



31985

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN PSICOLOGÍA
NEUROCIENCIAS DE LA CONDUCTA**

**SISTEMA SEROTONINÉRGICO HIPOTALÁMICO
EN EL CONTROL ALIMENTARIO DE RATAS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A
RODRIGO ERICK ESCARTÍN PÉREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JUAN MANUEL MANCILLA DÍAZ



MÉXICO, D.F.

M:350387

NOVIEMBRE DE 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Alimentación de la FES Iztacala y en el Laboratorio #4 del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del IPN bajo la dirección de los doctores Juan Manuel Mancilla Díaz (UNAM, FES Iztacala) y Benjamín Florán Garduño (CINVESTAV), con la revisión del siguiente jurado:

Dra. Sara E. Cruz Morales (UNAM, FES Iztacala)

Dr. Jorge Bernal Hernández (UNAM, FES Iztacala)

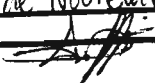
Dr. Florencio Miranda Herrera (UNAM, FES Iztacala)

Dra. María Elena Ayala Escobar (UNAM, FES Zaragoza)

Dra. Erzsebet Marosi Holczberger (UNAM, FES Iztacala)

Proyecto financiado parcialmente por DGAPA IN304300

Beca otorgada por el CONACYT con registro No. 124967

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: R. Erick Escartín Pérez
FECHA: 25 de Noviembre de 2005
FIRMA: 

Contenido

Resumen	VI
Abstract	VII
Lista de abreviaturas	VIII
Lista de figuras	X
1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1 Hipotálamo y conducta alimentaria	4
2.2 Serotonina y conducta alimentaria	7
2.3 Sistema serotoninérgico	9
2.3.1 Biosíntesis y metabolismo de la serotonina	10
2.3.2 Anatomía del sistema serotoninérgico	12
2.3.3 Receptores a serotonina	15
2.3.3.1 Receptores 5-HT_{1A}	18
2.3.3.1.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{1A}	19
2.3.3.1.2 Receptores 5-HT_{1A} y conducta alimentaria	20
2.3.3.2 Receptores 5-HT_{1B}	20
2.3.3.2.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{1B}	21
2.3.3.2.2 Receptores 5-HT_{1B} y conducta alimentaria	21
2.3.3.3 Receptores 5-HT_{2C}	22
2.3.3.3.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{2C}	23
2.3.3.3.2 Receptores 5-HT_{2C} y conducta alimentaria	23
2.4 Consideraciones metodológicas para el estudio de la conducta alimentaria	24

3. Justificación y planteamiento del problema	26
4. Hipótesis	28
5. Objetivos	29
5.1 Objetivos generales	29
5.2 Objetivos particulares	29
6. Método	30
6.1 Sujetos	30
6.2 Fármacos	30
6.3 Dieta	31
6.4 Aparatos para el registro conductual	31
6.5 Situación experimental	31
6.6 Habitación	32
6.7 Cirugía estereotáxica	32
6.8 Denervación serotoninérgica (lesión con 5,7-DHT)	32
6.9 Microdiálisis cerebral y HPLC-RF-EC	33
6.9.1 Microdiálisis cerebral	33
6.9.2 HPLC-RF-EC	34
6.9.3 Determinación de 5-HT y DA extracelular del NPH	34
6.10 Registros conductuales	34
6.10.1 Análisis de la estructura de la conducta alimentaria	34
6.10.2 Análisis de la secuencia de saciedad conductual	36
6.11 Diseño experimental	36
6.11.1 Determinación de los efectos de la lesión serotoninérgica sobre la respuesta a la fluoxetina y los contenidos extracelulares de 5-HT y DA	36
6.11.2 Determinación de los efectos de la lesión serotoninérgica sobre la estructura de la conducta alimentaria	37
6.11.3 Determinación de la participación de los receptores 5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} y 5-HT _{2C} en los efectos inducidos por la inyección intra-NPH de 5-HT	38

6.12 Histología	38
6.13 Análisis estadístico	40
7. Resultados	42
7.1 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la respuesta a la fluoxetina y los contenidos extracelulares de 5-HT y DA	42
7.2 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas	44
7.3 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la estructura de la conducta alimentaria y el peso corporal	47
7.4 Participación de los receptores 5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} y 5-HT _{2C} en los efectos inducidos por la inyección intra-NPH de 5-HT	54
7.4.1 Efectos de la aplicación de 5-HT en el NPH sobre los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria y la secuencia de saciedad conductual	55
7.4.2 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT _{1A} sobre la hipofagia y la saciedad inducidas por la inyección intra-NPH de 5-HT	56
7.4.3 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT _{1B} sobre la hipofagia y la saciedad inducidas por la inyección intra-NPH de 5-HT	58
7.4.4 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT _{2C} sobre la hipofagia y la saciedad inducidas por la inyección intra-NPH de 5-HT	60
8. Discusión	63
8.1 Lesión serotoninérgica del NPH	64
8.2 Cambios en la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas producidos por la lesión serotoninérgica	64
8.3 Cambios en la microestructura de la conducta alimentaria producidos por la lesión serotoninérgica	65
8.4 Participación de los receptores 5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} y 5-HT _{2C} del NPH en el control serotoninérgico de la alimentación	67
8.4.1 Receptores 5-HT _{1A}	69
8.4.2 Receptores 5-HT _{1B}	71
8.4.3 Receptores 5-HT _{2C}	72

9. Conclusiones	75
9.1 Generales	75
9.2 Particulares	75
10. Perspectivas	76
11. Referencias	77

Resumen

Se sabe que la activación de receptores serotoninérgicos constituye una de las principales señales saciatorias en los mamíferos, sin embargo, la participación específica de los distintos subtipos de receptores a serotonina en el control alimentario no ha sido plenamente establecida. El objetivo del presente estudio consistió en determinar el rol de la serotonina y los subtipos de receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} del núcleo paraventricular hipotalámico (NPH) en el control de la conducta alimentaria. En ratas macho Wistar fueron analizados los efectos de la lesión serotoninérgica del NPH sobre el consumo de nutrimentos (proteínas, carbohidratos y grasas) y parámetros de la conducta alimentaria (ingesta, frecuencia, duración, tiempo entre episodios y tasa local de alimentación), además se estudiaron los efectos de la administración de serotonina en animales pretratados con antagonistas selectivos de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} sobre la conducta alimentaria y la secuencia de saciedad conductual. La lesión de la inervación serotoninérgica del NPH incrementó los efectos hipofágicos de la administración de serotonina, específicamente de los carbohidratos. El bloqueo de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} del NPH previno tanto el efecto inhibitorio de la ingesta de carbohidratos como la aceleración de la secuencia de saciedad inducidos por la serotonina, aunque los patrones conductuales difirieron dependiendo del subtipo de receptor bloqueado. De los resultados se concluye que la inervación serotoninérgica del NPH cumple una función neuroreguladora del comportamiento alimentario y dicha acción requiere de la inervación serotoninérgica íntegra así como de la activación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}.

Palabras clave: serotonina, hipotálamo, conducta alimentaria

Abstract

The activation of serotonergic receptors is one of the main satiating signals in mammals; however, the specific role of different serotonergic receptors in the regulation of feeding behaviour has not been completely established yet. The present study was aimed to determine the specific role of the serotonergic transmission and the 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} serotonin subtype receptors of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) in the regulation of feeding behaviour. Male Wistar rats were used to analyze the effects of lesion of serotonergic innervation in the PVN on nutrient intake (protein, carbohydrates and fat) and feeding behaviour parameters (intake, frequency, duration, time between meals and local eating rate). The effects of intra-PVN injections of serotonin on feeding behaviour structure and on behavioural satiety sequence were analyzed in rats pretreated with selective 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} antagonists. Lesion of the PVN increased the hypophagic effects of intra-PVN injections of serotonin, affecting mainly carbohydrates consumption. Blockade of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} subtype receptors in the PVN prevented the serotonin-induced hypophagic effects on carbohydrates intake as well as the advancement of the behavioural satiety sequence. Moreover the behavioural patterns differed between groups, depending on the specific subtype receptor blocked. From the results it was concluded that the serotonergic innervation of the PVN performs a neuroregulatory function in the hypothalamic feeding behaviour control and that this function requires the integrity of the serotonergic system as well as the activation of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} receptors.

Keywords: serotonin, hypothalamus, feeding behaviour

Lista de abreviaturas

Siglas	Significado
5,6-DHT	5,6-dihidroxitriptamina
5,7-DHT	5,7-dihidroxitriptamina
5-HIAA	Ácido 5-hidroxiindolacético
5-HT	Serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptófano
5-MTF	5-metil tetrahidrofolato
8-OH-DPAT	8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin
AADC	Descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos
ACTH	Hormona adrenocorticotrópica
AMPc	3'-5' adenosina monofosfato cíclica
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> /Análisis de Varianza
ARNm	Ácido ribonucléico mensajero
ASP	Asparagina
CaCl	Cloruro de calcio
Ca ⁺⁺	Calcio
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
DA	Dopamina
DMH	Núcleo dorsomedial hipotalámico
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDTA	Ácido Etilen-Diamino-Tetra-Acético
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
HL	Hipotálamo lateral
HPLC-RF-EC	Cromatografía líquida de alta presión de fase

reversa y detección electroquímica (siglas en ingles)

ip	Intraperitoneal
KCl	Cloruro de potasio
KOH	Hidróxido de potasio
L-DOPA	L-3,4-dihidroxifenilalanina
MAO	Monoaminoxidasa
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina, éxtasis
MgSO ₄	Sulfato de magnesio
NA	Noradrenalina
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico hidrogenado
NaCl	Cloruro de sodio
NAD ⁺ /NADH	Adenina dinucleótida nicotinamida en forma oxidada/reducida
NaH ₂ PO ₄	Fosfato monosódico di-hidrogenado
NPH	Núcleo paraventricular hipotalámico
NPY	Neuropéptido Y
OSA	Ácido octanosulfónico
<i>p</i> -CPA	<i>p</i> -clorofenilalanina
PF	Región perifornical
RDC	Registro de duración continua
RS	RS-102221
SB	SB 216641
SNC	Sistema nervioso central
SQ	Núcleo supraquiasmático
VMH	Núcleo ventromedial hipotalámico
Vh	Vehículo
WAY	WAY 100635

Lista de figuras

Figura	Página
1. Representación esquemática del hipotálamo	5
2. Síntesis y metabolismo de la 5-HT	12
3. Distribución anatómica de las vías serotoninérgicas	14
4. Clasificación de los receptores a 5-HT	16
5. Factores pre y postsinápticos de la transmisión serotoninérgica	17
6. Sitio de canulación (corte coronal)	39
7. Efectos de la lesión sobre los contenidos basales de 5-HT y DA	42
8. Efectos de la administración de fluoxetina sobre el contenido de 5-HT	43
9. Efectos de la lesión sobre la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas	46
10. Efectos de la lesión sobre la frecuencia de los episodios alimentarios	48
11. Efectos de la lesión sobre la duración de los episodios alimentarios	49
12. Efectos de la lesión sobre la los tiempos entre episodios alimentarios	50
13. Efectos de la lesión sobre la tasa local de alimentación	51
14. Efectos de la lesión sobre la duración del consumo de agua, descanso y actividad	53
15. Efectos de la lesión sobre el peso corporal	54
16. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos	55
17. Efectos de la 5-HT sobre la secuencia de saciedad conductual	56
18. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con WAY 100635	57
19. Efectos de la administración de WAY 100635 y de la 5-HT en sujetos pretratados con WAY 100635 sobre la secuencia de saciedad conductual	58
20. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con SB 216641	59

21. Efectos de la administración de SB 216641 y de la 5-HT en sujetos pretratados con SB 216641 sobre la secuencia de saciedad conductual	59
22. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con RS-102221	60
23. Efectos de la administración de RS-102221 y de la 5-HT en sujetos pretratados con RS-102221 sobre la secuencia de saciedad conductual	61
24. Efectos de la 5-HT sobre la duración de la ingesta de agua en ratas pretratadas con RS-102221	62
25. Representación esquemática de los efectos de la 5-HT mediados por receptores 5-HT _{1A} en la ingesta de alimento	70
26. Representación esquemática de los efectos de la 5-HT mediados por receptores 5-HT _{1B} en la ingesta de alimento	72
27. Representación esquemática de los efectos de la 5-HT mediados por receptores 5-HT _{2C} en la ingesta de alimento	73

1. Introducción

Actualmente, en muchos países se ha observado un incremento importante en la incidencia de las patologías relacionadas con el comportamiento alimentario. Especialmente la obesidad constituye un problema serio, ya que se relaciona estrechamente con la aparición de otras enfermedades que incrementan directamente los costos de los servicios de salud y los índices de mortalidad. De este hecho surge la necesidad de estudiar con mayor profundidad los mecanismos responsables de la regulación de la conducta alimentaria para así desarrollar estrategias terapéuticas eficaces en el tratamiento de estas patologías.

El estudio sistemático del comportamiento alimentario inició formalmente desde los primeros años del siglo pasado con las investigaciones de Cannon y Washburn (1912), quienes propusieron que las contracciones gástricas producidas durante la ausencia de alimento en el tracto digestivo producían hambre. A partir de dichos estudios, surgieron diversas teorías que intentaron explicar cómo diferentes mecanismos y sistemas funcionan para regular un fenómeno tan complejo. Estas teorías han sugerido que el control alimentario se realiza exclusivamente en centros reguladores del hipotálamo o que depende de los niveles de glucosa en sangre, de la temperatura, de los almacenes de grasa corporal o de algún sistema homeostático o metabólico. A pesar de que estas propuestas han contribuido notablemente al avance de la investigación de la conducta alimentaria, ninguna de ellas ha podido explicar satisfactoriamente el comportamiento alimentario. El problema radica en que no se han logrado integrar los distintos componentes de la conducta, es decir, la alimentación es dependiente de la interacción de una amplia gama de variables (entre ellas las homeostáticas) que están complejamente organizadas y dicha interacción de ninguna forma puede ser explicada únicamente por un desbalance homeostático o energético.

Por otro lado, a principios de los 1980s se encontró evidencia de que el sistema serotoninérgico podría estar relacionado con las patologías alimentarias, ya que se observó que el agente antidepresivo fluoxetina tenía como efecto secundario la pérdida de peso, lo que llevó a diversos investigadores a explorar la relación entre el comportamiento alimentario y el sistema serotoninérgico (Cooper, Bloom & Roth, 1996; Hoyer, Hannon & Martin, 2002).

Los estudios que involucran a la 5-HT con la conducta alimentaria han proporcionado una buena aproximación para comprender cómo múltiples componentes farmacológicos, fisiológicos y anatómicos son integrados para la regulación funcional de una conducta tan compleja. En la mayoría de los modelos animales y humanos se ha destacado que los agonistas serotoninérgicos producen un efecto inhibitorio sobre la alimentación (Leibowitz & Alexander, 1998).

A pesar de que en los últimos años se ha generado una cantidad importante de conocimiento acerca de la participación del sistema serotoninérgico sobre la regulación de la conducta alimentaria, son pocos los estudios que proporcionan una visión integral de los componentes fundamentales de la conducta, de modo que las manipulaciones comúnmente empleadas dan cuenta únicamente de los cambios sobre la ingesta o sobre la duración de los episodios alimentarios, lo que no permite identificar cambios discretos de la conducta a lo largo del tiempo y, mucho menos, determinar si los perfiles asociados con la reducción de la ingesta de alimento son debidos a efectos indirectos (hiperactividad, sedación, náusea o alteraciones de la percepción de las propiedades físicas del alimento).

Inicialmente se propuso que la administración de fármacos que activan a los receptores serotoninérgicos o que mimetizan la actividad de la 5-HT en el SNC producen disminución de la ingesta de alimento, facilitando el desarrollo de la saciedad; mientras que los agentes que bloquean o disminuyen la transmisión serotoninérgica en el SNC incrementan el consumo de alimento. Posteriormente, se estableció que la 5-HT puede tener efectos supresores o estimulantes sobre la ingesta de alimento, particularmente en el arranque de la alimentación y selectivamente en el consumo de carbohidratos. Asimismo, el hipotálamo ha sido señalado como uno de los principales blancos de la actividad serotoninérgica relacionada con el control de la alimentación, donde el NPH parece jugar un papel preponderante, pues éste se encuentra densamente innervado por fibras serotoninérgicas originadas en el rafe medial (Leibowitz & Alexander, 1998; Lucki, 1998).

Las observaciones de que la actividad serotoninérgica influye sobre la conducta de alimentación ha fomentado el interés por el desarrollo de herramientas farmacológicas nuevas y más eficientes para el tratamiento de la obesidad, así como de trastornos tales como la anorexia y la bulimia. Este renovado interés se ha fortalecido aún más por diversos hallazgos clínicos, donde se han detectado disturbios de la actividad serotoninérgica en

personas que padecen estas patologías. A pesar de ello, el conocimiento actual sobre la fisiología y farmacología de los distintos subtipos de receptores a serotonina no ha sido suficiente para mejorar los tratamientos existentes, ya que la misma complejidad de los sistemas serotoninérgicos ha dificultado esta tarea. En consecuencia, ha aumentado la necesidad de comprender los mecanismos serotoninérgicos cerebrales involucrados con la regulación de la alimentación.

Con el propósito de contribuir a la comprensión de la participación que tiene la 5-HT hipotalámica sobre el control de la conducta alimentaria, en el presente estudio se analizó la función regulatoria de la serotonina en el NPH sobre la autoselección dietaria y los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria, además de determinar la participación de los subtipos de receptores a serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos inducidos por la administración de 5-HT en el NPH sobre el comportamiento alimentario y la secuencia de saciedad conductual de ratas. Así, en el presente trabajo, el estudio de la 5-HT y su relación con la conducta alimentaria se realizó en principio, evaluando los efectos de la lesión serotoninérgica sobre los contenidos extracelulares de serotonina del NPH y la respuesta de las fibras serotoninérgicas a la administración de fluoxetina mediante la técnica de microdiálisis cerebral y HPLC-EC; posteriormente, se evaluaron los efectos de la lesión serotoninérgica del NPH sobre la estructura de la conducta alimentaria de ratas. La estructura de la conducta alimentaria fue evaluada mediante registros conductuales de 30 minutos (durante los 10 días posteriores a la lesión) en condiciones de autoselección dietaria (carbohidratos, proteínas y grasas, disponibles en comederos separados). Finalmente, se examinó el efecto del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} (antagonistas WAY 100635, SB 216641 y RS 102221 respectivamente, 2µg/0.5µl) del NPH sobre la hipofagia y la aceleración de la secuencia de saciedad inducida por la administración de serotonina en el NPH.

2. Antecedentes

2.1 Hipotálamo y conducta alimentaria

El hipotálamo es la región cerebral de mayor importancia en la regulación de las funciones homeostáticas (margen dentro del cual las variables fisiológicas oscilan normalmente). Es una de las partes filogenéticamente más antiguas del SNC y, a pesar de los procesos evolutivos, su estructura se mantiene relativamente constante en los vertebrados terrestres, a diferencia con lo ocurrido en otras regiones como la neocorteza o el sistema límbico. Las lesiones en el hipotálamo ocasionan la supresión de las funciones homeostáticas: autonómicas, endocrinas y somáticas. El hipotálamo está compuesto por diversos núcleos neuronales que pueden ser localizados entre el mesencéfalo y la región basal del telencéfalo (corteza límbica). Todos los grupos nucleares hipotalámicos se localizan en la parte ventral del diencefalo, por debajo del tálamo; caudalmente, el hipotálamo limita con el mesencéfalo y, rostralmente, con la lámina *terminalis*, la comisura anterior y el quiasma óptico; lateralmente al hipotálamo se encuentran el tracto óptico, la cápsula interna y estructuras subtalámicas (Cardinali, 1992; Ninomiya, 1991).

A pesar de que el hipotálamo constituye tan sólo un pequeño porcentaje de la masa cerebral total (menos del 1% en humanos), contiene un gran número de circuitos que regulan funciones vitales como la temperatura, la tasa cardiaca, la presión arterial, la osmolaridad sanguínea, además de la ingesta de agua y alimento. Anatómicamente, el hipotálamo puede ser dividido en dirección lateral a medial en las regiones *lateral*, *medial* y *periventricular*, en dirección anterior a posterior en las regiones anterior, media y posterior. La región *lateral* contiene fibras largas que proyectan a la médula espinal y a la corteza cerebral, además de numerosas fibras que forman parte de vías multisinápticas ascendentes y descendentes, contribuyendo de manera importante con el sistema de fibras del haz medial del cerebro anterior, que es el principal tracto que corre a través del hipotálamo lateral y continúa rostralmente para terminar en la porción telencefálica. La región *medial* está separada de la región lateral por las columnas descendentes del fórnix y contiene a la mayoría de los núcleos hipotalámicos bien definidos, incluyendo a los núcleos supraóptico y supraquiasmático en la región anterior, los núcleos dorsomedial, ventromedial y paraventricular en la región media, el núcleo posterior y los cuerpos mamilares en la porción posterior. La región *periventricular* está constituida por los grupos celulares inmediatamente delimitados por el tercer ventrículo (Kupferman, 1991a) (Figura 1).

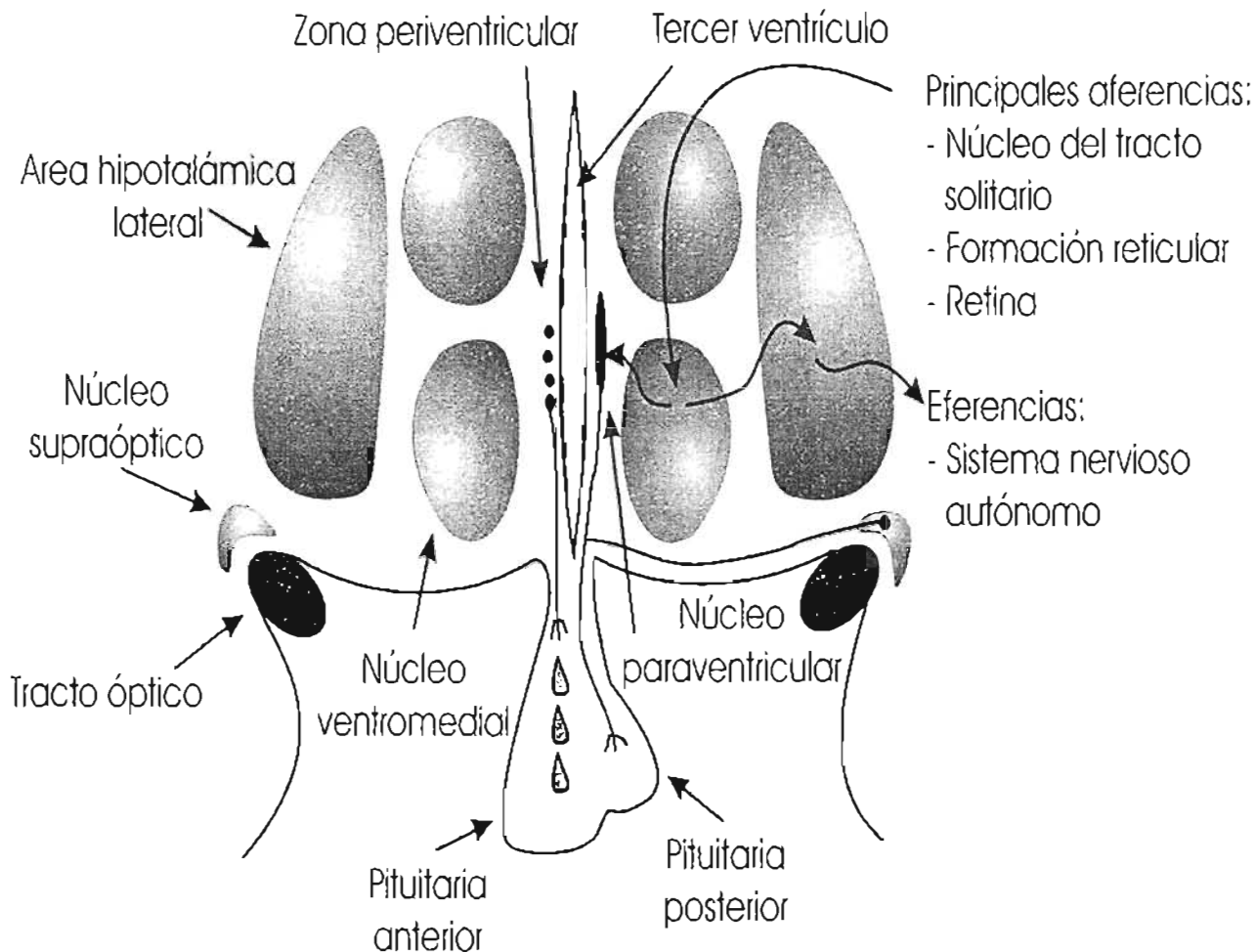


Figura 1. Representación esquemática (plano frontal) del hipotálamo. Modificado de Kandel, et al. (1991).

En general, cada uno de los núcleos hipotalámicos contribuye a una variedad de funciones, siendo esto más evidente en el núcleo paraventricular, estructura altamente diferenciada que contiene pequeñas regiones de células neuroquímicamente especializadas. De acuerdo a sus patrones de proyección, las neuronas hipotalámicas pueden ser divididas en tres grupos: las que proyectan hacia la hipófisis posterior, las que lo hacen hacia la eminencia media y, finalmente, aquellas que proyectan hacia componentes del sistema nervioso autónomo. La mayoría de los sistemas de fibras son bidireccionales, las proyecciones de y hacia las regiones hipotalámicas caudales están contenidas en el haz medial del cerebro anterior, el tracto mamilotegmental y el fascículo longitudinal dorsal; las estructuras rostrales del hipotálamo están interconectadas por medio del tracto mamilotalámico, el fórnix y la estria *terminalis* (Kupferman, 1991a).

Con respecto del control hipotalámico de la alimentación, algunos estudios clásicos proporcionaron la evidencia inicial de la participación de estructuras hipotalámicas relativamente específicas en la regulación del comportamiento alimentario. En estos estudios se señaló al hipotálamo ventromedial como responsable de la terminación de la alimentación, ya que al estimular dicha región se observaba que los sujetos disminuían su consumo de alimento, mientras que la destrucción de la misma región producía el efecto opuesto (hiperfagia) (Hetherington & Ranson, 1942; citados en Kupferman, 1991b). Por otro lado, Anand y Brobeck (1951; citados en Kupferman, 1991b) reportaron que la estimulación del hipotálamo lateral producía que los sujetos iniciaran nuevos episodios alimentarios y, al contrario, la lesión bilateral de la porción lateral hipotalámica producía afagia, lo que sugería que el hipotálamo lateral era necesario para que la alimentación iniciara. Originalmente los resultados anteriores fueron interpretados de manera tal, que se sugería que el hipotálamo lateral contenía al "centro del hambre" y el hipotálamo ventromedial al "centro de la saciedad".

Tal conclusión, conceptualmente atractiva, no es del todo correcta pues es bien sabido que las manipulaciones experimentales realizadas en estos estudios clásicos involucraban alteraciones adicionales en codificación de la información sensorial, en el equilibrio del peso corporal, interrupción de las fibras de paso (principalmente dopaminérgicas) y en el balance hormonal, afectando indirectamente a la conducta alimentaria (Grossman, 1976; Kupferman, 1991b). No obstante, dichos experimentos sentaron las bases de lo que posteriormente constituiría la investigación exhaustiva de las estructuras hipotalámicas que regulan a la conducta alimentaria.

Diversos investigadores identificaron una serie de núcleos hipotalámicos con participación importante en la regulación de la conducta alimentaria. Entre los más representativos, se encuentran el NPH (Blundell, 1984), el SQ (Leibowitz, Weiss & Suh, 1990), el VMH (Leibowitz, 1980), el DMH (Rogers, McKibbin & Williams, 1991), la PF (Hoebel & Leibowitz, 1981) y el HL (McCabe & Leibowitz, 1984). Estudios posteriores establecieron que de todos los anteriores, el NPH es uno de los componentes más importantes para la regulación de la ingestión de alimento, pues se ha encontrado que en esta región convergen distintas vías neurales que influyen sobre la regulación de la homeostasis energética y sobre la alimentación: axones que se originan en el núcleo arqueado y que contienen NPY (un potente agente inductor de la alimentación), inervación del hipotálamo lateral con orexina

(hormona que induce la ingestión de alimento), axones serotoninérgicos originados en el núcleo del rafé (una de las principales influencias inhibitorias de la alimentación), además de recibir inervación de otras regiones con distintos neurotransmisores y hormonas que modifican a la alimentación (galanina, melanocortina, noradrenalina, péptidos opioides e incluso endocannabinoides) (King & Williams, 1998; Yun, *et al.*, 2005; Hagemann, *et al.*, 1998; Williams, *et al.*, 2001; Verti, McGregor & Mallet, 2005). Así, el NPH es considerado un importante centro integrador necesario para la regulación del comportamiento alimentario y el proceso de la saciedad (Stratford, 2005; Fletcher, Currie, Chambers & Coscina, 1993; Leibowitz, 1993).

2.2 Serotonina y conducta alimentaria

La conducta alimentaria refleja la interacción entre el estado fisiológico del organismo y las condiciones ambientales. Blundell y Hill (1986) propusieron un modelo en el que las variables fisiológicas incluían el balance de varios neuropéptidos y neurotransmisores, el estado metabólico, la tasa metabólica, la condición del tracto gastrointestinal, la cantidad de tejido de almacenamiento, así como los receptores para el gusto y el olfato. En este modelo, las condiciones ambientales incluyen a las características del alimento (sabor, textura, novedad, accesibilidad, composición nutricional) y otras condiciones externas (temperatura ambiente, presencia de otras personas y los factores estresantes). En otras palabras, la formulación de Blundell y Hill consiste en que la capacidad de controlar la ingesta de nutrimentos, para satisfacer necesidades corporales, requiere de mecanismos especiales para armonizar la información fisiológica del medio interno con la información de las condiciones del ambiente.

Algunas de las regiones hipotalámicas participan en el control del comportamiento alimentario modulando interacciones entre el sistema saciador periférico (hormonas gastrointestinales y pancreáticas) y una amplia red neural que afecta a la alimentación desde el cerebro. Desde la perspectiva de Blundell y Hill (1986), con la administración de agonistas o antagonistas de los neurotransmisores que se encuentran en el hipotálamo no sólo se activa o bloquea un sistema particular de receptores que inducen respuestas específicas, sino que también se influye sobre los procesos motivacionales (hambre, apetito, saciedad y satisfacción) (Blundell & Hill, 1986). Las capacidades perceptivas (visión, gusto y olfato) permiten al organismo identificar las características del alimento y así desencadenar

mecanismos para vincular las consecuencias bioquímicas del alimento ingerido con la estructura de la forma consumida. Así, el control de la selección de los alimentos debe implicar respuestas condicionadas e incondicionadas (Blundell & Hill, 1987).

Por otro lado, se ha mostrado que la inervación serotoninérgica al hipotálamo se origina en el núcleo del rafé medial y constituye una de las principales señales saciatorias en los mamíferos (Cooper, *et al.*, 1996; Kitchener & Dourish, 1994; Klodzinska & Chojnacka-Wojcik, 1990; Leibowitz, *et al.*, 1990; Leibowitz & Alexander, 1998). Los efectos de la activación de los receptores a serotonina produce la disminución de la ingesta de alimento, mientras que los antagonistas o depletors la estimulan (Breisch, Zemlan & Hoebel, 1976; Clineschmidt, McGuffin & Werner, 1974; Saller & Stricker, 1976). Asimismo, se ha reportado que los efectos hipofágicos de la 5-HT son selectivos para el consumo de carbohidratos (Wurtman & Wurtman, 1977; Wurtman & Wurtman, 1979a; Wurtman & Wurtman, 1979b).

De la misma forma, gran parte del conocimiento de la anatomía y fisiología de las estructuras neurales relacionadas con la conducta alimentaria se ha derivado de manipulaciones farmacológicas y del uso de agentes tóxicos que destruyen a las neuronas serotoninérgicas (Baumgarten & Bjorklund, 1976; Berge, Fasmer, Tveiten & Hole, 1985; Wolf & Bobik, 1988; Pare, Descarries & Wiklund, 1987). La lesión del sistema serotoninérgico producida por los análogos serotoninérgicos 5,6-DHT y 5,7-DHT ha sido empleada como una herramienta que permite obtener información específica (Baumgarten & Bjorklund, 1976). La potencia neurotóxica de la 5,7-DHT para las neuronas serotoninérgicas es alta y su efecto neurotóxico no específico en neuronas no monoaminérgicas es menor (Yang & Pan, 1999). Se ha reportado que en ratas tratadas con 5,7-DHT disminuye de manera importante la capacidad del 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}) de revertir el efecto hipofágico inducido por la administración de fenfluramina y fluoxetina (Currie, Coscina & Fletcher, 1998).

Así, el uso de la 5,7-DHT como una herramienta de estudio para analizar las consecuencias funcionales de la lesión de neuronas 5-HT ofrece ventajas en comparación con la 5,6-DHT. Los mecanismos sugeridos para la acción de la 5,7-DHT, consisten en la generación de radicales oxígeno y la unión irreversible de derivados quinonélicos, formados en la oxidación de la neurotoxina (Del Río, Pérez-Otaño, Herrero & Obeso, 1993), lo que trae como resultado la reducción de las concentraciones de 5-HT entre un 60% y 80%, dependiendo de las dosis y de las regiones anatómicas en que se administra (Lehmann, *et*

al., 2000; Fletcher, Korth & Chambers, 1999; Hall, Devries, Fong, Huang & Pert, 1999; Yang & Pan, 1999). Tradicionalmente, se ha propuesto que la neurotoxina 5,7-DHT produce sus efectos al ser introducida a la terminal axónica mediante el mecanismo de captura acoplado al transportador para serotonina (Del Río, *et al.*, 1993), sin embargo, un reporte reciente (Choi, Jonak & Fernstrom, 2004) sugiere que el mecanismo mediante el cual la 5,7-DHT depleta la 5-HT cerebral no depende del transportador para serotonina, ya que inhibidores de la captura de 5-HT (fluoxetina y clorimipramina) no previenen la disminución de las concentraciones de 5-HT producida por la 5,7-DHT. A pesar de que aún existe controversia sobre el mecanismo por medio del cual la 5,7-DHT destruye a las fibras serotoninérgicas, la información con que hasta ahora se cuenta indica que esta toxina es selectiva y potente para las fibras serotoninérgicas (Yang & Pan, 1999).

2.3 Sistema serotoninérgico

A mediados del siglo XIX, algunos científicos descubrieron que una sustancia contenida en el suero era capaz de producir potentes contracciones del músculo liso, pero no fue sino hasta después de cien años, que los científicos de la clínica Cleveland lograron aislar dicha sustancia, misma que estaba directamente relacionada con el incremento de la presión sanguínea (Rapport, Green & Page, 1948; citados en Feldman, Meyer & Quenzer, 1997). Paralelamente, investigadores italianos caracterizaron una sustancia contenida en altas concentraciones en las células enterocromafines de la mucosa intestinal, agente que producía contracciones de músculo liso, particularmente en el intestino (Erspamer, 1940; citado en Feldman, *et al.*, 1997). El material aislado del torrente sanguíneo fue denominado "serotonina", mientras que el aislado del tracto digestivo fue denominado "enteramina". Ambos agentes fueron purificados y cristalizados, encontrándose que eran la misma sustancia, 5-hidroxitriptamina (Erspamer, 1952; citado en Feldman, *et al.*, 1997). Posteriormente, la 5-HT fue preparada sintéticamente con todas las propiedades biológicas de la sustancia que naturalmente se producía en diversos organismos (mamíferos y no mamíferos) (Cooper, Bloom & Roth, 1996).

Cuando se observó que la administración de reserpina, una sustancia tranquilizante que depleta los contenidos de 5-HT cerebral, producía una profunda depresión conductual, se originaron teorías que sugerían que algunas enfermedades psiquiátricas podrían relacionarse con deficiencias en la síntesis de la 5-HT en el cerebro (Cooper, *et al.*, 1996).

Posteriormente, se realizaron trabajos que proporcionaron mayor información sobre la relación que existe entre algunos trastornos psiquiátricos y alteraciones del funcionamiento "típico" de la 5-HT. Por ejemplo, se ha encontrado que en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer existe una pérdida de neuronas serotoninérgicas (Cross, 1988). También se ha reportado que la disminución de la liberación de 5-HT en el hipocampo inducida por la estimulación de receptores serotoninérgicos somatodendríticos del núcleo del rafe (5-HT_{1A}, principalmente) produce efectos ansiolíticos (File, González & Andrews, 1996).

En general, se ha encontrado relación entre la 5-HT y una gran variedad de conductas, condiciones clínicas y la acción de algunas drogas psicoactivas. Estos hallazgos pueden constituir un reflejo de la diversidad de los receptores serotoninérgicos y su amplia distribución en distintas poblaciones neuronales y sistemas efectores (Cooper, *et al.*, 1996; Casper, 1998; Verge & Calas, 2000).

2.3.1 Biosíntesis y metabolismo de la serotonina

Se ha reportado que la 5-HT puede ser sintetizada por células que no son neuronas (plaquetas, mastocitos y células enterocromafines) y que existen grandes cantidades de 5-HT fuera del SNC. Sin embargo, debido a que la 5-HT no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, resulta obvio que la 5-HT cerebral es exclusivamente sintetizada por células cerebrales, de hecho, tan sólo el 1% ó 2% de toda la 5-HT del organismo se localiza en el cerebro (Cooper, *et al.*, 1996).

Para el caso de las células cerebrales, el primer y más importante paso es la captura del aminoácido triptófano, ya que es el principal sustrato para la síntesis de 5-HT. El triptófano plasmático se obtiene principalmente de la dieta y mediante un proceso activo de captura se facilita la entrada de éste hacia el cerebro. Este proceso de "acarreo" está abierto a la competencia con otros aminoácidos neutros, incluyendo aminoácidos aromáticos (tirosina y fenilalanina), de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) y otros (metionina e histidina). La naturaleza competitiva de estos aminoácidos neutros implica que la concentración de triptófano cerebral es determinada no sólo por su concentración plasmática, sino también por la concentración de los otros aminoácidos neutros que compiten por su transporte hacia el cerebro. Así, el contenido protéico y de carbohidratos de la dieta pueden influir drásticamente sobre las concentraciones de triptófano cerebral y por lo

tanto sobre la síntesis de 5-HT, esto, mediante la modificación de los patrones de las concentraciones de aminoácidos plasmáticos (Cooper, *et al.*, 1996; Feldman, Meyer & Quenzer, 1997).

El siguiente paso de la vía sintética es la hidroxilación del triptófano en la posición 5 para formar 5-hidroxitriptófano (Figura 2). Esta reacción requiere de la enzima triptófano hidroxilasa y el pH óptimo para que ocurra la hidroxilación es de 7.2. Adicionalmente, se requiere de la presencia del cofactor tetrahidrobiopterina y de oxígeno molecular para reducirlo. El contenido plasmático normal de triptófano y su transporte hacia el cerebro mantienen a la enzima normalmente insaturada mientras exista disponibilidad del sustrato. En la síntesis de la 5-HT, la hidroxilación del triptófano puede ser específicamente bloqueada por la *p*-CPA, droga que compite con el triptófano y se une irreversiblemente a la enzima, por lo que se requiere de la síntesis de nuevas moléculas de triptófano hidroxilasa para recuperar la actividad inhibida por la *p*-CPA (Cooper, *et al.*, 1996).

Una vez que el triptófano ha sido hidroxilado, el 5-HTP es rápidamente descarboxilado para convertirse en 5-HT. La enzima responsable de esta reacción es la AADC, misma que presumiblemente participa en la descarboxilación de la L-DOPA en neuronas catecolaminérgicas.

La ruta más efectiva para continuar el metabolismo de la 5-HT es la desaminación por acción de la MAO. El producto de esta reacción, el 5-hidroxiacetaldehído, puede ser posteriormente oxidado a ácido 5-hidroxiacético o reducido a 5-hidroxitriptofol, dependiendo de la proporción de NAD⁺/NADH contenida en el tejido.

El cerebro contiene una enzima que cataboliza la *N*-metilación de la 5-HT, usando *S*-adenosil-metionina como donador metil, aunque existe una enzima *N*-metiladora que únicamente utiliza 5-metil tetrahidrofolato (5-MTF) como donador metil (Cooper, *et al.*, 1996).

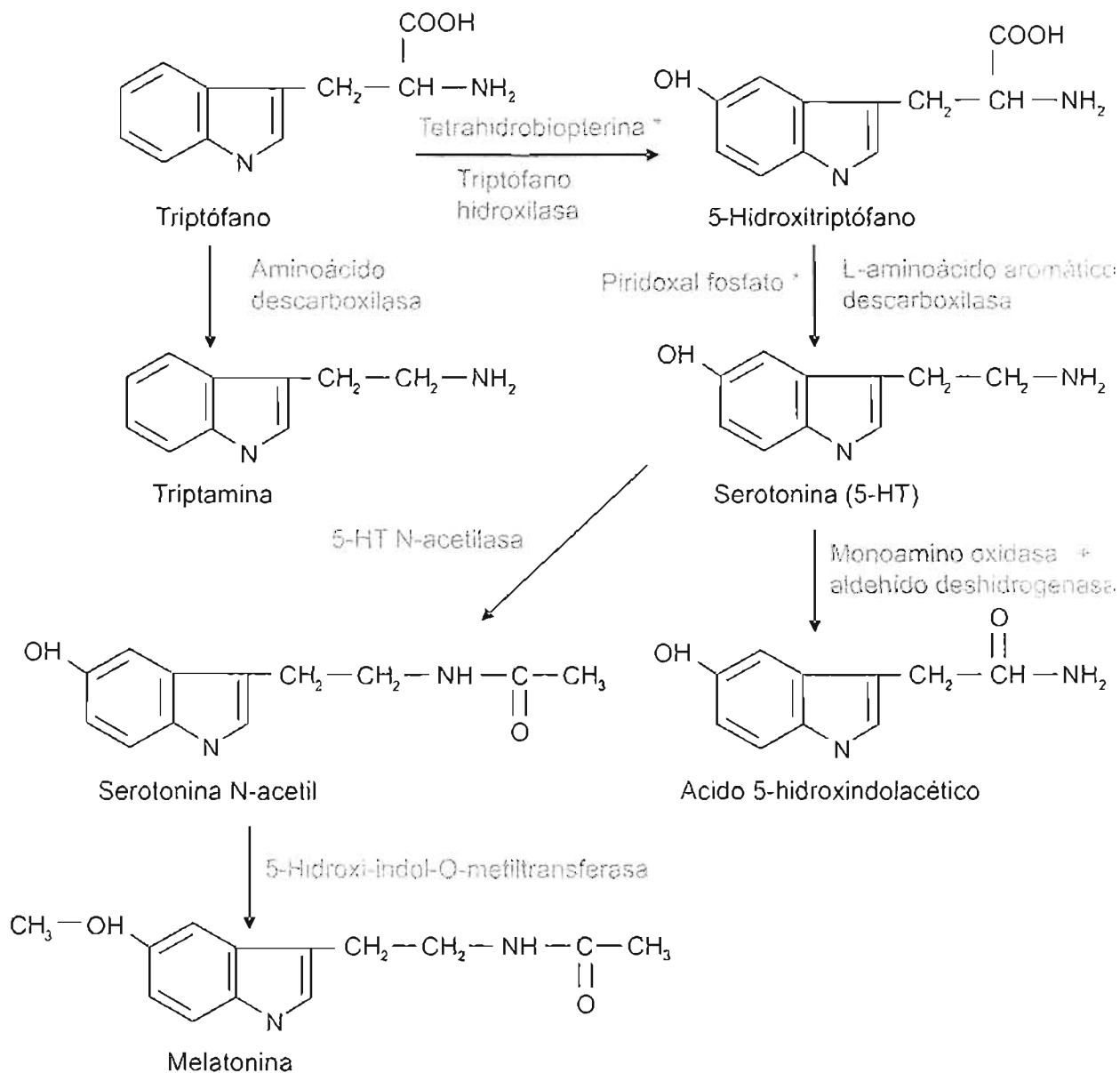


Figura 2. Representación esquemática de la síntesis y metabolismo de la serotonina (Cooper, et al., 1996).

2.3.2 Anatomía del sistema serotoninérgico

A pesar de que inicialmente la neurofarmacología asumía que la serotonina cerebral funcionaba como un transmisor, tuvieron que pasar más de 10 años para que se estableciera con certeza que la 5-HT está contenida en circuitos nerviosos específicos. Gracias a la introducción de métodos histológicos como la inmunohistoquímica, se permitió observar directamente ramificaciones serotoninérgicas en el sistema nervioso central. Posteriormente,

se logró mejorar el mapeo de las fibras serotoninérgicas por medio de la aplicación combinada de fluorescencia histoquímica y del trazado retrógrado de células serotoninérgicas desde campos terminales (Cooper, *et al.*, 1996).

Actualmente se sabe que gran parte de las neuronas serotoninérgicas se encuentran organizadas en distintos grupos celulares localizados en el mesencéfalo, en el puente y en la médula oblongada, aunque se han identificado inmunohistoquímicamente células serotoninérgicas en el área póstrema, en el *locus coeruleus* caudal, en la periferia de los núcleos interpedunculares (Cooper, *et al.*, 1996), así como en el hipotálamo dorsomedial (Frankfurt, Lauder & Azmitia, 1981). Los principales grupos celulares serotoninérgicos fueron originalmente descritos por Dahlström y Fuxe (1964; citados en Verge & Calas, 2000), quienes identificaron 9 grupos celulares (B1 a B9) (Figura 3). Más recientemente, la nomenclatura de los distintos grupos celulares serotoninérgicos siguió el criterio neuroanatómico clásico, denominándoseles núcleos del rafé. De acuerdo con dicha nomenclatura, los grupos celulares serotoninérgicos pueden ser divididos en dos sistemas, el rostral y el caudal. El primer sistema incluye al núcleo del rafé medial (B5 y parte de B8), al núcleo del rafé dorsal (B6 y B7) y al núcleo caudal lineal o central superior (B9 y parte de B8). El sistema nuclear serotoninérgico caudal incluye al núcleo del rafé pálido (B1), al núcleo del rafé oscuro (B2 y B4) y al núcleo del rafé magno (B3) (Törk, 1990; citado en Feldman, *et al.*, 1997).

Sobre los patrones de inervación de los grupos celulares serotoninérgicos, se ha descrito que los más caudales proyectan ampliamente a otros grupos celulares de la médula oblongada y a la médula espinal, los más rostrales proporcionan extensa inervación serotoninérgica al telencéfalo, diencefalo y cerebelo (Figura 3) (Cooper, *et al.*, 1996; Feldman, *et al.*, 1997; Kupferman, 1991a). Gran parte de la inervación serotoninérgica que se origina en los núcleos del rafé dorsal y medial se superpone con regiones inervadas por neuronas noradrenérgicas y dopaminérgicas, aunque existen algunas excepciones, por ejemplo el núcleo del rafé medial, que proporciona la inervación serotoninérgica al sistema límbico y, el núcleo del rafé dorsal, que proyecta con gran densidad al neocórtex, a las cortezas cerebral y cerebelar y al tálamo (Cooper, *et al.*, 1996).

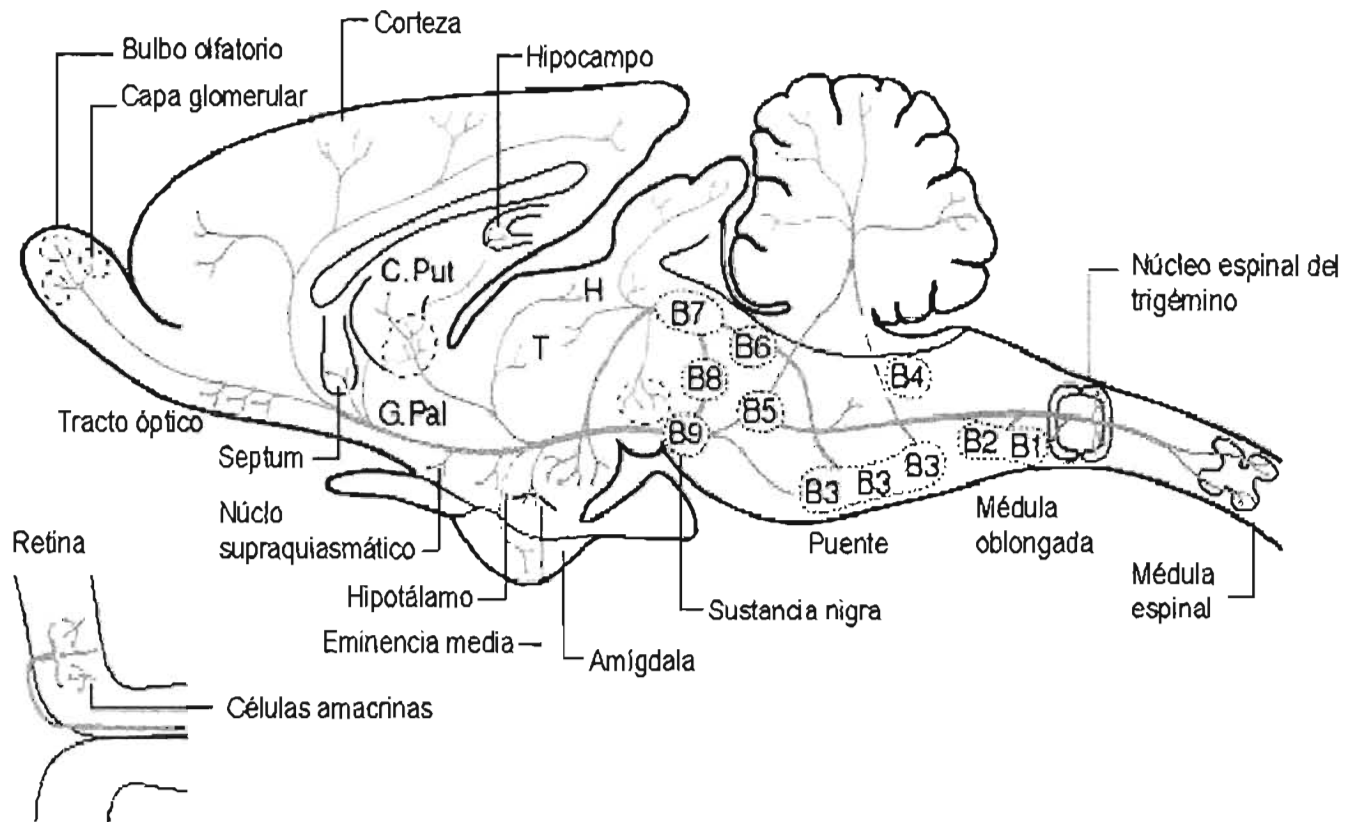


Figura 3. Representación esquemática de la distribución de las principales vías serotoninérgicas en el SNC de ratona (Feldman, et al., 1997). De los 9 grupos celulares descritos por Dahlström y Fuxe (1964; citados en Verge & Calas, 2000), los ubicados en el raquí dorsal y medial (B5-B9) proporcionan gran parte de la inervación serotoninérgica al hipotálamo.

El hipotálamo, al estar localizado en la región diencefálica del cerebro, recibe inervación serotoninérgica de los grupos celulares rostrales del mesencéfalo (B7-B9). Las regiones hipotalámicas posterior, ventromedial, periventricular, supraquiasmática y supraóptica son invadidas por los núcleos del raquí dorsal y medial (Willoughby & Blessing, 1987; Sawchenko, Swanson, Steinbusch & Verhofstad, 1983; Feldman, et al., 1997); aunque se ha reportado que los núcleos hipotalámicos paraventricular y supraóptico también podrían estar invadidos por terminales serotoninérgicas originadas en el núcleo del raquí magno (B3) (Larsen, Hay-Schmidt, Vrang & Mikkelsen, 1996).

La corteza cerebral de diversos mamíferos está invadida por dos tipos de terminales axónicas serotoninérgicas que morfológicamente son diferentes. El primer sistema de inervación está constituido por axones finos que se originan en el raquí dorsal y tienen pequeñas varicosidades a lo largo de todo su trayecto; el segundo sistema, está formado por axones gruesos que se originan en el raquí medial y están moldeados en su terminal por amplias varicosidades esféricas. Estos dos tipos de fibras serotoninérgicas tienen

distribuciones laminares y regionales distintas, además de que son diferencialmente sensibles a los efectos neurotóxicos de ciertos derivados de la anfetamina, incluyendo el MDMA, referido más comúnmente como "éxtasis". Los axones más finos tienen mayor sensibilidad a los efectos neurotóxicos de la MDMA que los axones más gruesos, ya que la pérdida de los primeros por efecto de la MDMA puede durar meses e incluso producir daños permanentes (Cooper, *et al.*, 1996).

2.3.3 Receptores a serotonina

Para comprender la forma en que un neurotransmisor funciona dentro de una determinada área del sistema nervioso, es necesario identificar los sitios a los que se une y los mecanismos de transducción asociados a dicha unión, en otras palabras, el funcionamiento de sus receptores (Verge & Calas, 2000). La historia de los receptores serotoninérgicos inició con los trabajos de Gaddum y Picarelli (1957). En estos trabajos se describieron dos subtipos de receptores a serotonina y, basados en la capacidad de ser bloqueados por la dibenzilina y la morfina, fueron denominados receptores a serotonina tipo "D" y "M" respectivamente. Con el desarrollo de las técnicas que estudian a las interacciones receptor-ligando (del Inglés *binding*) y la progresiva disponibilidad de agentes cada vez más selectivos, se posibilitó la caracterización de otros subtipos de receptores serotoninérgicos (Verge & Calas, 2000). Más recientemente, se han identificado un gran número de genes que codifican para algunos de los subtipos de receptores (Hoyer & Martin, 1997) y se han descrito las correspondientes distribuciones de ARNm (Boess & Martin, 1994). Además, la disponibilidad de un creciente número de anticuerpos específicos, ha permitido la realización de estudios de localización de los receptores serotoninérgicos en los diferentes tipos celulares.

Los receptores a serotonina hasta ahora descritos han sido asignados a una de siete familias (5-HT₁₋₇), conformando así, un total de 16 subtipos de receptores (en mamíferos) que estructural y farmacológicamente poseen propiedades diferentes. La mayoría de los receptores clasificados en las familias de receptores serotoninérgicos tienen siete dominios transmembranales y son receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G (proteína que tiene la capacidad para unir nucleótidos de guanina), excepto los subtipos de receptores de la familia 5-HT₃, que están acoplados a un canal iónico (Barnes & Sharp, 1999). En la figura 4 se presentan las distintas familias, los subtipos de receptores que han sido incluidos en

ellas y en resumen, las vías de transducción de señales asociados a cada uno de éstos. En el cerebro intacto, la función de los receptores puede ser asociada inequívocamente a respuestas fisiológicas específicas (Figura 5), influyendo tanto en la modulación de la actividad neuronal y la liberación de neurotransmisores, como en la expresión y síntesis de genes y proteínas específicas.

RECEPTORES A SEROTONINA

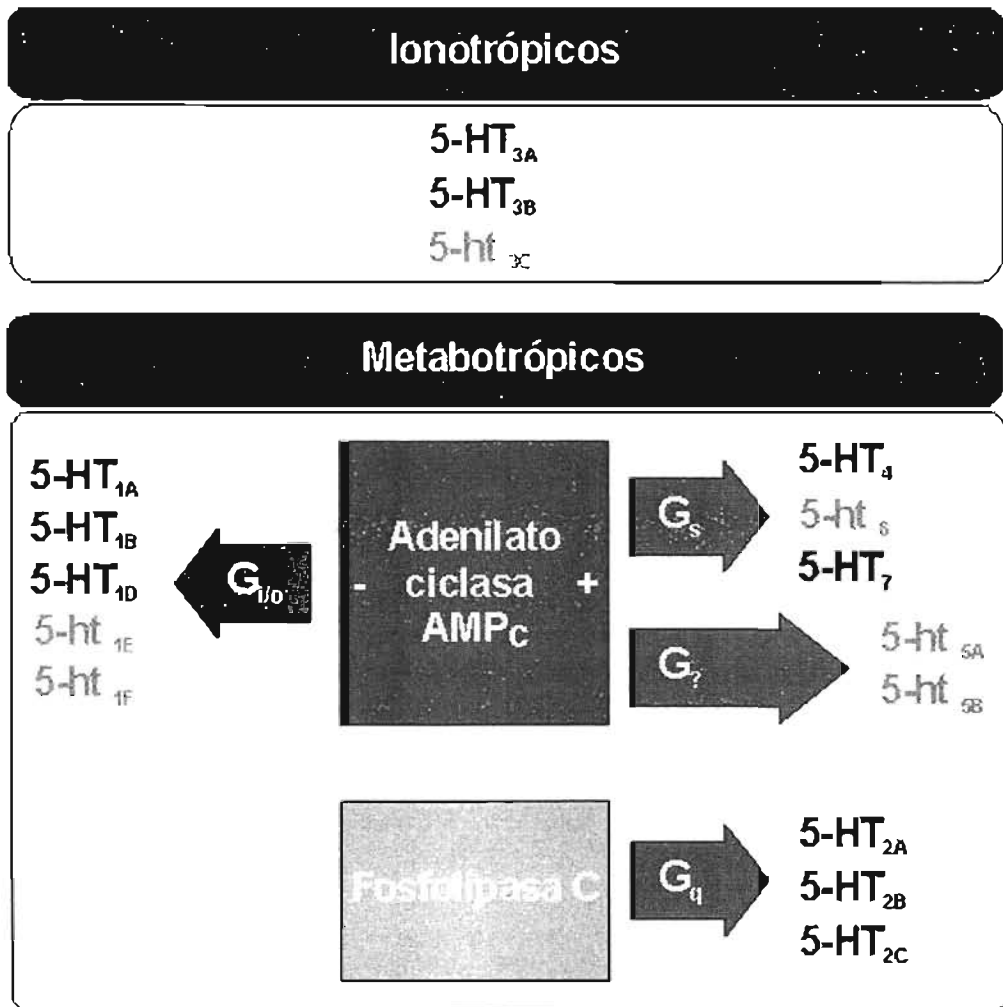


Figura 4. Representación gráfica de la actual clasificación de los receptores a serotonina. Los subtipos de receptor representados con minúsculas y en color gris, son aquellos que no han sido caracterizados funcionalmente en sistemas in vivo (Hoyer, Hannon & Martin, 2002).

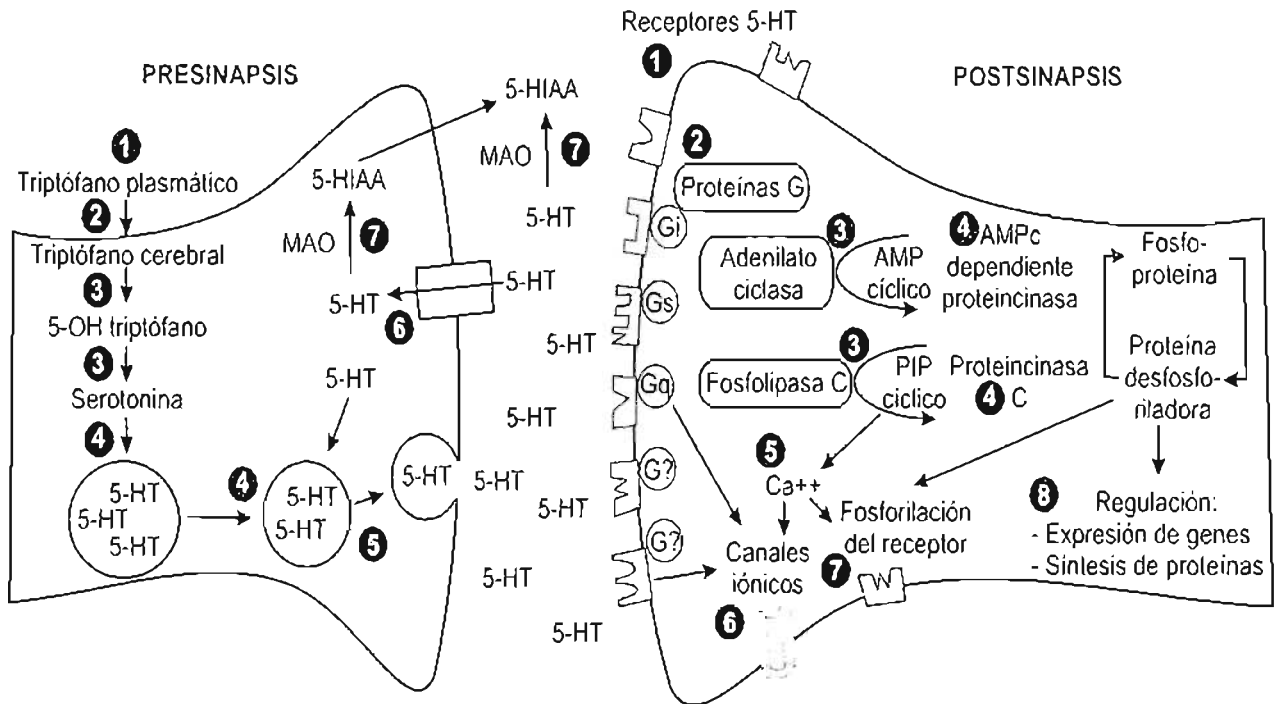


Figura 5. Representación esquemática de los factores pre y postsinápticos de la transmisión serotoninérgica. Factores presinápticos: 1) concentración plasmática de triptófano, 2) transportación al SNC, 3) síntesis de 5-HT, 4) almacenamiento, 5) liberación, 6) captura y 7) degradación; factores postsinápticos: 1) unión a receptores serotoninérgicos, 2) acople de los receptores a las proteínas G, 3) sistemas generadores de segundos mensajeros, 4) sistemas de fosforilación de proteínas, 5) Liberación de calcio, 6) regulación de canales iónicos, 7) regulación de la función de los receptores, 8) regulación de la expresión de genes y síntesis de proteínas. Modificado de Sanders-Bush y Canton (2000).

De los diversos subtipos de receptores a serotonina que han sido caracterizados y clasificados, se tiene evidencia de que algunos subtipos participan en la regulación de la conducta de alimentación (Conn & Sanders-Bush, 1987; Hoyer, *et al.*, 1994; Peroutka, 1988). Estos subtipos de receptores incluyen a los de las familias 5-HT₁ y 5-HT₂, específicamente los 5-HT_{1A} (Dourish, *et al.*, 1989; Pedigo, *et al.*, 1981); 5-HT_{1B} (Peroutka, 1986); 5-HT_{1C} (formalmente 5-HT_{2C}; [Hoyer, *et al.*, 1985]; 5-HT_{1D} (Heuring & Peroutka, 1987); 5-HT₂ (formalmente 5-HT_{2A}; [Wilkinson & Dourish, 1991]), además de los únicos receptores serotoninérgicos ionotrópicos, los 5-HT₃ (Peroutka, 1988). Diversos reportes coinciden en que la activación de los receptores 5-HT_{1/2} localizados en la porción media del hipotálamo produce un efecto hipofágico (Hoyer, 1988; Leibowitz & Jhanwar-Uniyal, 1989; Sawchenko, *et al.*, 1983) y el NPH juega un papel preponderante en dicha actividad regulatoria (Leibowitz & Alexander, 1998; Lucki, 1998).

Igualmente se ha demostrado que la actividad del sistema serotoninérgico puede tener efectos tanto supresores como estimulantes de la alimentación, de forma que la activación selectiva de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} produce los efectos supresores de la ingesta de alimento (Halford & Blundell, 1996; Hewitt, Lee, Dourish & Clifton, 2002; Simansky, 1995), mientras que la activación de los receptores 5-HT_{1A} median la hiperfagia (Dourish, *et al.*, 1985; Ebenezer, 1992; Leibowitz & Alexander, 1998).

Para el caso específico de este trabajo, únicamente se hará mención de algunas particularidades de los receptores subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}, fundamentándose esto, en la evidencia existente de que dichos receptores están fuertemente vinculados a los efectos de algunas drogas serotoninérgicas sobre el comportamiento alimentario (Dourish, Clark, Fletcher & Iversen, 1989; Lucki, 1998; Pedigo, Yamamura & Nelson, 1981; Peroutka, 1986; Hoyer, Engel & Kalkman, 1985; Huring & Peroutka, 1987; Wilkinson & Dourish, 1991; Simansky & Vaidya, 1990).

2.3.3.1 Receptores 5-HT_{1A}

Estructura. Los receptores 5-HT_{1A} (rata, ratón y humano) fueron los primeros receptores a serotonina que fueron completamente secuenciados. Los receptores 5-HT_{1A}, tanto de humanos como de ratas, fueron identificados por revisión de la librería genómica para las secuencias homólogas de los receptores β₂-adrenérgicos. La investigación de las formas mutantes del receptor ha establecido un sólo residuo aminoácido en el séptimo dominio transmembranal (Asn 385), lo que le confiere alta afinidad del receptor para ciertos ligandos de los receptores β-adrenérgicos. El receptor 5-HT_{1A} de rata (422 aminoácidos) tiene un 89% de homología con el receptor humano, además de que el gen que lo codifica carece de intron y tiene una estructura terciaria típica de siete dominios transmembranales, con sitios de glicosilación y fosforilación (Barnes & Sharp, 1999).

Distribución. La distribución de los receptores 5-HT_{1A} ha sido mapeada extensamente por autorradiografía usando una amplia variedad de ligandos, que incluyen al [³H]-8-OH-DPAT (Glennon, Dukat & Westkaemper, 2000), a la [³H]-5-HT, la [³H]-ipsapirona, el [¹²⁵I]-BH-8-MeO-N-PAT, la [¹²⁵I]-p-MPPI y la [³H]-WAY 100635 (Barnes & Sharp, 1999).

Diversos estudios han concluido que las regiones que expresan mayor densidad de sitios de unión y alta expresión de ARNm de los receptores 5-HT_{1A} son las regiones límbicas, el hipocampo, el *septum* lateral, algunas regiones corticales (particularmente el giro del cíngulo y la corteza entorrinal), el núcleo del rafe (dorsal y medial), así como el hipotálamo, el *locus ceruleus* caudal y el núcleo laterodorsal tegmental (Barnes & Sharp, 1999; Glennon, *et al.*, 2000). Las neuronas serotoninérgicas, particularmente las del núcleo del rafe, pueden ser inhibidas por su propio transmisor, debido a que en la cercanía del soma los receptores 5-HT_{1A} se localizan como receptores somatodendríticos. Funcionalmente, se ha encontrado que los receptores somatodendríticos serotoninérgicos median la inhibición colateral dentro del núcleo del rafe (Barnes & Sharp, 1999), aunque este subtipo de receptor puede localizarse también postsinápticamente en otras regiones cerebrales (Glennon, *et al.*, 2000). En el hipotálamo, se ha observado inmunoreactividad para el receptor 5-HT_{1A} en neuronas del núcleo supraóptico, del NPH, del VMH y del HL (Collin, Backberg, Onnestam & Meister, 2002).

2.3.3.1.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{1A}

Segundos mensajeros.- Se ha descrito que los receptores 5-HT_{1A} están negativamente acoplados a la adenilil ciclasa vía proteínas G_{i/o}, de tal forma que la activación del receptor inhibe la formación del AMPc (Barnes & Sharp, 1999); sin embargo, es posible que este subtipo de receptor también se acople positivamente a la adenilil ciclasa (Fayolle, *et al.*, 1988). Otros efectos asociados a la activación de los receptores 5-HT_{1A} son la disminución intracelular del Ca⁺⁺ y la activación de la fosfolipasa C (Barnes & Sharp, 1999).

Liberación de neurotransmisores.- Los agonistas de los receptores 5-HT_{1A} inducen la disminución de la liberación de 5-HT en diversas regiones del cerebro anterior, efecto que se relaciona con la activación de los receptores somatodendríticos 5-HT_{1A} del núcleo del rafe (autoreceptores) (Hutson, Sarna, O'Connell & Curzon, 1989). También existen reportes que muestran como la activación del receptor 5-HT_{1A} puede disminuir la liberación de acetilcolina en tejidos corticales e hipocampales y de NA en el hipotálamo, el hipocampo, la corteza frontal y en el área ventral tegmental (Barnes & Sharp, 1999).

Respuestas electrofisiológicas.- Se ha reportado que la activación de los receptores 5-HT_{1A} en neuronas de la médula espinal, del tallo cerebral y del diencefalo induce hiperpolarización, reducción del componente de calcio de los potenciales de acción (Sprouse

& Aghajanian, 1987; Aghajanian, 1995) y activación de conductancias de K^+ (Bobker & Williams, 1990; Aghajanian, 1995).

2.3.3.1.2 Farmacología de los receptores 5-HT_{1A} y conducta alimentaria

Algunas sustancias como el 8-OH-DPAT (agonista total) han mostrado alta selectividad para activar a los receptores 5-HT_{1A}, mientras que los ansiolíticos como la buspirona y la gepirona, además de otros ligandos como el MDL 72832 actúan como agonistas parciales y con menor selectividad para activar a los receptores 5-HT_{1A}. Los antagonistas para los receptores 5-HT_{1A} incluyen a la WAY 100635, el (-)UH 301, la NAN-190 y la NAD 299 (entre otros), aunque al parecer el antagonista con mayor selectividad es la WAY 100635 (Hoyer, *et al.*, 2002).

Existen reportes que relacionan a la activación de los receptores 5-HT_{1A} con los efectos hipofágicos de la serotonina (Simansky & Vaidya, 1990; Kitchener & Dourish, 1994; Currie, Coiro, Niyomchai, Lira & Farahmand, 2002), ya que en dichos estudios se encontró que la administración de agonistas de los receptores 5-HT_{1A} produce que la ingesta de alimento disminuya. En contraste, otros investigadores (Dourish, Hutson & Curzon, 1985; Fletcher & Coscina, 1993; Ebenezer, 1992; Grignaschi, *et al.*, 1998), han reportado que la activación de los receptores 5-HT_{1A} (empleando el 8-OH-DPAT, la ipsapirona o la gepirona) incrementa la ingesta de alimento, particularmente la de carbohidratos (Leibowitz, Alexander, Cheung & Weiss, 1993). Tales resultados indican que el papel de los receptores 5-HT_{1A} en el control serotoninérgico de la alimentación puede ser tanto inhibidor como estimulador de la ingesta de alimento. Esta actividad puede ser entendida considerando la localización de estos receptores, de manera que el efecto hiperfágico de la serotonina mediado por la activación de los receptores 5-HT_{1A} se relaciona con la disminución de la liberación de 5-HT producida por la inhibición de las neuronas serotoninérgicas en el núcleo del rafé (vía autoreceptores somatodendríticos) (Hoyer, *et al.*, 1994), mientras que la hipofagia inducida por agonistas de los receptores 5-HT_{1A} podría ser mediada por receptores 5-HT_{1A} localizados en elementos postsinápticos en regiones hipotalámicas (Collin, *et al.*, 2002) como el NPH (Escartín, 2001).

2.3.3.2 Receptores 5-HT_{1B}

Estructura. Inicialmente se sugirió que el receptor 5-HT_{1B} de roedores equivalía al 5-HT_{1D} de humanos, sin embargo, posteriormente se descubrió que el receptor 5-HT_{1D} de humanos

podría encontrarse en dos isoformas, el 5-HT_{1D α} y el 5-HT_{1D β} , estas isoformas fueron reclasificadas como 5-HT_{1D} y 5-HT_{1B} respectivamente. Al igual que el receptor 5-HT_{1A}, tiene una estructura terciaria típica de siete dominios transmembranales, con sitios de glicosilación y fosforilación (Barnes & Sharp, 1999).

Distribución. Mediante estudios de autorradiografía, los receptores 5-HT_{1B} han sido identificados con alta densidad en los ganglios basales (especialmente en la sustancia nigra, globo pálido, estriado y núcleo entopenduncular), en el núcleo del rafé (dorsal y medial) (Barnes & Sharp, 1999) y en el hipotálamo (núcleos paraventricular, supraóptico, retroquiasmático, en la porciones lateral y perifornical) (Makarenko, Meguid & Ugrumov, 2002). La ubicación de este receptor puede ser pre (auto y heterorreceptor) o postsináptico.

2.3.3.2.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{1B}

Segundos mensajeros.- Los receptores 5-HT_{1B} están acoplados negativamente a la adenilil ciclasa vía proteínas G_{i/o} y, al igual que los 5-HT_{1A}, su activación conduce a la inhibición de la adenilil ciclasa y disminuye la formación del AMPc (Barnes & Sharp, 1999).

Liberación de neurotransmisores.- Los agonistas de los receptores 5-HT_{1B} por si mismos disminuyen la liberación de 5-HT en regiones cerebrales como el hipotálamo. Además, se ha observado que cuando se activa a este subtipo de receptor en el hipocampo se inhibe la liberación de acetilcolina y glutamato (Barnes & Sharp, 1999).

Respuestas electrofisiológicas.- La activación de los receptores 5-HT_{1B} inhibe los potenciales sinápticos y la liberación de glutamato en neuronas del *locus coeruleus*, del giro del cíngulo y del *subiculum* (Barnes & Sharp, 1999)

2.3.3.2.2 Receptores 5-HT_{1B} y conducta alimentaria

Se ha mostrado que los receptores 5-HT_{1B} participan en el control de la ingesta de alimento y el peso corporal (Bouwknicht, *et al.*, 2001; Dourish, Hutson, Kennett & Curzon, 1986). El bloqueo de este subtipo de receptor en el NPH previene la reducción de alimento inducida por la administración intrahipotalámica de 5-HT (Mancilla-Díaz, Escartín-Pérez, López-Alonso & Cruz-Morales, 2002), tal efecto es mediado por un elemento postsináptico (Kennett, Dourish & Curzon, 1987) y se expresa a través de la afectación del proceso de saciedad (Halford & Blundell, 1996). En otros estudios, se ha descrito que los ratones que

carecen del receptor 5-HT_{1B} (animales *knockout* o KO del receptor 5-HT_{1B}, se eliminó el gene que codifica para el receptor) tienen mayor peso corporal e ingieren más agua, consumen más alimento que los ratones control (*wild type*, hermanos heterocigotos que no tienen la manipulación genética) (Bouwknicht, *et al.*, 2001) y cuando se les administra fenfluramina (inhibidor de la captura de 5-HT) no se induce el efecto hipofágico observado en otros estudios (Lucas, Yamamoto, Scearce-Levie, Saudou & Hen, 1998). Lo anterior indica que los receptores 5-HT_{1B} son necesarios para la expresión de la hipofagia inducida por fenfluramina y, además, subraya la importancia de los receptores 5-HT_{1B} en la regulación de la ingesta de alimento vía la transmisión serotoninérgica.

2.3.3.3 Receptores 5-HT_{2C}

Estructura. Debido a la semejanza de las propiedades farmacológicas del receptor 5-HT_{2C} con las de los receptores de la familia 5-HT₁, inicialmente fue denominado como el subtipo 5-HT_{1C}. Posteriormente, este receptor fue clonado y se descubrió que su estructura semejaba más a la de los receptores de la familia 5-HT₂ y se reclasificó como el subtipo 5-HT_{2C}. Al igual que la mayoría de los receptores metabotrópicos, este receptor está conformado por siete dominios transmembranales, con sitios de glicosilación y fosforilación. El receptor 5-HT_{2C} de ratas y ratones posee 6 sitios potenciales de *N*-glicosilación, cuatro de los cuales están conservados en la secuencia del receptor 5-HT_{2C} de humanos (Yu, *et al.*, 1991). También contiene 8 residuos serina/treonina que representan los posibles sitios de fosforilación (Barnes & Sharp, 1999).

Distribución. El receptor 5-HT_{2C} se ha identificado en el plexo coroide, en la corteza cerebral (corteza piriforme, retrosplenial, en núcleo olfatorio y en el giro del cíngulo), en áreas límbicas (núcleo *acumbens*, hipocampo y amígdala) y en los ganglios basales (núcleo caudado y sustancia nigra) (Barnes & Sharp, 1999). El receptor 5-HT_{2C} se localiza generalmente en elementos postsinápticos, aunque es posible que se le encuentre presinápticamente. Actualmente no se cuenta con evidencia anatómica de la presencia de este subtipo de receptor en el hipotálamo, únicamente se ha mostrado funcionalmente que se encuentra presente en el hipotálamo (Simansky, 1995; Bagdy, 1995).

2.3.3.3.1 Efectos funcionales mediados por los receptores 5-HT_{2C}

Segundos mensajeros.- Los receptores 5-HT_{2C} están positivamente acoplados a la fosfolipasa C vía proteínas G_q. La activación de este receptor incrementa la hidrólisis de los fosfatos de inositol e incrementa la concentración del Ca⁺⁺ intracelular, lo que despolariza a la célula blanco (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer, *et al.*, 1994).

Respuestas electrofisiológicas.- Se ha reportado que la activación de los receptores 5-HT_{2C} inducen la despolarización de algunas neuronas en la sustancia nigra reticulada, en la corteza cerebral y en motoneuronas del núcleo facial (Barnes & Sharp, 1999).

2.3.3.3.2 Receptores 5-HT_{2C} y conducta alimentaria

La actividad hipofágica de la serotonina mediada por los receptores 5-HT_{2C} ha sido descrita bajo diferentes modelos. Por un lado, se ha reportado que antagonistas 5-HT_{2C} como la spiperona, la ketanserina o la pipamperona requieren dosis significativamente altas para producir antagonismo (Hoyer, *et al.*, 1994). A pesar de ello, se ha observado que la ciproheptadina, antagonista de los receptores 5-HT_{2C/2A}, al administrarse central o periféricamente previene los efectos de la administración de 5-HT, estimulando el apetito e incrementando el peso corporal (Lopez & Islas, 1990; Fantino, Brondel, Swiergiel & Lebec, 1990; Mancilla-Díaz, Escartín-Pérez & López-Alonso, 2003). En concordancia con lo anterior, se ha encontrado que la administración intraperitoneal de Ro 60-0175, agonista de los receptores 5-HT_{2C}, produce una respuesta hipofágica dosis-dependiente sin alterar la secuencia natural de saciedad conductual (Hewitt, *et al.*, 2002), además de producir un efecto hipofágico conductualmente selectivo: incrementa la latencia al primer episodio alimentario y disminuyen la duración y tasa local de alimentación (Clifton, Lee & Dourish, 2000).

En estudios conductuales con ratones modificados genéticamente, se encontró que la ausencia del receptor 5-HT_{2C} funcional produce que los animales se alimenten durante más tiempo y demoren el descanso, lo cual les ocasiona obesidad. Además, la respuesta a la administración de fenfluramina en los animales KO del receptor 5-HT_{2C} está notablemente disminuida (Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999).

A pesar de estos hallazgos, la función específica del subtipo de receptor 5-HT_{2C} en la regulación de los mecanismos conductuales alimentarios no ha sido plenamente establecida,

ya que se sabe que el agonista Ro 60-0175 también activa receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} (Porter, *et al.*, 1999) y, en el caso de los animales que no expresan el receptor 5-HT_{2C}, se advierte una disfunción tónica dopaminérgica, ya que se ha demostrado que los receptores 5-HT_{2C} tienen una participación prominente en la regulación de la tasa de disparo y liberación de las neuronas dopaminérgicas de diversas regiones cerebrales (Yang & Pan, 1999; Di Matteo, De Blasi, Di Giulio & Esposito, 2001; Di Matteo, Cacchio, Di Giulio & Esposito, 2002). Alternativamente, existen compuestos que muestran ventajas farmacológicas y metodológicas para el estudio de la función específica de los receptores 5-HT_{2C} hipotalámicos en la regulación de la alimentación. Tal es el caso del antagonista selectivo RS-102221, pues se ha demostrado que dicho agente tiene mayor selectividad para los receptores subtipo 5-HT_{2C} que para los 5-HT_{2A} o los 5-HT_{2B} (Bonhaus, *et al.*, 1997), además de que es posible analizar los efectos de su aplicación local.

2.4 Consideraciones metodológicas en el estudio de la conducta alimentaria

Para el caso específico de la investigación de la conducta alimentaria y los procesos motivacionales que le dan su carácter cualitativo, es necesario definir los conceptos que dan cuenta de la actividad de un neurotransmisor y su correlato conductual. Así, el término "hambre" se define como aquel proceso responsable del inicio de la alimentación, "apetito" como el proceso que dirige y guía a la conducta alimentaria una vez iniciado el episodio alimentario, mientras que el término "satisfacción" refiere al proceso mediante el cual la alimentación se detiene y finalmente, el estado de inhibición de la ingesta ante un próximo episodio se denomina "saciedad" (Blundell, 1984; Mancilla, 1994).

El carácter cualitativo del comportamiento alimentario puede ser abordado experimentalmente evaluando parámetros temporales y de ingesta propiamente. En este contexto, las herramientas metodológicas más convenientes para el estudio del comportamiento alimentario son el análisis microestructural, la evaluación de la autoselección dietaria y el análisis de la secuencia de saciedad conductual. En la primera de las herramientas, el total de alimento consumido en un determinado intervalo de tiempo, la latencia para iniciar el primer episodio alimentario, la frecuencia y duración de dichos episodios, así como el tiempo que transcurre entre éstos y, finalmente, la tasa local de alimentación, son los parámetros que en su totalidad constituyen el procedimiento de evaluación conductual denominado "análisis microestructural" (Mancilla, *et al.*, 1993;

Escartín, 1997). La segunda herramienta fue empleada inicialmente por Ritcher (1943; citado en Blundell & Hill, 1986) y consiste en proporcionar no solamente una dieta que contemple un tipo específico de alimento, sino una variedad de éstos, lo que permite estudiar con gran especificidad los efectos de diversas manipulaciones (por ejemplo farmacológicas) sobre el comportamiento alimentario de sujetos que tienen la opción de elegir el alimento a consumir, es decir, posibilita la evaluación de los cambios sobre la autoselección dietaria.

Por otro lado, en los mamíferos, la ingestión de alimento induce gradualmente satisfacción, proceso mediante el cual la ingestión de alimento es remplazada por actividad no alimentaria (como acicalarse) y eventualmente los animales descansan. Este patrón altamente estereotipado se ha denominado secuencia de saciedad conductual y, en esencia, consiste en la sucesión y distribución temporal de diferentes conductas que muestran el proceso saciatorio de la ingestión de alimento (Montgomery & Willner, 1988; Edwards & Stevens, 1991; Halford, Lawton & Blundell, 1997; Gao, Harvey, Mook & Zeigler, 1998; Rodgers, *et al.*, 2000; Hewitt, *et al.*, 2002). Específicamente, el análisis de la secuencia de saciedad conductual ha mostrado que normalmente los animales, después de que cesa la ingesta de alimento, se acicalan y exploran el interior de su caja-habitación y típicamente la secuencia finaliza con el animal en una postura de descanso. Halford, Wanninayake y Blundell (1998), la definen como la transición ordenada de comer, actividad, acicalamiento y descanso medidos durante el período de post-ingesta. Interesantemente, diversos autores han establecido que la secuencia de saciedad conductual permite una detallada evaluación de los efectos de las drogas que producen cambios en el comportamiento alimentario, por lo que esta técnica ha sido ampliamente aceptada como una prueba conductual confiable y útil para distinguir los efectos indirectos (e. g. hiperactividad, sedación o náusea) de los efectos directos que tienen las drogas sobre el apetito, la saciedad y la ingesta de alimento (Halford, Wanninayake & Blundell, 1998).

3. Justificación y planteamiento del problema

Diversos estudios clínicos han reportado que pacientes con patologías del comportamiento alimentario presentan alteraciones en la actividad del sistema serotoninérgico (Weltzin, Fernstrom & Kaye, 1994; Brewerton, 1995; Jimerson, Lesem, Kaye, Hegg & Brewerton, 1990; Kaye, 1997). Relacionado a esto, otras investigaciones han tenido como propósito establecer los mecanismos serotoninérgicos cerebrales que ejercen control sobre la ingestión de alimento, lo que de principio sugiere el uso potencial de agentes serotoninérgicos para el tratamiento de patologías de la conducta alimentaria.

Siguiendo esa línea de razonamiento, existen al menos tres grupos de hallazgos que fundamentan el estudio de la relación entre la serotonina hipotalámica y el control de la alimentación:

1. Se ha mostrado que el NPH es una de las regiones anatómicas donde se integra gran parte de la información que es necesaria para la regulación de la alimentación (King & Williams, 1998; Yun, *et al.*, 2005; Hagemann, *et al.*, 1998; Williams, *et al.*, 2001; Verti, McGregor & Mallet, 2005) y que recibe inervación serotoninérgica originada en los núcleos del rafe dorsal y medial (Sawchenko, *et al.*, 1983; Larsen, *et al.*, 1996; Feldman, *et al.*, 1997).

2. Múltiples reportes apoyan la idea de que la transmisión serotoninérgica en el hipotálamo es una de las principales señales saciatorias en los mamíferos (Cooper, *et al.*, 1996; Kitchener & Dourish, 1994; Klodzinska & Chojnacka-Wojcik, 1990; Leibowitz, *et al.*, 1990; Leibowitz & Alexander, 1998) y que se requiere especialmente de la activación de receptores de las familias 5-HT₁ y 5-HT₂ para que la serotonina inhiba a la alimentación induciendo saciedad (Conn & Sanders-Bush, 1987; Hoyer, *et al.*, 1994; Peroutka, 1988; Dourish, *et al.*, 1989; Pedigo, *et al.*, 1981; Peroutka, 1986; Hoyer, *et al.*, 1985). Particularmente los receptores subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} han sido vinculados a los efectos de algunas drogas serotoninérgicas sobre el comportamiento alimentario (Dourish, Clark, Fletcher & Iversen, 1989; Lucki, 1998; Pedigo, Yamamura & Nelson, 1981; Peroutka, 1986; Hoyer, Engel & Kalkman, 1985; Hering & Peroutka, 1987; Wilkinson & Dourish, 1991; Simansky & Vaidya, 1990).

3. Se ha encontrado que el NPH muestra inmunorreactividad para los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} (Collin, *et al.*, 2002; Makarenko, *et al.*, 2002), además de que existe evidencia funcional de la presencia de los receptores 5-HT_{2C} en la misma región (Simansky, 1995; Bagdy, 1995).

En conjunto, estos hallazgos indican que los receptores a serotonina subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} localizados en el NPH podrían jugar un papel relevante en el control alimentario mediado por la transmisión serotoninérgica hipotalámica. No obstante, a la fecha no se ha mostrado con claridad la participación específica de la serotonina y la activación de sus receptores en el NPH para el control alimentario y la saciedad. Por lo tanto, en el presente estudio se analizará la participación de la serotonina del núcleo paraventricular hipotalámico sobre la autoselección dietaria y la estructura de la conducta alimentaria, además se determinará la participación específica de los receptores subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos que la 5-HT tiene sobre parámetros de la estructura de la conducta alimentaria y la secuencia de saciedad conductual de ratas.

4. Hipótesis

Si la transmisión serotoninérgica hipotalámica en el NPH participa de manera importante en la regulación del comportamiento alimentario, entonces la denervación producida por la administración de 5,7-DHT en el NPH provocará cambios en el comportamiento alimentario de los sujetos. Además, en el presente trabajo se plantea que los efectos inducidos por la administración de 5-HT son mediados principalmente por subtipos de receptores de las familias 5-HT₁ y 5-HT₂ localizados en el NPH, por lo que el bloqueo selectivo de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} prevendrá que la administración intrahipotalámica de 5-HT produzca disminución de la ingesta de alimento y la aparición temprana de la saciedad.

5. Objetivos

5.1 Generales

1. Analizar la función regulatoria que tiene la serotonina en el núcleo paraventricular hipotalámico sobre la autoselección dietaria y los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria, empleando como modelo de estudio la lesión serotoninérgica producida por la inyección de la toxina 5,7-DHT.

2. Determinar la participación de los subtipos de receptores a serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos inducidos por la administración de 5-HT en el NPH sobre el comportamiento alimentario y la secuencia de saciedad conductual de ratas.

5.2 Particulares

1. Producir la lesión selectiva de las fibras serotoninérgicas que inervan al NPH con la inyección de la toxina 5,7-DHT.

2. Evaluar los efectos de la inyección de 5,7-DHT en el NPH sobre:

- Los contenidos extracelulares de 5-HT y DA.
- La respuesta funcional de las fibras serotoninérgicas a la administración del inhibidor de la recaptura de serotonina, fluoxetina.

3. Evaluar los efectos de la lesión serotoninérgica sobre los parámetros de la estructura alimentaria y la ingestión voluntaria de proteínas carbohidratos y grasas.

4. Determinar los efectos de la inyección intrahipotalámica de 5-HT en animales pretratados con antagonistas de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} sobre:

- Los parámetros de la estructura alimentaria.
- La secuencia de saciedad conductual

6. Método

6.1 Sujetos

Se utilizaron en total 79 ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 220 a 230g. Los animales fueron criados y suministrados por el Bioterio General de la FES Iztacala de la UNAM. Todos los procedimientos realizados en el presente trabajo se llevaron a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) con las especificaciones para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

6.2 Fármacos

Nomifensina, 5-Hidroxitriptamina sulfato de creatinina (5-HT), 5,7-Dihidroxitriptamina (5,7-DHT), WAY 100635, fluoxetina hidrociorada (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), RS-102221 y SB-216641 (Tocris Cookson Inc., Ellisville, MO, USA). La 5-HT, la 5,7-DHT, la WAY 100635 y el RS 102221 fueron disueltos en solución salina al 0.9%, mientras que el SB 216641 fue disuelto en DMSO (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) y posteriormente diluido con solución salina al 0.9% (10: 90, v/v); estos compuestos fueron administrados (a través de una cánula guía) en dosis de 2 μg (volumen de 0.5 μl) directamente en el NPH a una velocidad de infusión de 0.1 μl x min. Para asegurar la difusión completa de las sustancias, el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula. La nomifensina (inhibidor de la captura de catecolaminas) fue disuelta en DMSO y posteriormente diluida en solución salina al 0.9% (10: 90, v/v) para inyectarse en dosis de 15 mg/kg por vía intraperitoneal 30-45 minutos antes de la infusión de la 5,7-DHT para proteger a las neuronas catecolaminérgicas. La fluoxetina fue disuelta en líquido cerebroespinal artificial y se administró a través de la cánula de microdiálisis en concentración 5mM. Todas las soluciones con los fármacos en estudio fueron preparadas inmediatamente antes de su administración.

6.3 Dieta

Se le proporcionó a los sujetos, en comederos separados, tres diferentes nutrimentos: proteínas (proteína aislada de soya al 91.5%, Supro 500E isolated soy protein, Protein Technologies International, Inc. Checkerboard Square. St. Louis, MO), carbohidratos (harina

de maíz, Maseca, Maíz nixtamalizado, Molinos Azteca de Chalco, S.A. de C.V.) y grasas (manteca vegetal, Inca, Anderson Clayton & Co., Tultitlán Estado de México). Los sujetos seleccionaron libremente el nutrimento que ingirieron (autoselección dietaria). El lugar en que se colocaron los comederos dentro de las cajas habitación fue cambiado diariamente para prevenir preferencias de lugar. El alimento y agua estuvo disponible *ad libitum*, desde el periodo de ambientación hasta el final de los experimentos.

6.4 Aparatos para el registro conductual

Para el registro de los parámetros alimentarios y el análisis de la secuencia de saciedad conductual se empleó un sistema computarizado de adquisición de datos anclado a las cajas habitación donde se realizaron las observaciones. El sistema permitió el monitoreo continuo de múltiples entradas (tres comederos separados y un bebedero por caja) usando un dispositivo de registro (MX-6, Videodata Comunicaciones S.A.) conectado a una PC. Los comederos y el bebedero de cada caja experimental (6 cajas en total) tenían conectados sensores eléctricos, mismos que se activaban cada vez que los animales accedían al alimento o al agua, enviando una señal al dispositivo de registro y posteriormente a la PC. Mediante el registro electrónico de los accesos a los comederos se determinaron los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria de las ratas. La PC que recibía la señal del dispositivo de registro se encontraba en una habitación separada para permitir el monitoreo remoto y la colección de datos sin interferir con el comportamiento de los animales. El dispositivo de registro fue programado para registrar un periodo único de 30 minutos. Esta información fue posteriormente compilada y organizada para su análisis estadístico. El registro computarizado fue complementado con video grabaciones simultáneas para determinar la duración del descanso y la actividad motora.

6.5 Situación Experimental

Los sujetos permanecieron en cajas individuales, en las cuales tuvieron disponibles *ad libitum* de cada uno de los nutrimentos en comederos individuales y agua. El ciclo de luz / oscuridad de 12x12 horas fue invertido y controlado por un dispositivo de encendido y apagado automático, todas las observaciones se realizaron al inicio de la fase de oscuridad.

6.6 Habitación

Los sujetos fueron expuestos a las condiciones experimentales (cajas habitación, ciclo invertido de luz/oscuridad y dieta) durante una semana. El consumo de alimento ingerido en 24 horas, así como el peso corporal, fueron evaluados 3 veces durante la semana de habitación para verificar que los animales se habían adaptado a la dieta (consumiendo al menos cantidades mínimas de cada nutrimento). Aquellos sujetos que no se adaptaron a la dieta, al igual que los que no ganaron peso corporal durante esta semana (recuperando el peso corporal inicial después de 4-5 días), fueron excluidos de los experimentos.

6.7 Cirugía estereotáxica

Habitados a las condiciones experimentales, los sujetos fueron anestesiados con hidrato de cloral (350 mg/kg vía ip) y se colocaron en un aparato de cirugía estereotáxica (Stoelting; Wood Dale, IL, USA) con la barra de incisión colocada a una altura de 3.3 mm de la línea interaural; uno de los huesos craneales fue perforado con una fresa dental sobre las coordenadas estandarizadas para el NPH: Anteroposterior -1.4 mm a partir del bregma, mediolateral -0.4 mm a partir de la sutura media y dorsoventral -6.4 mm a partir de la duramadre (Paxinos & Watson, 1986); la cánula guía fue fijada al cráneo mediante un tornillo de acero inoxidable y cemento acrílico dental, posteriormente se suturó la herida quirúrgica con hilo de seda y los animales fueron colocados bajo una fuente de irradiación de calor para su recuperación. Previo a la cirugía estereotáxica, se realizó la aplicación profiláctica intramuscular de antibiótico (50,000 U de penicilina benzatínica). Los animales tuvieron un periodo de 4-5 días para recuperarse de la cirugía.

6.8 Denervación serotoninérgica (lesión con 5,7-DHT)

La lesión de las fibras serotoninérgicas se realizó mediante la inyección de 5,7-DHT (2 μ g en 0.5 μ l) directamente en el NPH (a través de la cánula guía) a una velocidad de infusión de 0.1 μ l x min y dejando el microinyector durante un minuto adicional dentro de la cánula guía. Para proteger a las neuronas catecolaminérgicas, los animales que recibieron la inyección de 5,7-DHT fueron pretratados con nomifensina (15 mg/kg ip) 30-45 minutos antes la administración de la toxina.

6.9 Microdiálisis y cromatografía líquida de alta presión de fase reversa con detección electroquímica (HPLC-RF-EC)

Mediante la técnica de microdiálisis cerebral y HPLC de fase reversa con detección electroquímica, fueron analizados los efectos de la administración de 5,7-DHT en el NPH sobre los contenidos extracelulares de serotonina y la respuesta de las fibras serotoninérgicas a la administración de fluoxetina. Adicionalmente, se cuantificaron los contenidos extracelulares de DA para comprobar que la administración de 5,7-DHT no producía daño a neuronas catecolaminérgicas.

6.9.1 Microdiálisis cerebral

Siguiendo el procedimiento quirúrgico ya descrito, se implantó una cánula guía de microdiálisis en el NPH del lado derecho. Una vez que los animales se recuperaron de la cirugía, se lesionaron las fibras serotoninérgicas del NPH. Transcurridos 10 días post-lesión, se realizaron los experimentos de microdiálisis cerebral. Se usaron cánulas de microdiálisis con membranas de 1mm de longitud y con un diámetro externo de 0.24mm (CMA 11, Bioanalytical Systems; West Lafayette, Indiana, USA). El líquido de perfusión fue una solución ringer compuesta por 137 mM de NaCl, 1.2 mM de CaCl, 3 mM de KCl, 1 mM de MgSO₄, 0.5 mM de NaH₂PO₄, 2 mM de Na₂HPO₄ y 3 mM de glucosa. La solución ringer fue perfundida a una velocidad de 2 µl/min por medio de un microcatéter de polietileno que unía la cánula de microdiálisis a una jeringa de 2.5 ml anclada a una bomba de microdiálisis (CMA/100, Bioanalytical Systems; West Lafayette, Indiana, USA). El sistema de perfusión permitió al animal libre movimiento dentro de un cilindro de acrílico de 55 cm de diámetro. La salida de la cánula de microdiálisis estaba conectada a un colector de muestras (CMA/140, Bioanalytical Systems; West Lafayette, Indiana, USA) que contenía viales a los que se les adicionó 10% de una solución de ácido fosfórico 0.1N y EDTA. La cánula de microdiálisis fue insertada en la guía por lo menos tres horas antes de iniciar la colección de los dializados.

6.9.2 HPLC-RF-EC

Los dializados cerebrales fueron colectados e inmediatamente inyectados a un sistema de HPLC-RF-EC (Antec Leyden) equipado con un detector electroquímico (Intro, Waters Co.) y una bomba isocrática (515, Waters Co.). Para la separación de las muestras, el sistema cromatográfico consistió de un inyector (Rheodyne) con un asa de 20 μ l (contenedor de la muestra) que conducía a una columna C-18 (Nova-Pak, 3.9 x 100 mm, Waters Co.). La composición de la fase móvil fue 50 mM de H_3PO_4 , 50 mM de ácido cítrico, 20 mg/L de EDTA, 100 mg/L de OSA, pH de 3.1 ajustado con KOH y 5% de metanol, el flujo de la fase móvil fue de 1ml/rnin a 30°C. La 5-HT y la DA de los dializados fueron detectadas por oxidación electroquímica con un electrodo de carbono vidriado (VT-03, Antec Leyden) fijado a un potencial de 380 mV con respecto a un electrodo de referencia (3M KCl) y se cuantificaron integrando el área bajo la curva correspondiente al tiempo de retención de los analitos y calculando su concentración tomando como referencia curvas estándar, la señal del detector electroquímico fue procesada empleando el programa *Millenium*³² (Waters Co.).

6.9.3 Determinación de serotonina y dopamina extracelular del NPH

Una vez estabilizada la señal correspondiente a la 5-HT y la DA de los dializados (al menos tres horas después de insertar la cánula de microdialísis en el NPH), se hicieron tres colectas de 40 μ l/20 min para determinar los contenidos extracelulares de 5-HT y DA. Estos valores fueron promediados y se expresan como picogramos de 5-HT y de DA por cada 20 μ l de dializado.

6.10 Registros conductuales

6.10.1 Análisis de la estructura de la conducta alimentaria

Se realizaron registros de duración continua por medio del dispositivo computarizado que recibió la señal de los sensores instalados en cada uno de los comederos y bebederos de las cajas habitación. Los parámetros alimentarios fueron obtenidos a partir del registro computarizado. Dado que los sensores en las cajas experimentales se activaban cada vez que el sujeto accedía a alguno de los distintos comederos, fue posible el registro específico

de los accesos a los diferentes nutrimentos (proteínas, carbohidratos o grasas) o al agua durante el registro de duración continua. Con el uso de este sistema se determinaron los siguientes parámetros de la conducta alimentaria:

Frecuencia. Número de episodios alimentarios. El criterio para establecer la ocurrencia de un episodio alimentario consistió en que el animal debía durar al menos 10 segundos consumiendo el mismo nutrimento, el final del episodio alimentario se determinó cuando el animal interrumpía este comportamiento o accedía a otro comedero.

Duración de los episodios alimentarios. Promedio de la extensión temporal de los episodios alimentarios, se calculó sumando la duración (s) de cada uno de los episodios alimentarios y este valor se dividió entre el número de episodios (frecuencia).

Tiempos entre episodios alimentarios. Promedio de la duración de los intervalos de tiempo transcurridos entre los episodios alimentarios, se calculó sumando la duración (s) de cada uno de los intervalos entre episodios alimentarios y este valor se dividió entre el número de intervalos.

Tasa local de alimentación. Proporción de alimento ingerido por unidad de tiempo (ingesta total / duración promedio).

Duración de la ingesta de agua. Tiempo empleado consumiendo agua (s), este valor fue obtenido del registro computarizado.

Duración de la ocurrencia de conductas incompatibles con la alimentación. Tiempo (s) de ocurrencia de actividad motora (toda conducta distinta a los episodios alimentarios, beber o descansar) y descanso (inactividad motora, la cabeza del sujeto se encuentra en el piso de la caja con o sin ojos los cerrados). Estos parámetros fueron evaluados mediante la observación de la videograbación del registro de duración continua.

Ingesta. El consumo de alimento fue determinado pesando con una balanza (resolución de 0.1g) manualmente el alimento al inicio y al final del registro conductual (gramos).

6.10.2 Análisis de la secuencia de saciedad conductual

Para determinar que los efectos de los tratamientos sobre la ingesta y parámetros alimentarios no fueran producto de mecanismos conductuales indirectos (sedación, hiperactividad, náusea) y estuvieran relacionados con el proceso de satisfacción (terminación de la alimentación) y/o al desarrollo de la saciedad (inhibición progresiva de la alimentación) se empleó el análisis de la saciedad conductual. Basándose en los datos generados por el dispositivo computarizado, el registro continuo de 30 minutos fue dividido en 10 periodos de 3 minutos cada uno, donde se midieron las duraciones de cuatro categorías conductuales mutuamente excluyentes: alimentación (consumo de cualquiera de los nutrimentos), ingestión de agua, actividad (locomoción, levantamiento en dos patas, acicalamiento) y descanso (inactividad motora con o sin ojos cerrados, la cabeza del sujeto se encuentra en el piso de la caja habitación).

6.11 Diseño experimental

6.11.1 Determinación de los efectos de la lesión serotoninérgica sobre la respuesta a la fluoxetina y los contenidos extracelulares de 5-HT y DA

A dos grupos independientes de ratas se les implantó una cánula guía de microdialisis en el NPH del lado derecho. Cuarenta y ocho horas post-cirugía, se realizó la inyección de la 5,7-DHT (grupo Lesión, n= 4) o el vehículo (grupo Falsa lesión, n= 4) en el NPH (2 µg de 5,7-DHT o solución salina en 0.5 µl a una velocidad de infusión de 0.1 µl x min). Los sujetos que recibieron la inyección de 5,7-DHT fueron pretratados con nomifensina (15 mg/kg ip) 30-45 minutos antes la administración de la toxina. Transcurridos 10 días post-inyección (5,7-DHT o vehículo) se realizaron las mediciones de los contenidos extracelulares de 5-HT y DA en el NPH de ambos grupos. Una vez estabilizados los niveles de 5-HT y DA (al menos tres horas después de insertar la cánula de microdialisis), se realizaron las colectas de dializado cerebral de 40 µl/20min. Inicialmente se perfundió solución ringer y se hicieron tres colectas para determinar la línea base, posteriormente, se cambió a solución de fluoxetina 5mM (disuelta en solución ringer) y se colectaron 3 muestras, finalmente, se perfundió nuevamente la solución ringer y se colectaron tres muestras más. Los valores basales de 5-HT y DA fueron promediados y se emplearon para determinar los contenidos

extracelulares de ambos analitos en los grupos lesión y falsa lesión. A su vez, el valor basal de 5-HT en el NPH se tomó como referencia para calcular (en términos de porcentaje) la respuesta de las fibras serotoninérgicas a la infusión de fluoxetina en los grupos lesión y falsa lesión.

6.11.2 Determinación de los efectos de la lesión serotoninérgica sobre la estructura de la conducta alimentaria

Después del periodo de la recuperación operatoria, los sujetos canulados en el NPH (cánula de inyección) fueron aleatoriamente asignados a uno de dos grupos independientes, lesión (n= 9) o falsa lesión (n= 8). Los sujetos del grupo lesión fueron pretratados con nomifensina (15 mg/kg ip) 30-45 minutos antes la administración de la 5,7-DHT (2 µg en 0.5 µl), mientras que los sujetos del grupo control (falsa lesión) recibieron la administración del vehículo en el mismo volumen. Ambas inyecciones (5,7-DHT y vehículo) se aplicaron directamente en el NPH a una velocidad de infusión de 0.1 µl x min. Veinticuatro horas después de la administración de la toxina o el vehículo, iniciaron los registros conductuales (duración de 30 min, 1 registro cada día) durante 10 días post inyección. El alimento fue pesado al inicio y al final de cada registro conductual para conocer la cantidad de alimento que ingirieron los sujetos. Todas las observaciones fueron realizadas en el inicio de la fase de oscuridad. Ambos grupos recibieron la inyección de 5-HT (2 µg en 0.5 µl) en el NPH 10 minutos antes de iniciar el último registro (día 10 post lesión, tabla 1).

Grupos	Día 0	Día 1-9	Día 10
Lesión (n= 9)	5,7-DHT	RDC	RDC 5-HT
Falsa lesión (n= 8)	Vehículo	RDC	RDC 5-HT

Tabla 1. Síntesis de los tratamientos y los registros conductuales de los grupos lesión y falsa lesión. Los sujetos recibieron la administración de la 5,7-DHT o vehículo el día 0. Abreviaturas: RDC= Registro Duración Continua.

6.11.3 Determinación de la participación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos inducidos por la inyección intra-NPH de 5-HT

Ocho grupos adicionales e independientes de ratas fueron implantados unilateralmente con una cánula de inyección en el NPH. Después del periodo de recuperación operatoria, los sujetos fueron pretratados con vehículo o con alguno de los antagonistas (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} o 5-HT_{2C}) y, diez minutos después, se aplicó vehículo o 5-HT. Los grupos y los tratamientos que recibieron quedaron organizados de la forma siguiente: *Vh + Vh* (vehículo seguido de vehículo, n= 9), *Vh + 5-HT* (vehículo seguido de 5-HT, n= 7), *WAY + Vh* (WAY 100635 seguida de vehículo, n= 7), *WAY + 5-HT* (WAY 100635 seguida de 5-HT, n= 9), *SB + Vh* (SB 216641 seguido de vehículo, n= 6) *SB + 5-HT* (SB 216641 seguido de 5-HT, n= 6). *RS + Vh* (RS-102221 seguido de vehículo, n= 5) *RS + 5-HT* (RS-102221 seguido de 5-HT, n= 5). Cada grupo de sujetos recibió 2 inyecciones, mismas que se aplicaron en el NPH e inmediatamente después de la segunda inyección, se inició en registro conductual. Con base en los registros conductuales y las videograbaciones, se analizaron la microestructura alimentaria y la secuencia de saciedad conductual en cada uno de los grupos. Todas las observaciones fueron realizadas en el inicio de la fase de oscuridad.

6.12 Histología

Al final de las sesiones experimentales, los animales fueron anestesiados y perfundidos intracardialmente con salina al 0.9% seguida de solución fijadora (formaldehído en solución al 10%). Los cerebros fueron removidos y permanecieron en la solución fijadora durante tres días para su óptima fijación. Cortes coronales de 80 μ m fueron realizados para verificar que la cánula guía haya sido implantada en el NPH. Todos los datos presentados en este reporte corresponden a sujetos que fueron canulados correctamente en el NPH (Figura 6).

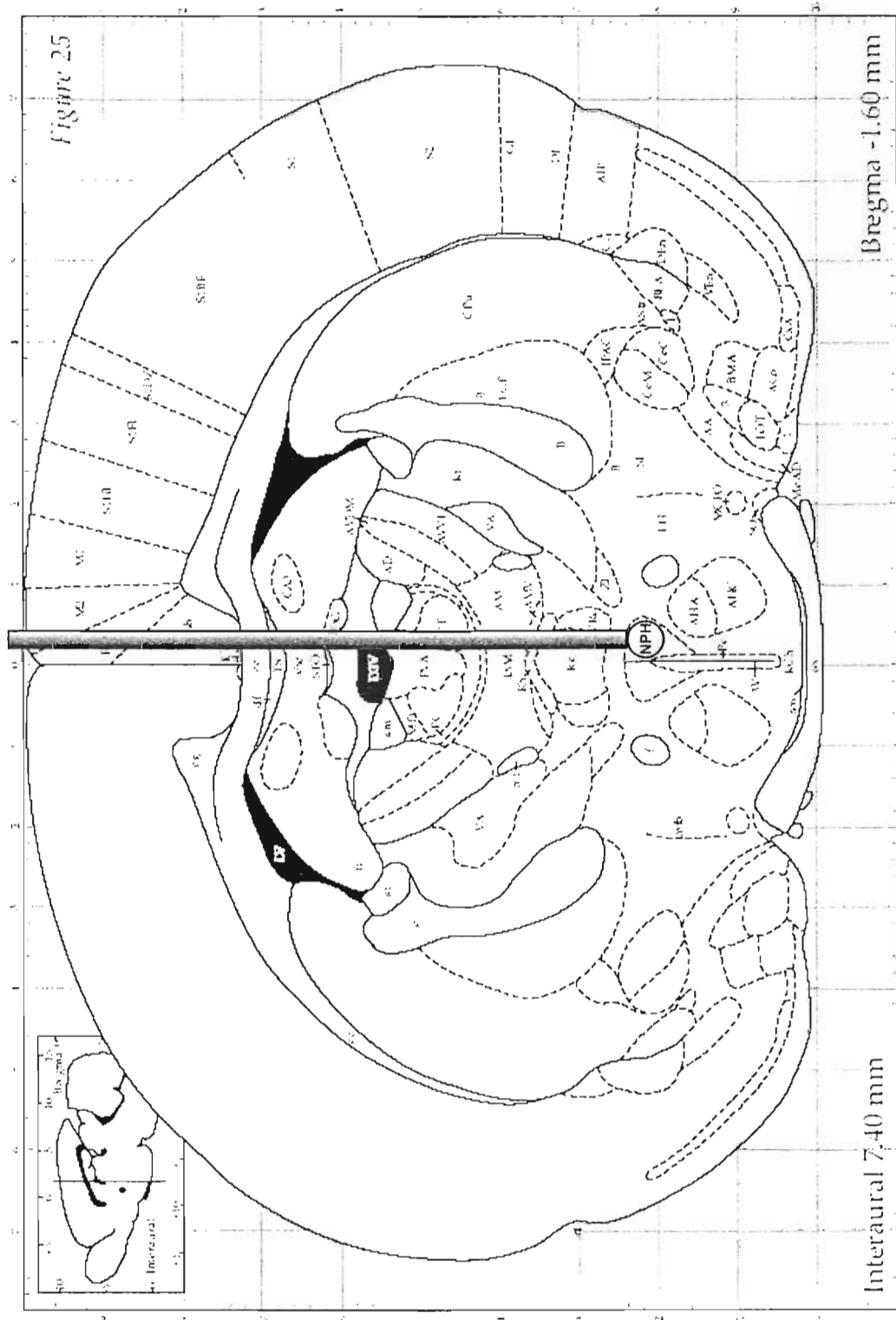


Figura 6. Representación esquemática (corte coronal) del sitio de canulación (NPH). El círculo representa el área de difusión de los fármacos inyectados. En los experimentos de microdiálisis y HPLC, el círculo representa el área donde se situó la membrana de intercambio de la cánula de microdiálisis.

6.13 Análisis Estadístico

El procedimiento estadístico que se empleó para determinar la significancia de las diferencias entre los parámetros conductuales [ingesta (g) de proteínas, carbohidratos y grasas; así como los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria, que incluyen a la duración (s) y frecuencia de los episodios alimentarios, tiempo que transcurre entre los episodios alimentarios (s), tasa local de alimentación y el tiempo (s) que dedican a beber agua y a descansar] de los grupos lesión y falsa lesión (factor 1, grupo) a los largo de los 10 días posteriores a la lesión (factor 2, tiempo) fue un ANOVA de dos entradas (grupo x tiempo) de medidas repetidas, utilizando la aproximación univariada (con el ajuste de Greenhouse-Geisser) en los casos donde la matriz de datos semejava a la matriz de identidad y la aproximación multivariada, cuando la matriz de datos era invertible. Las comparaciones múltiples se realizaron empleando la *post hoc* de Duncan. Cada parámetro fue analizado por separado y se presenta en la sección de los resultados en términos de medias \pm el error estándar de la media (EEM).

En el experimento de microdialisis, el contenido de 5-HT de las diferentes muestras (colectas de 20 minutos; factor 2, tiempo) obtenidas de los grupos lesión y falsa lesión (factor 1, grupo) se expresan como el porcentaje de la línea base calculado del promedio de las 3 fracciones colectadas antes de la perfusión de fluoxetina y dichos valores fueron analizados con un ANOVA de dos entradas (grupo x tiempo) de medidas repetidas (aproximación multivariada) seguido de la *post hoc* de Duncan. Para el caso de la cuantificación de los contenidos de 5-HT y DA extracelular de los grupos lesión y falsa lesión, se promediaron los 3 valores de la línea base y dichos valores se presentan en términos de picogramos por cada 20 μ L de dializado, la comparación se llevó a cabo utilizando una T de *Student*.

Para determinar la significancia de los efectos producidos por la 5-HT sobre los parámetros de la estructura alimentaria en los grupos pretratados con los antagonistas 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} o 5-HT_{2C}, se empleó un ANOVA de una entrada seguido por la prueba *post hoc* de Tukey para las comparaciones múltiples y los resultados se presentan en cuatro bloques, el primero de ellos relacionado con los efectos hipofágicos de la 5-HT (ANOVA realizado incluyendo a los grupos Vh + Vh, Vh + 5-HT, WAY + Vh y WAY + 5-HT) y los tres restantes son los correspondientes a la participación de un subtipo de receptor en particular (ANOVA realizado incluyendo a los grupos Vh + Vh, Vh + 5-HT, antagonista + Vh y

antagonista + 5-HT). Cada parámetro fue analizado por separado y se presenta en términos de medias \pm el EEM. En todos los casos, el valor de $P < 0.05$ fue aceptado para determinar la significación estadística de las diferencias.

7. Resultados

7.1 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la respuesta a la fluoxetina y los contenidos extracelulares de 5-HT y DA

Para producir la lesión de las fibras serotoninérgicas que inervan al NPH se inyectaron en ese núcleo 2 μg de 5,7-DHT; posteriormente, se cuantificaron los cambios producidos por la toxina en las concentraciones extracelulares basales de 5-HT y de DA del NPH. De acuerdo con lo anterior, se observó que en los sujetos tratados con 5,7-DHT la concentración de 5-HT del dializado basal del NPH disminuyó significativamente ($0.29 \pm 0.06 \text{ pg}/20 \mu\text{L}$ vs $0.73 \pm 0.06 \text{ pg}/20 \mu\text{L}$) ($t_{(1, 6)} = 5.057$; $p < 0.01$, grupo lesión vs grupo falsa lesión; figura 7 A), lo que representa un 60.25% de disminución de 5-HT extracelular en el grupo lesionado; mientras que el contenido extracelular de DA en el NPH de las ratas lesionadas o falsamente lesionadas no mostró cambios significativos (Figura 7 B).

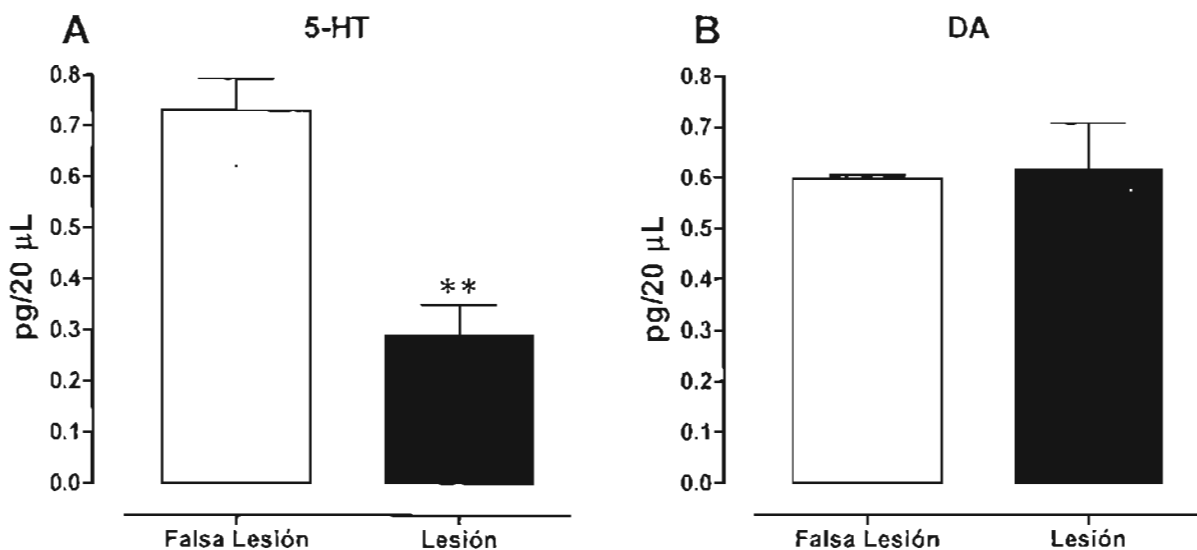


Figura 7. Efectos de la lesión con 5,7-DHT en el NPH del lado derecho sobre los contenidos extracelulares de 5-HT (A) y DA (B) del mismo núcleo. Estos valores fueron calculados promediando las 3 fracciones colectadas antes de la administración de la fluoxetina (grupo lesión $n = 4$, grupo falsa lesión $n = 4$). ** $p < 0.01$ vs grupo falsa lesión.

Para evaluar funcionalmente la respuesta de las fibras serotoninérgicas del NPH de los animales lesionados, se evaluaron los efectos de la infusión de fluoxetina (inhibidor de la

captura de 5-HT) sobre los contenidos extracelulares de 5-HT del NPH. Así, se observó que el efecto de la administración de fluoxetina sobre la 5-HT extracelular del NPH cambió significativamente ($\lambda_{(8, 1)} = 0.0008$; $p < 0.001$) como resultado de la lesión con 5,7-DHT en el NPH. Durante la primera colecta, la fluoxetina aumentó 340% el contenido de 5-HT de los dializados del NPH de los sujetos lesionados, mientras que en los animales del grupo falsa lesión el aumento fue de 950% (tiempo 0, $p < 0.001$), la comparación del efecto inicial de la infusión de fluoxetina en los grupos lesión y falsa lesión mostró que la administración de 5,7-DHT produce una disminución significativa (tiempo 0, lesión vs falsa lesión, $p < 0.001$) de la respuesta al inhibidor de recaptura de 5-HT. La disminución del efecto de la fluoxetina sobre el contenido extracelular de 5-HT en los sujetos lesionados fue evidente durante las colectas correspondientes a la perfusión de fluoxetina (20 y 40 minutos, $p < 0.01$) (Figura 8).

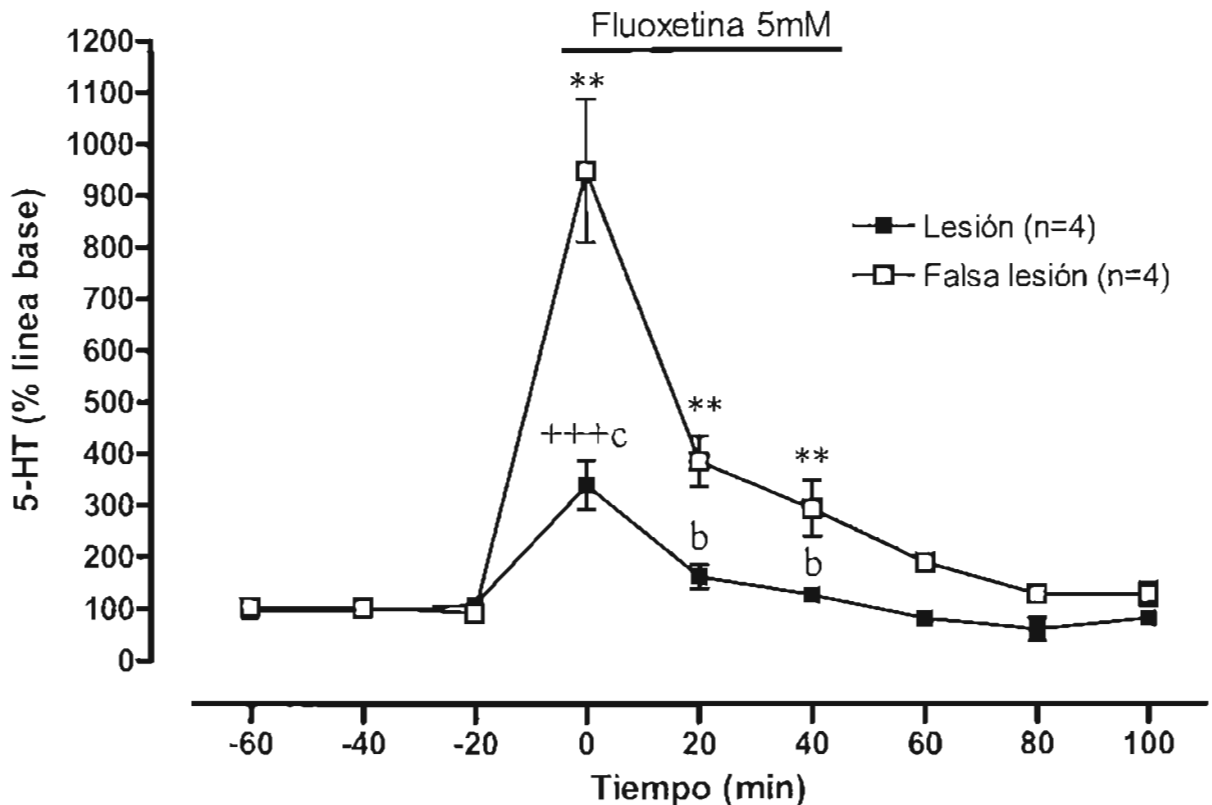


Figura 8. Efectos de la administración de fluoxetina 5mM en el NPH del lado derecho sobre el contenido extracelular de 5-HT. Cada punto representa el porcentaje de la línea base \pm EEM calculado de las 3 fracciones colectadas antes de la administración de la fluoxetina. ^b $p < 0.01$ y ^c $p < 0.001$ grupo lesión vs grupo falsa lesión misma fracción. ^{**} $p < 0.01$ vs línea base grupo falsa lesión; ⁺⁺⁺ $p < 0.001$ vs línea base grupo lesión.

7.2 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas

Una vez determinado que la administración de la 5,7-DHT producía la disminución significativa de los contenidos extracelulares basales de 5-HT, que la respuesta a la fluoxetina también había disminuido sustancialmente y que el efecto era selectivo para la serotonina, se realizaron las evaluaciones conductuales para analizar las consecuencias de la disminución de la actividad serotoninérgica en el NPH sobre la selección voluntaria de nutrimentos y la estructura de la conducta alimentaria. De acuerdo con el análisis estadístico, se encontró que la ingesta de proteínas de los sujetos del grupo lesionado no cambió durante el transcurso de los días post-lesión. En contraste, en el grupo falsa lesión, el consumo de proteínas cambió significativamente durante los registros conductuales ($F_{(3,38, 50,62)} = 2.34$; $p < 0.01$), inicialmente consumiendo mayores cantidades del nutrimento (día 1 vs días 3, 4 y 6, $p < 0.05$) y alcanzando los niveles más bajos en los últimos días de registro (días 8, 9 y 10 vs 1, 2 y 5, $p < 0.05$). Adicionalmente, se encontró una interacción grupo x tiempo significativa ($F_{(3,38, 50,62)} = 2.80$; $p < 0.05$) los días de registro 1 y 5, donde los sujetos lesionados consumieron menores cantidades de proteínas que los del grupo falsa lesión. La inyección de 5-HT (día 10), no modificó la ingesta de proteínas en ninguno de los grupos (Figura 9 A).

Por otro lado, la lesión por sí misma produjo cambios significativos sobre la ingesta de carbohidratos ($\lambda_{(9, 7)} = 0.049$; $p < 0.001$), específicamente, el grupo tratado con la neurotoxina consumió una mayor cantidad de carbohidratos durante el primer día de registro (día 1 grupo lesión vs mismo día grupo falsa lesión, $p < 0.05$). Además, se encontró que los sujetos del grupo falsa lesión incrementaron progresivamente su ingesta de carbohidratos durante el transcurso de los registros conductuales, alcanzando significancia estadística los días post-inyección 8 y 9 (vs día 1 mismo grupo, $p < 0.01$), dicho patrón no fue observado en los sujetos lesionados. Como resultado de la administración de 5-HT durante el último día de registro, ambos grupos redujeron significativamente su ingesta de carbohidratos (día 10 vs días 1-9 del grupo lesión, $p < 0.001$; día 10 vs días 8 y 9 del grupo falsa lesión, $p < 0.05$). Este efecto hipofágico fue significativamente mayor en los sujetos lesionados (día 10 del grupo lesión vs mismo día grupo falsa lesión, $p < 0.05$) (Figura 9 B).

Finalmente, la lesión del NPH con 5,7-DHT produjo cambios significativos ($\lambda_{(9, 7)} = 0.1303$; $p < 0.05$) sobre la ingesta de grasas, siendo ésta significativamente mayor en el grupo lesionado en los últimos días de registro (días 9 y 10 vs mismos días del grupo falsa lesión, $p < 0.05$) y también con respecto del mismo grupo (días 9 y 10 vs 1, 3, 7 y 8 grupo lesión, $p < 0.05$) (Figura 9 C).

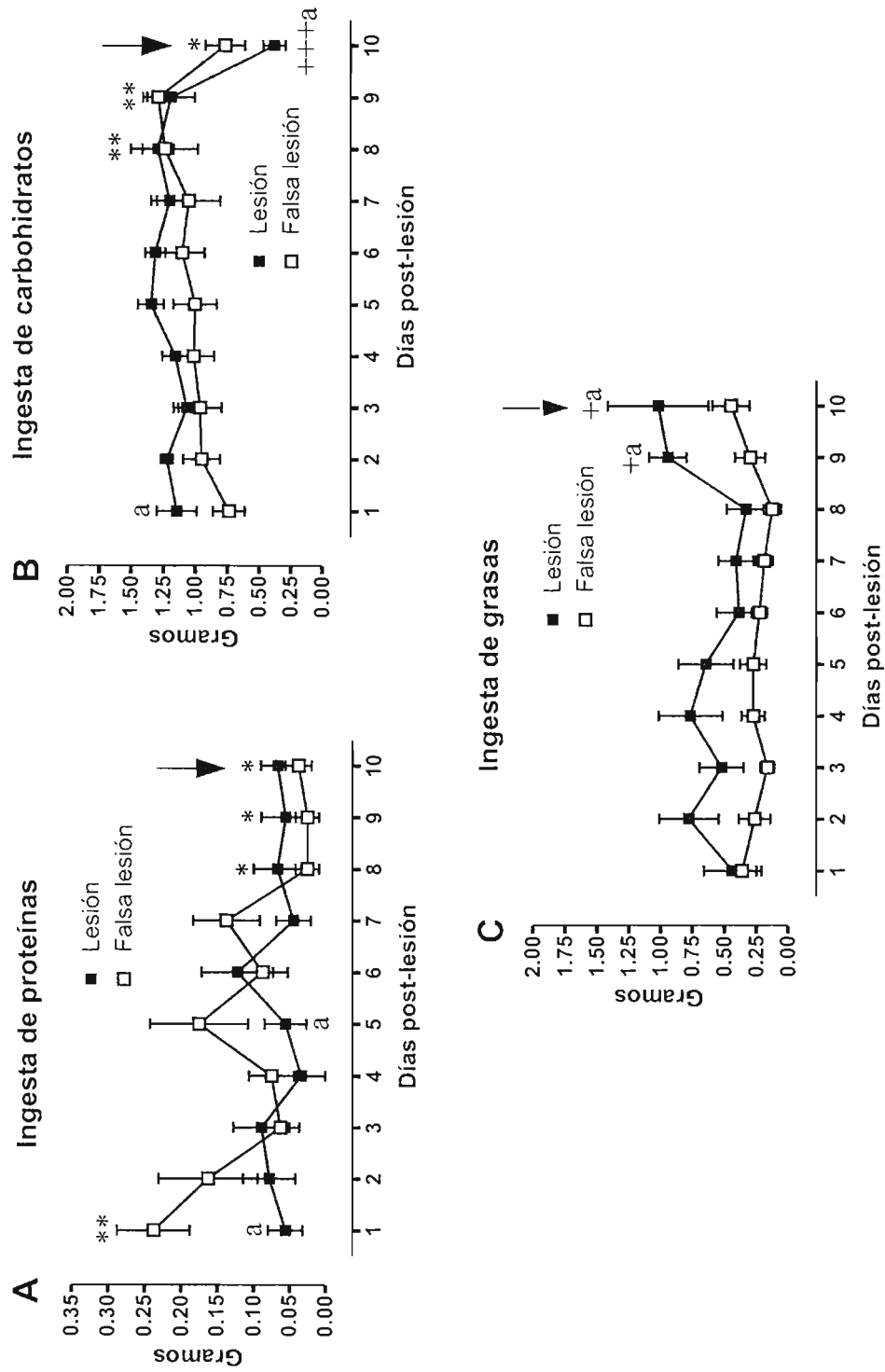


Fig. 9. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre la ingesta de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C). Datos expresados en medias \pm ESM. ^a $p < 0.05$ grupo lesión vs grupo falsa lesión mismo día. Inyección de 5-HT, día 10 (\downarrow). Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8). Detalle de diferencias: (A): * $p < 0.05$ días 8-10 vs días 1, 2 y 5 del grupo falsa lesión; ** $p < 0.01$ día 1 vs días 3, 4 y 6 del grupo falsa lesión. (B): * $p < 0.05$ día 10 vs días 8 y 9 del grupo falsa lesión; ** $p < 0.01$ días 8 y 9 vs día 1 del grupo falsa lesión. +++ $p < 0.001$ día 10 vs días 1-9 grupo lesión. (C): + $p < 0.05$ días 9 y 10 vs días 1, 6 y 8 grupo lesión.

7.3 Efectos de la lesión serotoninérgica sobre la estructura de la conducta alimentaria y el peso corporal

En la frecuencia de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos o días de registro. De la misma forma, este parámetro no fue afectado por la inyección de 5-HT en el décimo día de registro (Figura 10 A, B y C).

Por el contrario, la duración de la ingesta de proteínas cambió significativamente por la lesión serotoninérgica ($\lambda_{(9, 7)} = 0.145$; $p < 0.05$), siendo menor en los sujetos lesionados y estadísticamente significativa en los días de registro 3, 6 y 8 (vs mismos días del grupo falsa lesión, $p < 0.05$, $p < 0.05$ y $p < 0.001$ respectivamente). Asimismo, en el día de registro 8, la duración de los episodios alimentarios de proteínas de los sujetos no lesionados fue significativamente mayor (vs días 1, 2, 4, 5, 7, 9 y 10 del mismo grupo falsa lesión, $p < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas por efecto de la inyección de 5-HT en el último día de registro (Figura 11 A).

La duración de los episodios alimentarios de carbohidratos y grasas no fue afectada por la lesión o por la inyección de 5-HT en el NPH (Figura 11 B y C).

Con relación a los tiempos entre episodios alimentarios de proteínas, carbohidratos y grasas, no se observaron cambios significativos por efecto de la administración de 5,7-DHT (Figura 12 A, B y C). Sin embargo, para el caso de los tiempos entre episodios alimentarios de carbohidratos, la inyección de 5-HT en el NPH sí produjo cambios significativos ($\lambda_{(9, 7)} = 0.176$; $p < 0.05$), incrementándolos tanto en el grupo falsa lesión (día 10 vs días 1-6 y 8-9, $p < 0.05$) como en el lesionado (día 10 vs días 1-6 y 8-9, $p < 0.05$) (Figura 12 C).

En concordancia con el análisis estadístico, la lesión serotoninérgica no produjo efectos sobre la tasa local de alimentación de proteínas, carbohidratos o grasas. En ningún día de registro se observaron diferencias significativas en la tasa local de alimentación y la administración de 5-HT no alteró este parámetro (Figura 13 A, B y C).

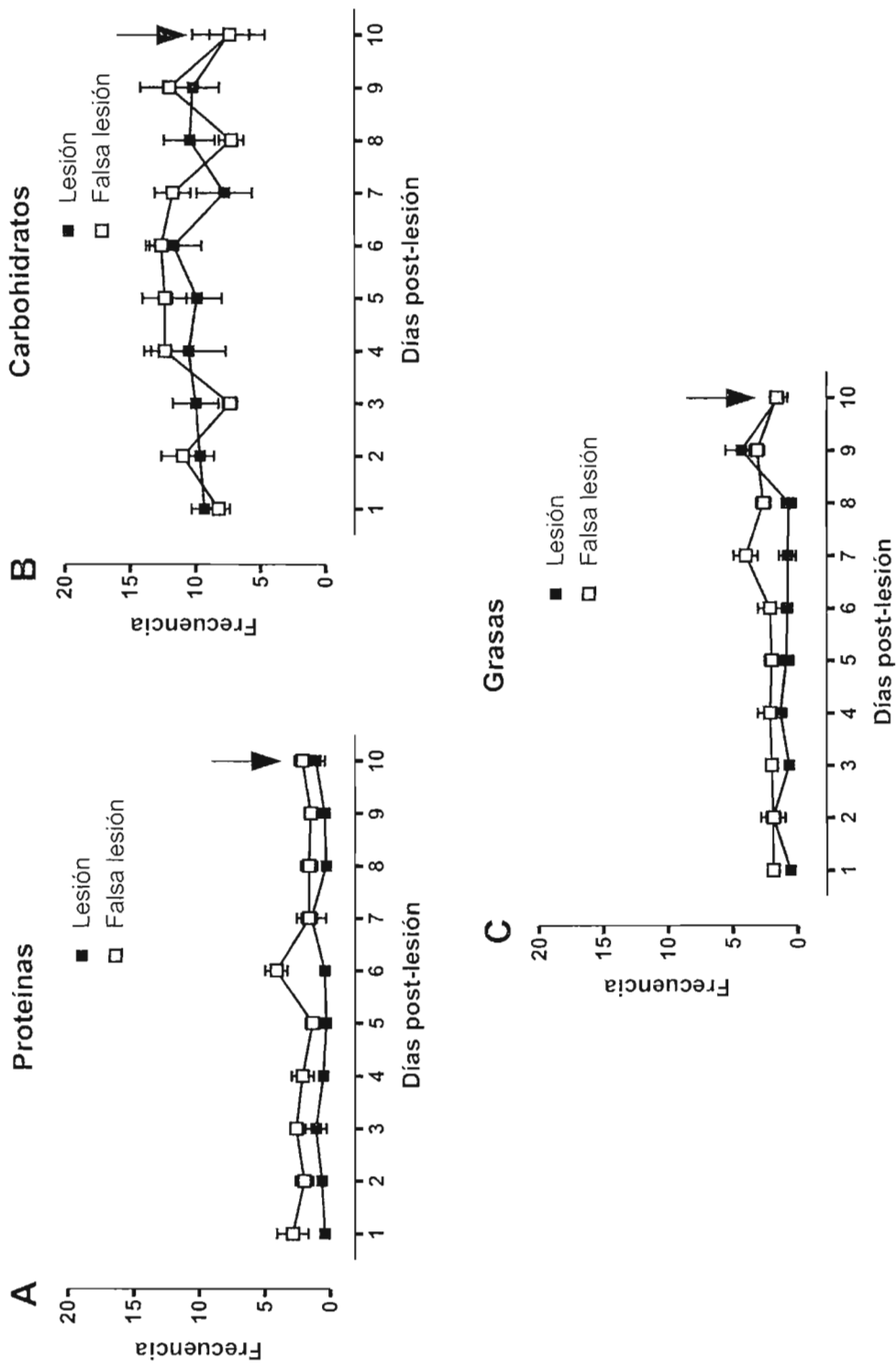


Fig. 10. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre la frecuencia de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C). Datos expresados en medias \pm ESM. Inyección de 5-HT, día 10 (\blacktriangledown). Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8).

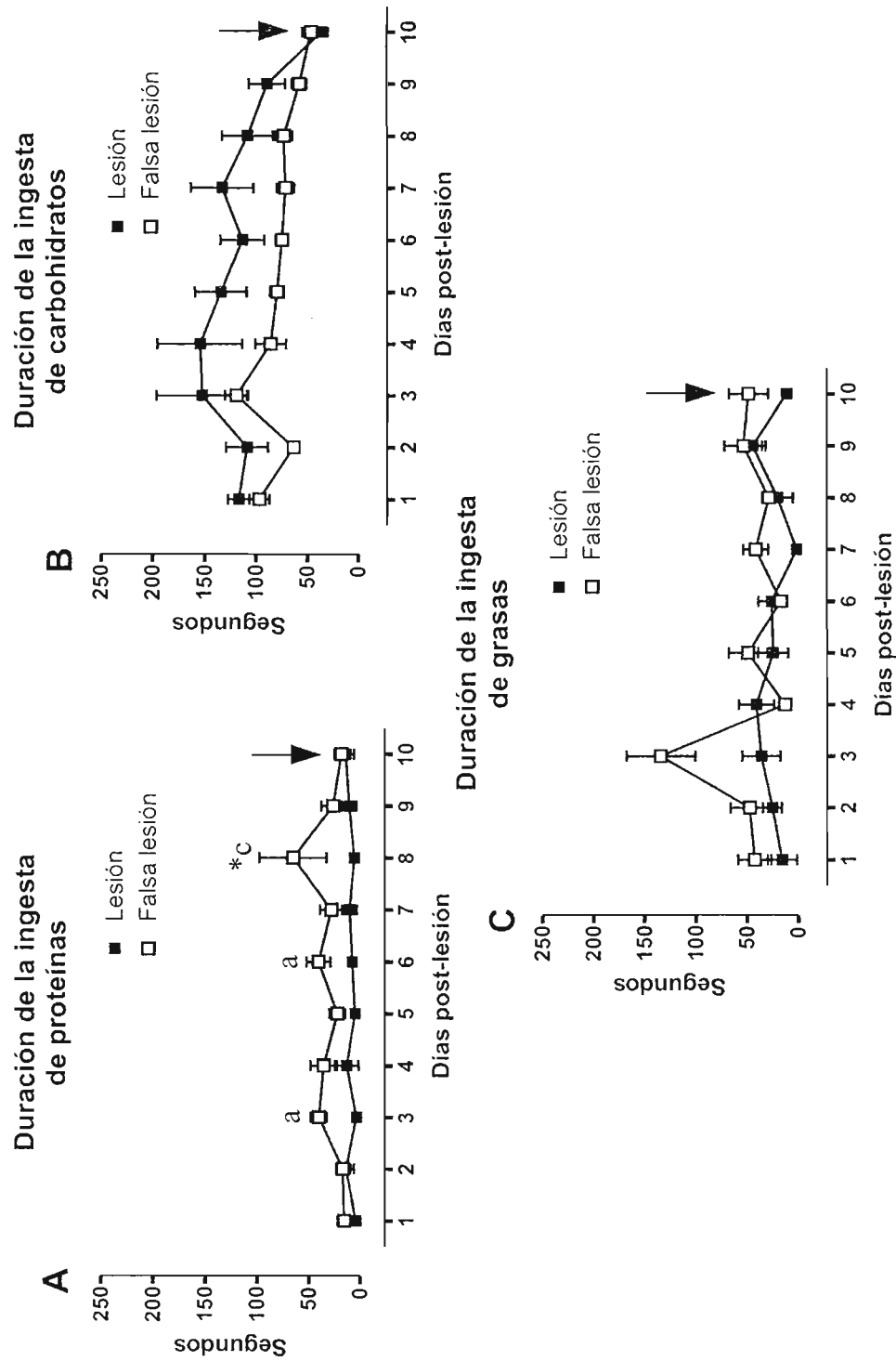


Fig. 11. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre la duración de los episodios alimentarios de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C). Datos expresados en medias \pm ESM. * $p < 0.05$ grupo lesión vs grupo falsa lesión mismo día; $^{\circ}$ $p < 0.001$ grupo lesión vs grupo falsa lesión mismo día. Inyección de 5-HT, día 10 (\blacktriangledown). Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8). Detalle de diferencias: (A): * $p < 0.05$ días 8 vs días 1, 2, 4, 5, 7, 9 y 10 del grupo falsa lesión

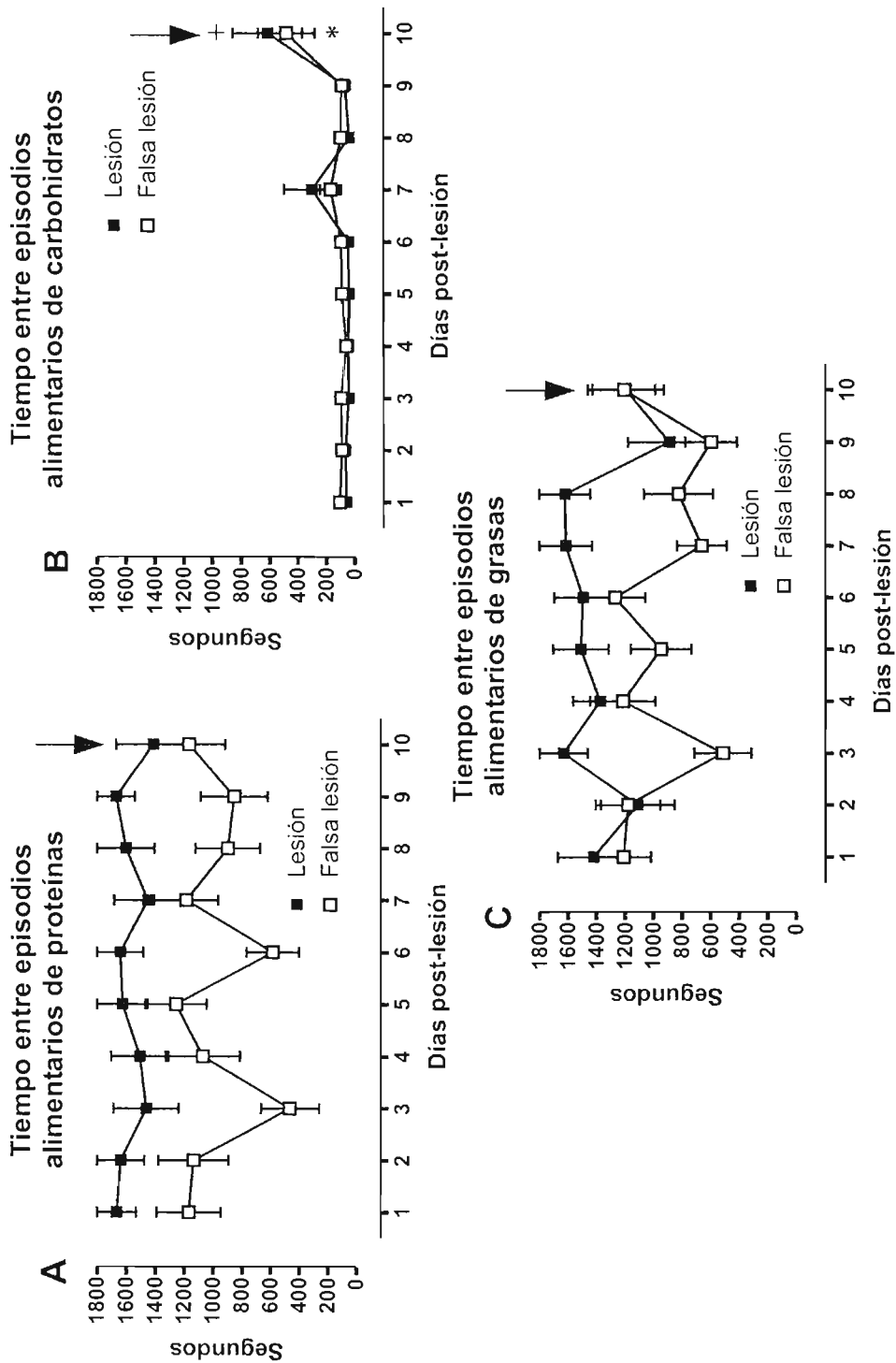


Fig. 12. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre los tiempos entre episodios alimentarios de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C). Datos expresados en medias \pm ESM. Inyección de 5-HT, día 10 (\blacktriangledown). Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8). Detalle de diferencias: (B): * $p < 0.05$ día 10 vs días 1-6 y 8-9 del grupo falsa lesión; + $p < 0.05$ día 10 vs días 1-6 y 8-9 del grupo lesión.

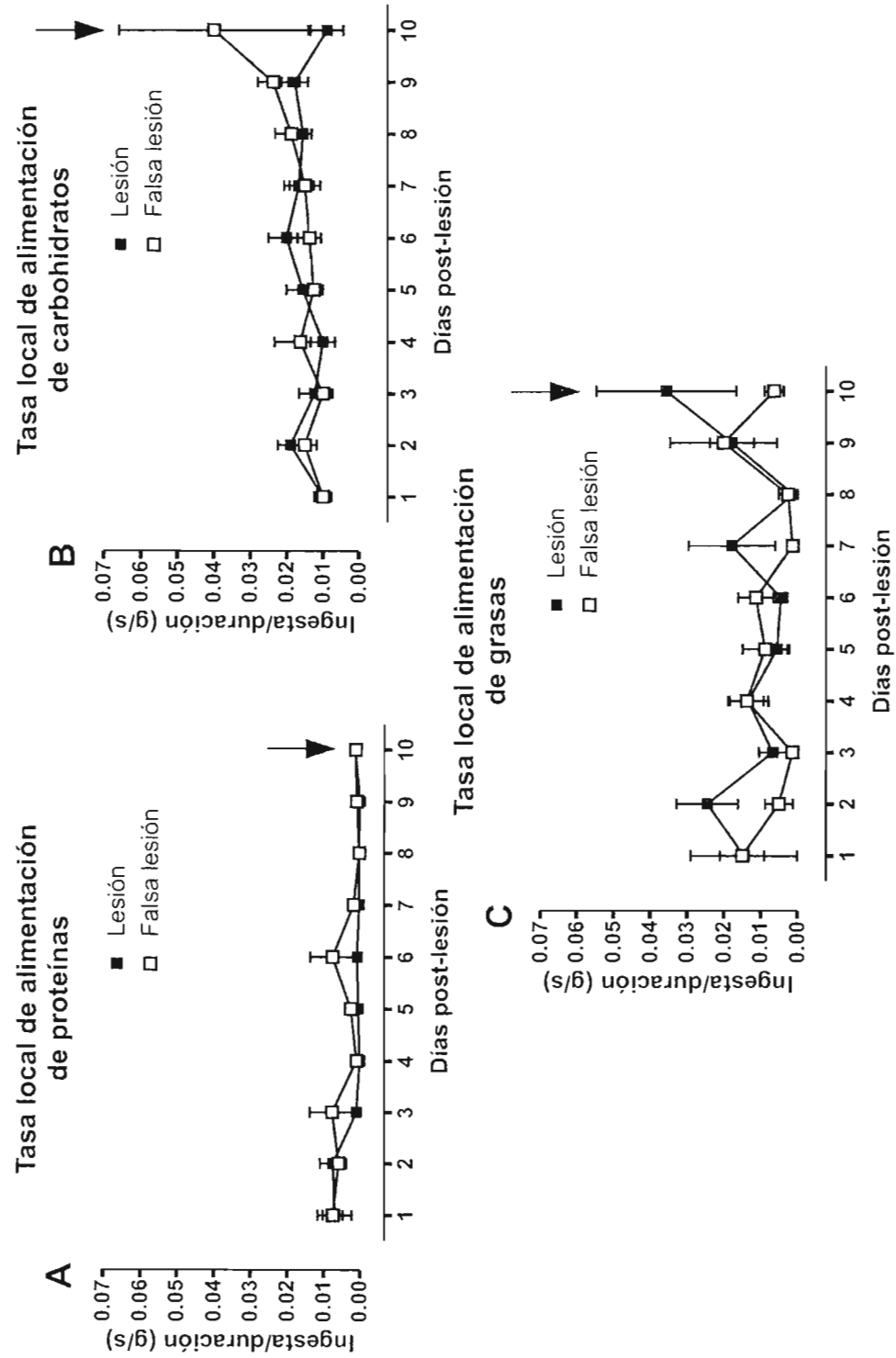


Fig. 13. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre la tasa local de alimentación de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C). Inyección de 5-HT, día 10 (↓). Datos expresados en medias ± ESM. Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8).

Con relación al tiempo que dedicaron los sujetos a beber agua y descasar, no se observaron diferencias significativas (Figura 14 A y C). Por el contrario, la duración total en que los sujetos mostraron algún tipo de actividad motora distinta de comer o beber, fue significativamente diferente ($\lambda_{(9, 7)} = 0.082$; $p < 0.05$) con respecto del tiempo (días de registro) en ambos grupos, mostrando un patrón característico donde primero disminuía el tiempo de actividad (días 3-6) y posteriormente se incrementaba (días 8-10) (Figura 14 B). Paralelamente, las comparaciones múltiples también revelaron que la lesión produjo la disminución significativa del tiempo de actividad en los sujetos del grupo lesión en comparación al grupo falsa lesión, donde dichas diferencias se dieron específicamente en los días 1, 5, 7, 8 y 10 (vs mismos días del grupo falsa lesión, $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ y $p < 0.01$ respectivamente) (Figura 14 B).

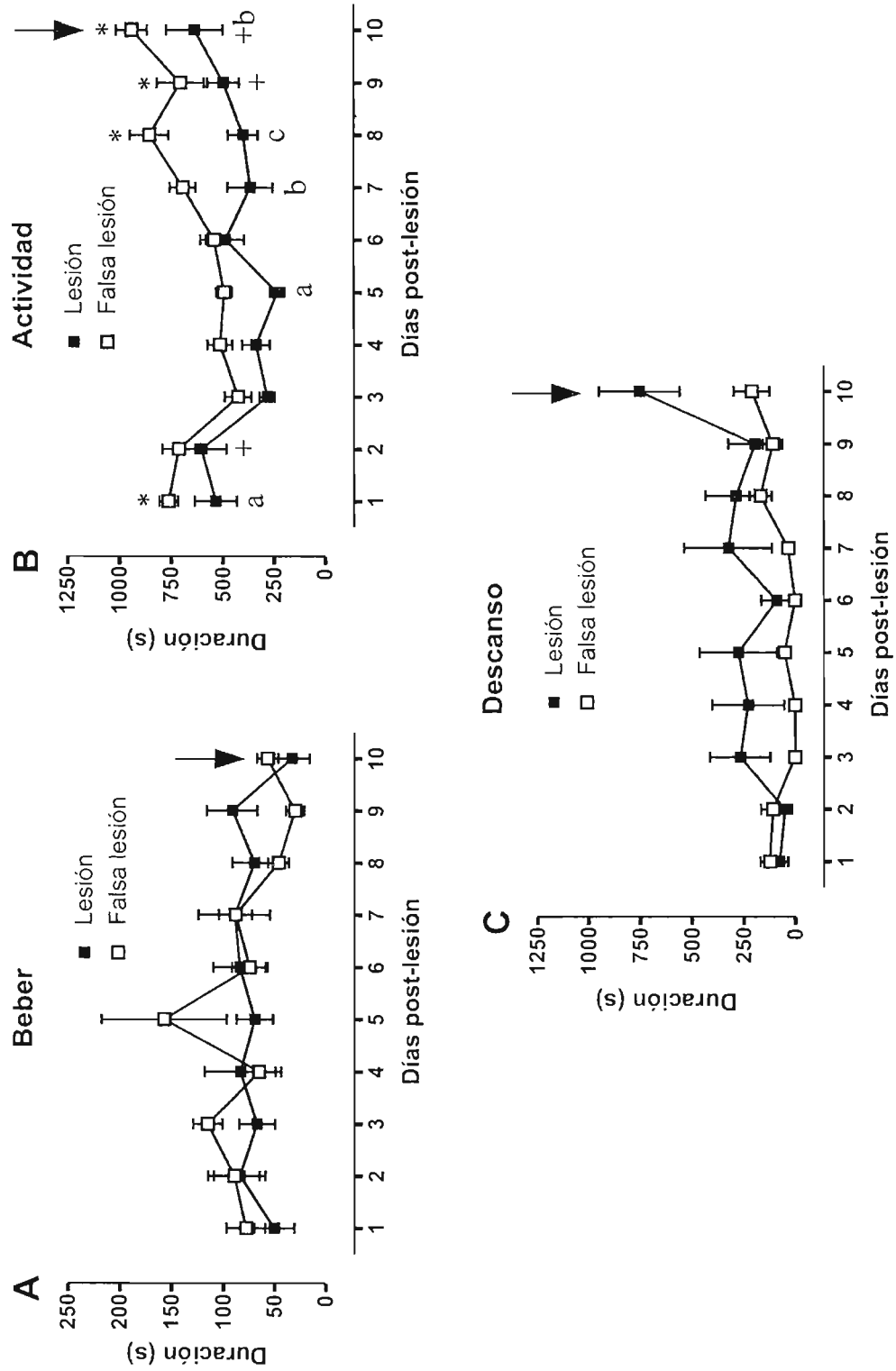


Fig. 14. Curso temporal de los efectos de la administración de 5,7-DHT en el núcleo paraventricular hipotalámico del lado derecho sobre la duración de la ingesta de agua (A), la actividad motora (B) y tiempo de descanso (C). Datos expresados en medias \pm ESM. ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$ y ^c $p < 0.001$ grupo lesión vs grupo falsa lesión mismo día. Inyección de 5-HT, día 10 (I). Grupo lesión (n=9), grupo falsa lesión (n=8). Detalle de diferencias: (B): * $p < 0.05$ día 1 vs días 3-6, día 8 vs días 3-6, día 9 vs día 3, día 10 vs 2-7 y 9, todo dentro del grupo falsa lesión; + $p < 0.05$ días 2 vs día 3, 4, 5 y 7, día 9 vs día 5, día 10 vs días 3-5, 7 y 8, todo dentro del grupo lesión.

Finalmente, no se observó que la lesión serotoninérgica en el NPH produjera cambios significativos sobre el peso corporal (Figura 15).

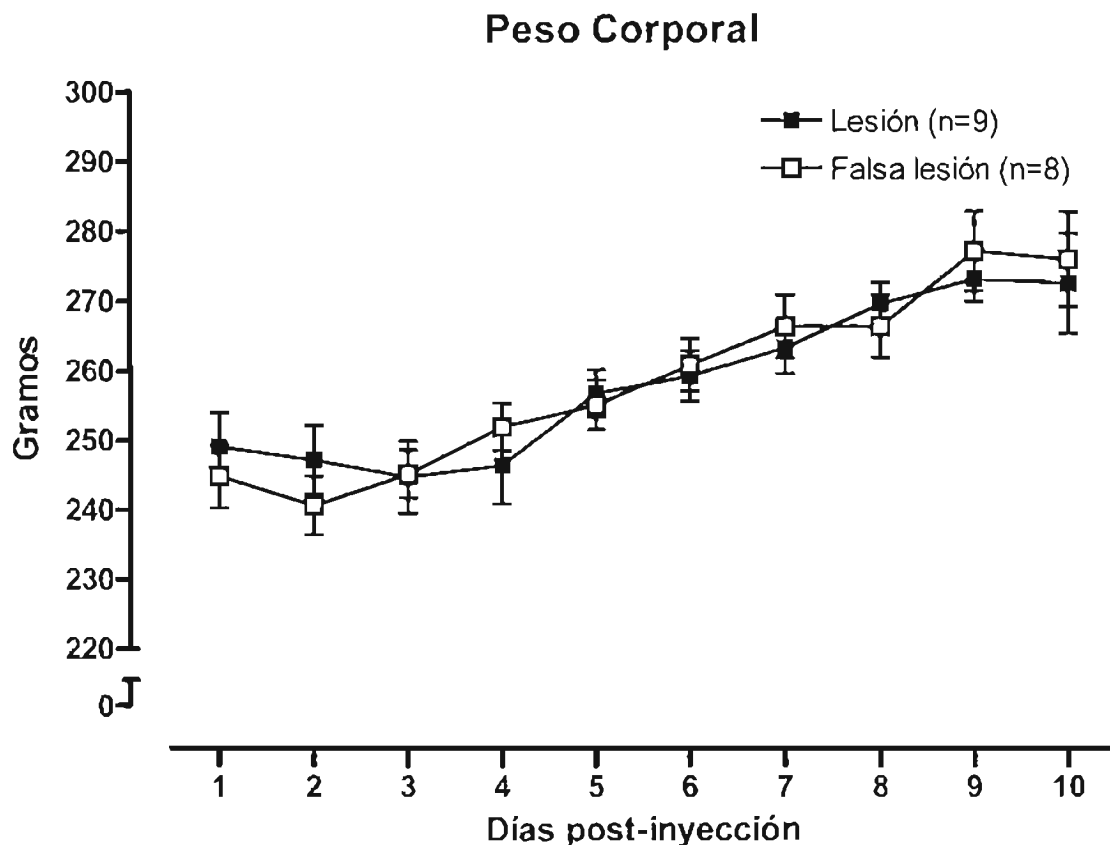


Figura 15. Peso corporal de los grupos lesión y falsa lesión durante los días posteriores a la inyección de 5,7-DHT o vehículo. Datos expresados en medias \pm EEM.

7.4 Participación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos inducidos por la inyección intra-NPH de 5-HT

Después de observar que la disminución de la actividad serotoninérgica en el NPH producía cambios en la selección voluntaria de nutrimentos y sobre algunos de los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria, se procedió a determinar la participación de los subtipos de receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en los efectos producidos por la administración intra-NPH de 5-HT sobre la estructura de la conducta alimentaria y la secuencia de saciedad conductual. Lo anterior se realizó bloqueando independiente y selectivamente cada uno de los subtipos de receptor para luego administrar la 5-HT, todo ello en el NPH de ratas no lesionadas.

7.4.1 Efectos de la aplicación de 5-HT en el NPH sobre los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria y la secuencia de saciedad conductual

De acuerdo con el análisis estadístico, no se presentaron diferencias significativas en la ingesta o los parámetros alimentarios de los nutrimentos de proteínas y grasas. Estos datos fueron omitidos del presente reporte.

La aplicación de 5-HT disminuyó significativamente la ingesta [$F_{(3,23)}= 3.315$; $p<0.05$] (Figura 16 A) y la duración del consumo de carbohidratos [$F_{(3,23)}= 4.52$; $p<0.05$] (Figura 16 B), mientras que los tiempos entre episodios alimentarios de este nutrimento se incrementaron [$F_{(3,23)}= 4.08$; $p<0.05$] (Figura 16 C). Asimismo, se observó una tendencia a disminuir la tasa local de alimentación de este nutrimento (Figura 16 D).

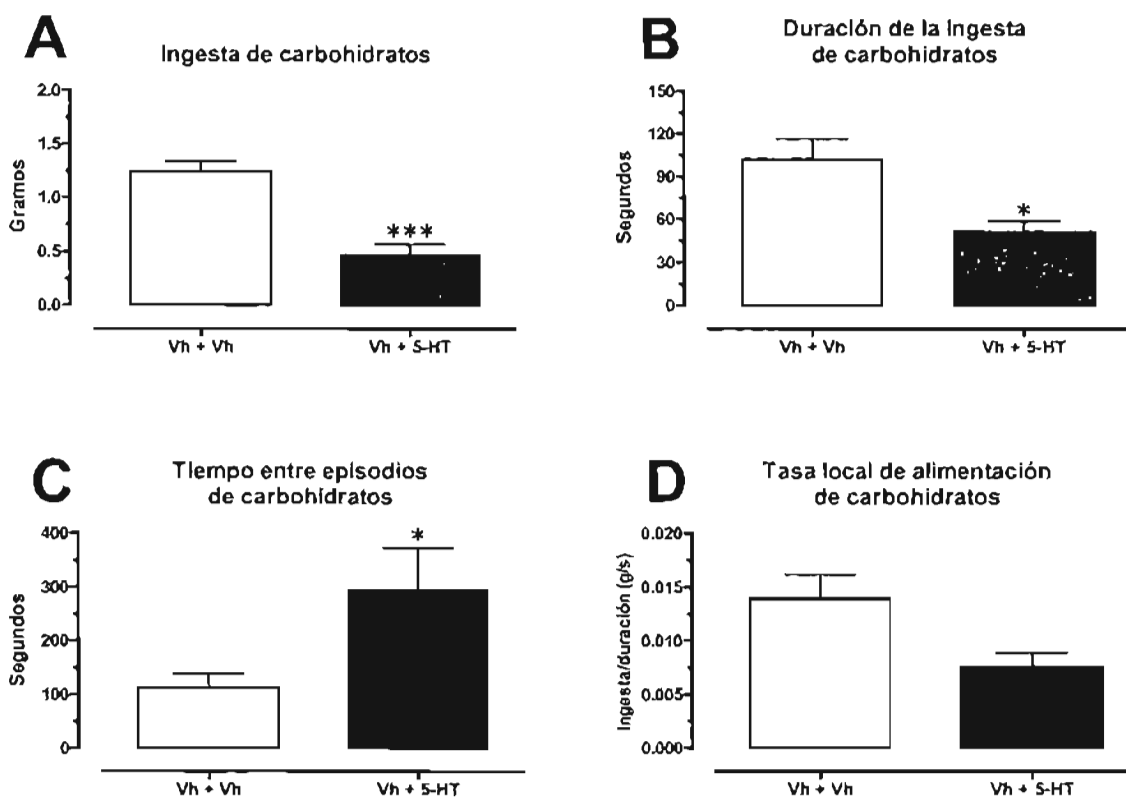


Figura 16. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos: ingesta (A), duración (B), tiempo entre episodios alimentarios (C) y tasa local de alimentación (D). ANOVA realizado incluyendo a los grupos Vh + Vh, Vh + 5-HT, WAY + Vh y WAY + 5-HT, se presentan sólo los dos primeros por fines explicativos y para no alterar el sentido estadístico de las comparaciones posteriores. La significancia de las diferencias entre los grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p<0.05$ (vs Vh + Vh), *** $p<0.001$ (vs Vh + Vh). Datos expresados en medias \pm EEM. (Vh + Vh, $n= 9$; Vh + 5-HT, $n= 7$).

A partir de la realización del análisis de la secuencia de saciedad conductual, se encontró que los sujetos tratados con el vehículo (Vh + Vh) mostraron la secuencia conductual típica: mayor tiempo de ingestión de alimento durante el inicio del registro conductual, seguido por actividad motora y el incremento progresivo de la duración del descanso a la par que disminuye el tiempo de ingestión de alimento, expresándose por completo el estado de saciedad en el momento en que el tiempo de descanso es mayor que el de ingesta (entre los periodos 7 y 8) (Figura 17 A). En contraste, la disminución de la ingesta de alimento producida por la administración de 5-HT (Vh + 5-HT) se asoció con la aceleración de este proceso (la saciedad aparece entre los periodos 5 y 6), aunque el patrón conductual no fue alterado (Figura 17 B).

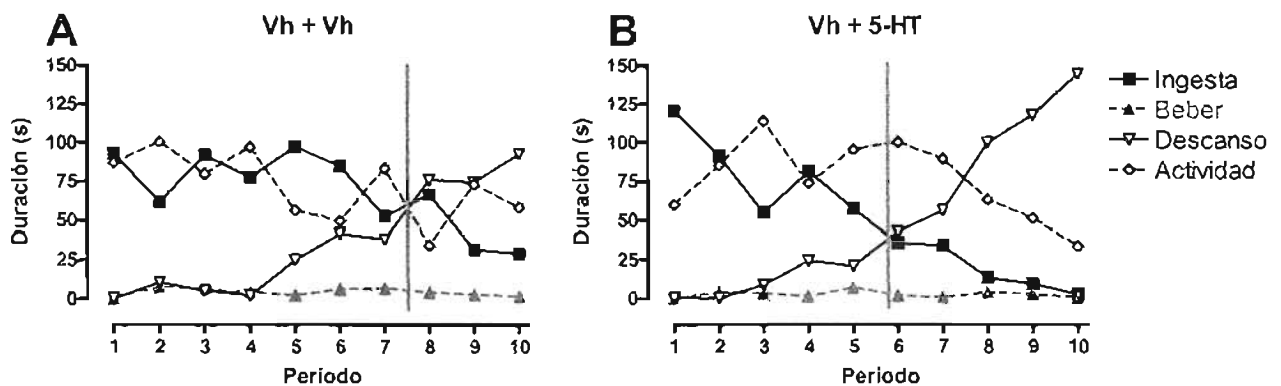


Figura 17. Efectos de vehículo (A) y la 5-HT (B) en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 30 minutos fue dividido en 10 periodos de 3 minutos. La línea vertical señala el momento en que se ha expresado la satisfacción. (Vh + Vh, n= 9; Vh + 5-HT, n= 7).

7.4.2 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT_{1A} sobre la hipofagia y la saciedad inducida por 5-HT

Tanto en el grupo Vh + 5-HT como en el grupo WAY + Vh, disminuyó significativamente la ingesta de carbohidratos en comparación con la situación control [$F_{(3,31)} = 8.205$; $p = 0.0004$]. Por el contrario, la hipofagia inducida por 5-HT fue bloqueada por el antagonista 5-HT_{1A} (Figura 18 A).

Al analizar la disminución de la duración de la ingesta de carbohidratos inducida por la 5-HT, se encontró que el pretratamiento con WAY 100635 previno dicho efecto

[$F_{(3,31)} = 3.027$; $p = 0.046$] (Figura 18 B). De la misma forma, se encontró que el incremento de los tiempos entre episodios de los carbohidratos fue totalmente bloqueado por el pretratamiento con WAY 100635 (Figura 18 C). Finalmente, se observó que la tasa local de alimentación de carbohidratos no se vio afectada por la administración de WAY 100635 (Figura 18 D).

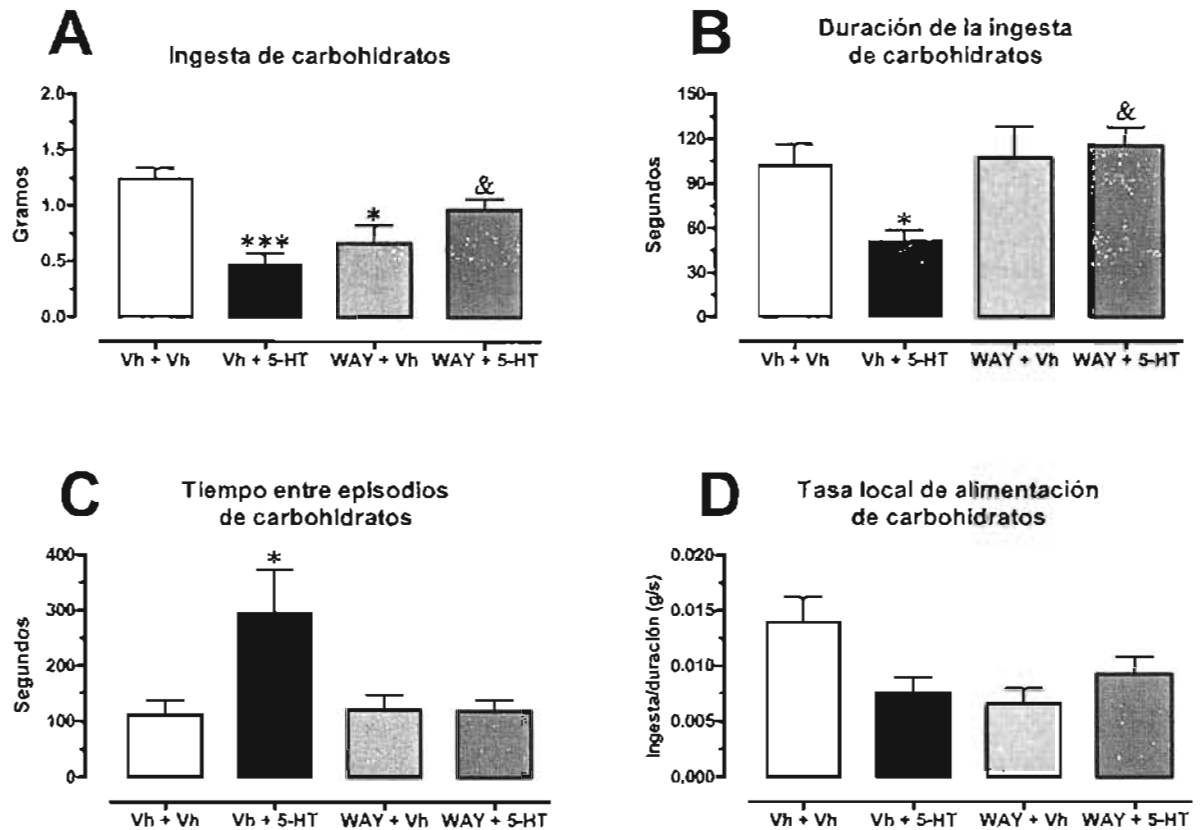


Figura 18. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con el antagonista de los receptores 5-HT_{1A}, WAY 100635: ingesta (A), duración (B), tiempo entre episodios alimentarios (C) y tasa local de alimentación (D). La significancia de las diferencias entre grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$ (vs Vh + Vh); *** $p < 0.001$ (vs Vh + Vh); & $p < 0.05$ (vs Vh + 5-HT). Datos expresados en medias \pm EEM. Datos expresados en medias \pm EEM. (Vh + Vh, $n = 9$; Vh + 5-HT, $n = 7$; WAY + Vh, $n = 7$; WAY + 5-HT, $n = 9$).

Paralelamente, se encontró que en los sujetos pretratados con WAY 100635 (WAY + Vh) se previno el progreso de la secuencia de saciedad (Figura 19 A). De la misma forma, la aceleración de la aparición del estado de saciedad producida por la administración de 5-HT también fue impedida por el antagonista de los receptores 5-HT_{1A} (Figura 19 B).

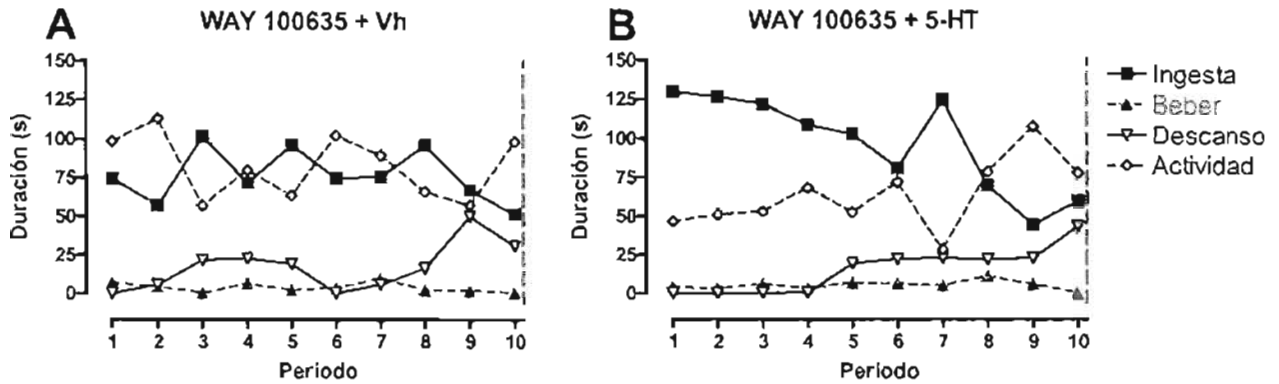


Figura 19. Efectos de la administración de WAY 100635 (A) y de la 5-HT en sujetos pretratados con WAY 100635 (B) en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 30 minutos fue dividido en 10 periodos de 3 minutos. La línea vertical discontinua ilustra que la expresión de la saciedad ocurrió después de 30 minutos. (WAY + Vh, $n = 7$; WAY + 5-HT, $n = 9$).

7.4.3 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT_{1B} sobre la hipofagia y la saciedad inducidas por la inyección intra-NPH de 5-HT

El pretratamiento con SB 216641 bloqueó la disminución de la ingesta (Figura 20 A) y duración (Figura 20 B) del consumo de carbohidratos producida por la inyección de 5-HT. Igualmente, el incremento de los tiempos entre episodios alimentarios fue totalmente revertido por la aplicación del antagonista (Figura 20 C).

Por otro lado, la tendencia a disminuir la tasa local de alimentación por efecto de la administración de 5-HT no se observó en los sujetos pretratados con SB 216641 (Figura 20 D).

El bloqueo de los receptores 5-HT_{1B} por sí mismo no produjo cambios importantes en el progreso de la saciedad conductual (Figura 21 A), sin embargo, el pretratamiento con SB 216641 previno la aceleración de la aparición del estado de saciedad producida por la administración de 5-HT (Fig. 21 B).

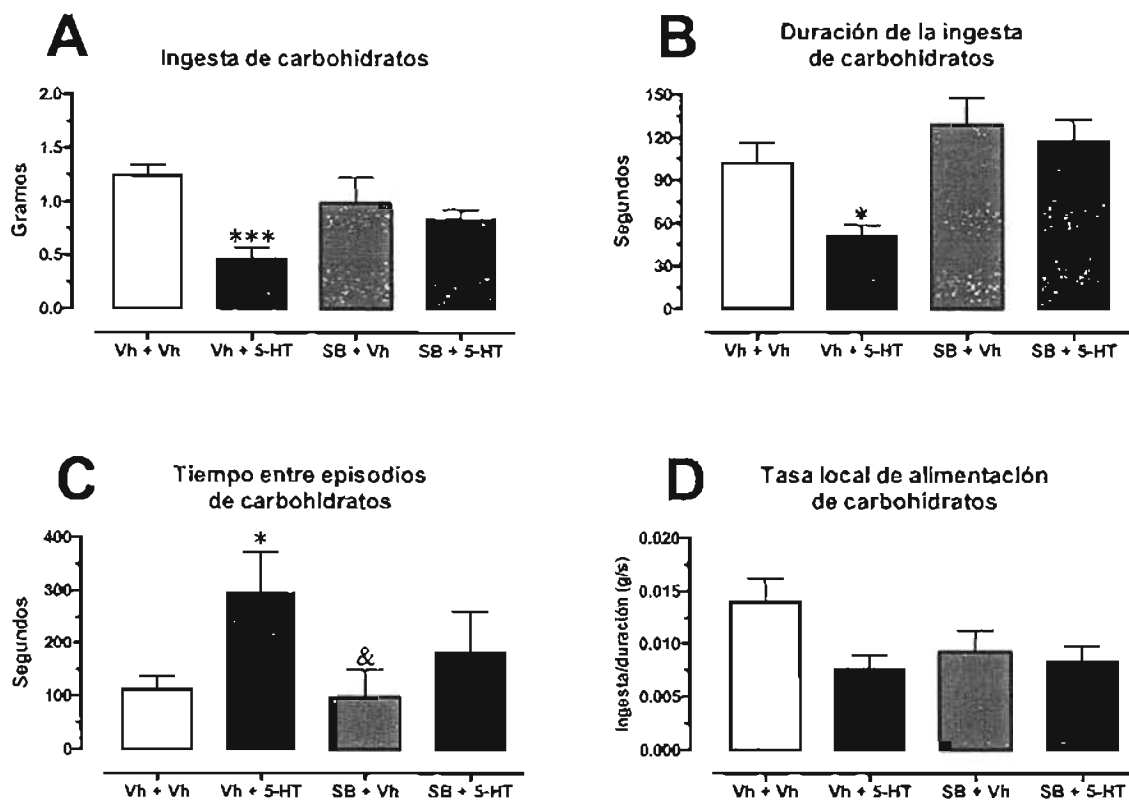


Figura 20. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con el antagonista de los receptores 5-HT_{1B}, SB 216641: ingesta (A), duración (B), tiempo entre episodios alimentarios (C) y tasa local de alimentación (D). La significancia de las diferencias entre grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$ (vs Vh + Vh); *** $p < 0.001$ (vs Vh + Vh); & $p < 0.05$ (vs Vh + 5-HT). Datos expresados en medias \pm EEM. (Vh + Vh, $n = 9$; Vh + 5-HT, $n = 7$; SB + Vh, $n = 6$; SB + 5-HT, $n = 6$).

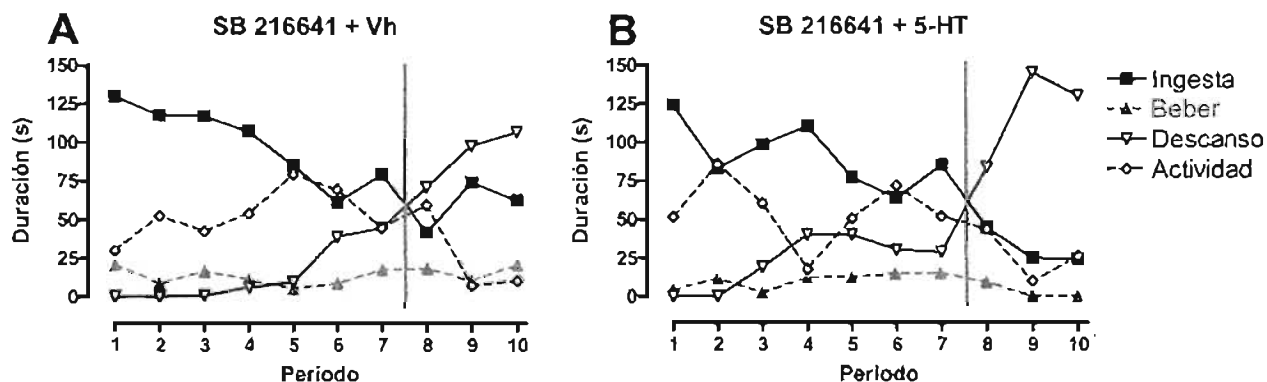


Figura 21. Efectos de la administración de SB 216641 (A) y de la 5-HT en sujetos pretratados con SB 216641 (B) en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 30 minutos fue dividido en 10 periodos de 3 minutos. La línea vertical señala el momento en que se ha expresado la satisfacción. (SB + Vh, $n = 6$; SB + 5-HT, $n = 6$).

7.4.4 Efectos del bloqueo selectivo de los receptores 5-HT_{2C} sobre la hipofagia y la saciedad inducidas por la inyección intra-NPH de 5-HT

El pretratamiento con RS-102221 bloqueó totalmente la disminución de la ingesta (Figura 22 A) y duración (Figura 22 B) del consumo de carbohidratos producida por la inyección de 5-HT. De la misma forma, el incremento de los tiempos entre episodios alimentarios fue completamente revertido por la aplicación del antagonista (Figura 22 C).

Por otro lado, la tendencia a disminuir la tasa local de alimentación por efecto de la administración de 5-HT fue revertida por el pretratamiento con RS-102221 (Figura 22 D).

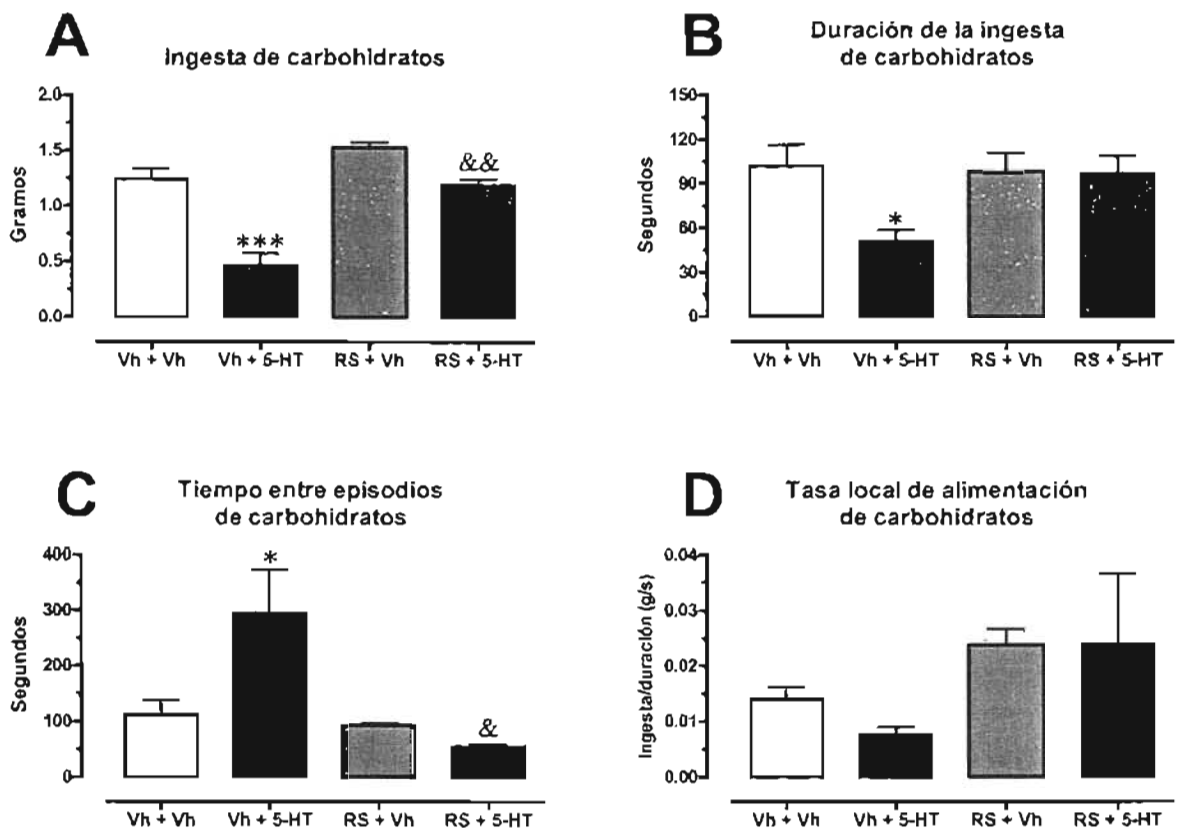


Figura 22. Efectos de la 5-HT sobre los parámetros alimentarios de carbohidratos de ratas pretratadas con el antagonista de los receptores 5-HT_{2C}, RS-102221: ingesta (A), duración (B), tiempo entre episodios alimentarios (C) y tasa local de alimentación (D). La significancia de las diferencias entre grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$ (vs Vh + Vh); *** $p < 0.001$ (vs Vh + Vh); & $p < 0.05$ (vs Vh + 5-HT); && $p < 0.01$ (vs Vh + 5-HT). Datos expresados en medias \pm EEM. (Vh + Vh, $n = 9$; Vh + 5-HT, $n = 6$; RS + Vh, $n = 6$; RS + 5-HT, $n = 9$).

De acuerdo con el análisis de la secuencia de saciedad conductual, se encontró que el RS-102221 por sí mismo (grupo RS + Vh) demoró el progreso de la secuencia de saciedad (Figura 23 A). Adicionalmente, la aceleración de la aparición del estado de saciedad producida por la administración de 5-HT fue bloqueada por el antagonista de los receptores 5-HT_{2C} (Figura 23 B).

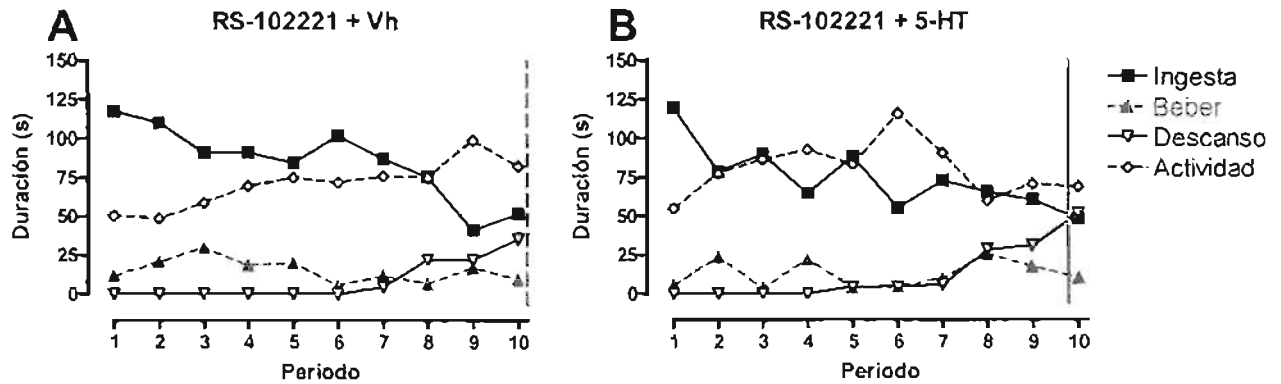


Figura 23. Efectos de la administración de RS-102221 (A) y de la 5-HT en sujetos pretratados con RS-102221 (B) en la organización temporal de la secuencia de saciedad conductual. Datos expresados en términos de las medias de las duraciones acumuladas de cada una de las categorías conductuales. El registro de duración continua de 30 minutos fue dividido en 10 periodos de 3 minutos. La línea vertical señala el momento en que se ha expresado la satisfacción, cuando la línea vertical se muestra discontinua se ilustra que la expresión de la satisfacción ocurrió después de 30 minutos. (RS + Vh, $n = 5$; RS + 5-HT, $n = 5$).

Complementariamente, se observó que la aplicación de RS-102221 por sí misma incrementó significativamente el tiempo en que los sujetos consumen agua [$F_{(3,26)} = 57.96$; $p < 0.001$] (Figura 24).

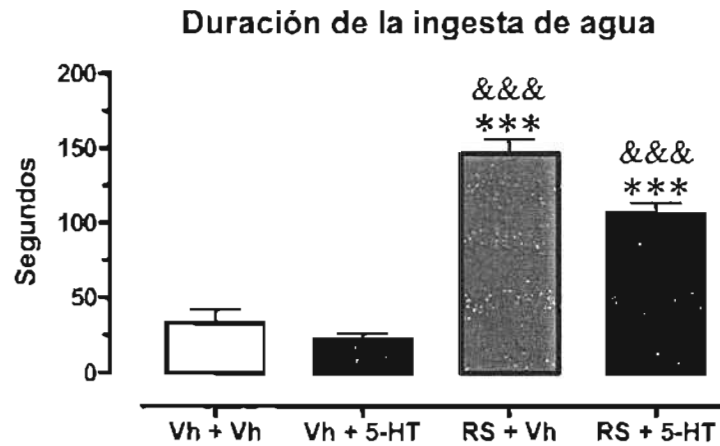


Figura 24. Efectos de la 5-HT sobre la duración de la ingesta de agua de ratas pretratadas con RS-102221. La significancia de las diferencias entre grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. *** $p < 0.001$ (vs Vh + Vh); &&& $p < 0.001$ (vs Vh + 5-HT). Datos expresados en medias \pm EEM. (Vh + Vh, $n = 9$; Vh + 5-HT, $n = 7$; RS + Vh, $n = 6$; RS + 5-HT, $n = 6$). Abreviaturas: Vh= vehiculo; RS= RS-102221.

8. Discusión

Actualmente, la investigación dirigida hacia el esclarecimiento de la participación de los sistemas de neurotransmisores en el control de la ingestión de alimento constituye uno de los campos que potencialmente puede contribuir en el desarrollo de agentes farmacológicos con uso terapéutico en patologías como la obesidad. Partiendo de este razonamiento, en el presente trabajo se estudió la función regulatoria de la inervación serotoninérgica del NPH en el control del comportamiento alimentario, además de determinar la contribución de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en la hipofagia y la expresión de la saciedad inducida por la administración de 5-HT en el NPH. Así, los resultados del presente estudio contribuyen de manera significativa al entendimiento de los mecanismos conductuales asociados a la transmisión serotoninérgica en el NPH para el control del comportamiento alimentario.

En conjunto, los resultados de este estudio se unen a los reportados por investigaciones que sugieren que los componentes neuronales del NPH participan de manera importante en el control alimentario, pues esta región ha mostrado ser sensible a una gran variedad de agentes que incrementan o disminuyen la ingesta de alimento. Entre los agentes orexigénicos se encuentran principalmente el NPY (Morley, 1987; Stanley, Chin & Leibowitz, 1985), la galanina (Kyrkouli, Stanley, Seirafi & Leibowitz, 1990), las orexinas (Dube, Kalra & Kalra, 1999), los opioides (Grandison & Guidotti, 1977), la noradrenalina y la adrenalina (Hagemann, *et al.*, 1998); entre los agentes anorexigénicos que tienen efecto al administrarse en el NPH se destaca a la CRH; (Krahn, Gosnell, Levine & Morley, 1988), la leptina (Satoh, *et al.*, 1997) y, por supuesto, la serotonina (Leibowitz & Alexander, 1998). Adicionalmente, se sabe que este núcleo hipotalámico es una de las regiones donde se incrementa consistentemente la liberación de NPY en respuesta a la privación de alimento (Dube, *et al.*, 1992), o bien, se incrementa el ARNm para CRH en ratas sobrealimentadas (Seeley, *et al.*, 1996). Así, los hallazgos del presente trabajo apoyan fuertemente la idea de que el NPH es uno de los sitios de interacción de neurotransmisores y neuromoduladores que co-participan en la regulación del comportamiento alimentario.

8.1 Lesión serotoninérgica del NPH

Dado que uno de los principales objetivos del presente trabajo consistió en determinar la función que tiene la inervación serotoninérgica del NPH en el control alimentario, se empleó como estrategia experimental la denervación selectiva de las fibras serotoninérgicas del NPH para probar la hipótesis de que dicha inervación es relevante para la regulación de la alimentación. El modelo de lesión empleado mostró que la administración de la neurotoxina 5,7-DHT producía la disminución tanto del contenido basal de 5-HT como de la respuesta funcional al inhibidor de captura de 5-HT (fluoxetina) en el NPH, efecto comparable con datos reportados previamente (Choi, *et al.*, 2004; Currie, *et al.*, 1998; Fletcher, *et al.*, 1999; Hall, *et al.*, 1999; Lehmann, *et al.*, 2000). Este efecto fue selectivo para las fibras serotoninérgicas y no afectó el contenido basal de DA. A pesar de que se ha sugerido que la 5,7-DHT no es selectiva para las fibras serotoninérgicas, pues afecta también a las fibras catecolaminérgicas (Bjorklund, Baumgarten, Lachenmayer & Rosengren, 1975), en los animales pretratados con el inhibidor de la captura de DA y noradrenalina, nomifensina, se logró un efecto altamente selectivo (Lin, Bickford, Palmer, Cline & Gerhardt, 1997; Schultz, Scarnati, Sundstrom & Romo, 1989).

8.2 Cambios en la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas producidos por la lesión serotoninérgica

Después de mostrar que la lesión con la 5,7-DHT disminuía de manera importante la transmisión serotoninérgica en el NPH, se obtuvo un modelo conveniente para el estudio de la relación entre la 5-HT de ese núcleo y la conducta alimentaria. Así, la determinación de la ingesta de alimento de los sujetos tratados con 5,7-DHT mostró que el consumo de proteínas disminuye, lo que apoya la idea de que la serotonina hipotalámica puede estimular la ingesta de este nutrimento (Mancilla, Zaragoza & Mejía, 1994).

Para el caso de la ingesta de carbohidratos, se esperaba que al disminuir la cantidad de 5-HT en el NPH disminuiría también el tono inhibitorio sobre la ingesta de este nutrimento y, consecuentemente, se incrementaría su consumo (Bray, Fisler & York, 1990); no obstante, los resultados muestran que el tratamiento con 5,7-DHT no causó sobrealimentación crónica, únicamente en el primer día posterior a la lesión la ingesta de carbohidratos fue mayor.

A pesar de que la lesión del NPH no produjo hiperfagia, si se observó que el patrón de consumo de carbohidratos de los sujetos lesionados difirió de la de los sujetos en la condición control, los cuales aumentaron progresivamente el consumo de dicho nutrimento durante el transcurso de los registros conductuales posteriores (días 2-9 post-lesión) y este patrón no se observó en los sujetos lesionados.

Por otro lado, la ingesta de grasas se incrementó en el noveno día de registro y la administración de 5-HT en el día 10, no revirtió dicho incremento. En contraste, la administración de 5-HT durante el último día de registro redujo significativamente la ingesta de carbohidratos, tanto en los sujetos lesionados como en los del grupo control, aunque este efecto hipofágico fue notablemente mayor en los sujetos lesionados. Este hallazgo sugiere que en los sujetos lesionados pudo haberse incrementado la sensibilidad de los receptores (postsinápticos) a serotonina.

Previamente se había planteado que las fibras serotoninérgicas que se originan en el núcleo del rafé medial y que inervan al NPH constituyen un importante sustrato anatómico y neuroquímico inhibitorio de la ingesta de alimento (Leibowitz, *et al.*, 1990; Shor-Posner, *et al.*, 1991; Dube, Sahu, Kalra & Kalra, 1992; Leibowitz & Alexander, 1998; entre otros). Esta hipótesis sugiere que la actividad serotoninérgica en el NPH se relaciona selectivamente con la disminución de la ingesta de carbohidratos (Kitchener & Dourish, 1994; Leibowitz & Alexander, 1998; Rouch, Nicolaidis & Orosco, 2001). En su conjunto, los resultados obtenidos en el presente trabajo sobre los efectos de la lesión serotoninérgica y la ingesta de alimento llaman a revalorar estas propuestas. Los datos aquí presentados muestran que la ingesta de proteínas y grasas también es influida por la actividad serotoninérgica hipotalámica, al menos cuando la transmisión serotoninérgica del NPH está crónicamente alterada, en este caso, por efecto de la lesión con 5,7-DHT.

8.3 Cambios en la microestructura de la conducta alimentaria producidos por la lesión serotoninérgica

El análisis del comportamiento alimentario no puede ser reducido únicamente a la cuantificación del consumo de alimento, por lo tanto, los componentes de la conducta que le dan su carácter cualitativo resultan relevantes para el estudio sistemático de la alimentación. En el presente estudio se empleó como herramienta metodológica el análisis de los

parámetros de la estructura alimentaria o análisis microestructural para establecer el papel de la transmisión serotoninérgica del NPH en el control de la conducta alimentaria. Así, los cambios resultantes de la lesión serotoninérgica sobre los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria consistieron principalmente en el incremento de la duración de los episodios alimentarios de las proteínas, la disminución del tiempo de actividad y la tendencia a incrementar el tiempo de descanso.

A diferencia de lo anterior, no se encontró que la frecuencia de los episodios alimentarios se modificara por la administración de la 5,7-DHT o por la administración de serotonina en el décimo día de registro, lo que sugiere que este parámetro al parecer no depende de la transmisión serotoninérgica en el NPH. De la misma forma, no se observaron cambios en el peso corporal de los sujetos lesionados en comparación con los falsamente lesionados.

A pesar de que la lesión por sí misma no produjo cambios sobre los tiempos entre episodios alimentarios, la inyección de 5-HT en el NPH el décimo día de registro produjo incrementos sustanciales de este parámetro en ambos grupos. Este hallazgo permite suponer que la 5-HT del NPH influye sobre la regulación de los tiempos entre episodios alimentarios principalmente a través de elementos postsinápticos (facilitando la expresión de la saciedad).

Para el caso específico de la duración de los episodios alimentarios de carbohidratos, se esperaba que con la lesión serotoninérgica se produjera un incremento notorio, pues se ha reportado que la serotonina y algunos de los agonistas de los receptores 5-HT_{1/2} son capaces de reducir la duración de los episodios alimentarios (McGuirk, Muscat & Willner, 1992; Leibowitz, *et al.*, 1990; Shor-Posner, *et al.*, 1991); tal es el caso del Ro 60-0175 (agonista de los receptores 5-HT_{2c}), que al administrarse sistémicamente disminuye la duración y tasa local de alimentación (Clifton, *et al.*, 2000). En el presente estudio, solamente se observó que la duración de los episodios alimentarios de carbohidratos tendió a incrementarse, sin alcanzar significancia estadística. Lo anterior permite suponer que, al perderse unilateralmente el tono inhibitorio de la serotonina, se incrementó la actividad del NPH contralateral, o bien, algún otro factor saciatorio —por ejemplo la leptina (Satoh, *et al.*, 1997)—, actuó como parte de un proceso compensatorio ante la disminución del tono inhibitorio serotoninérgico.

En síntesis, los hallazgos sobre la lesión serotoninérgica y su afectación sobre la ingesta y los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria pueden ser explicados parcialmente en función de la pérdida del tono inhibitorio serotoninérgico del NPH del lado derecho y, dado que el tratamiento con 5,7-DHT no causó sobrealimentación, es posible que el NPH contralateral haya incrementando su actividad, compensado la disminución de la transmisión serotoninérgica en el lado lesionado, ya que los resultados del experimento de microdiálisis y HPLC mostraron que la administración de 5,7-DHT en el NPH disminuye de manera importante los contenidos extracelulares de 5-HT y la respuesta a la fluoexetina (disminuciones de 60.25% y 64.17%, respectivamente).

Con relación a este último punto, la justificación de lesionar unilateralmente al NPH se basó en los numerosos reportes que señalan que la activación unilateral de los receptores serotoninérgicos del NPH es suficiente para inducir la disminución de la ingesta de alimento (Leibowitz, *et al.*, 1990; Leibowitz, *et al.*, 1993; Currie & Coscina, 1996; D. V. Helm, Rada & Hoebel, 2003; entre otros). Sin embargo, los resultados inesperados de la lesión subrayan la importancia de que en estudios posteriores se realicen las manipulaciones bilateralmente.

Igualmente importante es considerar que el NPH no actúa como un centro independiente en la regulación de la conducta alimentaria, sino que es parte de un complejo circuito y que interactúa con otros grupos neuronales hipotalámicos y extrahipotalámicos. Esta idea se sustenta en los reportes que han mostrado que en el NPH convergen distintas vías neurales que participan en la regulación de la homeostasis energética y la alimentación, incluyendo axones que se originan en el núcleo arqueado y que contienen NPY, invasión del HL con orexina, además de recibir invasión de otras regiones con distintos neurotransmisores y hormonas que modifican a la alimentación (galanina, melanocortina, noradrenalina, péptidos opioides e incluso endocannabinoides) (King & Williams, 1998; Yun, *et al.*, 2005; Hagemann, *et al.*, 1998; Williams, *et al.*, 2001; Verti, *et al.*, 2005).

8.4 Participación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} del NPH en el control serotoninérgico de la alimentación

Para determinar la participación de los receptores a serotonina subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en la hipofagia inducida por la administración de 5-HT en el NPH, en el presente

trabajo se empleó como estrategia experimental el bloqueo selectivo de estos subtipos de receptor y el análisis del comportamiento alimentario de ratas no lesionadas. De tal forma, se establecieron los efectos de la administración intra-NPH de 5-HT sobre la microestructura alimentaria y la secuencia de saciedad conductual en grupos de sujetos independientes que fueron pretratados con antagonistas selectivos de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} o 5-HT_{2C}.

Los efectos producidos por la administración de 5-HT en el NPH confirman hallazgos previos donde se ha mostrado que la actividad serotoninérgica en el NPH se relaciona con la disminución de la ingesta de alimento (Leibowitz, *et al.*, 1990; Leibowitz, *et al.*, 1993; Fletcher & Coscina, 1993; Currie & Coscina, 1996; Leibowitz & Alexander, 1998), principalmente del nutrimento carbohidratos y durante el inicio de la fase de oscuridad, es decir, durante el inicio del periodo natural de alimentación (Tempel, Shor-Posner, Dwyer & Leibowitz, 1989; Leibowitz, *et al.*, 1990; Weiss, Rogacki, Fueg, Buchen & Leibowitz, 1990; Leibowitz, *et al.*, 1993; Currie & Coscina, 1996). Los resultados obtenidos mostraron que cuando la inervación serotoninérgica al NPH no está alterada, los efectos de la administración aguda de 5-HT si son selectivos sobre los parámetros conductuales de la ingesta de carbohidratos (disminuyendo la Ingesta y duración de los episodios alimentarios e incrementando los tiempos entre episodios) y de acuerdo con el análisis de la secuencia de saciedad conductual, la administración de 5-HT en el NPH acelera la aparición del estado de saciedad sin alterar el patrón típico de la secuencia de saciedad (Lawton & Blundell, 1993; Leibowitz & Alexander, 1998; Leibowitz, *et al.*, 1990; Shor-Posner, *et al.*, 1991; Tempel, *et al.*, 1989; Clifton, *et al.*, 2000; Halford, *et al.*, 1998; Hewitt, *et al.*, 2002).

Por otro lado, se encontró que la 5-HT del NPH no contribuye en la regulación de la ingesta de proteínas o grasas en el inicio natural de la alimentación de ratas con inervación serotoninérgica del NPH íntegra, ya que la activación inespecífica de los receptores serotoninérgicos o el bloqueo selectivo de los receptores subtipo 5-HT_{1A/1B/2C}, bajo las condiciones en que se realizaron estos experimentos (animales no lesionados, tratamientos agudos, registros conductuales durante el inicio de la oscuridad), no modificaron los parámetros alimentarios del consumo de proteínas o grasas. Este resultado es congruente con reportes previos (Wurtman & Wurtman, 1979a; Wurtman & Wurtman, 1977; Wurtman & Wurtman, 1979b; entre otros).

Tanto la inhibición de la ingesta de carbohidratos, como la temprana aparición de la saciedad producidos por la administración de 5-HT en el NPH, fueron prevenidos por el bloqueo de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}, aunque los patrones conductuales (microestructura y secuencia de saciedad) difirieron notablemente. Considerando en conjunto los elementos descritos en la literatura y los resultados de la presente investigación, mediante un modelo neuroquímico dentro del NPH es posible explicar el papel de la 5-HT en la regulación de la conducta alimentaria.

En primer lugar, es sabido que las células del NPH producen y liberan CRH, factor que estimula la liberación de la ACTH por la pituitaria anterior, la que a su vez incrementa la liberación de corticosteroides adrenales (principalmente corticosterona), trayendo como resultado la disminución de la ingesta de alimento y el aumento del gasto energético (Seeley, *et al.*, 1996; Nicholson, Akil & Watson, 2002). Ahora bien, la relación entre el sistema efector (inhibitorio de la ingesta de alimento) de las células del NPH y la modulación serotoninérgica podría bien fundamentarse por la participación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}. Dado lo anterior, resulta conveniente describir y explicar puntual e independientemente los hallazgos relacionados a cada uno de los subtipos de receptor estudiados.

8.4.1 Receptores 5-HT_{1A}

Cuando se pretrató con el antagonista de los receptores 5-HT_{1A}, WAY 100635, la 5-HT no disminuyó la ingesta ni la duración de los episodios alimentarios, además de que la aceleración de la secuencia de saciedad conductual inducida por la administración de 5-HT fue totalmente revertida, es decir, se presentó una prolongada demora de la expresión de la satisfacción (tuvieron que transcurrir más de 30 minutos para que se expresara). Conjuntamente, se encontró que la administración de WAY 100635 por sí misma disminuyó la ingesta de carbohidratos.

De acuerdo con estos hallazgos, es probable que los receptores 5-HT_{1A} participen en dos niveles diferentes: presináptica o postsinápticamente. En el primer caso, al activarse los receptores 5-HT_{1A} presinápticos se estaría inhibiendo la liberación de noradrenalina (Barnes & Sharp, 1999), evitando así que se estimule la ingesta de alimento a través de los receptores α_2 -adrenérgicos (Wellman, Davies, Morien & McMahon, 1993). En el segundo caso, la activación de los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos podría inhibir directamente a las

células del NPH que liberan CRH (un factor neuroquímico saciatorio), evitando así que se inhiba la ingesta de alimento. Este segundo tipo de participación de los receptores 5-HT_{1A} podría explicar el hallazgo de que la administración de WAY 100635 *per se* disminuyó la ingesta de carbohidratos, pues se ha descrito que la activación de los receptores 5-HT_{1A} disminuye la concentración de CRH en el hipotálamo (Pan & Gilbert, 1992), de manera que al estar bloqueados los receptores 5-HT_{1A} de las células del NPH, no se inhibió la liberación de CRH y, consecuentemente, al aumentar la concentración de CRH disminuyó la ingesta de alimento (Krahn, Gosnell, Levine & Morley, 1988) (Figura 25). Cabe recordar que la CRH hipotalámica ha mostrado tener un efecto supresor de la ingesta de alimento (Leibowitz, Sladek, Spencer & Tempel, 1988; Woods, Seeley, Porte & Schwartz, 1988; Kasckow, *et al.*, 2001).

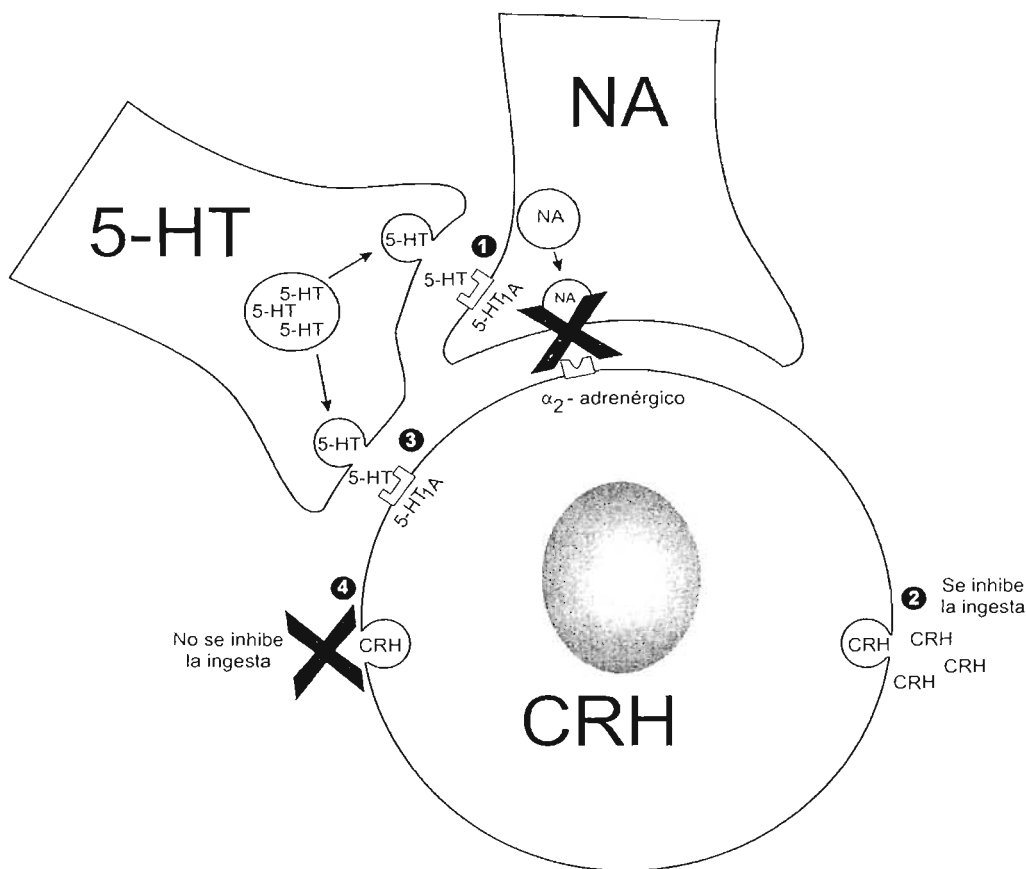


Figura 25. Representación esquemática de la posible participación de la transmisión serotoninérgica mediada por receptores 5-HT_{1A} en el NPH. 1) La activación de los receptores 5-HT_{1A} presinápticos situados en las fibras noradrenérgicas inhibe la liberación de noradrenalina (NA), impidiendo que se estimulen los receptores α₂-adrenérgicos en las células del NPH, lo que impide que sean inhibidas éstas últimas, 2) al incrementarse la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) se inhibe la ingesta de alimento; 3) la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos en el NPH inhibe directamente a las células que producen y liberan CRH, 4) disminuye la liberación de CRH y no se inhibe la ingesta de alimento.

8.4.2 Receptores 5-HT_{1B}

El pretratamiento con el SB 216641, antagonista de los receptores 5-HT_{1B}, también bloqueó la hipofagia (disminución de la ingesta y la duración de los episodios alimentarios de carbohidratos) y la aceleración de la secuencia de saciedad conductual inducidos por la administración de 5-HT, aunque dichos efectos fueron menos pronunciados que lo observado en los sujetos pretratados con los antagonistas de los receptores 5-HT_{1A} o 5-HT_{2C}. De acuerdo con el análisis de la secuencia de saciedad conductual, los sujetos pretratados con SB 216641 y posteriormente tratados con 5-HT mostraron una secuencia muy semejante a la observada en la situación control (la satisfacción se expresó entre periodos 7 y 8 del registro conductual), resultado notablemente distinto a lo encontrado en los animales pretratados con los antagonistas 5-HT_{1A} o 5-HT_{2C}, mismos que mostraron un efecto más profundo sobre la secuencia de saciedad conductual.

Los resultados encontrados sobre la participación de los receptores 5-HT_{1B} en el control serotoninérgico del comportamiento alimentario podrían explicarse a través de la interacción entre la 5-HT y el NPY. Basándose en los reportes que indican que las fibras NPYérgicas que se originan en el núcleo arqueado y que inervan al NPH contienen alta densidad de receptores 5-HT_{1B} (Makarenko, Meguid & Ugrumov, 2002), podría sugerirse que al ser activados estos receptores sería inhibida la liberación de NPY (los receptores 5-HT_{1B} están acoplados negativamente a la adenilil ciclasa vía proteínas G_i) (Barnes & Sharp, 1999), evitando así que se estimule la ingesta de alimento. Así, una de las principales sustancias endógenas estimuladoras de la alimentación como el NPY, podría estar siendo regulada por receptores subtipo 5-HT_{1B} presinápticos (Lucas, *et al.*, 1998) (Figura 26).

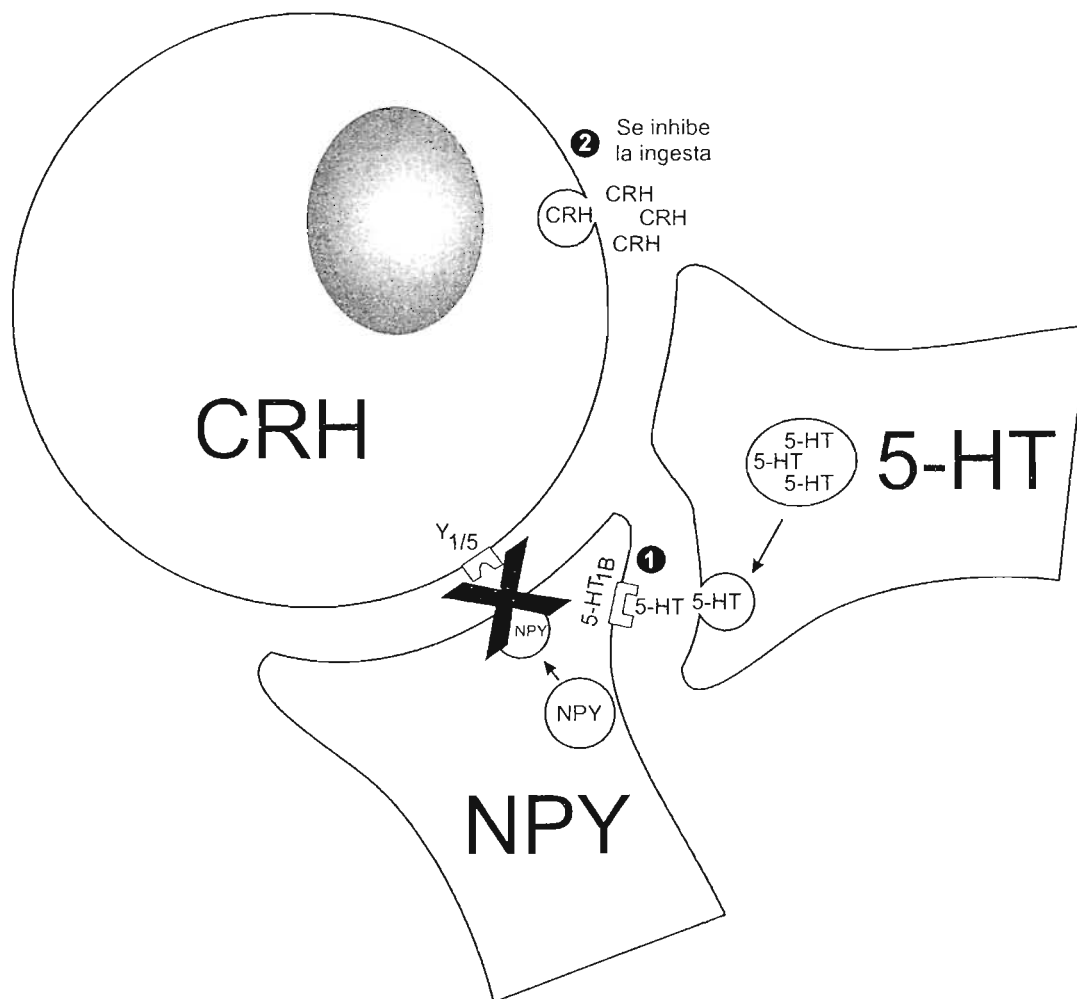


Figura 26. Representación esquemática de la posible participación de la transmisión serotoninérgica mediada por receptores 5-HT_{1B} en el NPH. 1) La activación de los receptores 5-HT_{1B} presinápticos situados en las fibras NPYérgicas inhibe la liberación de neuropéptido Y (NPY), impidiendo que se estimule la ingesta vía receptores $Y_{1/5}$, probablemente a causa de la desinhibición de las células del NPH, 2) al incrementarse la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) se inhibe la ingesta de alimento.

8.4.3 Receptores 5-HT_{2C}

Por su parte, el pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{2C} , RS-102221, previno todos los efectos de la administración de 5-HT en el NPH, incluso la tendencia a disminuir la tasa local de alimentación y, al igual que el pretratamiento con WAY 100635, revirtió la aceleración del proceso saciatorio inducida por la 5-HT, aunque la proporción de tiempo de ingesta con respecto del descanso fue menor que lo observado con el bloqueo de los receptores 5-HT_{1A} . De acuerdo con los resultados del análisis de los parámetros de la

estructura alimentaria, los efectos de la 5-HT fueron profundamente afectados con el bloqueo de los receptores 5-HT_{2C}, más que cuando se bloquearon los 5-HT_{1A} o los 5-HT_{1B}.

De acuerdo con los reportes encontrados en la literatura, la contribución de los receptores 5-HT_{2C} en la supresión de la ingesta de alimento inducida por la 5-HT ha sido señalada como una de las más sustanciales. La evidencia al respecto va desde los estudios conductuales con animales que carecen del receptor 5-HT_{2C} donde se reporta obesidad (Tecott, *et al.*, 1995), sobrealimentación y una secuencia de saciedad anómala (Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999), hasta los estudios farmacológicos donde se ha encontrado que la activación selectiva de los receptores 5-HT_{2C} produce un efecto hipofágico conductualmente selectivo (incrementando la latencia al primer episodio alimentario y disminuyendo la duración y tasa local de alimentación) (Clifton, Lee & Dourish, 2000; Hewitt, Lee, Dourish & Clifton, 2002). Es probable que el mecanismo efector (inhibitorio de la ingesta) asociado a la activación de los receptores 5-HT_{2C} involucre principalmente el incremento de la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (Jorgensen, Knigge, Kjaer, Moller & Warberg, 2002), para luego estimular la liberación de corticosterona por la ACTH y finalmente disminuir la ingesta de alimento (Krahn, *et al.*, 1988; Nicholson, *et al.*, 2002) (Figura 27).

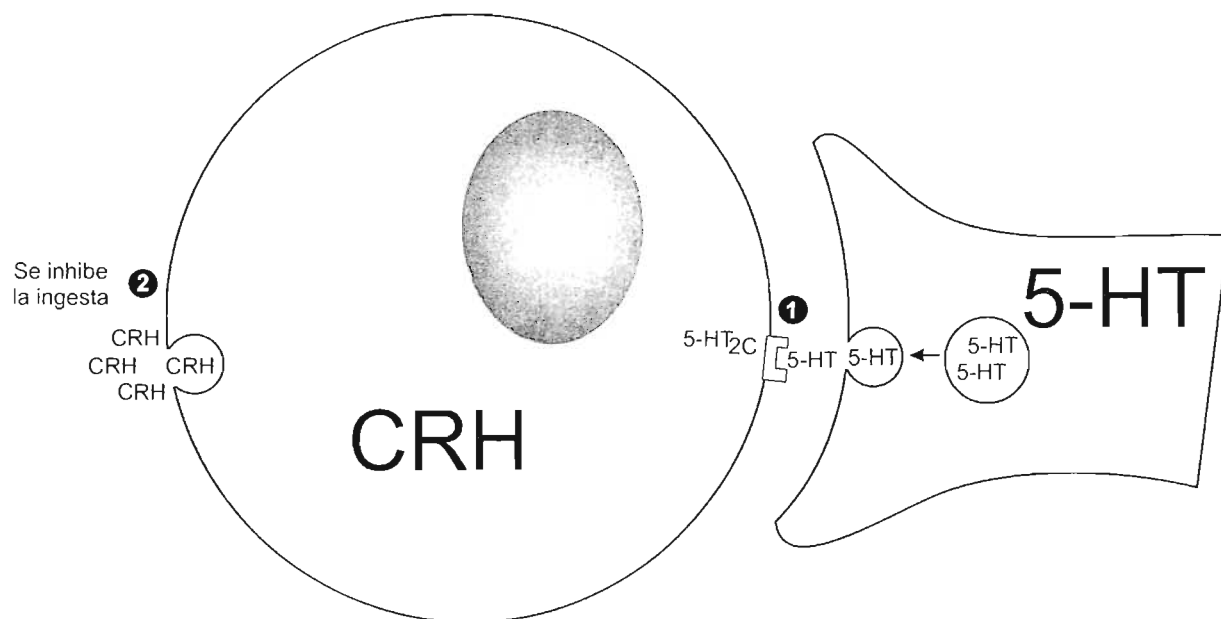


Figura 27. Representación esquemática de la posible participación de la transmisión serotoninérgica mediada por receptores 5-HT_{2C} en el NPH. 1) La activación de los receptores 5-HT_{2C} postsinápticos estimula a las células del NPH que sintetizan la hormona liberadora de corticotropina (CRH), 2) al incrementarse la liberación de la CRH se inhibe la ingesta de alimento.

En conjunto, los resultados del experimento con animales no lesionados (tratamientos agudos) permiten sugerir que la función de la 5-HT del NPH se relaciona directamente con mecanismos conductuales específicos (proceso de saciedad y satisfacción) y dicha actividad reguladora es mediada en parte por los subtipos de receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}, influyendo principalmente sobre la saciedad vinculada a la ingestión de carbohidratos y sus parámetros conductuales asociados (Bouwknicht, *et al.*, 2001; Halford & Blundell, 1996; Lucas, *et al.*, 1998; Hewitt, *et al.*, 2002). De tal forma, la expresión de la hipofagia inducida por la administración intrahipotalámica de 5-HT requiere, por un lado, de la integridad del sistema para ejercer su tono modulador y, por otra parte, de la activación de más de un subtipo de receptor para la regulación fina de la conducta. Concretamente, la activación de los receptores 5-HT_{2C} podría ser suficiente para inhibir la ingesta de carbohidratos, aunque la actividad de los receptores subtipo 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} podría contribuir de manera más precisa con el control de los aspectos temporales del consumo de alimento, proporcionando un tono modulador más complejo.

En este contexto, la interacción entre la 5-HT y otros mensajeros químicos como el NPY y la CRH dentro del NPH adquiere gran relevancia en el estudio de los mecanismos centrales que controlan a la alimentación. En suma, los presentes resultados sugieren que la inervación serotoninérgica del NPH constituye un importante factor regulador de la alimentación, inclusive con potencial uso para el desarrollo de estrategias terapéuticas encaminadas al tratamiento de la obesidad.

9. Conclusiones

9.1 Generales

1. La disminución unilateral de la transmisión serotoninérgica en el NPH modifica algunos de los parámetros alimentarios de los nutrimentos proteínas y grasas, aunque no produce sobrealimentación crónica de carbohidratos.
2. Cuando los animales no están lesionados, la administración de 5-HT del NPH inhibe selectivamente la ingesta y la duración del consumo de carbohidratos en el inicio de la fase de oscuridad, además de que acelera la secuencia de saciedad conductual sin alterar el patrón conductual típico; estos efectos requieren de la activación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}.

9.2 Particulares

1. La administración de 5,7-DHT en ratas pretratadas con nomifensina disminuye selectivamente los contenidos basales de 5-HT y la respuesta a la fluoxetina de las fibras serotoninérgicas del NPH.
2. La lesión unilateral con 5,7-DHT en el NPH:
 - Disminuye la ingesta y la duración de los episodios alimentarios de las proteínas.
 - Incrementa los efectos de la 5-HT sobre la ingesta y los tiempos entre episodios de carbohidratos.
 - Disminuye el tiempo de descanso.
3. En animales no lesionados:
 - Los efectos de la administración aguda de 5-HT en el NPH son selectivos para los carbohidratos, disminuyendo la Ingesta y duración de los episodios alimentarios e incrementando los tiempos entre episodios.
 - La inyección de 5-HT en el NPH acelera la aparición del estado de saciedad sin alterar el patrón típico de la secuencia de saciedad conductual.
 - Se requiere de la activación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} para que la administración de 5-HT en el NPH induzca hipofagia y acelere la aparición del estado de saciedad.
 - La activación de los receptores 5-HT_{2C} podría ser suficiente para inhibir la ingesta de carbohidratos, aunque la actividad de los receptores subtipo 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} podría contribuir de manera más precisa con el control de los aspectos temporales del consumo de alimento.

10. Perspectivas

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la 5-HT del NPH constituye un importante factor regulador de la alimentación, sin embargo, a partir de estos y otros hallazgos, surgen nuevas preguntas sobre la relación que existe entre la transmisión serotoninérgica y la regulación del comportamiento alimentario. Al respecto, se propone:

1. Realizar estudios conductuales en los que se realicen lesiones serotoninérgicas bilaterales del NPH.
2. Estudiar la participación de los distintos subtipos de receptores serotoninérgicos que podrían ser activados simultáneamente para observar los cambios en el comportamiento alimentario.
3. Explorar la participación de la 5-HT y sus receptores dentro de otras regiones cerebrales en la regulación del comportamiento alimentario, por ejemplo en el hipotálamo lateral, que también recibe una importante inervación serotoninérgica.
4. Determinar las posibles interacciones de la 5-HT con otros mensajeros químicos, por ejemplo con las catecolaminas, los opioides endógenos o los endocannabinoides.
5. Realizar estudios de inmunohistoquímica para determinar la localización de los receptores a serotonina en los distintos elementos neuronales del NPH (células CRH, terminales NPYérgicas o noradrenérgicas).
6. Diseñar estudios para esclarecer los efectos de la activación de los receptores 5-HT_{1A} sobre la liberación de noradrenalina y la CRH en el hipotálamo.
7. Estudiar los efectos de la activación de los receptores 5-HT_{1B} sobre la liberación de NPY y sobre la actividad de las células NPYérgicas que proyectan al NPH.
8. Realizar estudios en los que se esclarezcan los efectos de la activación de los receptores 5-HT_{2C} sobre la liberación de CRH en el NPH.

11. Referencias

- Aghajanian, G. K. (1995). Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. F. R. Bloom & D. J. Kupfer (Eds), **Psychopharmacology: the fourth generation of progress** (pp. 1451-1459). New York: Raven Press.
- Bagdy, G. (1995). Role of the hypothalamic paraventricular nucleus in 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor-mediated oxytocin, prolactin and ACTH/corticosterone responses. **Behavioural Brain Research**, **73** (1-2), 277-280.
- Barnes, N. M. & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, **38** (8), 1083-1152.
- Baumgarten, H. G. & Bjorklund, A. (1976). Neurotoxic indoleamines and monoamine neurons. **Annual Review of Pharmacology & Toxicology**, **16**, 101-111.
- Berge, O. G., Fasmer, O. B., Tveiten, L. & Hole, K. (1985). Selective neurotoxic lesions of descending serotonergic and noradrenergic pathways in the rat. **Journal of Neurochemistry**, **44** (4), 1156-1161.
- Bjorklund A., Baumgarten H. G., Lachenmayer L. & Rosengren E. (1975). Recovery of brain noradrenaline after 5,7-dihydroxytryptamine-induced axonal lesions in the rat. **Cell & Tissue Research**, **161** (2), 145-55.
- Blundell, J. E. (1984). Serotonin and appetite. **Neuropharmacology**, **23** (12B), 1537-1551.
- Blundell, J. E. & Hill A. J. (1986). Behavioral pharmacology of feeding: Relevance of animal experiments in man. N. Carruba & J. E. Blundell (Eds), **Pharmacology of Eating Disorders**. New York: Raven Press.
- Blundell, J. E. & Hill, A. J. (1987). Nutrition, serotonin and appetite: case study in the evolution of a scientific idea. **Appetite**, **8** (3), 183-194.
- Bobker, D. H. & Williams, J. T. (1990). Serotonin-mediated inhibitory postsynaptic potential in guinea-pig prepositus hypoglossi and feedback inhibition by serotonin. **Journal of Physiology**, **422**, 447-462.
- Boess, F. G. & Martin, I. L. (1994). Molecular biology of 5-HT receptors.

Neuropharmacology, **33** (3-4), 275-317.

- Bonhaus, D. W., Weinhardt, K. K., Taylor, M., DeSouza, A., McNeeley, P. M., Szczepanski, K., Fontana, D. J., Trinh, J., Rocha, C. L., Dawson, M. W., Flippin, L. A. & Eglen, R. M. (1997). RS-102221: a novel high affinity and selective, 5-HT_{2C} receptor antagonist. **Neuropharmacology**, **36** (4-5), 621-629.
- Bouwknicht, J. A., Van Der Gugten, J., Hijzen, T. H., Maes, R. A., Hen, R. & Olivier, B. (2001). Male and female 5-HT(1B) receptor knockout mice have higher body weights than wildtypes. **Physiology & Behavior**, **74** (4-5), 507-516.
- Bray, G. A., Fisler, J. & York, D. A. (1990). Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **11**, 128-181.
- Breisch, S. T., Zemlan, F. P. & Hoebel, B. G. (1976). Hyperphagia and obesity following serotonin depletion by intraventricular p-chlorophenylalanine. **Science**, **192** (4237), 382-385.
- Brewerton, T. D. (1995). Toward a unified theory of serotonin dysregulation in eating and related disorders. **Psychoneuroendocrinology**, **20** (6), 561-590.
- Cannon, W. B. & Washburn, A. L. (1912). An explanation of hunger. **American Journal of Physiology**, **29**, 441-454.
- Cardinali, D. P. (1992). **Manual de Neurofisiología**. (pp. 285-296). Madrid: Díaz de Santos, SA.
- Casper, R. C. (1998). Serotonin, a major player in the regulation of feeding and affect. **Biological Psychiatry**, **44** (9), 795-797.
- Choi, S., Jonak, E. & Fernstrom, J. D. (2004). Serotonin reuptake inhibitors do not prevent 5,7-dihydroxytryptamine-induced depletion of serotonin in rat brain. **Brain Research**, **1007** (1-2), 19-28.
- Clifton, P. G., Lee, M. D. & Dourish, C. T. (2000). Similarities in the action of Ro 60-0175, a 5-HT_{2C} receptor agonist and d-fenfluramine on feeding patterns in the rat. **Psychopharmacology (Berl)**, **152** (3), 256-267.

- Clineschmidt, B. V., Mcguffin, J. C. & Werner, A. B. (1974). Role of monoamines in the anorexigenic actions of fenfluramine, amphetamine and p-chloromethamphetamine. **European Journal of Pharmacology**, **27** (3), 313-323.
- Collin, M., Backberg, M., Onnestam, K. & Meister, B. (2002). 5-HT_{1A} receptor immunoreactivity in hypothalamic neurons involved in body weight control. **Neuroreport**, **13** (7), 945-951.
- Conn, P. J. & Sanders-Bush, E. (1987). Central serotonin receptors: effector systems, physiological roles and regulation. **Psychopharmacology (Berl)**, **92** (3), 267-277.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth, R. H. (1996). **The Biochemical Basis of Neuropharmacology** (7a ed). New York: Oxford University Press.
- Cross, A. J. (1988). Serotonin in neurodegenerative disorders. N. N. Osborne & M. Hamon (Eds), **Neuronal Serotonin** (pp. 231-254). New York: Wiley.
- Currie, P. J., Coiro, C. D., Niyomchai, T., Lira, A. & Farahmand, F. (2002). Hypothalamic paraventricular 5-hydroxytryptamine: receptor-specific inhibition of NPY-stimulated eating and energy metabolism. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **71** (4), 709-716.
- Currie, P. J. & Coscina, D. V. (1996). Metergoline potentiates natural feeding and antagonizes the anorectic action of medical hypothalamic 5-hydroxytryptamine. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **53** (4), 1023-1028.
- Currie, P. J., Coscina, D. V. & Fletcher, P. J. (1998). Reversal of fenfluramine and fluoxetine anorexia by 8-OH-DPAT is attenuated following raphe injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Brain Research**, **800** (1), 62-68.
- Del Rio, J., Pérez-Otaño, Y., Herrero, M. T. & Obeso, J. A. (1993). MPTP and neurotoxins induced neuronal cell death. A.C. Cuello (Ed), **Restorative Neurology: Neuronal cell death and repair** (Vol. 6 pp. 105-122). Amsterdam: Elsevier.
- Di Matteo, V., Cacchio, M., Di Giulio, C. & Esposito, E. (2002). Role of serotonin(2C) receptors in the control of brain dopaminergic function. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **71** (4), 727-734.

- Di Matteo, V., De Blasi, A., Di Giulio, C. & Esposito, E. (2001). Role of 5-HT_{2C} receptors in the control of central dopamine function. **Trends in Pharmacological Sciences**, **22** (5), 229-232.
- Dourish, C. T., Clark, M. L., Fletcher, A. & Iversen, S. D. (1989). Evidence that blockade of post-synaptic 5-HT₁ receptors elicits feeding in satiated rats. **Psychopharmacology (Berl)**, **97** (1), 54-58.
- Dourish, C. T., Hutson, P. H. & Curzon, G. (1985). Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). **Brain Research Bulletin**, **15** (4), 377-384.
- Dourish, C. T., Hutson, P. H., Kennett, G. A. & Curzon, G. (1986). 8-OH-DPAT-induced hyperphagia: its neural basis and possible therapeutic relevance. **Appetite**, **7** Suppl, 127-40.
- Dube, M. G., Kalra, S. P. & Kalra, P. S. (1999). Food intake elicited by central administration of orexins/hypocretins: identification of hypothalamic sites of action. **Brain Research**, **842** (2), 473-477.
- Dube, M. G., Sahu, A., Kalra, P. S. & Kalra, S. P. (1992). Neuropeptide Y release is elevated from the microdissected paraventricular nucleus of food-deprived rats: an in vitro study. **Endocrinology**, **131** (2), 684-688.
- Ebenezer, I. S. (1992). Effects of the 5HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, on operant food intake in non-deprived rats. **Neuroreport**, **3** (1), 62-64.
- Edwards, S. & Stevens, R. (1991). Peripherally administered 5-hydroxytryptamine elicits the full behavioural sequence of satiety. **Physiology & Behavior**, **50** (5), 1075-1077.
- Escartín, P. R. (1997). Análisis microestructural de los efectos de la administración intracerebroventricular de muscimol y naloxona en la alimentación. **Tesis de Licenciatura en Psicología**. UNAM, ENEP Iztacala, México.
- Escartín, P. R. (2001). Efectos de la 5-HT en ratas con y sin lesión pretratadas con NAN-190 sobre la microestructura alimentaria. **Tesis de Maestría en Neurociencias**. UNAM, FES Iztacala, México.

- Fantino, M., Brondel, L., Swiergiel, A. H. & Lebec, O. (1990). Reduction of negative alliesthesia for sweet gustatory stimuli by cyproheptadine, a serotonin antagonist. **Life Sciences**, **46** (19), 1381-1387.
- Fayolle, C., Fillion, M. P., Barone, P., Oudar, P., Rouselle, J. C. & Fillion, G. (1988). 5-Hydroxytryptamine stimulates two distinct adenylate cyclase activities in rat brain: high-affinity activation is related to a 5-HT₁ subtype different from 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{1C}. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, **2** (3), 195-214.
- Feldman, R. S., Meyer, J. S. & Quenzer, L. F. (1997). **Neuropsychopharmacology**. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- File, S. E., González, L. E. & Andrews, N. (1996). Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT_{1A} receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. **Journal of Neuroscience**, **16** (15), 4810-4815.
- Fletcher, P. J. & Coscina, D. V. (1993). Injecting 5-HT into the PVN does not prevent feeding induced by injecting 8-OH-DPAT into the raphe. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **46** (2), 487-491.
- Fletcher, P. J., Currie, P. J., Chambers, J. W. & Coscina, D. V. (1993). Radiofrequency lesions of the PVN fail to modify the effects of serotonergic drugs on food intake. **Brain Research**, **630** (1-2), 1-9.
- Fletcher, P. J., Korth, K. M. & Chambers, J. W. (1999). Of 5,7-dihydroxytryptamine does not alter d-amphetamine self-administration across different schedule and access conditions. **Psychopharmacology (Berl)**, **146** (2), 185-193.
- Frankfurt, M., Lauder, J. M., & Azmitia, E. C. (1981). The immunocytochemical localization of serotonergic neurons in the rat hypothalamus. **Neuroscience Letters**, **24** (3), 227-232.
- Gaddum, J. H. & Picarelli, Z. P. (1957). Two kinds of tryptamine receptor. **British Journal of Pharmacology**, **12** (3), 323-328.
- Gao, P., Harvey, M., Mook, D. G. & Zeigler, H. P. (1998). A "pre-satiety sequence" in rats drinking sucrose solutions. **Physiology & Behavior**, **65** (2), 355-359.

- Glennon, R. A., Dukat, M. & Westkaemper, R. B. (2000). Serotonin receptor subtypes and ligands. J. H. Meador-Woodruff (Ed), **Psychopharmacology: Fourth Generation of Progress**. [En red]. <http://www.acnp.org/g4/GN401000039/Default.htm>.
- Grandison, L. & Guidotti, A. (1977). Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin. **Neuropharmacology**, **16** (7-8), 533-536.
- Grignaschi, G., Invernizzi, R. W., Fanelli, E., Fracasso, C., Caccia, S. & Samanin, R. (1998). Citalopram-induced hypophagia is enhanced by blockade of 5-HT_(1A) receptors: role of 5-HT_(2C) receptors. **British Journal of Pharmacology**, **124** (8), 1781-1787.
- Grossman, S. P. (1976). Neuroanatomy of food and water intake. D. Novin, W. Wyrwicka & C. A. Bray (Eds), **Hunger: Basic mechanism and clinical implications** (pp. 51-59). New York: Raven Press.
- Hagemann, L. F., Costa, C. V., Zeni, L. Z., Freitas, C. G., Marino-Neto, J. & Paschoalini, M. A. (1998). Food intake after adrenaline and noradrenaline injections into the hypothalamic paraventricular nucleus in pigeons. **Physiology & Behavior**, **64** (5), 645-652.
- Halford, J. C. & Blundell, J. E. (1996). The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. **Physiology & Behavior**, **60** (3), 933-939.
- Halford, J. C., Lawton, C. L. & Blundell, J. E. (1997). The 5-HT₂ receptor agonist MK-212 reduces food intake and increases resting but prevents the behavioural satiety sequence. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **56** (1), 41-46.
- Halford, J. C., Wanninayake, S. C. & Blundell, J. E. (1998). Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **61** (2), 159-168.
- Hall, F. S., Devries, A. C., Fong, G. W., Huang, S. & Pert, A. (1999). Effects of 5,7-dihydroxytryptamine depletion of tissue serotonin levels on extracellular serotonin in the striatum assessed with in vivo microdialysis: relationship to behavior. **Synapse**, **33** (1), 16-25.

- Helm, K. A., Rada, P. & Hoebel, B. G. (2003). Cholecystokinin combined with serotonin in the hypothalamus limits accumbens dopamine release while increasing acetylcholine: a possible satiation mechanism. **Brain Research**, **963** (1-2), 290-297.
- Hearing, R. E. & Peroutka, S. J. (1987). Characterization of a novel 3H-5-hydroxytryptamine binding site subtype in bovine brain membranes. **Journal of Neuroscience**, **7** (3), 894-903.
- Hewitt, K. N., Lee, M. D., Dourish, C. T. & Clifton, P. G. (2002). Serotonin 2C receptor agonists and the behavioural satiety sequence in mice. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **71** (4), 691-700.
- Hoebel, B. G. & Leibowitz, S. F. (1981). Brain monoamines in the modulation of self-stimulation, feeding, and body weight. **Research Publications Association for Research in Nervous Mental Disease**, **59**, 103-142.
- Hoyer, D. (1988). Functional correlates of serotonin 5-HT₁ recognition sites. **Journal of Receptor Research**, **8** (1-4), 59-81.
- Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J. R., Hartig, P. R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J., Saxena, P. R. & Humphrey, P. P. (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharmacological Reviews**, **46** (2), 157-203.
- Hoyer, D., Engel, G. & Kalkman, H. O. (1985). Molecular pharmacology of 5-HT₁ and 5-HT₂ recognition sites in rat and pig brain membranes: radioligand binding studies with. **European Journal of Pharmacology**, **118** (1-2), 13-23.
- Hoyer, D., Hannon, J. P. & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **71** (4), 533-554.
- Hoyer, D. & Martin, G. (1997). 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. **Neuropharmacology**, **36** (4-5), 419-428.
- Hutson, P. H., Sarna, G. S., O'Connell, M. T. & Curzon, G. (1989). Hippocampal 5-HT synthesis and release in vivo is decreased by infusion of 8-OHDPAT into the

nucleus raphe dorsalis. **Neuroscience Letters**, **100** (1-3), 276-280.

- Jimerson, D. C., Lesem, M. D., Kaye, W. H., Hegg, A. P. & Brewerton, T. D. (1990). Eating disorders and depression: is there a serotonin connection? **Biological Psychiatry**, **28** (5), 443-454.
- Jorgensen, H., Knigge, U., Kjaer, A., Moller, M. & Warberg, J. (2002). Serotonergic Stimulation of Corticotropin-Releasing Hormone and Pro-Opiomelanocortin Gene Expression. **Journal of Neuroendocrinology**, **14** (10), 788-795.
- Kasckow, J. W., Hagan, M., Mulchahey, J. J., Baker, D. G., Ekhtor, N. N., Strawn, J. R., Nicholson, W., Orth, D. N., Loosen, P. T. & Geraciotti T. D. (2001). The effect of feeding on cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone levels in humans. **Brain Research**, **904**, 218–224.
- Kaye, W. H. (1997). Persistent alterations in behavior and serotonin activity after recovery from anorexia and bulimia nervosa. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **817**, 162-178.
- Kennett, G. A., Dourish, C. T. & Curzon, G. (1987). 5-HT_{1B} agonists induce anorexia at a postsynaptic site. **European Journal of Pharmacology**, **141** (3), 429-435.
- King, P. J., & Williams, G. (1998). Role of ARC NPY neurons in energy homeostasis. **Drug News Perspect**, **11** (7), 402-410.
- Kitchener, S. J. & Dourish, C. T. (1994). An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptor agonists using the post-prandial satiety sequence in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, **113** (3-4), 369-377.
- Klodzinska, A. & Chojnacka-Wojcik, E. (1990). Anorexia induced by M-trifluoromethyl-phenylpiperazine (TFMPP) in rats. **Polish Journal of Pharmacy & Pharmacology**, **42** (1), 13-17.
- Krahn, D. D., Gosnell, B. A., Levine, A. S. & Morley, J. E. (1988). Behavioral effects of corticotropin-releasing factor: localization and characterization of central effects. **Brain Research**, **443** (1-2), 63-69.
- Kupferman, I. (1991a). Hypothalamus and limbic system: Peptidergic neurons, homeostasis,

- and emotional behavior. E. R. Kandel, J. H. Schwartz & T. M. Jessell (Eds), **Principles of Neural Science** (pp. 735-749). New York: Elsevier.
- Kupferman, I. (1991b). Hypothalamus and limbic system: Motivation. E. R. Kandel, J. H. Schwartz & T. M. Jessell (Eds), **Principles of Neural Science** (pp. 750-760). New York: Elsevier.
- Kyrkouli, S. E., Stanley, B. G., Seirafi, R. D. & Leibowitz, S. F. (1990). Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. **Peptides**, **11** (5), 995-1001.
- Larsen, P. J., Hay-Schmidt, A., Vrang, N., & Mikkelsen, J. D. (1996). Origin of projections from the midbrain raphe nuclei to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat: A combined retrograde and anterograde tracing study. **Neuroscience**, **70** (4), 963-988.
- Lawton, C. L. & Blundell, J. E. (1993). 5-HT manipulation and dietary choice: variable carbohydrate (Polycose) suppression demonstrated only under specific experimental conditions. **Psychopharmacology (Berl)**, **112** (2-3), 375-382.
- Lehmann, O., Jeltsch, H., Lehnardt, O., Pain, L., Lazarus, C. & Cassel, J. C. (2000). Combined lesions of cholinergic and serotonergic neurons in the rat brain using 192 IgG-saporin and 5,7-dihydroxytryptamine: neurochemical and behavioural characterization. **European Journal of Neuroscience**, **12** (1), 67-79.
- Leibowitz, S. F. (1980). **Neurochemical systems of the hypothalamus: control of feeding and drinking behavior and water electrolyte excretion**. Washington: Handbook of the hypothalamus.
- Leibowitz, S. F. (1993). Hypothalamic serotonin in relation to appetite for macronutrients and eating disorders. P. M. Vanhoutte, P. R. Saxena, R. Paoletti, N. Brunello & A. S. Jackson (Eds), **Serotonin: From cell biology to pharmacology and therapeutics** (pp. 383-391). Boston: Kuwer Academic Publishers.
- Leibowitz, S. F. & Alexander, J. T. (1998). Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. **Biological Psychiatry**, **44** (9), 851-864.

- Leibowitz, S. F., Alexander, J. T., Cheung, W. K. & Weiss, G. F. (1993). Effects of serotonin and the serotonin blocker metergoline on meal patterns and macronutrient selection. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **45** (1), 185-194.
- Leibowitz, S. F. & Jhanwar-Uniyal M. (1989). 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor binding sites in discrete hypothalamic nuclei: relation to feeding. **Society for Neuroscience Abstracts**, 655.
- Leibowitz, S. F., Sladek, C., Spencer, L. & Tempel, D. (1988). Neuropeptide Y, epinephrine and norepinephrine in the paraventricular nucleus: stimulation of feeding and the release of corticosterone, vasopressin and glucose. **Brain Research Bulletin**, **21**, 905-912.
- Leibowitz, S. F., Weiss, G. F. & Suh, J. S. (1990). Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, **37** (4), 735-742.
- Lin, A. M. Y., Bickford, P. C., Palmer, M. R., Cline, E. J. & Gerhardt, G. A. (1997). Effects of ethanol and nomifensine on NE clearance in the cerebellum of young and aged Fischer 344 rats. **Brain Research**, **756** (1-2), 287-292.
- López, A. V. & Islas, C. M. (1990). Efectos de la ciproheptadina en la estructura de la conducta alimentaria en ratas. **Tesis de Licenciatura en Psicología**. UNAM, ENEP Iztacala, México.
- Lucas, J. J., Yamamoto, A., Scarce-Levie, K., Saudou, F. & Hen, R. (1998). Absence of fenfluramine-induced anorexia and reduced c-Fos induction in the hypothalamus and central amygdaloid complex of serotonin _{1B} receptor knock-out mice. **Journal of Neuroscience**, **18** (14), 5537-5544.
- Lucki, I. (1998). The spectrum of behaviors influenced by serotonin. **Biological Psychiatry**, **44** (3), 151-162.
- Makarenko, I. G., Meguid, M. M. & Ugrumov, M. V. (2002). Distribution of serotonin 5-hydroxytryptamine 1B (5-HT(1B)) receptors in the normal rat hypothalamus. **Neuroscience Letters**, **328** (2), 155-159.

- Mancilla, D. J. (1994). Efectos de la 5-HT y la ciproheptadina: Un análisis microestructural de la conducta alimenticia. **Tesis de Maestría en neurociencias**. UNAM, ENEP Iztacala, México.
- Mancilla, D. J., Cisneros, A., López, A. V., Ocampo, M. A., Alvarez, R. G., Vázquez, A. R., Osornio, L. & Rosales, S. (1993). Efectos del 5-HdITP: un análisis microestructural de la conducta alimenticia. **Revista Mexicana de Análisis de la Conducta**, **19**, 3-18.
- Mancilla-Díaz, J. M., Escartín-Pérez, R. E. & López-Alonso, V. E. (2003). The effects of 5-HT in mianserin-pretreated or cyproheptadine-pretreated rats on the feeding behavior structure. **Eating and Weight Disorders/Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity**, **8**, 268-173.
- Mancilla-Díaz, J. M., Escartin-Pérez, R. E., López-Alonso, V. E. & Cruz-Morales, S. E. (2002). The effect of 5-HT in mianserin-pretreated rats on the structure of feeding behavior. **European Journal of Neuropsychopharmacology**, **12**, 445-451.
- Mancilla Díaz, J. M., Zaragoza, R. E. & Mejía, M. M. (1994). Efectos de algunos agentes anorexigénicos en ratas. **Revista Mexicana de Análisis de la Conducta**, **19**, 3-18.
- McCabe, J. T. & Leibowitz, S. F. (1984). Determination of the course of brainstem catecholamine fibers mediating amphetamine anorexia. **Brain Research**, **311** (2), 211-224.
- McGuirk, J., Muscat, R. & Willner, P. (1992). Effects of chronically administered fluoxetine and fenfluramine on food intake, body weight and the behavioural satiety sequence. **Psychopharmacology (Berl)**, **106** (3), 401-407.
- Montgomery, A. M. & Willner, P. (1988). Fenfluramine disrupts the behavioural satiety sequence in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, **94** (3), 397-401.
- Morley, J. E. (1987). Neuropeptide regulation of appetite and weight. **Endocrine Reviews**, **8** (3), 256-287.
- Nicholson, J. R., Akil, H. & Watson, Jr. S. J. (2002). Orphanin FQ-induced hyperphagia is mediated by corticosterone and central glucocorticoid receptors. **Neuroscience**,

115 (2), 637-643.

- Ninomiya, J. G. (1991). **Fisiología humana: neurofisiología**. México: Manual moderno. 391-431.
- Pan, L. & Gilbert, F. (1992). Activation of 5-HT_{1A} receptor subtype in the paraventricular nuclei of the hypothalamus induces CRH and ACTH release in the rat. **Neuroendocrinology**, **56** (6), 797-802.
- Pare, M., Descarries, L. & Wiklund, L. (1987). Innervation and reinnervation of rat inferior olive by neurons containing serotonin and substance P: an immunohistochemical study after 5,6-dihydroxytryptamine lesioning. **Journal of Neurocytology**, **16** (2), 155-167.
- Paxinos, G. & Watson, Ch. (1998). **The rat brain in stereotaxic coordinates** (Fourth ed.). New York: Academic Press.
- Pedigo, N. W., Yamamura, H. I. & Nelson, D. L. (1981). Discrimination of multiple 5-hydroxytryptamine binding sites by the neuroleptic spiperone in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, **36** (1), 220-226.
- Peroutka, S. J. (1986). Pharmacological differentiation and characterization of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{1C} binding sites in rat frontal cortex. **Journal of Neurochemistry**, **47** (2), 529-540.
- Peroutka, S. J. (1988). 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes. **Annual Review of Neuroscience**, **11**, 45-60.
- Porter, R. H., Benwell, K. R., Lamb, H., Malcolm, C. S., Allen, N. H., Revell, D. F., Adams, D. R. & Sheardown, M. J. (1999). Functional characterization of agonists at recombinant human 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors in CHO-K1 cells. **British Journal of Pharmacology**, **128** (1), 13-20.
- Rodgers, R. J., Halford, J. C., Nunes de Souza, R. L., Canto de Souza, A. L., Piper, D. C., Arch, J. R. & Blundell, J. E. (2000). Dose-response effects of orexin-A on food intake and the behavioural satiety sequence in rats. **Regulatory Peptides**, **96** (1-2), 71-84.

- Rogers, P., McKibbin, P. E. & Williams, G. (1991). Acute fenfluramine administration reduces neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of the rat: possible implications for the anorectic effect of fenfluramine. **Peptides**, 12 (2), 251-255.
- Rouch, C., Nicolaidis, S. & Orosco, M. (2001). Effects of pure macronutrient ingestion on plasma tryptophan and large neutral amino acids. **Nutritional Neuroscience**, 4 (1), 63-73.
- Salter, C. F. & Stricker, E. M. (1976). Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Science**, 192 (4237), 385-387.
- Sanders-Bush, E. & Canton, H. (2000). Serotonin Receptors. J. H. Meador-Woodruff (Ed), **Psychopharmacology: Fourth Generation of Progress**. [En red]. Disponible en: <http://www.acnp.org/g4/GN401000041/Default.htm>.
- Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Hayase, M., Tsuji, T., Imagawa, K., Yoshimasa, Y., Nishi, S., Hosoda, K. & Nakao, K. (1997). The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats. **Neuroscience Letters**, 224 (3), 149-152.
- Sawchenko, P. E., Swanson, L. W., Steinbusch, H. W. & Verhofstad, A. A. (1983). The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **Brain Research**, 277 (2), 355-360.
- Schultz, W., Scamati, E., Sundstrom, E. & Romo, R. (1989). Protection against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism by the catecholamine uptake inhibitor nomifensine: Behavioral analysis in monkeys with partial striatal dopamine depletions. **Neuroscience**, 31 (1), 219-230.
- Seeley, R. J., Matson, C. A., Chavez, M., Woods, S. C., Dallman, M. F. & Schwartz, M. W. (1996). Behavioral, endocrine, and hypothalamic responses to involuntary overfeeding. **American Journal of Physiology**, 271 (3 Pt 2), R819-R823.
- Shor-Posner, G., Jan, C., Brennan, G., Cohn, T., Moy, H., Ning, A. & Leibowitz, S. F. (1991). Self-selecting albino rats exhibit differential preferences for pure macronutrient diets: characterization of three subpopulations. **Physiology & Behavior**, 50 (6), 1187-1195.

- Simansky, K. J. (1995). Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. **Behavioral Brain Research**, *73* (1-2), 37-42.
- Simansky, K. J. & Vaidya, A. H. (1990). Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonists. **Brain Research Bulletin**, *25* (6), 953-960.
- Sprouse, J. S. & Aghajanian, G. K. (1987). Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. **Synapse**, *1* (1), 3-9.
- Stanley, B. G., Chin, A. S. & Leibowitz, S. F. (1985). Feeding and drinking elicited by central injection of neuropeptide Y: evidence for a hypothalamic site(s) of action. **Brain Research Bulletin**, *14* (6), 521-524.
- Stratford, T. R. (2005). Activation of feeding-related neural circuitry after unilateral injections of muscimol into the nucleus accumbens shell. **Brain Research**, *1048* (1-2), 241-250.
- Tecott, L. H., Sun, L. M., Akana, S. F., Strack, A. M., Lowenstein, D. H., Dallman, M. F. & Julius, D. (1995). Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. **Nature**, *374* (6522), 542-546.
- Tempel, D. L., Shor-Posner, G., Dwyer, D. & Leibowitz, S. F. (1989). Nocturnal patterns of macronutrient intake in freely feeding and food-deprived rats. **American Journal of Physiology**, *256* (2 Pt 2), R541- R548.
- Verge, D. & Calas, A. (2000). Serotonergic neurons and serotonin receptors: gains from cytochemical approaches. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, *18* (1-2), 41-56.
- Verty, A. N., McGregor, I. S., & Mallet, P. E. (2005). Paraventricular hypothalamic CB(1) cannabinoid receptors are involved in the feeding stimulatory effects of Delta(9)-tetrahydrocannabinol. **Neuropharmacology**, (en prensa).
- Vickers, S. P., Clifton, P. G., Dourish, C. T. & Tecott, L. H. (1999). Reduced satiating effect of d-fenfluramine in serotonin 5-HT(2C) receptor mutant mice. **Psychopharmacology (Berl)**, *143* (3), 309-314.
- Weiss, G. F., Rogacki, N., Fueg, A., Buchen, D. & Leibowitz, S. F. (1990). Impact of

hypothalamic d-norfenfluramine and peripheral d-fenfluramine injection on macronutrient intake in the rat. **Brain Research Bulletin**, **25** (6), 849-859.

Wellman, P. J., Davies, B. T., Morien, A. & McMahon, L. (1993). Modulation of feeding by hypothalamic paraventricular nucleus alpha 1- and alpha 2-adrenergic receptors. **Life Sciences**, **53** (9), 669-679.

Weltzin, T. E., Fernstrom, M. H. & Kaye, W. H. (1994). Serotonin and bulimia nervosa. **Nutrition Reviews**, **52** (12), 399-408.

Wilkinson, L. O. & Dourish, C. T. (1991). Serotonin and animal behaviour . Peroutka S.J. **Serotonin receptor subtypes: Basic and clinical aspects** (pp. 149-212). New York: Liss.

Williams, G., Bing, C., Cai, X. J., Harrold, J. A., King, P. J., & Liu, X. H. (2001). The hypothalamus and the control of energy homeostasis: Different circuits, different purposes. **Physiology & Behavior**, **74** (4-5), 683-701.

Willoughby, J. O., & Blessing, W. W. (1987). Origin of serotonin innervation of the arcuate and ventromedial hypothalamic region. **Brain Research**, **418** (1), 170-173.

Wolf, W. A. & Bobik, A. (1988). Effects of 5,6-dihydroxytryptamine on the release, synthesis, and storage of serotonin: studies using rat brain synaptosomes. **Journal of Neurochemistry**, **50** (2), 534-542.

Woods, S. C., Seeley, R. J., Porte D. & Schwartz, M. W. (1988). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. **Science**, **280**, 1378–1383.

Wurtman, J. J. & Wurtman, R. J. (1977). Fenfluramine and fluoxetine spare protein consumption while suppressing caloric intake by rats. **Science**, **198** (4322), 1178-1180.

Wurtman, J. J. & Wurtman, R. J. (1979a). Drugs that enhance central serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. **Life Sciences**, **24** (10), 895-903.

Wurtman, J. J. & Wurtman, R. J. (1979b). Fenfluramine and other serotonergic drugs depress food intake and carbohydrate consumption while sparing protein

consumption. **Current Medical Research Opinion**, 6 (suplement 1), 28-33.

- Yang I. C. & Pan, J. T. (1999). Effects of serotonin depletion by p-Chlorophenylalanine, p-Chloroamphetamine or 5,7-Dihydroxytryptamine on central dopaminergic neurons: Focus on tuberoinfundibular dopaminergic neurons and serum prolactin. **Journal of Biomedical Science**, 6 (3), 183-193.
- Yu, L., Nguyen, H., Le, H., Bloem, L. J., Kozak, C. A., Hoffman, B. J., Snutch, T. P., Lester, H. A., Davidson, N. & Lubbert, H. (1991). The mouse 5-HT_{1C} receptor contains eight hydrophobic domains and is X-linked. **Molecular Brain Research**, 11 (2), 143-149.
- Yun, R., Dourmashkin, J. T., Hill, J., Gayles, E. C., Fried, S. K., & Leibowitz, S. F. (2005). PVN galanin increases fat storage and promotes obesity by causing muscle to utilize carbohydrate more than fat. **Peptides**, (en prensa).