosfato de piridoxal (PLP). La GAD no es únicamente activada por el PLP en el medio de incubación *in vitro*, sino que existen numerosas evidencias que indican con seguridad que la actividad de la GAD depende del fosfato de piridoxal también *in vivo* (Tapia, 1980). Se ha demostrado que la actividad de la GAD disminuye cuando se inyectan drogas que inhiben la actividad de la sinasa de piridoxal, o cuando se les alimenta con una dieta deficiente en piridoxina; dicha disminución de la actividad de la GAD se revierte tanto por la administración *in vivo* de piridoxina, como por la adición de fosfato de piridoxal a las mezclas de incubación. Lo anterior, permite suponer que la disponibilidad del PLP en el cerebro es, si no el único, si el más importante mecanismo regulador de la actividad de la

GAD (Tapia, 1980).

Específicamente con los eventos postsinápticos, en los trabajos iniciales de Kuffler y Edwards (sin año, citado en Tapia, 1980) se identificó electrofisiológicamente al GABA como el responsable del efecto inhibitor del factor I de Florey. En 1967 se estableció la identidad de la acción, incluyendo un efecto hiperpolarizante dependiente de la entrada de Cl^- , en la corteza cerebral y en el núcleo de Deiters, en el tallo cerebral; posteriormente, se describieron ciertas drogas que tienen un efecto antagónico relativamente específico sobre la acción hiperpolarizante postsináptica, tanto del transmisor natural, como del GABA en algunas áreas del sistema nervioso central. Las drogas más ampliamente estudiadas son la picotroxina y la bicuculina, compuestos que, tal como se esperaría, producen convulsiones cuando se inyectan sistemáticamente. De igual forma se ha encontrado que el GABA radioactivo y el muscimol, un agonista específico del receptor que mimetiza los efectos hiperpolarizantes del GABA, se unen a membranas aisladas del SNC con constantes cinéticas de muy alta afinidad, y que esta unión es impedida específicamente por antagonistas del receptor como la bicuculina.

Las evidencias de la función neurotransmisora del GABA (Tapia, 1980), en relación a los eventos presinápticos, pueden ser enumeradas de la siguiente forma:

a) La actividad de la GAD está concentrada en las terminales nerviosas, y en algunas regiones cerebrales también la concentración de GABA es mayor en las zonas donde

terminan las fibras aferentes inhibitoras.

b) En algunas regiones, si se lesionan las neuronas aferentes u otras en que terminan axones inhibidores GABAérgicos, es posible identificar una disminución no sólo en la actividad de la GAD, sino también en la concentración de GABA.

c) En diversas preparaciones experimentales del SNC, tanto *in vivo* como *in vitro*, se ha encontrado que el GABA se libera de las terminales sinápticas por estimulación a las fibras aferentes o por la despolarización producida por una alta concentración de K^+ en el medio, y que la liberación depende de la presencia de Ca^{2+} .

d) Mediante procedimientos inmunocitoquímicos, utilizando anticuerpos contra la GAD purificada, en muchas regiones del SNC se ha localizado GAD en las terminales axónicas que establecen sinapsis con varios tipos de neuronas que se conocen mediante técnicas electrofisiológicas y que son inhibidas por sistemas GABAérgicos.

e) Al impedir farmacológicamente *in vivo* la síntesis de GABA, su liberación de las terminales sinápticas, o su interacción con su receptor postsináptico, los animales tienen invariablemente convulsiones; dichas observaciones solo pueden explicarse si el GABA es un transmisor de cuya acción depende la inhibición o regulación de las descargas de las motoneuronas.

f) La existencia de un mecanismo de eliminación del neurotransmisor de las zonas

sinápticas es otro de los criterios aceptados para identificar una sustancia como tal. En el caso de ciertos transmisores como la acetilcolina, el mecanismo es postsináptico, ya que consiste en su hidrólisis por la acetilcolinesterasa localizada en la membrana postsináptica. Sin embargo, para el GABA y otros neurotransmisores, dicho mecanismo es considerado principalmente presináptico, ya que consiste en una recaptación del transmisor hacia la propia terminal sináptica. Esta captación es un proceso que requiere de Na^+ y Cl^- y que ha sido caracterizado como un doble sistema, de alta afinidad (para el GABA k_m es del orden de 10-40 μM) y de baja afinidad (k_m aproximadamente 300 μM).

El GABA es una de las sustancias neuroactivas más ampliamente distribuidas en el SNC, su concentración total en el cerebro (aproximadamente 2 μ moles/g de tejido) es por lo menos de dos órdenes de magnitud que la de otros neurotransmisores como la acetilcolina o las catecolaminas. La más alta concentración de GABA se encuentra en el *globus pallidus* y en la sustancia nigra. Sin embargo, es interesante que estas zonas tienen sólo 3.5 veces más GABA que aquellas de menor contenido, mientras que en el caso de otros transmisores la diferencia entre zonas llega a 30, 40 ó más veces. Estas diferencias de la concentración de GABA entre distintas zonas del cerebro existen también, de modo paralelo, en la actividad de la GAD, la cual se considera el mejor índice bioquímico de la existencia de sinápsis GABAérgicas. Ya que prácticamente no existe ninguna región del SNC que se haya estudiado en la que el GABA no inhiba la actividad eléctrica neuronal cuando se aplica iontoforéticamente, es posible concluir que de todos los transmisores conocidos es muy probable que el GABA sea el más abundante y profusamente distribuido en cuanto a su

función sináptica (Tapia, 1980). Cabe mencionar que no solamente se ha encontrado evidencia de la presencia de GABA en el sistema nervioso de mamíferos, sino que también en otros organismos, tales como el *hydra vulgaris*, *phyla*, *platyhelminths*, *nematodes*, *moluscos*, *anélidos* y *artrópodos* (tales como el *clione limacina*), cumpliendo con una función mediadora de la alimentación y a la respuesta de la estimulación química; por ejemplo, en el *hydra vulgaris* la administración de GABA incrementa la duración de la alimentación; en el molusco *clione limacina*, la administración directa de GABA en las neuronas motoras aisladas del cerebro excita los músculos de los tentáculos, activa el ritmo generador de la alimentación (localizado en el ganglio bucal), y suprime la reacción defensiva, la cual es una inhibición de la actividad locomotora y de las neuronas motoras de los tentáculos (Pierobon, Concas, Santoro, Marino, Minei, Pannaccione, Mostallino y Biggio, 1995; Arshavsky, Deliagina, Gamkrelidze, Orlovsky, Panchin, Popova y Shupliakov, 1993)

Dado lo anterior, la evidencia presentada apunta hacia el postulado de que el GABA es un importante transmisor inhibitor en el sistema nervioso central de los mamíferos, y de algunas especies distintas. De cualquier modo, dicha información es sólo el principio para poder definir específicamente el papel que desempeña el GABA con respecto a la conducta y la naturaleza específica de sus interacciones con otros sistemas neuronales.

El papel funcional del GABA en la alimentación

Diversas investigaciones sugieren que el GABA se encuentra extensamente distribuido en el cerebro de los mamíferos, y altamente concentrado en estructuras asociadas con la motivación de conductas elicítadas eléctricamente, en el hipotálamo lateral (LH) (Kinura y Kurayama, 1975; Wise, 1974; citados en Porrino y Coons, 1980) y en el área ventral tegmental (VTA) (Trojniar y Staszewska, 1994). Recientemente se han estudiado las relaciones anatómicas y funcionales entre el LH y el VTA respecto de la alimentación, provocando lesiones electrolíticas dentro del LH que posteriormente interrumpen las reacciones de la alimentación elicítada por la estimulación del VTA y viceversa, lo que indica que ambas estructuras forman parte del mismo circuito neuronal; de la misma forma, se encontró que las lesiones unilaterales en la VTA facilitan la alimentación inducida por la estimulación eléctrica del tejido homólogo VTA en el hemisferio contralateral. Dichas lesiones cambiaron la función relacionada con la latencia para iniciar la alimentación disminuyendo al igual que la frecuencia de estimulación eléctrica. Estos resultados pueden ser interpretados en términos de un incremento compensatorio en la transmisión dopaminérgica y/o decremento del tono inhibitorio GABAérgico en el hemisferio contralateral después de la lesión unilateral de los sistemas mesoencefálicos dopaminérgicos (Trojniar y Staszewska, 1994).

De esta manera, es pertinente mencionar que la actividad del GABA es compleja y no se reduce únicamente a mecanismos eléctricos, prueba de ello son algunos de los

experimentos anatómicos y farmacológicos, los cuales sugieren que la mediación bioquímica del GABA disminuye del caudado a la sustancia nigra, de tal forma que se puede pensar que esto proporciona la regulación de la retroalimentación de las células de la sustancia nigra por medio del control de la actividad de las neuronas dopaminérgicas en el sistema nigroestratal. Dicho sistema es considerado como un posible sustrato para la autoestimulación y la alimentación inducida por estimulación eléctrica y bioquímica, actuando sobre el cerebro, en la parte delantera-media, en el hipotálamo lateral (Porrino y Coons, 1980).

Con la finalidad de esclarecer el papel funcional del GABA central, en los sistemas de la ingesta de alimento, tanto en vías neuronales hipotalámicas como extrahipotalámicas, diversos autores han investigado los efectos de distintas drogas GABA administradas vía intracerebroventricular en ratas privadas y con acceso libre al alimento; tal es el caso de los experimentos realizados por Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile (1980); los cuales en su totalidad, proporcionan evidencias de la relación de los mecanismos GABAérgicos en el control central de la conducta alimentaria. Los datos de la ingesta de las ratas tratadas con el inhibidor transaminasa GABA, sulfato-o-etolamino (EOS) muestran que la elevación consecuente del contenido de GABA en el cerebro (Fowler, 1973) se caracteriza por un decremento considerable de la alimentación. Los experimentos realizados con animales privados de alimento demuestran que este efecto inhibitorio ocurre inmediatamente después de la inyección de la droga y es observable aún después de 24 hrs. Este efecto prolongado fue también observado en los experimentos con ratas en alimentación libre. Los dos tipos

de ensayo indican de igual forma que el efecto hipofáxico prolongado del EOS es dependiente de la dosis; y que muy probablemente reflejen, un incremento de las concentraciones de GABA en el cerebro después de inyecciones centrales de EOS (Fowler, 1973), fundamentándose tal afirmación en el hecho de que la administración intracerebroventricular de GABA induce un efecto inhibitorio, en función de la dosis, en la ingesta inicial de ratas en alimentación libre. Las dosis relativamente altas de GABA empleadas en este último experimento se justifican por la dificultad con la cual el transmisor penetra el espacio ventricular en el tejido cerebral (Iversen, 1975: citado en Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile, 1980). Contrario a los resultados obtenidos con EOS y GABA, el muscimol indujo una respuesta de alimentación dependiente a la dosis sobre las primeras cuatro horas posteriores al tratamiento en ratas con acceso libre al alimento. Resultados similares fueron encontrados con inyecciones dirigidas al hipotálamo ventromedial de ratas (Grandison y Guidotti, 1977), suponiendo que este potente efecto puede ser restringido a ciertos sitios dentro del hipotálamo ventromedial, los resultados de dicho estudio confirman lo encontrado en el anterior. Los efectos opuestos del tratamiento con EOS y el GABA vs al tratamiento con muscimol podría ser explicado mediante el postulado de la existencia de varias y distintas neuronas GABAérgicas. Por lo tanto, el muscimol se vincula fuerte y preferencialmente a algunos receptores GABA_A dentro de las estructuras neurales relacionadas con el control de la alimentación, particularmente dentro de aquellas áreas responsables del control de la saciedad, por medio de la inhibición de la función de la saciedad e induciendo la hiperfagia.

De esta manera, la idea de que las neuronas GABAérgicas responden diferencialmente al GABA y al muscimol se basa en los hallazgos del incremento que produce el muscimol en el sistema nigroestratal, el cual es, por el contrario, inhibido cuando los niveles de GABA en la sustancia Nigra es incrementada por el tratamiento con EOS (Racagni, 1977: citado en Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile, 1980).

En el mismo orden de ideas, los resultados obtenidos con las ratas tratadas con bicuculina, antagonista de los receptores GABA, demuestran que éste agente puede reducir la alimentación inducida por dosis bajas de muscimol o bloquear las dosis altas de la misma. El hecho de que la bicuculina tenga mayores efectos sobre las ratas que fueron tratadas con la dosis más alta de muscimol puede ser explicada asumiendo que la vida biológica de la cantidad más pequeña de muscimol es corta, además de que es seguida por una escasa acción estimuladora de la bicuculina, la cual es más evidente y significativamente diferente de los valores control en las ratas que no fueron previamente tratadas con muscimol. Estos resultados aparentemente son opuestos a los observados con ratas privadas, las cuales ingerían menos alimentos que los sujetos control, y no era posible contrarrestar los efectos del pretratamiento con EOS. De acuerdo con Kimura y Kuriyama (1975; citados en Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile, 1980), bajo condiciones fisiológicas específicas el área del hipotálamo lateral (considerado como el "centro de alimentación") muestra altas concentraciones de GABA, mientras que bajo condiciones hipoglucémicas las altas concentraciones de GABA se encuentran en el hipotálamo ventromedial. Es por esto que los datos obtenidos en este estudio son explicables suponiendo que la bicuculina

influye principalmente en neuronas postsinápticas en las que prevalecen las intervenciones GABAérgicas. En resumen, los presentes resultados proporcionan evidencia de la relación de neuronas GABAérgicas con la regulación de la alimentación. Aunque los efectos del GABA pueden variar considerablemente cuando el neurotransmisor es aplicado en las áreas reguladoras de la alimentación (Kelly, Alhed, Newberg y Grossman, 1977), el balance del control GABAérgico hipotalámico y extrahipotalámico parece ser naturalmente inhibitorio.

Al parecer, la manipulación a nivel central no es la única vía por la que se han encontrado mecanismos de acción de las drogas que afectan los receptores GABAérgicos. Naruse, Asami, y Koizumi (1988) reportan que el diazepam y el pentobarbital producen un incremento en la alimentación después de su administración intravenosa, y que tal efecto se ve inhibido por la administración intraperitoneal de picotroxina (antagonista de los receptores GABA_A), mientras que la administración, por la misma vía, de Naloxona (antagonista opiáceo) solamente bloquea los efectos del diazepam y no del pentobarbital, debido posiblemente a que la hiperfagia inducida por el diazepam puede estar relacionada primordialmente con la activación de las neuronas GABAérgicas, pues se sabe que éstas juegan un papel importante en la alimentación, interactuando a su vez con opiáceos endógenos, mientras que la hiperfagia provocada por el pentobarbital, aunque también se relaciona preferencialmente a las neuronas GABA e interactúa además con barbitúricos, obedece a un mecanismo de acción bioquímico diferente.

Con base a lo mencionado anteriormente, es posible sugerir que la regulación de la conducta alimentaria no puede ser atribuida a procesos neuronales aislados, sino a la interacción de los mismos, por ejemplo, las relaciones entre los mecanismos GABAérgicos y los opiáceos endógenos, los cuales a su vez interactúan con los sistemas serotoninérgicos.

En relación a los opiáceos endógenos y la serotonina (5-HT), al parecer tienen funciones opuestas en relación a la modulación de la ingesta de alimentos, ya que los agonistas de los receptores opiáceos comúnmente estimulan la ingesta, mientras que los antagonistas la inhiben bajo una gran variedad de condiciones; por el contrario, mientras que la serotonina o sus inhibidores de recaptación decrementan la ingesta, los antagonistas y los depletores de la serotonina la estimulan (Beczowska y Bodnar, 1991)

La serotonina, al igual que el GABA, es considerada como uno de los sustratos neuronales más importantes en la regulación de la alimentación, además de que ha sido considerado como uno de los neurotransmisores responsables del consumo de alimentos específicos. Leibowitz, Alexander, Cheung y Weiss (1993) encontraron que al administrar 5-HT, en una dosis de 1.3-2.0 nmol, en el núcleo paraventricular (PVN) de ratas, la ingesta se vio suprimida, decrementando a su vez la ingesta selectiva de carbohidratos, en los primeros períodos de alimentación natural (obscuridad); paralelamente, la administración periférica del antagonista serotoninérgico, metergoline en una dosis de 0.03- 1.0 mg/kg, estimula la alimentación por medio de un incremento selectivo en el consumo de carbohidratos, tanto en cantidad como en el tiempo de alimentación para dicho nutrimento.

Lo anterior implica que el sistema serotoninérgico determina la ingesta de carbohidratos, siendo prevalente en las primeras cuatro horas del ciclo natural de la alimentación. De esta forma el efecto supresivo del 5-HT sobre la ingesta de alimento se presenta inmediatamente por medio de la activación de los receptores 5-HT₁ en el hipotálamo medio. Los resultados obtenidos con la administración del antagonista serotoninérgico, metergoline, el cual bloquea los receptores 5-HT₁ fundamentan dicha propuesta.

Algunos estudios han demostrado las interacciones entre la serotonina y otros sustratos, por ejemplo el devazépido colecistokinina (CCK-8) (Grisnaschi, Mantelli, Fracasso, Anelli, Caccia y Samanin, 1993), el cual se caracteriza por su capacidad de reducir la alimentación en ratas. Los resultados obtenidos sugieren que al bloquear los receptores CCK_A, con la administración del antagonista devazépido sulfato CCK-8 intraperitonealmente en una dosis de 100 µg/kg⁻¹, se incrementa la ingesta de alimentos en ratas privadas durante 4 horas, y al administrar posteriormente (30 minutos) metergoline, el efecto de incremento de la alimentación producido por el bloqueo de los receptores CCK_A quedó antagonizado; a pesar de que esto solamente ocurrió con ratas privadas, constituye suficiente evidencia para suponer la interacción antes mencionada, ya que el CCK-8 excita algunos contenedores de células 5-HT en la región del Rafé dorsal; por lo que el efecto del CCK-8 se debe a su capacidad de activar neuronas serotoninérgicas en el núcleo del Rafé.

De tal forma, es posible que las interacciones entre los mecanismos neurales GABAérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos y opiáceos, en correspondencia a la

alimentación no están claramente establecidos y determinados en la literatura, ya que en algunas zonas se han encontrado resultados que podrían sugerir algún tipo de interacción, mientras que en otras se encuentra evidencia que confirma lo contrario, por lo que dichas interacciones posiblemente estén supeditadas a solamente algunas áreas y receptores específicos.

Muscimol: Agonista de los receptores GABAérgicos

Existen estudios que evidencian la influencia de los sistemas GABAérgicos, específicamente en zonas hipotalámicas, en la conducta alimentaria. Muestra de ello son los realizados por Kelly, Rothstein y Grossman (1979), que sugieren un incremento de la ingesta cuando se administra Muscimol, agonista GABAérgico, en el área hipotalámica media, próxima al núcleo paraventricular y al ventromedial; por el contrario, cuando se administra el mismo fármaco en iguales dosis, pero en la zona hipotalámica lateral, próxima al fórnix, se observa un decremento de la ingesta. La explicación de lo anterior puede situarse en que las inyecciones de Muscimol en el hipotálamo paraventricular (HPV) o en el hipotálamo ventromedial (HVM) son capaces de inhibir las neuronas relacionadas con la saciedad mediante la activación de los receptores GABA, mientras que las inyecciones de Muscimol en el hipotálamo lateral (HL) inhiben el sistema neuronal encargado del inicio de la alimentación. Los resultados anteriores son apoyados por la conceptualización proporcionada por Olgiati, Netti, Guidobono y Pecile (1980) que consiste en considerar al hipotálamo medio como el *centro de saciedad* y al hipotálamo lateral como *centro de*

alimentación.

Morley, Levine y Kneip (1981) reportan evidencias que confirman lo anterior, al respecto de la administración de Muscimol en el HVM, en dicho estudio encontraron que las inyecciones de Muscimol provocan que la ingesta se incremente, y de los 30 a los 60 min. alcance su valor más alto, para posteriormente disminuir rápida y drásticamente; de la misma forma, dicho incremento de la ingesta se atribuye al bloqueo del sistema saciatorio localizado en el HVM. La alimentación inducida por inyecciones de Muscimol en el hipotálamo medio apoyan la hipótesis de que los mecanismos GABAérgicos juegan un importante papel en la alimentación (Cattabeni, Maggi, Modozzi, De Angelis y Racagni; 1978), específicamente en el control de los sistemas saciatorios en el hipotálamo medio, puesto que dicha área funge como parte del neurocircuito encargado de la mediación de las propiedades anoréxicas de las benzodiazepinas, las cuales a su vez, activan indirectamente los receptores GABA (Kelly y Grossman, 1979). Adicionalmente, existe evidencia de que lesiones (provocadas eléctricamente) en el hipotálamo ventromedial ocasionan hiperfagia en ratas, lo cual apoya los resultados obtenidos por las inyecciones de muscimol (Balkan, Steffens, Bruggink y Strubbe, 1991).

Al igual que en el área hipotalámica, existen otras regiones del cerebro que se vinculan a la acción de mecanismos neurales responsables de conductas específicas como la alimentación, por ejemplo el núcleo del Rafé. Manipulaciones farmacológicas, concretamente con el agonista GABA, Muscimol, en el Rafé reafirman lo anterior.

Bendotti, Berettera, Invernizzi y Samanin (1986) reportan evidencias de que inyecciones de Muscimol en una dosis de 100 ng en el núcleo dorsal del Rafé (DR) provoca una intensa alimentación en ratas no privadas, efecto que a su vez fue bloqueado por la administración de flufenazina (antagonista de los receptores dopaminérgicos) en el núcleo accumbens, asumiendo que tales resultados posiblemente se deban a que los cambios en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos, así como los cambios en las funciones serotoninérgicas se encuentran fuertemente vinculados al efecto de alimentación causado por la inyección del agonista de los receptores GABA, Muscimol. Investigaciones que evidencian que inyecciones de Muscimol, dentro del Rafé, producen, de manera dependiente de la dosis, incrementos en la ingesta de alimento y agua en ratas, ha sido reportada en numerosos experimentos (Klitenick y Wirtshafter, 1987; Klitenick y Wirtshafter, 1989; citados en Paris, Mitsushio y Lorens, 1991) (Klitenick y Wirtshafter, 1988) con el efecto simultáneo de un incremento en la actividad locomotora. Paralelamente, Paris, Mitsushio y Lorens (1991) reportan incrementos significativos en la ingesta de alimento producidos por la administración de 25ng de Muscimol en el Rafé medio y en el Rafé dorsal, y en relación a la ingesta de agua, el incremento solamente fue significativo con la inyección de dicho fármaco en el Rafé medio, por lo que la evaluación de sus efectos indica que el Muscimol es más potente en el Rafé medio que en el dorsal.

En los estudios realizados por Klitenick y Wirtshafter (1988) se encontró que inyecciones de Muscimol, un agonista de los receptores GABA A, dentro del Rafé medio (MR), en el Rafé dorsal (DR) y en el área ventral tegmental (VTA) inducen una

pronunciada alimentación y consumo de agua en dependencia de la dosis (100 ng principalmente) y del sitio específico en que se administra, en ratas no privadas. Se observó que el Rafé medio se caracteriza por ser el área más sensitiva en relación a la elicitación de la conducta alimentaria comparativamente a las dos áreas restantes (DR y VTA), además de que el consumo de agua y el derrame de alimento fue mayor con la inyección de muscimol en el área del núcleo medio del Rafé; adicionalmente, existe evidencia que permite suponer que el mecanismo en el que está involucrada la acción del Muscimol no se encuentra relacionado con receptores 5-HT, puesto que inyecciones de 8-OHDPAT, un agonista serotoninérgico, en el Rafé medio provocan un efecto similar al del Muscimol, y el efecto de éste último es claramente más amplio que el del 8-OHDPAT, por lo que se puede sugerir que ambos efectos no dependen de los mismos mecanismos neurales, como lo habían planteado anteriormente Bendotti, Berettera, Invernizzi y Samanin en 1986. La aparente interacción entre los efectos del Muscimol y los mecanismos serotoninérgicos en el Rafé medio, queda descartada con los resultados obtenidos por Wirtshafter, Klitenick y Asin (1987) ya que éstos no apoyan la noción de que la inhibición de los mecanismos serotoninérgicos es responsable de la hiperactividad y la alimentación producida por la inyección de Muscimol dentro del Rafé medio, puesto que la manipulación de las células serotoninérgicas (bioquímica, eléctrica y anatómicamente) no interfiere en la acción del agonista GABAérgico.

Naloxona: Antagonista de los receptores opiáceos

A partir del descubrimiento de los receptores opiáceos en 1973 y el aislamiento de sus ligandos endógenos, se han realizado investigaciones considerables sobre el rol de dichos compuestos en los procesos psicológicos y conductuales (Akil, Watson, Young, Lewis, Khachaturian y Walker; 1984), encontrándose que los opiáceos péptidos endógenos están implicados en la modulación de diversos procesos, tales como la termorregulación, la función cardiovascular y pulmonar, aprendizaje, y en las conductas social, sexual y de alimentación. Generalmente se considera que los antagonistas opiáceos actúan fisiológicamente, alterando la conducta de la alimentación mediante el bloqueo de los opiorreceptores, resultando en una atenuación de la acción de los opiáceos péptidos endógenos; drogas como la naloxona y la naltrexona han mostrado alta afinidad a dichos receptores, decrementando la alimentación inducida por la administración central de dinorfina y β -endorfinas en ratas y pichones (McCormack y Denbow, 1986).

Los resultados de algunas investigaciones (Cooper, 1983) sugieren que el control de la alimentación se encuentra vinculado a los mecanismos de los opiáceos endógenos, ya que las dosis más altas de naloxona (0.2 y 0.4 mg/kg) son capaces de suprimir el incremento en la alimentación inducido por las dosis de 0.2 y 0.4 mg/kg de diazepam (ambas drogas administradas vía intravenosa a ratas), por lo que dicho efecto hiperfágico se ha vinculado a los mecanismos de opiáceos endógenos (Naruse, Asami, y Koizumi; 1988)

Existen estudios que sugieren que el antagonista opióide Naloxona, es capaz de decrementar la ingesta de alimento inducida por una gran variedad de estímulos, ya sean farmacológicos, eléctricos, etc. bajo diferentes condiciones. Investigaciones realizadas por Kirkham (1991) demostraron que los efectos de la administración central de Naloxona no decremента espontáneamente la ingesta, sin embargo, si produce un decremento en el consumo de alimentos, además de que tiene la capacidad de bloquear los efectos elicítadores de la alimentación provocados por otros fármacos.

Así mismo, existe evidencia de que el antagonista opióide Naloxona reduce el consumo y la duración de la ingesta del alimento inicial en ratas, decrementando a su vez, la actividad motora. De la misma forma, se ha demostrado que la Naloxona atenúa la alimentación inducida artificialmente, lo cual sugiere que los opióides están involucrados con recambios orosensoriales. Dicha observación puede sustentarse ya que la Naloxona es capaz de decrementar el efecto de una gran variedad de drogas o manipulaciones dirigidas a incrementar la ingesta, suprimiendo la alimentación en ratas privadas ya sea tratadas periférica o centralmente (Levine, Grace y Billington 1989; Fernández-Tome, González y del Río, 1987).

En 1981, Jones y Richter encontraron un decremento en la ingesta de alimentos posterior a la administración central de Naloxona en ratas, mientras que la administración periférica en la misma dosis no mostró el mismo efecto, lo cual sugiere que la acción de la Naloxona sobre la ingesta es esencialmente central, vinculándose a su vez con la

modificación de los niveles de endorfinas, sistemas péptidos y receptores opiáceos. Por el contrario, en 1984 Deviche y Schepers encontraron que la administración periférica de Naloxona en pichones tanto privados como en no privados provoca un decremento de la ingesta, debido posiblemente a que la acción del antagonista opiáceo influye en algunos mecanismos endógenos, y que a su vez interactúan con el recambio de sustratos neuronales hipotéticos, por lo que la explicación de la discrepancia de los resultados obtenidos con pichones y ratas se caracteriza por una reacción distinta al tratamiento con Naloxona, ya que no es posible considerar un sólo mecanismo de recambio, pero sí distintos sistemas paralelos, los cuales median acciones de recambio específicos.

Como se mencionó anteriormente, los efectos de la administración de Naloxona son principalmente inhibidores y de acción central, a pesar de ello, Beczkowska y Bodnar (1991) reportan datos de los efectos de inyecciones periféricas del antagonista opiáceo y su interacción con sistemas serotoninérgicos, ya que el pretratamiento con algunos antagonistas 5-HT (principalmente la Ketanserina y el ICS 205930) favorecen los efectos de la Naloxona, es decir, la disminución de la ingesta en ratas privadas, lo cual se puede atribuir a las interacciones de los opiáceos endógenos con los receptores adrenérgicos alfa, ya que la ketanserina mostró gran afinidad a estos últimos receptores.

Los efectos de la administración de naloxona son farmacológicamente específicos en relación a la dosis, por lo que pueden ser ligados a efectos neurológicos centrales, específicamente a la afectación de los receptores opiáceos, aunque a nivel conductual

también son específicos, ya que reducen la duración del tiempo de ingesta de líquidos como característica inicial, y si es administrada diariamente, produce cambios a nivel molecular que pueden ser caracterizados como tolerancia y se manifiestan al beber. (Jalowiec, Panksepp, Zolovick, Najam, Herman; 1980; Manha, Czirr y Reid; 1986).

Por otro lado, Kirkham y Blundell (1985), informan que la administración intraperitoneal de naloxona (5.0 mg/kg^{-1}) provoca la temprana terminación de la alimentación mediante la reducción de la duración de los episodios (satisfacción), actuando supresivamente sobre la ingesta mediante la intensificación de la retroalimentación producida por el consumo de alimento, lo que permite suponer la existencia de interacciones entre procesos centrales y periféricos, neuroquímicos y conductuales.

Hipotálamo: Aspectos funcionales y alimentación

El hipotálamo es la región cerebral de mayor importancia en la regulación de las funciones homeostáticas (medio interno, margen dentro del cual las variables fisiológicas oscilan normalmente), siendo una de las partes filogenéticamente más antiguas del SNC, y a pesar de ello su estructura se mantiene relativamente constante en los vertebrados terrestres con la evolución de los mismos; a diferencia con lo ocurrido en otras regiones como el neocortex o el sistema límbico; lesiones en el hipotálamo ocasionan la supresión de las funciones homeostáticas, es decir, las funciones autonómicas, endocrinas y somáticas. Se le considera como parte de un componente neuronal continuo que se extiende desde el

mesencéfalo hasta las regiones basales del telencéfalo (corteza límbica); como parte ventral del diencefalo, el hipotálamo limita con la mitad ventral del III ventrículo, por debajo del tálamo; caudalmente, limita con el mesencéfalo y rostralmente, con la lámina terminalis, comisura anterior y quiasma óptico; lateralmente al hipotálamo se encuentran el tracto óptico, la cápsula interna y estructuras subtalámicas (Cardinali, 1992; Ninomiya, 1991).

Anatómicamente, el hipotálamo está dividido en tres zonas: la *paraventricular*, la *medial* y la *lateral*. La primera se localiza adyacente al tercer ventrículo (3V) y es central al hipotálamo. Las células limitantes del ventrículo transmiten información a las células hipotalámicas periventriculares, acerca de las propiedades internas que pueden requerir regulación, por ejemplo la temperatura. Dicha zona periventricular está constituida por los núcleos preóptico (PO), el núcleo supraóptico (SO), el núcleo paraventricular (PV), que se localiza a ambos lados del 3V, el núcleo supraquiasmático (SQ), que se relaciona a las funciones autónomas sujetas a cambios cíclicos, como las conductas de vigilia-sueño y los ritmos circadianos. La porción medial o tuberal está compuesta por los núcleos ventromedial (VM), dorsomedial (DM), paraventricular (PV), y el arqueado (AR). La región hipotalámica posterior (lateral) se compone de los núcleos posterior (NP), hipotalámico lateral (HL), el premamilar (PM), que es la continuación del VM, y el mamilar (NM) (Ninomiya, 1991) (figura 1).

del hipotálamo se caracteriza por la variedad de conductas desencadenadas mediante la estimulación eléctrica de zonas hipotalámicas, las principales son:

a) Conducta defensiva: se ha encontrado que la estimulación eléctrica dirigida al hipotálamo medio produce comportamiento defensivo en el gato, caracterizado por la típica reacción somatomotora de lomo arqueado, extensión de las patas, y despliegue de las garras, así como las reacciones autonómicas de taquipnea, midriasis, y piloerección en lomo y cola, la presión sanguínea y la perfusión muscular aumentan, mientras que la motilidad y flujo sanguíneo intestinal se reducen.

b) Conducta nutritiva o apetitiva: la regulación de la alimentación a través del hipotálamo comprende la ingesta de alimentos, de agua y de electrolitos, el control alimentario es preferentemente parasimpático (anabólico), sujetos en experimentación, ante la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral presenta la conducta de búsqueda de alimentos, dicha reacción incluye, además de la actividad motora somática, salivación, aumento de la motilidad, aumento en el flujo sanguíneo intestinal, y disminución del mismo a nivel muscular, por el contrario, al estimular el hipotálamo medio, produce saciedad y conducta de tipo catabólico, al igual que en otras conductas, las conexiones límbicas le otorgan a la conducta apetitiva, propósito y significado. Desde la perspectiva de la teoría del control, la estimulación del área hipotalámica lateral produce apetito, aumento de la actividad parasimpática y, desde el punto de vista metabólico, síntesis de glucógeno, inhibición de la glucogénesis, hipoglucemia, liberación de insulina y lipogénesis. La

estimulación del área hipotalámica media produce saciedad, aumento de la actividad simpática y, desde el punto de vista metabólico, glucogenolisis, gluconeogénesis, hiperglucemia, secreción de glucagon y lipolisis. Las lesiones de cada una de estas áreas tienen efectos inversos a lo citado anteriormente, es decir, la lesión de la zona lateral hipotalámica produce anorexia y la lesión del área hipotalámica media produce hiperfagia, lo que ha conducido a la conceptualización de que los centros de apetito y saciedad se sitúan en las zonas hipotalámicas lateral y media respectivamente, considerándoseles "centros" en el sentido de que carecen de la individualidad anatómica y funcional como para ser considerados como regiones aisladas del SNC, dado que la participación mesencefálica (núcleos del tracto solitario y parabronquial) es tan importante como la hipotalámica. (Cardinali, 1992; Olgiati y cols, 1980; Ninomiya, 1991). La glucemia es una de las señales estimuladoras más importantes en la regulación de la conducta alimentaria, en el SNC se encuentran dos tipos de receptores de la concentración de glucosa, periféricos y centrales. Los glucorreceptores periféricos se ubican en la lengua, vena porta, duodeno, intestino y páncreas, influyendo en la actividad de los aferentes viscerales respectivos, la información de estos receptores es enviada caudalmente a través de un reflejo que incluye las neuronas del núcleo motor dorsal del vago y que afecta la viscera apropiada, en dirección rostral, y a través del núcleo parabronquial, la información llega al hipotálamo, donde experimenta un segundo proceso de integración, sumándose a la información provista por los glucorreceptores centrales sensibles a la concentración de glucosa circulante. La corteza límbica participa en la regulación de la conducta alimentaria, de manera que, diversas áreas de asociación límbica descargan sincrónicamente con las áreas hipotalámicas lateral y

media durante la alimentación. Lesiones específicas de áreas límbicas indican que esta zona cerebral proporciona contenido y propósito a la conducta regulada por el hipotálamo.

c) La conducta termorregulatoria, funciona de manera análoga a la de la alimentación, y desde la perspectiva de la teoría del control, la producción de calor (termogénesis) se encuentra bajo control neural, cuando es asociada a escalofríos, es inducida por el hipotálamo a través del sistema motor somático, sobre cuyos núcleos en el tallo encefálico proyecta el hipotálamo caudal; cuando no es asociada a escalofrío se controla por el sistema simpático mediante receptores adrenérgicos de tipo β_1 e implica la producción de calor por una forma particular de tejido adiposo pardo.

d) Conducta sexual, al igual que la conducta de defensa, el grupo de neuronas que regula la descarga hipofisiaria de gonadotrofinas, y así los eventos neuroendocrinos centrales del ciclo sexual, tiene también componentes de proyección hacia la corteza límbica, es decir, el mismo grupo de neuronas "comando" está regulando los diversos componentes endocrinos (descarga hormonal hipofisiaria y gonadal), autonómicos (erección, orgasmo) y motivacionales de la conducta sexual (Cardinali, 1992; Ninomiya, 1991).

Otra de las funciones del hipotálamo es la del control de diversos ritmos biológicos, actualmente se definen dos grupos de homeostasis, la reactiva y la predictiva. La primera estudia el conjunto de reacciones que se activan ante las modificaciones de variables

fisiológicas indispensables para la supervivencia; la homeostasis predictiva incluye los mecanismos anticipatorios que preceden a un fenómeno ambiental predecible temporalmente y que posibilitan una adaptación fisiológica ante él. La base de la homeostasis predictiva es la naturaleza oscilatoria periódica de las funciones fisiológicas, tal es el caso de los ritmos circadiano y circanual, el primero consiste en un ritmo de 24 horas en una función orgánica que persiste en oscuridad o luz (Cardinali, 1992).

De acuerdo con Ninomiya (1991) el estudio de los mecanismos de hambre y saciedad se ha transformado en función de los adelantos contemporáneos; desde una perspectiva periférica, las contracciones del estómago o la activación de los glucorreceptores en el hígado serían las responsables de la sensación de hambre, en cambio desde el punto de vista central, se atribuye al hipotálamo la capacidad de regular las sensaciones tanto de hambre como de saciedad. Los anteriores puntos de vista no son funcionalmente incompatibles sino concordantes y constitutivos de la complejidad del fenómeno en su totalidad, por lo que es pertinente delimitar específicamente la dirección que tomará la investigación, es decir, cuáles son y cómo funcionan los mecanismos centrales responsables de la modulación de la alimentación.

Autoselección dietaria

La conducta de la alimentación en mamíferos puede ser descrita como una respuesta representativa y adaptativa de acuerdo a los requerimientos en el contexto interno y las

limitaciones impuestas por el contexto ambiental. Dicha noción contempla dos aspectos importantes en el estudio experimental de la alimentación, el primero, la importancia de distinguir la diferencia entre la conducta de alimentación y la ingesta de alimento, y la segunda, que la conducta alimenticia puede ser definida de acuerdo a dimensiones contextuales y temporales. En diversos estudios donde se investigan los efectos de manipulaciones farmacológicas o fisiológicas sobre la alimentación, la variable dependiente se deriva únicamente de la medición del alimento consumido en cierto período de tiempo. Sin embargo, es definitivo que la ingesta de alimentos en mamíferos contempla secuencias complejas de conducta y constituye un proceso discontinuo en el cual los períodos de alimentación alternan con períodos de no alimentación. Estas características cualitativas proporcionan un determinado carácter a la conducta ingestiva y resalta la importancia de la distinción entre ingesta de alimento (la cual era comúnmente evaluada por la medición del peso consumido) y la conducta alimentaria que sólo puede ser contemplada mediante un análisis riguroso de la actividad alimentaria (Blundell, 1986).

Una de las metodologías empleadas para el estudio de la alimentación es la de alterar la estructura de dicha conducta mediante un ajuste de elección de dietas ofreciendo más de un tipo de alimento. Dicho modelo experimental, denominado "dieta de cafetería", fue implementado originalmente por Richter en 1943 (citado en Blundell, 1986) con la finalidad de cubrir los intereses de la investigación de los aspectos farmacológicos de la autoselección voluntaria, y fue fomentado mediante los desarrollos teóricos concernientes a los roles de los sistemas neurotransmisores en la regulación de la ingesta de proteínas y

carbohidratos (Anderson, 1979; Wurtman, Hefl y Melamed, 1981; Ashley, 1985; Blundell, 1983; citados en Blundell, 1986).

Wurtman y Wurtman (1977, 1979) sugieren que las neuronas serotoninérgicas son capaces de discriminar diferentes efectos metabólicos en la dieta; de tal manera, los niveles de triptófano, y del neurotransmisor 5-HT se incrementan cuando un animal ingiere una dieta rica en carbohidratos (Fernstrom y Wurtman, 1973), y como consecuencia de estos aumentos, el sujeto deja de consumir el nutrimento mencionado. Lo anterior sugiere que un mecanismo serotoninérgico regula la ingesta voluntaria de carbohidratos.

Estudios realizados con la finalidad de esclarecer los mecanismos responsables de la ingesta selectiva de nutrimentos, han demostrado que los sistemas serotoninérgicos no son los únicos involucrados. Cooper y Turkish (1989) proponen que la administración subcutánea del antagonista opióide naltrexona (0.05-5.0 mg/kg) además de reducir la duración de la alimentación (seg.) y la ingestión total de alimentos (gr.), reduce el consumo del alimento inicialmente preferido (galletas de chocolate) e incrementa significativamente la ingestión del alimento estándar de laboratorio no preferido (pellets), ya que el efecto de dicho tratamiento no puede ser explicado por las propiedades anoréxicas generales de la naltrexona, se deriva una interpretación alternativa, que consiste en vincular a los antagonistas opióides, en este caso la naltrexona, como supresores selectivos de la hiperfagia relacionada a alimentos con sabor altamente agradable, por lo que la acción de los opióides péptidos endógenos está relacionada con la modulación de la preferencia

alimentaria, la cual a su vez es influida por factores vinculados con el sabor del alimento. Investigaciones realizadas por Marks-Kaufman y Kanarek (1981, 1990), proporcionan evidencias de la participación de los opioides péptidos endógenos en la autoselección dietaria, sus resultados muestran que la administración sistemática (inyecciones diarias durante 5 días) de naloxona (1.0 y 10.0 mg/kg, intraperitonealmente) en ratas mantenidas en un programa de alimentación de 6 horas reduce el consumo de carbohidratos y grasas en las primeras horas posteriores al tratamiento, mientras que el consumo de proteínas no fue afectado significativamente.

Al parecer, los mecanismos opioides actúan de manera diferencial a nivel central y periférico sobre la autoselección dietaria, ya que la administración intraperitoneal de naloxona cuaternaria, antagonista opiáceo que no entra al SNC, en dosis de 0.1, 1.0 y 5.0 mg/kg, incrementa la ingesta de grasas, decrementa la de carbohidratos, y reduce ligeramente la de proteínas, en ratas mantenidas en un programa de alimentación de 8 horas (Marks-Kaufman, Plager y Kanarek, 1985). Al respecto de la acción central de los opioides, Koch y Bodnar (1994), reportan que la administración de naltrexona (5-50µg), antagonista opiáceo, en el ventrículo izquierdo, reduce significativamente la ingesta de grasas y la total en ratas privadas. Las discrepancias encontradas en las diferentes vías de administración evidencian aspectos importantes en relación al correcto establecimiento del papel funcional que tiene dicho sustrato, es decir, tales diferencias obedecen posiblemente a que los efectos de la administración periférica del fármaco interactúan con mecanismos de síntesis y control diferentes a los involucrados propiamente con los efectos a nivel central.

El Análisis Microestructural como una alternativa metodológica en el estudio de la conducta alimentaria

Resulta de gran importancia caracterizar y definir de manera específica los conceptos que son empleados para la investigación de los mecanismos centrales responsables del control de la alimentación, es decir, la relación entre un neurotransmisor y su correlato conductual, para lo cual, en el caso de la alimentación, el término "hambre" será definido como aquel proceso responsable del inicio de la alimentación, "apetito" como el proceso que dirige y guía la conducta alimentaria una vez que inicio el episodio alimentario; el término "satisfacción" refiere al proceso mediante el cual la alimentación se detiene, y el estado de inhibición de la ingesta en un próximo episodio se denomina "saciedad" (Blundell, 1984; Mancilla, 1994).

Adicionalmente, es necesario considerar a la alimentación como una secuencia compleja de eventos conductuales, fisiológicos y neuroquímicos en continua interacción, los cuales a su vez componen intervalos o episodios alimentarios. De tal forma, resulta fundamental distinguir entre los diferentes términos para aislar los procesos que controlan la alimentación, contemplando los diferentes elementos constitutivos del contexto propiamente cerebral (flujo neuroquímico) y del comportamiento (flujo conductual), es decir, la red de procesos que posibilita la actividad e interacción del individuo en su ambiente. De tal forma, la manipulación farmacológica que afecta el flujo neuroquímico influirá sobre algunos elementos del flujo conductual, es decir, la conducta es afectada por eventos de carácter psicológico y neuroquímico (Mancilla, 1994).

Por otro lado, Dentro de los procedimientos para estudiar la conducta alimentaria, es posible encontrar que se retoman, por lo regular, únicamente parámetros de ingesta en gramos y en su mayoría emplean un solo tipo de nutrimento, descartando elementos importantes que podrían fundamentar un análisis más completo y riguroso. De tal forma, la técnica que se empleo en el presente trabajo para el estudio de la conducta alimentaria es la denominada *Análisis Microestructural*, la cual consiste en:

“Realizar medidas de diferentes parámetros, tales como, número de comidas hechas en un periodo determinado, la proporción de tales comidas, la duración de éstas y el intervalo entre comidas, así como la interacción de algunas de estas variables, como la magnitud de una comida con respecto al intervalo que le seguirá antes de que se efectúe el siguiente. Esta técnica permite caracterizar de manera precisa lo que constituye un periodo de alimentación” (Pág. 5-6; Mancilla, Cisneros, López, Ocampo, Alvarez, Arevalo, Osornio, Rosales, 1993),

De esta forma los parámetros involucrados son los siguientes: a) total de alimento ingerido (g), es decir, la cantidad de alimento consumido durante una sesión completa; b) latencia para iniciar el primer episodio de alimentación (seg); c) frecuencia de los episodios; d) duración de los episodios (seg); y e) tiempo que transcurre entre los episodios alimentarios (seg), es decir, los periodos de actividad que dividen o interrumpen la alimentación. Aunado a lo anterior, la implementación de una dieta que contempla no solamente un tipo específico de alimento, sino tres diferentes (carbohidratos, proteínas y

grasas), permite la identificación de cambios moderados en la autoselección dietaria como efecto de la acción de las diferentes drogas.

La implementación de la técnica análisis microestructural y la metodología dieta de cafetería subsanan en gran medida limitaciones importantes presentadas en investigaciones anteriores, ya que al extender las posibilidades de medición de nuevas variables, es factible proporcionar una explicación más íntegra de los procesos y sistemas que interactúan en la regulación de la conducta alimentaria y su correlato con el flujo neuroquímico, dependiendo a su vez, de la sensibilidad de dichos parámetros con relación a la influencia de la administración de diversos agentes farmacológicos sobre la conducta alimentaria, y finalmente concebir a esta última de manera más completa y precisa.

II. METODO

Sujetos.- Se utilizaron 20 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso de 240 a 280g.

Situación Experimental.- Los sujetos permanecieron en cajas individuales, en las cuales estuvieron disponibles *ad libitum* cada uno de los tres nutrientes (Carbohidratos, Proteínas y Grasas) en comederos individuales y agua. El ciclo de luz/obscuridad de 12 horas fue invertido y controlado por un dispositivo de encendido y apagado automático, las observaciones se realizaron al inicio del período de obscuridad (Laboratorios del Proyecto de Investigación en Nutrición, UIICSE-ENEPI).

Instrumentos.- Para la toma de datos se emplearon registros de duración continua cuyo formato consistió en la división de un período temporal en 20 min. y a su vez, cada uno fue dividido en segundos, constituyendo de esta forma cada uno de los períodos a registrar, de manera que se tuvo una alta resolución con respecto de las observaciones, ya que la conducta alimentaria fue monitoreada segundo a segundo, es decir, el registro conductual fue realizado estableciendo de manera precisa los elementos temporales que componer a los episodios alimentarios en cuanto a *latencia* (intervalo de tiempo entre el inicio del primer período de registro y el primer episodio alimentario), *frecuencia* (número de episodios), *duración* (tiempo de ingesta dividido por su frecuencia), y los *TEEPS* (tiempo transcurrido entre cada uno de los episodios), con la medición adicional del tiempo de la ocurrencia de las conductas incompatibles con la alimentación: *otras* (toda conducta distinta de comer,

beber o dormir, por ejemplo, acicalarse, caminar, pararse en dos patas, etc.), *Beber* y *Dormir*. (ver anexos).

Materiales y aparatos.- Jeringas de 1 ml., agujas de acero 23 x 25 mm (cánulas ajustadas a 17 mm), agujas dentales calibre 30 (corta), microjeringa Hamilton de 1 μ l, micromanguera de plástico, estuche de disección, tornillos de acero de 4 x 1.5 mm, cemento acrílico dental (disuelto en metacrilato), estereotáxico Stellar, cajas habitación con capacidad para tres comederos (aluminio) y un bebedero, cámara de circuito cerrado para bajas intensidades conectada a un monitor de alta resolución y a una videograbadora de formato VHS, vibrátomo Ampden, Balanza Sertorius (500g), balanza Analítica Metler H80, portaobjetos y cubreobjetos.

Procedimiento

Habitación.- Se expuso a los sujetos durante una semana a las condiciones experimentales como son: ciclo invertido de luz/oscuridad de 12h y dieta, la cual consistió en grasas (aceite de maíz), hidratos de carbono (harina de maíz) y proteínas (proteína aislada de soya al 91.5%), con la finalidad de que se ambientaran a la dieta y al ciclo de luz/oscuridad.

Cirugía.- Para la implantación de las cánulas, las ratas fueron anestesiadas con Pentobarbital Sódico, y una vez que el sujeto se encontraba bajo los efectos de dicho

fármaco, se colocó en el aparato estereotáxico y se realizó un corte longitudinal en la piel para dejar descubiertos los huesos craneanos, uno de ellos se perforó con un taladro para colocar un tornillo de acero inoxidable con la finalidad de que la cánula quedara fija en el cemento acrílico dental. Las referencias previamente obtenidas con las pruebas de azul de metileno fueron tomadas a partir de bregma, en donde se perforó nuevamente el hueso con el taladro para implantar la cánula, una vez que se encontraba colocada ésta se le aplicó el cemento acrílico dental para que quedara fija. Las referencias exactas fueron obtenidas a partir de las sugeridas por Paxinos y Watson (1986), Núcleo Hipotalámico Ventromedial: Anteroposterior -2.56mm, Lateral 0.5mm, Altura 9.0mm. Estas fueron corregidas por pruebas de ensayo y error con azul de metileno.

Diseño Experimental.- Después de 3 días de recuperación operatoria, los sujetos fueron asignados a uno de dos grupos. En el siguiente cuadro se muestran ambos grupos y el orden en que recibieron el tratamiento, cada grupo estuvo formado por 10 sujetos:

| | Sesión 1 | Sesión 2 |
|----------|----------|-----------------|
| Grupo I | Muscimol | Solución Salina |
| Grupo II | Naloxona | Solución Salina |

La administración del fármaco o la salina fue 10 minutos antes de iniciar la sesión, es decir cuando iniciaba el periodo de obscuridad. Las dosis en que se administraron los fármacos fueron: Muscimol 25 ng y Naloxona 30 µg en un volumen de 1 microlitro, en el caso de la Solución Salina al 0.09% el volumen fue el mismo.

Posteriormente los sujetos fueron colocados en su caja habitación frente a una cámara de vídeo de circuito cerrado y se grabaron 5 periodos por cada una de las sesiones, para realizar los registros de duración continua, a los diez minutos (período 1, 12 Hrs), una hora (período 2, 13 Hrs), dos horas (período 3, 14 Hrs), a las tres horas (período 4, 15 Hrs) y a las cuatro horas (período 5, 16 Hrs) después de aplicar el fármaco. El alimento fue pesado en estos mismos horarios y a las 24 horas para conocer la cantidad de alimento que ingirieron los sujetos, en la caja habitación se encontraba disponible el alimento (carbohidratos, grasas, proteínas), y el agua todo el tiempo.

Histología.- Una vez concluidas las sesiones experimentales, los sujetos fueron anestesiados y perfundidos intracardialmente con solución salina al 0.9% y formol al 10%. El cerebro fue extraído y permaneció una semana en formol al 10%. Posteriormente se realizaron algunos cortes de aproximadamente 60 μ para evaluar el sitio de canulación. Los sujetos que no hubiesen sido canulados en el HVM fueron excluidos (ver anexos).

Análisis Estadístico.- El procedimiento estadístico que se empleó para el procesamiento de los datos fue una prueba paramétrica *t* de *student* para datos pareados, los casos en que los datos no tuvieron una distribución normal, fueron transformados con raíz cuadrada.

III RESULTADOS

RESULTADOS DE INGESTA GRUPO I SOLUCION SALINA VS MUSCIMOL

Proteínas:

En el consumo de este nutrimento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas condiciones, aunque se observa que en los períodos 1, 2 y a las 24 horas, la ingesta de proteínas decrementa con la aplicación de Muscimol, mientras que en el período 3 no hay cambios, en tanto que en los períodos 4 y 5 se incrementa (tabla 1).

Carbohidratos:

Con respecto a la ingesta de los carbohidratos, el análisis estadístico muestra una diferencia significativa en el período 4 ($t=1.908658$; $p=0.044$), donde el consumo de este nutrimento es mayor en la condición de Muscimol que en la de Solución Salina, en los períodos restantes el consumo fue mayor en la condición de Solución Salina, no obstante estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (tabla 1).

Grasas:

Con la administración de Muscimol, en relación a la ingesta de grasas, en los períodos de registro 1, 2, 5, y 24 horas se observó un incremento sustancial, donde los períodos 5 y después de 24 horas, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($t=2.60957$; $p=0.014$) ($t=3.804987$; $p=0.002$), en los períodos 3 y 4 el efecto fue inverso (tabla 1).

Ingesta Total:

En relación con la ingesta total (proteínas + carbohidratos + grasas) es posible observar que en los períodos 1, 2, 4, 5 y 24 horas el consumo fue mayor con la aplicación de Muscimol, mientras que en el período 3, éste fue menor y la diferencia estadísticamente significativa ($t=2.108189$; $p=0.032$) (tabla 1).

**RESULTADOS DEL ANALISIS MICROESTRUCTURAL
GRUPO I SOLUCION SALINA VS MUSCIMOL****Latencia:**

El análisis estadístico no evidencia ninguna diferencia significativa entre las dos condiciones, aunque si se presenta una disminución de la latencia en cada uno de los nutrimentos, mientras que en la latencia total (tiempo que antecede al inicio del primer episodio alimentario, ya sea de proteínas, carbohidratos o grasas) se observa un incremento de la misma (tabla 2).

Frecuencia:

En lo que respecta a los efectos de la administración de Solución Salina y Muscimol relacionados con la frecuencia de los episodios alimentarios para cada uno de los nutrimentos y el total, se encontraron diferencias estadísticamente significativas únicamente en el segundo período con el nutrimento grasas, donde ésta se incrementa con la administración de Muscimol ($t=1.963961$; $p=0.04$), al igual que en los períodos 1 y 5, mientras que en el período 3 no se encontraron diferencias y en el 4 disminuyó en ésta

misma condición (tabla 3).

En el caso de las proteínas, en los períodos 1, 3, 4 y 5 se detecta un ligero decremento de la misma con la administración de Muscimol, mientras que en el período 2 aumentó con la aplicación del mismo fármaco (tabla 3).

A pesar de que no existen diferencias estadísticamente significativas para el nutrimento carbohidratos, la frecuencia de los episodios alimentarios muestran un decremento considerable con la aplicación de Muscimol en los dos períodos de registro iniciales, dicho efecto se ve disminuido en los siguientes períodos hasta que en el 5 es totalmente inverso (tabla 3).

Finalmente, en lo correspondiente a la frecuencia total, fue posible identificar que durante los períodos de registro 1, 2, 3 y 4 ésta fue menor con la administración de Muscimol, comparativamente con los resultados de Solución Salina, en tanto que en el período 5 ocurrió lo contrario (tabla 3).

Duración:

De acuerdo con el análisis estadístico empleado en la duración de los episodios alimentarios de cada uno de los nutrimentos se observan únicamente diferencias estadísticamente significativas entre ambas condiciones en el segundo y cuarto período de registro y en el nutrimento grasas ($t=2.014449$; $p=0.037$) ($t=2.014449$; $p=0.043$)

encontrándose que ésta fue mayor con la aplicación de Muscimol en el segundo, mientras que en el cuarto el efecto fue inverso, en el primer y cuarto período la duración se incrementó con el tratamiento con Muscimol, mientras que en el tercer período no se presentaron diferencias (tabla 4).

Ahora bien, en lo que respecta a las proteínas, en el primer período, la duración de los episodios alimentarios aumentó en la condición de Muscimol, y en los períodos de registro 2, 3, 4 y 5 se encontró que la duración fue menor con la aplicación del mismo fármaco, atenuándose progresivamente esta diferencia (tabla 4).

Lo encontrado en los carbohidratos, como efecto de la administración de Muscimol, fue que en los períodos 1 y 2 se presentó un aumento considerable de la duración de los episodios alimentarios, principalmente en el segundo, mientras que en los siguientes períodos, dicho efecto se ve disminuido de manera progresiva, para que finalmente en el período 5 se observe un incremento en la condición de Muscimol (tabla 4).

En relación con la duración total, se observa que en los períodos de registro 1, 2 y 4 la duración de los episodios alimentarios fue mayor con la aplicación de Muscimol que con la de Solución Salina, esto principalmente en el primer período, mientras que en el tercero y quinto períodos dicha duración fue menor en comparación con la Solución Salina (tabla 4).

Tiempo Entre Episodios Alimentarios (TEEPS):

De acuerdo con el análisis estadístico realizado, no fue posible detectar diferencias significativas entre las condiciones de Solución Salina y Muscimol, a pesar de ello, se encontró lo siguiente:

En lo correspondiente a las proteínas, en los periodos 1 y 2, hubo un decremento en los TEEPS con la administración de Muscimol, y en los periodos 3, 4 y 5 éstos aumentaron en comparación con los observados en la condición de Solución Salina (tabla 5).

Para los carbohidratos, los tiempos entre episodios alimentarios en el primer período de registro aumentaron con la administración del fármaco, mientras que en los periodos 2, 3, 4 y 5, con la aplicación de Muscimol éstos disminuyeron (tabla 5)

Para el nutrimento grasas, los TEEPS no se vieron afectados por la aplicación de Muscimol en ningún período de registro, es decir no existen diferencias entre las condiciones (tabla 5).

Con respecto al total de TEEPS, es posible observar que en los periodos de registro 1 y 2 éstos aumentan ampliamente con la administración de Muscimol, ocurriendo lo contrario en los periodos 3, 4 y 5 (tabla 5).

Conductas Incompatibles con la Alimentación:

El análisis estadístico empleado no muestra diferencias significativas entre las condiciones de Solución Salina y Muscimol en ninguna de las conductas especificadas ni en los períodos de registro (tabla 6). A pesar de ello, se encontró lo siguiente:

Beber:

Durante los períodos 2, 3, 4 y 5 se encontró que los sujetos emplean más tiempo para beber cuando se les aplica Muscimol, principalmente durante el tercer período, mientras que en el primero el efecto es inverso.

Dormir:

A pesar de que en el período 1 duermen menos tiempo que en los demás períodos, con la administración de Muscimol se observa un ligero incremento del tiempo que duermen los sujetos comparativamente a la condición de Solución Salina, en los períodos 2, 3 y 5 el incremento es mayor con la aplicación del fármaco, y por el contrario en el período 4 con la aplicación de Muscimol el tiempo de Dormir es menor que en la condición de Solución Salina.

Otras Conductas:

Aunque no se hayan detectado diferencias estadísticamente significativas, es posible observar que en los períodos 1, 2, 3 y 4 aumentó el tiempo en que ocurrieron otras conductas con la aplicación de Muscimol, mientras que en el 5 se observó lo contrario.

RESULTADOS DE INGESTA GRUPO II SOLUCION SALINA VS NALOXONA

Proteínas:

Con relación a la ingesta de proteínas se encontró que en los períodos de registro 1, 4, 5 y 24 horas el consumo se incrementó con la aplicación de Naloxona, además de que la diferencia en el primer período fue estadísticamente significativa ($t=7.767283$; $p=0.0000$), en el período 3 no se observa ninguna diferencia, y en el período 2 la ingesta es menor con la administración de Naloxona (Tabla 7).

Carbohidratos:

En el caso de este nutrimento, en la condición Naloxona decrementó la ingesta en cada uno de los períodos de registro, adicionalmente, el análisis estadístico evidenció que la diferencia en el segundo período fue significativa ($t=1.86427$; $p=0.048$)(Tabla 7).

Grasas:

Al respecto de las grasas, se observa que en los períodos de registro 1, 2 y 24 horas el consumo de dicho nutrimento decremanta con la administración de Naloxona, encontrándose a su vez, una diferencia estadísticamente significativa en el primer período ($t=2.32853$; $p=0.022$), mientras que en los períodos de registro 3, 4 y 5 la ingesta aumentó con la aplicación del fármaco (Tabla 7).

Ingesta Total:

Finalmente, en la ingesta total se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los períodos de registro 2 y 24 horas ($t=1.926829$; $p=0.043$) ($t=2.237742$; $p=0.026$), en tanto que en los períodos 1, 3, 4 y 5 se observa el mismo efecto aunque éste no fue estadísticamente significativo (Tabla 7).

**RESULTADOS DEL ANALISIS MICROESTRUCTURAL
GRUPO II SOLUCION SALINA VS NALOXONA****Latencia:**

El análisis estadístico muestra que las diferencias en las latencias de los nutrimentos proteínas, carbohidratos y el total son significativas ($t=2.179875$; $p=0.029$) ($t=2.311519$; $p=0.023$) ($t=2.278672$; $p=0.024$), mostrando a su vez, un aumento de las mismas con la administración de Naloxona, con respecto a las grasas se encontró que en la condición del fármaco dicho valor se ve decrementado (Tabla 8).

Frecuencia:

En el nutrimento proteínas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, a pesar de ello, se observa que en los períodos de registro 1, 2 y 5 con la administración de Naloxona disminuye la frecuencia de los episodios alimentarios, mientras que en el tercer período se presenta un aumento de la misma con la aplicación de dicho fármaco, en el período 4 no existen diferencias (Tabla 9).

En lo que respecta a los efectos de la administración de Naloxona relacionados con la frecuencia de los episodios alimentarios para el nutrimento carbohidratos, el análisis estadístico muestra un decremento significativo con la aplicación del fármaco Naloxona en el período de registro 1 ($t=2.0228$; $p=0.037$), en los períodos 2, 3 y 5 se observa el mismo resultado, aunque dichas diferencias no son estadísticamente significativas, en el cuarto período la frecuencia es menor en la condición de Solución Salina (Tabla 9).

En relación a las frecuencias de los episodios alimentarios de grasas, se encontró que en los períodos de registro 1 y 4 ésta no muestra diferencia alguna con la administración de Naloxona, mientras que en el período 2 disminuye, en los períodos 3 y 5 aumenta con dicho fármaco, la diferencia de éste último es estadísticamente significativa ($t=1.963961$; $p=0.0406$) (Tabla 9).

El efecto de la aplicación de Naloxona sobre la frecuencia total se caracteriza por un decremento en los períodos de registro 1, 2, 3 y 5, donde el primero fue estadísticamente significativo ($t=1.980099$; $p=0.040$), por otro lado, en el cuarto período el efecto es inverso en la misma condición (Tabla 9).

Duración:

De acuerdo con los resultados del análisis estadístico empleado, existen diferencias significativas en el nutrimento grasas en el período de registro 5 ($t=1.849176$; $p=0.048$) donde la duración de los episodios alimentarios se incrementa con la administración de

Naloxona, en tanto que en los períodos 1, 2 y 4 no se detectaron diferencias, y en el período de registro 3 la duración aumenta con la administración de Naloxona (Tabla 10).

Por otro lado, se encontró que en los períodos 1, 2, 4 y 5 la duración de los episodios alimentarios de proteínas fue menor con la administración de Naloxona, además de que la diferencia en el primer período fue estadísticamente significativa ($t=2.046865$; $p=0.035$), mientras que en el tercero fue mayor bajo la misma condición (Tabla 10).

Ahora bien, en lo que respecta a los carbohidratos a pesar de que no existen diferencias estadísticamente significativas, se observa que en cada uno de los períodos de registro la duración de los episodios alimentarios fue menor con la aplicación de Naloxona (Tabla 10).

Finalmente, con relación a la duración total, se encontró que los efectos de la aplicación de Naloxona se caracterizan por un decremento de ésta en cada uno de los períodos de registro (Tabla 10).

Tiempo Entre Episodios Alimentarios (TEEPS):

Para los TEEPS, se observa únicamente una diferencia estadísticamente significativas en el período de registro 1 con el nutrimento proteínas ($t=1.846225$; $p=0.049$), dicha diferencia se caracteriza por un aumento en los TEEPS con la administración de Naloxona, al igual que en el período de registro 5, y por el contrario en el período 3 el tiempo entre episodios alimentarios decrementa con el mismo fármaco, y finalmente no se observaron

cambios en los periodos 2 y 4 (Tabla 11).

Con relación a los carbohidratos, se observa que con la administración de Naloxona los TEEPS son mayores en los periodos de registro 1, 2 y 3, en tanto que el periodo 4 no evidencia diferencias entre las condiciones, y finalmente, en el periodo 5 los tiempos entre episodios alimentarios se incrementan con la administración de Naloxona (Tabla 11).

Con respecto a las grasas, la administración de Naloxona al parecer no tiene efectos sobre los TEEPS, ya que en ningún periodo se identificaron diferencias (Tabla 11).

Por otra parte, los tiempos entre episodios alimentarios totales, con la aplicación de Naloxona aumentaron en los periodos 1, 2, 3 y 5, principalmente en el primero, mientras que en el 4 los TEEPS se decrementan en la condición de Naloxona (Tabla 11).

Conductas Incompatibles con la Alimentación:

El análisis estadístico empleado únicamente evidencia diferencias significativas entre las condiciones de Solución Salina y Naloxona para otras conductas en el periodo de registro 5 (tabla 11), complementariamente, se encontró lo siguiente:

Beber:

Con relación a la conducta de beber, se observa una disminución de ésta como efecto de la administración de Naloxona en cada uno de los períodos de registro, excepto en el segundo período, donde no existen diferencias.

Dormir:

Con respecto a la conducta de dormir, se encontró que la aplicación de Naloxona provoca un aumento de la misma en los períodos de registro 1, 2, 3 y 4, mientras que en el último es menor con la administración del fármaco.

Otras Conductas:

Es posible apreciar un aumento de dichas conductas incompatibles con la alimentación en todos los períodos de registro con la administración de Naloxona, principalmente en el período 5, donde la diferencia fue amplia y estadísticamente significativa ($t=1.855505$; $p=0.048$).

IV. ANALISIS DE RESULTADOS

Efectos del Muscimol sobre la Microestructura Alimentaria y la Autoselección Dietaria

Los principales efectos de la administración del muscimol sobre la alimentación pueden ser puntualizados de la siguiente manera:

Disminución de la latencia.- Para cada uno de los nutrimentos, el tiempo previo al inicio del primer episodio alimentario disminuyó, es decir, el arranque de la alimentación fue temprano, de manera que el primer episodio se presentó ante un intervalo de tiempo más corto una vez iniciado el período de obscuridad, en comparación con los datos obtenidos con la administración de solución salina.

Incremento de la ingesta.- Principalmente en los últimos períodos de registro, específicamente, carbohidratos 4 horas después de la administración del fármaco, y grasas después de 5 horas, aumentó significativamente la ingesta de los mismos, siendo evidente y significativo dicho efecto aún después de 24 horas en el consumo de grasas; la ingesta total se incrementó en general, exceptuando el período de registro correspondiente a las tres horas posteriores a la administración de muscimol, donde ésta disminuyó significativamente; de tal forma que el proceso conceptualizado como apetito fue afectado por la administración del fármaco, ya que la dirección que tomó la conducta alimentaria se orientó principalmente hacia el consumo de grasas y carbohidratos.

Proteínas.- En la microestructura del consumo de este nutrimento se observó que con la administración de muscimol, la frecuencia y la duración de los episodios alimentarios disminuyen, mientras que los tiempos entre episodios se incrementan, homogeneizándose tal efecto entre las dos y cuatro horas después del tratamiento. Es así que se fomenta la saciedad (incremento de los TEEPS) en tanto que la satisfacción es elicitada (disminución de frecuencia y duración).

Carbohidratos.- Los efectos del tratamiento sobre el consumo cualitativo de este nutrimento se caracterizan por la disminución de la frecuencia y el incremento de la duración de los episodios alimentarios, mientras que los tiempos entre los mismos se ven decrementados; de manera que los procesos que regulan el consumo de este nutrimento en particular son afectados de manera tal que la saciedad es inhibida (incremento de la duración, disminución de la frecuencia), al igual que la satisfacción es obstaculizada (decremento de los TEEPS), evidenciándose tal efecto principalmente una hora después del tratamiento.

Grasas.- La administración de muscimol provocó sobre el consumo de grasas un incremento significativo (principalmente una hora después del tratamiento) de la frecuencia y la duración de los episodios alimentarios, aunque tres horas después de la inyección, se observó una disminución significativa de la duración, seguida por el restablecimiento del efecto inicial cuatro horas después del tratamiento; en tanto que en los TEEPS no se evidenció cambio alguno. A pesar de que la afectación de los procesos motivacionales

responsables del consumo cualitativo de grasas no muestra un patrón uniforme, es posible identificar dos efectos principales, el primero, es caracterizado por la inhibición de la satisfacción (incremento de la duración y la frecuencia, entre los 10 min. y la primera hora después de la inyección), y el segundo de manera inversa a lo anterior, facilitando a la satisfacción (decremento de la duración, tres horas después del tratamiento), siendo separados por un espacio temporal de una hora sin cambios, para que finalmente se observe el efecto inicial en el último período de registro.

Totales.- Para la ingesta en total (proteínas + carbohidratos + grasas), se observa un incremento generalizado, mientras que se observa una disminución de la frecuencia y los tiempos entre episodios alimentarios, incrementándose a su vez, la duración de los mismos; con relación a los procesos motivacionales involucrados, fue inhibido tanto el estado de saciedad (disminución de los TEEPS) como el proceso de satisfacción (aumento de la duración, decremento de la frecuencia), principalmente para los nutrimentos carbohidratos y grasas, disminuyendo dicho efecto cuatro horas después de la administración de muscimol.

Conductas incompatibles con la alimentación.- Para cada una de éstas conductas (beber, dormir y otras) se encontró que el tratamiento con muscimol incrementó la duración de las mismas, comparativamente con los valores presentados en la condición control (solución salina).

Efectos de la Naloxona sobre la Microestructura Alimentaria y la Autoselección Dietaria

Los efectos de la administración de Naloxona sobre la alimentación pueden ser descritos de la siguiente forma:

Incremento de la latencia.- Principalmente en las proteínas, los carbohidratos y la latencia total, la administración de naloxona en el HVM retraso el arranque de la alimentación, aumentando el intervalo de tiempo que antecede el inicio del primer episodio.

Decremento de la ingesta.- Para los carbohidratos, las grasas y la ingesta total se detectó que los efectos del fármaco se orientaron hacia la disminución pronunciada del consumo de alimento, principalmente en los dos períodos de registro iniciales y a las 24 horas posteriores al tratamiento, favoreciendo el proceso de satisfacción e inhibiendo el apetito de estos nutrimentos en particular, cabe mencionar que el consumo de proteínas no se vio afectado de manera amplia.

Proteínas.- Los efectos del tratamiento con naloxona sobre la microestructura alimentaria de este nutrimento específico, fueron determinados por un decremento de la frecuencia y la duración de los episodios alimentarios aunado a un incremento de los tiempos entre episodios, principalmente a los 10 minutos y a las 24 horas de la inyección. De tal forma, el estado de saciedad fue facilitado (incremento en los TEEPS), y la satisfacción marcada (decremento de la duración y la frecuencia).

Carbohidratos.- La administración de naloxona provocó en el consumo cualitativo de carbohidratos un incremento de los tiempos entre episodios asociado a la disminución de la frecuencia y la duración de dichos episodios, principalmente dentro de las primeras dos horas después de la inyección, dado lo anterior, los procesos responsables de la regulación del consumo de tal nutrimento fueron afectados, promoviendo la saciedad (incremento en los TEEPS) y facilitando la satisfacción (decremento de la duración y la frecuencia).

Grasas.- Con relación al nutrimento grasas, no se observó un patrón estable en cuanto a los efectos del tratamiento con naloxona, ya que en los periodos de 10 minutos y cuatro horas después de la inyección, y en los tiempos entre episodios no se identificaron diferencias; únicamente se encontró un incremento de la duración y la frecuencia en los periodos de dos y cuatro horas, por lo que solamente en dichos periodos fue inhibida la satisfacción (principalmente a las cuatro horas del tratamiento).

Totales.- Para la ingesta en general (proteínas + carbohidratos + grasas), se observó un decremento pronunciado, aunado a la disminución de la frecuencia y la duración de los episodios, mientras que los tiempos entre estos fueron incrementándose en cada uno de los periodos, de manera que se favoreció la satisfacción y se promovió el estado de saciedad.

Conductas incompatibles con la alimentación.- En la categoría de beber, se encontró una disminución de la misma, mientras que para otras y dormir, se observó un acentuado incremento confrontado éstos valores con los obtenidos en la condición de solución salina.

V. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo proporcionan evidencia acerca del papel funcional que juegan los mecanismos GABAérgicos y los opiáceos péptidos endógenos en el control central de la alimentación. Por un lado, con la administración de muscimol en el HVM, se eleva consecuentemente la concentración de GABA en el área hipotalámica media, inhibiendo las neuronas relacionadas con el control de la saciedad mediante la activación de los receptores GABA_A, identificando su correlato con el flujo conductual mediante el resultante incremento de la ingesta de alimento (Grandison y Guidotti, 1977; Kelly, Rothstein y Grossman, 1979), principalmente la de carbohidratos y grasas, tres horas después de su administración, además de influir sobre la microestructura alimentaria, es decir, modificando al apetito (consumo selectivo de carbohidratos y grasas) e inhibiendo la satisfacción y la saciedad (diminución de latencia, frecuencia y TEEPS, e incremento de la duración). En oposición a lo encontrado por Morley, Levine y Kneip (1981), los principales efectos del muscimol no se observaron entre los 30 y 60 minutos, sino hasta después de las 3 y 4 horas. Paralelamente, se encontró concordancia con la literatura (Klitenick y Wirtshafer, 1988) en el sentido de que el tratamiento con muscimol (tanto en el HVM como en el Rafé medio) incrementa la actividad motora, a pesar de que ocurrió algo similar con la conducta de dormir, de manera que es posible suponer que aunque forman parte de un determinado circuito neuronal, interactúan con diferentes mecanismos.

Los resultados reportados en la presente investigación acerca de la influencia de los sistemas GABAérgicos sobre la ingesta selectiva de alimentos, sugieren que la consecuente elevación de la actividad GABA en el HVM provoca la ingesta preferente de carbohidratos y grasas, influyendo mínimamente el consumo de proteínas. Lo anterior permite suponer que el control de la ingesta proteínica no es dependiente de las sinápsis GABAérgicas.

Contrariamente a los resultados obtenidos con el muscimol, la administración de naloxona en el HVM, ocasionó el bloqueo de los receptores opiáceos (Akil, Watson, Yuong, Lewis, Khachaturian y Walker, 1984), atenuando así la actividad de los opiáceos péptidos endógenos, identificándose un efecto supresivo sobre la ingesta general, debido posiblemente a la intensificación de la retroalimentación que produce la ingesta de alimento (Kirkham y Blundell, 1985), y alterando conductualmente las características cualitativas de la microestructura alimentaria, modificando los procesos motivacionales responsables de la modulación de la alimentación, es decir, disminuyendo el apetito y favoreciendo la satisfacción y la saciedad principalmente en los carbohidratos (incremento de la latencia, y los TEEPS, mientras que la frecuencia y duración de los episodios disminuyó) (Levine, Grace y Billington 1989; Fernández-Tome, González y del Río, 1987), en tanto que en las grasas no se identificó un efecto uniforme, ya que a pesar de que la ingesta disminuyó, la duración y la frecuencia de los episodios se incrementó, de manera que es posible suponer que la ingesta de grasas fue mínima en cuanto a cantidad, pero amplia en tiempo y accesos, tal vez por el derrame de alimento; por lo que los efectos de dicho fármaco sobre la autoselección dietaria son aún confusos en relación a la ingesta particular de grasas, debido

probablemente a la interacción del sustrato neuronal opiáceo con diversos mecanismos de carácter central (Deviche y Schepers, 1984), por ejemplo los serotoninérgicos, que se vinculan fuertemente con el control de la ingesta selectiva (Jones y Ritcher, 1981; Leibowits, Alexander, Cheung y Weiss, 1993), y los receptores adrenérgicos alfa (Beczkuoska y Bodnar, 1991). Con respecto a la ingesta particular de proteínas, se encontró que a pesar de que no se modificó significativamente la ingesta, la frecuencia y la duración de los episodios alimentarios disminuyó, caracterizando así episodios relativamente amplios en cuanto a cantidad y breves en duración, y distanciados temporalmente. Sobre la ingesta en general (totales) se identificó un patrón más equilibrado, ya que ésta disminuyó dramáticamente en cada uno de los periodos de registro, aunado a la disminución del apetito, favorecimiento de la satisfacción y la saciedad (disminución de frecuencia y duración, aumento de los TEEPS), lo cual concuerda con el incremento de la duración de conductas incompatibles con la alimentación, principalmente dormir; y de acuerdo a investigaciones previas (Jalowiec, Panksepp, Zolovick, Najam, Herman; 1980; Manha, Czirr y Reid; 1986) se observó la reducción del tiempo de ingesta de líquidos.

Con relación a los mecanismos de acción específicos de los opiáceos péptidos endógenos sobre la ingesta selectiva de alimentos, los resultados de la presente investigación de acuerdo con los reportados en la literatura (Cooper y Turkish 1989; Marks-Kaufman y Kanarek, 1981; Marks-Kaufman y Kanarek, 1990) sugieren que la administración de antagonistas de los opiorreceptores, tanto vía central como periférica, además de reducir la ingestión total de alimento y la duración de los episodios, reduce el

consumo selectivo de carbohidratos y grasas, principalmente el segundo, sin afectar significativamente la ingesta de proteínas, por lo que dicho sistema en el área hipotalámica media, funge como un importante supresor selectivo de alimentos inicialmente preferidos. A diferencia de los resultados obtenidos por manipulación periférica de los opiáceos endógenos, la administración de naloxona en el HVM tuvo un efecto más potente sobre el consumo de carbohidratos que en el de grasas (tanto en la ingesta como en la duración) contrario a lo encontrado en la administración periférica, debido posiblemente, por un lado, a factores asociados tanto a la vía de administración, como a la presentación física de los nutrimentos, y por otro lado, a que existen diferencias entre los efectos específicos de los antagonistas empleados (naloxona y naltrexona), las cuales pueden ser más fácilmente evidenciadas mediante la evaluación de distintos parámetros, como los contemplados en el análisis microestructural.

Los presentes resultados apoyan la hipótesis de que la actividad de los sistemas GABAérgicos y opiáceos endógenos en el HVM son parte fundamental de la modulación de la alimentación, puesto que, por un lado, los efectos hiperfágicos selectivos del muscimol sobre la ingestión de carbohidratos y grasas alteraron considerablemente la microestructura de la conducta alimentaria como resultado principal de la inhibición de los receptores encargados del control de la saciedad; y en el caso de los opiáceos endógenos, el efecto anoréxico de la naloxona, principalmente sobre la ingesta total y la de carbohidratos, igualmente ocasionaron cambios en la microestructura alimentaria, debido a la obstaculización de la actividad de dicho sustrato neuronal sobre sus receptores y la

alimentación ligada a éstos.

Finalmente, cabe señalar que los resultados obtenidos en este trabajo derivan una importante consideración, en el sentido de que los sistemas neuronales analizados, a pesar de tener influencia sobre los mecanismos responsables de la modulación de la alimentación, no pueden atribuírseles efectos determinantes, únicos y aislados, sino constitutivos e interrelacionados, ya que fisiológica y bioquímicamente forman parte de redes complejas, entre otros sustratos y con áreas específicas del SNC, originando nuevas líneas de investigación orientadas hacia el esclarecimiento de las diferentes interacciones entre mecanismos y zonas de acción central. Dado lo anterior, es posible sugerir investigaciones encaminadas hacia los siguientes puntos: a) Determinación de la tasa local de alimentación; b) Interacción entre sistemas GABAérgicos y Opiáceos Endógenos, tanto a nivel central como periférico; c) Establecimiento de diferencias entre los efectos de distintos agonistas y antagonistas tanto de GABA como de los Opiorreceptores, utilizando la medición de parámetros sensibles; d) Investigación de los mecanismos reguladores de la alimentación manipulando variables como presentación física y sabor de los alimentos; y e) Determinar anatómicamente las áreas de acción de los mecanismos GABAérgicos y opiáceos endógenos en interacción con otros sustratos neuronales.

VI. REFERENCIAS

1. - Akil, H.; Watson, S. J.; Young, E.; Lewis, M. E.; Khachaturian, H.; & Walker, J. M. (1984). "Endogenous Opioids: Biology and Function". En: McCormack J. F. & Denbow, D. M. (1986). The Effects of Opioid Antagonists on Ingestive Behavior in the Domestic Fowl. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 27 (1), 25-33.
2. - Arshavsky, Y. I.; Deliagina, T. G.; Gamkrelidze, G. N.; Orlovsky, G. N.; Panchin, Y. V.; Popova, L. B. & Shupliakov, O. V. (1993). "Pharmacologically Induced Elements of the Hunting and Feeding Behavior in the Pteropod Mollusk Clione Limacina. I. Effects of GABA". *Journal of Neurophysiology*, 69 (2), 512-521.
3. - Balkan, B.; Steffens, A. B.; Bruggink, J. E. & Strubbe, J. H. (1991). "Hiperinsulinemia and Glucose Tolerance in Obese Rats With Lesions of the Ventromedial Hypothalamus: Dependence on Food Intake and Route of Administration". *Metabolism*, 40 (10), 1092-1100.
4. - Beczkowska, W. & Bodnar, R. J. (1991). "Naloxone and Serotonin Receptor Subtype Antagonist: Interactive Effects Upon Deprivation-Induced Intake". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38 (3), 605-610.
5. - Bendotti, C.; Berettera, C.; Invernizzi, R. & Samanin, R. (1986). "Selective Involvement of Dopamine in the Nucleus Accumbens in the Feeding Response Elicited by Muscimol Injection in the Nucleus Raphe Dorsalis of Sated Rats". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24 (5), 1189-1193.

6. - Blundell, J. E. (1984). Serotonin and Appetite. *Neuropharmacology*, **23** (12b), 1537-1551.
7. - Blundell, J. E. (1986). Serotonin Manipulations and the Structure of Feeding Behavior. En N. Stılanos. (1986). *Serotonergic System, Feeding and Body Weight Regulation*. London: Academic Press. p. 39-56.
8. - Cardinali, D. P. (1992). *Manual de Neurofisiología*. Madrid: Díaz de Santos, S. A. p. 285-296.
9. - Cattabeni, F.; Maggi, A.; Modozzi, M; De Angelis, L. & Racagni, C. (1978). "GABA: Circadian Fluctuations in Rat Hypothalamus". *Journal of Neurochemistry*, **31**, 565-567.
10. - Cooper, S. J. (1983). "Benzodiazepine-Opiate Antagonist Interactions in Relation to Feeding and Drinking behavior". *Life Sciences*, **32**, 1043-1051.
11. - Cooper, S. J. & Turkish, S. (1989). "Effects of Naltrexone on Food Preference and Concurrent Behavioral Responses in Food Deprived Rats". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **33** (1), 17-20.
12. - Deviche, P. & Schepers, G. (1984). Naloxone "Treatment Attenuates Food but not Water Intake in Domestic Pigeons". *Psychopharmacology*, **82**, 122-126.
13. - Fernández-Tome, M. P.; González, Y. & Del Río, J. (1987). "Interaction Between Opioid Agonist or Naloxone and 5-HTP on Feeding Behavior in Food-Deprived Rats". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **29** (2), 387-392.
14. - Fernstrom, J. D. & Wurtman, R. J. (1973). "Control of Brain 5-HT Content by Dietary Carbohydrates". In Barchas J. and Usdin E., eds. *Serotonin and Behavior*. p 121-128.

15. - Fowler, L. J. (1973). "Analysis of the Major Aminoacids of Rat Brain After in vivo Inhibition of GABA Transaminase by Ethanolamino-O-Sulphate". *Journal of Neurochemistry*, 21, 437-440.
16. - Grandison, L.; Guidotti, A. (1977). "Stimulation of Food Intake by Muscimol and Beta Endorphin". *Neuropharmacology*, 16, 533-536.
17. - Grisaschi, G.; Mantelli, B.; Fracasso, C.; Anelli, M.; Caccia, S. & Samanin, R. (1993). "Reciprocal Interaction of 5-Hydroxytryptamine and Cholecystokinin in the Control of Feeding Patterns in the Rats". *British Journal of Pharmacology*, 109, 491-494.
18. - Jalowiec, J. E.; Panksepp, J.; Zolovick, A. J.; Najam, N. & Herman, B. H. (1980). "Opioid Modulation of Ingestive Behavior". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 15 (3), 477-484.
19. - Jones, J. G. & Richter, J. A. (1981). "The Site of Action of Naloxone in Suppressing Food and Water Intake in Rats". *Life Sciences*, 18, 2055-2064.
20. - Kelly, J.; Alheid, G.F.; Newberg, A. & Grossman, S. P. (1977). "GABA Stimulation and Blockade in the Hypothalamus and Midbrain: Effects of Feeding and Locomotor Activity". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 7, 537-541.
21. - Kelly, J.; Rothstein, J. & Grossman, P. (1979). "GABA and Hypothalamic Feeding Systems. I. Topographic Analysis of the Effects of Microinjections of Muscimol". *Physiology & Behavior*, 23, 1123-1134.

22. - Kelly, J. & Grossman, P. (1979). "GABA and Hypothalamic Feeding Systems. II. A Comparison of GABA, Glycine and Acetylcholine Agonists and Their Antagonist". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 11 (6), 674-652.
23. - Kirkham, T. C. (1991). "Enhanced Anorectic Potency of Naloxone in Rats Sham Feeding 30% Sucrose: Reversal by Repeated Naloxone Administration". *Physiological Behavior*, 47 (3), 419-426.
24. - Kirkham, T. C. y Blundell, J. E. (1986). "Effect of Naloxone and Naltrexone on the Development of Satiation Measured in the Runway: Comparisons With d-Amphetamine and d-Fenfluramine". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 25 (1), 123-128.
25. - Klitenick, M. A. & Wirtshafter, D. (1988). "Comparative Studies of the Ingestive Behaviors Produced by Microinjections of Muscimol Into Midbrain Raphe Nuclei or the Ventral Tegmental Area of the Rat". *Life Sciences*, 42 (7), 775-782.
26. - Koch, J. E. & Bodnar, R. J. (1994). "Selective Alterations in Macronutrient Intake of Food-Deprived or Glucoprivic Rats by Centrally-Administered Opioid Receptor Subtype Antagonist in Rats". *Brain Research*, 657, 191-201.
27. - Leibowitz, S. F.; Alexander, J. T.; Cheung, W. K. & Weiss, G. W. (1993). "Effects of Serotonin and Serotonin Blocker Metergoline on Meal Patterns and Macronutrient Selection". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 45 (1), 185-194.
28. - Levine, A. S.; Grace, M. & Billington, C. J. (1989). "The Effect of Centrally Administered Naloxone on Deprivation and Drug-Induced Feeding". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36 (2), 409-412.

29. - Mancilla , J. M. (1994). Efectos de la 5-HT y la Ciproheptadina: Un Análisis Microestructural de la Conducta Alimenticia. Tesis Maestría en Neurociencias. Iztacala UNAM.
30. - Mancilla, J. M.; Cisneros, A; López, V.; Ocampo, M. A.; Alvarez, G.; Vázquez, R.; Osornio, L y Rosales, S. (1993). "Efectos del 5-HdITP: Un Análisis Microestructural de la Conducta Alimenticia". Revista Mexicana de Análisis de la Conducta, 19 (1), 3-18.
31. - Manha, N. A.; Czirr, S. A. & Reid, L. D. (1986). "Naloxone Persistently Modifies Water intake". Pharmacology Biochemistry and Behavior, 29 (2), 331-334.
32. - Marks-Kaufman, R. & Kanarek, R. B. (1981). "Modifications of Nutrient Selections Induced by Naloxone in Rats". Psicopharmacology, 74, 321-324.
33. - Marks-Kaufman, R. & Kanarek, R. B. (1990). "Diet Selection Following a Chronic Morphine and Naloxone Regimen". Pharmacology Biochemistry and Behavior, 35 (3), 665-669.
34. - Marks-Kaufman, R.; Plager, A. & Kanarek, R. B. (1985). "Central and Peripheral Contributions of Endogenous Opioids Systems to Nutrient Selection in Rats". Psicopharmacology, 85, 414-418.
35. - McCormack J. F. & Denbow, D. M. (1986). "The Effects of Opioid Antagonists on Ingestive Behavior in the Domestic Fowl". Pharmacology Biochemistry and Behavior, 27 (1), 25-33.
36. - Mc Kay, L. D.; Kenney, N. J.; Edens, N. K.; Williams, R. H. & Woods, S. C. (1981). "Intracerebroventricular Beta-Endorphin Increases Food Intake". Life Sciences, 29 (14), 1429-1434.

37. - Morley, J; Levine, A. & Kneip, J. (1981). "Muscimol Induced Feeding: A Model to study the Hypothalamic Regulation of Appetite". *Life Sciences*, **29**, 1213-1218.
38. - Naruse, T; Asami, T & Koizumi, Y. (1988). "Effects of Naloxone and Picrotoxin on Diazepam- or Pentobarbital-Induced Hyperphagia in Nondeprived Rats". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **31** (3), 709-711.
39. - Ninomiya, J. G. (1991). *Fisiología Humana: Neurofisiología*. México: Manual Moderno. p 391-431.
40. - Olgiami, V.; Netti, C.; Guidobono, F. and Pecile, A. (1980). "The Central GABAergic System and Control of Food Intake Under Different Experimental Conditions". *Psicopharmacology*, **68** (1), 163-167.
41. - Paris, J. M.; Mitsushio, H. & Lorens S. A. (1991). "Intra-midbrain raphe injections of the neurokinin-3 agonist senktide inhibit food and water intake in the rat". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **38** (1), 223-226.
42. - Paxinos, R. A. and Watson, Ch. (1986). *The Rat Brain in the Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press.
43. - Pierobon, P.; Concas, A.; Santoro, G.; Marino, G.; Minei, R.; Pannaccione, A.; Mostallino, M. C. & Biggio, G. (1995). "Biochemical and Functional Identification of GABA Receptors in Hydra Vulgaris". *Life Sciences*, **56** (18), 1485-1497.
44. - Porrino, L. J. & Coons, E. E. (1980). "Effects of GABA Receptor Blockade on Stimulation-Induced Feeding and Self-stimulation". *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **12** (1), 125-130.

45. - Tapia, R. (1980). Mecanismos Regulatorios de la Transmisión Sináptica. Nueva York: Plenum. p. 57-69
46. - Trojnar, W. & Staszewska, M. (1994). "Unilateral Damage to the Ventral Tegmental Area Facilitates Feeding Induced by Stimulation of the Contralateral Ventral Tegmental Area". Brain Research, 641 (2), 333-340.
47. - Wirtshafter, David; Klitenick, M. A. & Asin, K. E. (1987). "Evidence Against Serotonin Involvement in the Hyperactivity Produced by Injections of Muscimol Into the Median Raphe Nucleus". Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 27 (1), 45-52.
48. - Wurtman, J. D. & Wurtman, R. J. (1977). "Fenfluramine and Fluoxetine Spare Protein Consumption While Suppressing Caloric Intake by Rats". Science, 198, 1178-1180.
49. - Wurtman, J. D. & Wurtman, R. J. (1979). "Drugs that enhance Serotonergic Transmission Diminish Elective Carbohydrate Consumption by Rats". Life Sciences, 24, 895-904.

VII. ANEXOS

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 24 Horas | |
|-------------------------|----------|----------|---------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|-------------|
| | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. |
| Condicción Nutrimientos | | | | | | | | | | | | |
| Proteínas | .08±.05 | 0±0 | .66±.03 | .64±.04 | .04±.02 | .04±.02 | .53±.04 | .65±.03 | .39±.14 | .46±.11 | .63 ± .24 | .57 ± .1282 |
| Carbohidratos | 1.16±.35 | .88±.19 | .73±.2 | .68±.15 | 1±.32 | .45±.11 | .56±.05* | .67±.05* | 3.61±.53 | 3.52±.81 | 7.26 ± .819 | 6.36 ± 1.6 |
| Grasas | .58±.07 | .80±.17 | .14±.04 | .45±.16 | .13±.06 | .09±.06 | 2±.06 | .18±.109 | 1.51±.2* | 2.54±.3* | 2.2 ± .338* | 4.14 ± .61* |
| Total | 1.48±.37 | 1.76±.53 | .92±.21 | 1.16±.24 | 1.17±.35* | .58±.16* | .83±.19 | 1.05±.22 | 5.51±.6 | 6.52±.73 | 10.11 ± .91 | 11.7 ± .893 |

Tabla 1.- Ingesta del grupo I (Sol/Sal-Muscimol) representada por la media ± el error estándar (ESM). Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Condicción Nutrimientos | Grupo I | |
|-------------------------|-----------------|----------------|
| | Solución Salina | Muscimol |
| Proteínas | 1071.9 ± 112.03 | 912.9 ± 144.94 |
| Carbohidratos | 256.3 ± 157.57 | 204.4 ± 119.22 |
| Grasas | 1141.1 ± 58.9 | 966 ± 156 |
| Total | 143.6 ± 117.88 | 155.9 ± 117.31 |

Tabla 2.- Latencia de cada uno de los nutrimentos expresada en medias ± el ESM, con ambos grupos. Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | S/S | Musc. |
| Condición Nutrimientos | | | | | | | | | | |
| Proteínas | 96 ± 22 | 92 ± 11 | 83 ± 07 | 909 ± 1 | 93 ± 16 | 83 ± 1 | 96 ± 15 | 88 ± 15 | 98 ± 21 | 76 ± 03 |
| Carbohidratos | 7.2 ± 2 | 4.4 ± .81 | 5.7 ± 1.8 | 3.3 ± .8 | 3.4 ± 1.4 | 2.8 ± .99 | 2.3 ± 1.1 | 2.2 ± .77 | 2.2 ± .97 | 3.6 ± 1.1 |
| Grasas | 0 ± 0 | .4 ± .22 | 0 ± 0* | .6 ± .3* | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 08. ± 48 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | .4 ± .3 |
| Total | 8.3 ± 1.8 | 5.5 ± .95 | 6.2 ± 1.8 | 4.5 ± 1.2 | 4.1 ± 1.7 | 3.3 ± 1.2 | 3.9 ± 1.6 | 2.9 ± 1.2 | 3.5 ± 1.2 | 4.2 ± 1.4 |

Tabla 3.- Medias de las frecuencias del grupo I (Sol/Sal-Muscimol) ± el ESM para cada uno de los nutrimentos. Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|------------------------|-------------|------------|-----------|------------|------------|------------|-------------|-----------|------------|------------|
| | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. |
| Condición Nutrimientos | | | | | | | | | | |
| Proteínas | 2.53 ± 1.27 | 2.8 ± 1.03 | 3.9 ± 1.8 | 2.17 ± .86 | 1.4 ± .46 | 1.25 ± .42 | 2.3 ± 1.03 | 1.9 ± .8 | 1.62 ± .61 | 1.51 ± .56 |
| Carbohidratos | 8.68 ± 1.88 | 11.3 ± 2.9 | 72.5 ± 21 | 116 ± 49 | 8.18 ± 2.7 | 8.15 ± 2.1 | 67.6 ± 23 | 57.7 ± 25 | 1.31 ± .61 | 1.92 ± .83 |
| Grasas | 0 ± 0 | 26 ± 16.1 | 0 ± 0* | 14 ± 7* | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 10.9 ± 5.6* | 0 ± 0* | 0 ± 0 | 9.5 ± 6.8 |
| Total | 108 ± 31 | 201 ± 112 | 90.1 ± 21 | 96.4 ± 49 | 125.6 ± 65 | 103.6 ± 50 | 47.9 ± 15 | 52 ± 21 | 110.2 ± 53 | 69.3 ± 26 |

Tabla 4.- Medias de la duración de los episodios alimentarios del grupo I (Sol/Sal-Muscimol) ± el ESM para cada uno de los nutrimentos. Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|-------------------------|-------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. |
| Condicción Nutrimientos | 1200±0 | 1012±129 | 1200±0 | 991.9±138.7 | 1012±130.4 | 1200±0 | 1015.8±122.8 | 1200±0 | 967.8±154.8 | 1200±0 |
| Proteínas | 273.8±154.5 | 317±152.6 | 494±192 | 484.2±172.9 | 611.5±196.1 | 516.3±186.3 | 891.2±159 | 681.7±177.6 | 618.4±193.9 | 300.4±190.4 |
| Carbohidratos | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 | 1200±0 |
| Grasas | 156.7±116.2 | 295.6±152 | 382.1±178.5 | 463.7±178.3 | 611.1±196.3 | 530.5±183.5 | 743.9±186.3 | 674.4±180.4 | 497.6±191.1 | 494.9±191.9 |
| Total | | | | | | | | | | |

Tabla 5.- Tiempos entre episodios alimentarios (TEEPS), expresados en medias ± el ESM, del grupo I (Sol/Sal-Muscimol) para cada uno de los nutrimentos. Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|-----------|
| | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. | S/S | Musc. |
| Condicción Conductas | 5.21±1.2 | 2.9±1.01 | 2.55±.83 | 5.03±1.1 | 15.3±6.2 | 25.6±13 | 3.46±.9 | 4.01±1.7 | 2.72±.83 | 3.48±1.52 |
| Beber | 4.4±2.6 | 5.07±2.9 | 244±119 | 291±137 | 417±141 | 498±135 | 543±138 | 432±116 | 371±136 | 534±144 |
| Dormir | 398.9±92 | 434±97 | 385±83 | 429±95 | 330.6±64 | 382±87 | 365.5±60 | 476.5±78 | 402±80 | 244±50 |
| Otras Conductas | | | | | | | | | | |

Tabla 6.- Medias de la duración de conductas incompatibles con la alimentación del grupo I (Sol/Sal-Muscimol) ± el ESM en ambas condiciones. Nivel de significancia (*) $p < 0.05$, $df=9$. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 24 Horas | |
|---------------|----------|-----------|----------|----------|----------|---------|---------|---------|----------|---------|----------|-----------|
| | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. |
| Nutrimientos | 0±0** | .05±.01** | .02±.01 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | .05±.03 | .2±.09 | .24±.11 | .3±.11 | .33±.14 |
| Proteínas | .95±.33 | .33±.14 | .84±.1* | .62±.02* | .49±.204 | .18±.07 | .52±.19 | .14±.08 | 2.75±.5 | 2.74±1 | 5.37±.79 | 3.61±.93 |
| Carbohidratos | .76±.04* | .56±.06* | .66±.08 | .55±.06 | .54±.07 | .71±.04 | .05±.02 | .12±.08 | 2.98±.8 | 2.36±.5 | 3.65±.85 | 2.94±.63 |
| Grasas | 1.16±.35 | .63±.16 | .95±.38* | .16±.06* | .64±.21 | .35±.12 | .59±.18 | .31±.17 | 5.84±1.1 | 5.34±1 | 9.3±.81* | 6.74±.91* |

Tabla 7.- Ingesta del grupo II (Sol/Sal-Naloxona) representada por la media ± el ESM. Nivel de significancia (*) p<0.05, (**) p<0.001, df=9. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Condición | Grupo II | |
|---------------|-----------------|-----------------|
| | Solución Salina | Solución Salina |
| Nutrimientos | | |
| Proteínas | 942.1 ± 118.30* | 942.1 ± 118.30* |
| Carbohidratos | 378.3 ± 130.85* | 378.3 ± 130.85* |
| Grasas | 1099.7 ± 100.3 | 1099.7 ± 100.3 |
| Total | 374.7 ± 130.39* | 374.7 ± 130.39* |

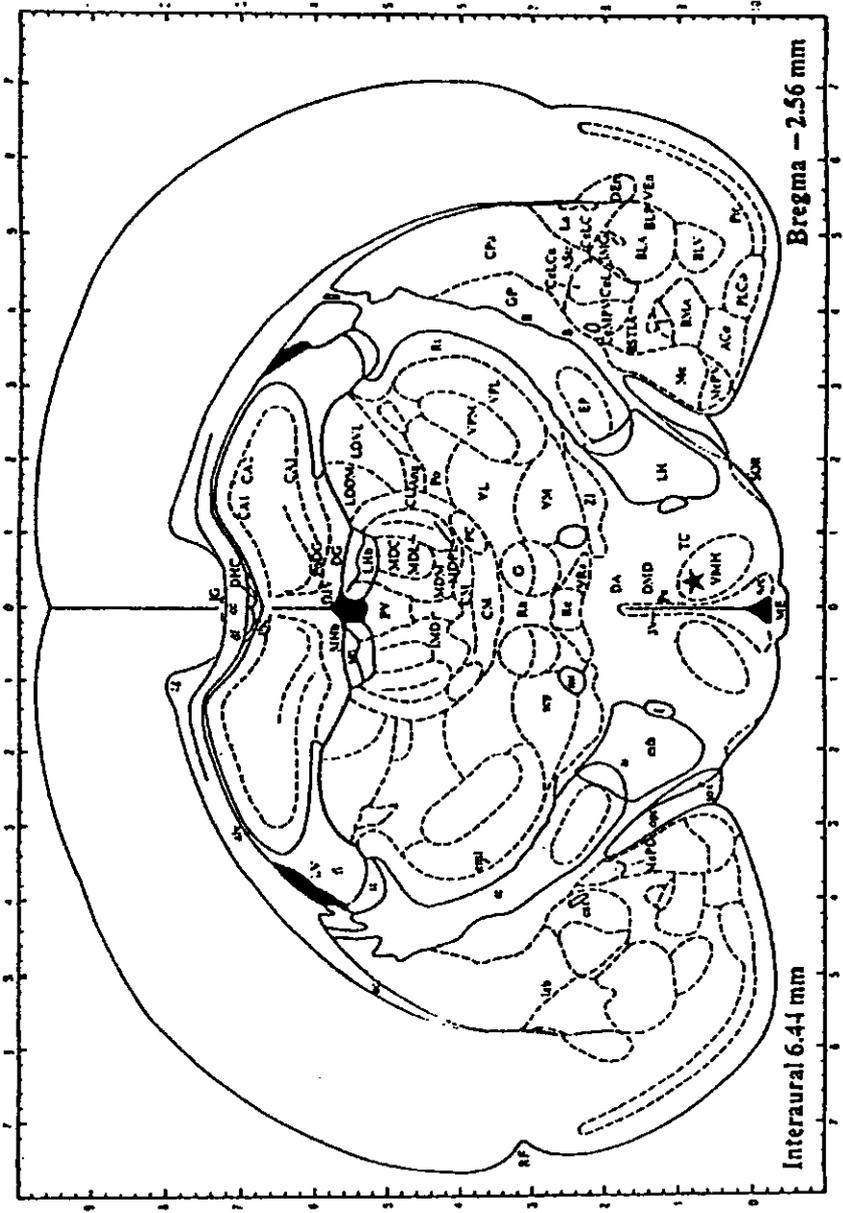
Tabla 8.- Latencia de cada uno de los nutrimentos expresada en medias ± el ESM, con ambos grupos. Nivel de significancia (*) p<0.05, df=9.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|---------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. |
| Condición | | | | | | | | | | |
| Proteínas | .94 ± 1.1 | .77 ± .07 | .77 ± .07 | 0 ± 0 | .79 ± .04 | .84 ± .02 | .81 ± .07 | .81 ± .07 | .92 ± .13 | .807 ± .07 |
| Carbohidratos | 5 ± 1.4* | 1.6 ± .49* | 1.06 ± .19 | .84 ± .09 | 1.21 ± .2 | .98 ± .15 | .81 ± .07 | .93 ± .19 | 1.05 ± .2 | .83 ± .103 |
| Grasas | 0 ± 0 | 0 ± 0 | .83 ± .12 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | .4 ± .22 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0* | .3 ± .15* |
| Total | 6.3 ± 1.9* | 1.9 ± .58* | 1.7 ± 1 | .4 ± .26 | 2 ± .82 | 1.7 ± .85 | .6 ± .33 | 1.3 ± .89 | 2 ± 1.2 | 1 ± .49 |

Tabla 9.- Medias de las frecuencias del grupo II (Sol/Sal-Naloxona) ± el ESM para cada uno de los nutrientes. Nivel de significancia (*) p<0.05, df=9. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.

| Periodo | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|---------------|-------------|-----------|-------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. | S/S | Nalox. |
| Condición | | | | | | | | | | |
| Proteínas | 3.64 ± 1.7* | 0 ± 0 | 1.02 ± .31 | 0 ± 0 | 1.32 ± .33 | 1.35 ± .47 | 3.48 ± 1.7 | 1.41 ± .54 | 1.77 ± .62 | 1.4 ± .5 |
| Carbohidratos | 7.6 ± 1.4 | 4.3 ± 1.5 | 4.42 ± 2.36 | .84 ± .09 | 6.17 ± 2.16 | 4.83 ± 2.3 | 0 ± 0 | 23.6 ± 17.2 | 2.14 ± 1 | 1.83 ± .82 |
| Grasas | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 3.9 ± 2.2 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0* | 2.5 ± 1.3* |
| Total | 67.3 ± 21 | 38.3 ± 25 | 67.3 ± 55 | 12.9 ± 8.8 | 75.9 ± 36.7 | 66.8 ± 53 | 57.1 ± 32 | 12.1 ± 8.1 | 18.4 ± 11 | 9.1 ± 5.1 |

Tabla 10.- Medias de la duración de los episodios alimentarios del grupo II (Sol/Sal-Naloxona) ± el ESM para cada uno de los nutrientes. Nivel de significancia (*) p<0.05, df=9. Los valores subrayados fueron transformados con raíz cuadrada.



Representación gráfica del sitio de canulación, Anteroposterior -2.56mm, Lateral 0.5mm, Altura 9.0mm. (★)
Paxinos y Watson, 1986.