



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN PSICOLOGÍA.
NEUROCIENCIAS DE LA CONDUCTA.

**PAPEL DE LOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS 1A/1B/2A/2C DEL
NÚCLEO PARAVENTRICULAR HIPOTALÁMICO EN LA CONDUCTA
ALIMENTARIA E INGESTA DE ALIMENTO.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A
VERONICA ELSA LÓPEZ ALONSO

JURADO DE EXAMEN DE GRADO
DIRECTOR: Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz
COMITÉ: Dra. Carmen Selene Cansino Ortiz
Dr. Daniel Martínez Fong
Dr. Florencio Miranda Herrera
Dr. José Cristobal Pedro Arriaga Ramírez



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

“Porque de Él, por Él y para Él son todas las cosas”.

Esta investigación se desarrollo gracias al apoyo de la Universidad Nacional Autónoma de México, FES Iztacala, Proyecto de Nutrición, DGAPA (Proyecto PAPPIT IN304406 e IN309008) y CONACyT (Beca 188926).

En particular agradezco al Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz por las enseñanzas que me ha transmitido a través del tiempo, por su compañerismo y amistad. *“La investigación científica depende de la calidad de los investigadores. Estos no se improvisan y es necesario formarlos cuidadosamente.” Bernardo A. Houssay*

Gracias por sus valiosas aportaciones y enseñanzas en el desarrollo de este trabajo. *“La influencia de los maestros es capital y marca a los discípulos para toda la vida.” Bernardo A. Houssay*

Dra. Carmen Selene Cansino Ortiz

Dr. Daniel Martínez Fong

Dra. Erzsebet Marosi Holczberger

Dr. Florencio Miranda Herrera

Dr. José Cristobal Pedro Arriaga Ramírez

Dra. Rosalva Cabrera Castañon

Gracias al apoyo del Proyecto de Nutrición Juan, Triny, Gina, Rosalía, Xóchitl, Erick, Kary, Melissa y Alicia. *“Pasó ya el tiempo en que un sólo hombre aislado podía realizar investigaciones completas. Hoy debe trabajarse en grupos (en team) y con espíritu de colaboración y ayuda.” Bernardo A. Houssay*

“La familia es evidentemente un complemento de nosotros mismos, más grande que nosotros mismos, que existe antes que nosotros y nos supervivirá con lo que de mejor hay en nosotros.”

Lamartine

A mis padres

Gracias por el esfuerzo y el apoyo que me han brindado por siempre.

A Oscar

Gracias por tu apoyo y fiel compañía hasta el final.

A Oscar Isaí y Josué Elí

Por que ustedes son el estímulo que me impulsa para seguir adelante. Gracias por acompañarme a los paseos dominicales a Iztacala.

A Noemí y Lidia.

Porque hemos compartido el largo camino de la profesionalización.

Índice

Resumen.....	I
Abstract.....	II
Introducción.....	1
Capítulo 1. La Serotonina.	
1) Síntesis.....	5
2) Receptores 5-HT _{1A}	6
3) Receptores 5-HT _{1B}	9
4) Receptores 5-HT _{2A}	11
5) Receptores 5-HT _{2C}	12
Capítulo 2. Psicobiología de la alimentación.	
1) Antecedentes.....	14
2) Serotonina y alimentación.....	16
3) Receptor 5-HT _{1A} y conducta alimentaria.....	18
4) Receptor 5-HT _{1B} y conducta alimentaria.....	19
5) Receptor 5-HT _{2A} y conducta alimentaria.....	21
6) Receptor 5-HT _{2C} y conducta alimentaria.....	21
Capítulo 3. Procedimientos conductuales para la investigación de la conducta alimentaria.	
1) Análisis Microestructural.....	26
2) Análisis de la Secuencia de Sacidad Conductual.....	28
Justificación y planteamiento del problema.....	33
Método y Procedimiento.....	36
Resultados Experimento 1.....	43
Discusión Experimento 1.....	49
Resultados Experimento 2.....	53
Discusión Experimento 2.....	59
Resultados Experimento 3.....	62
Discusión Experimento 3.....	69
Discusión General.....	72
Conclusión.....	82
Referencias.....	84

Resumen

Los fármacos no selectivos con actividad serotoninérgica son capaces de producir un efecto hipofágico mayor al compararse con agentes selectivos. Pero se desconoce el papel específico de cada uno de los subtipos de receptores 5-HT y su mecanismo de acción. Dado lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar el papel de la estimulación individual y por pares de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} del núcleo paraventricular hipotalámico (NPVH), sobre la ingesta de alimento y parámetros conductuales asociados, en ratas. Se realizaron tres experimentos considerando la estimulación de los pares de receptores 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} y 5-HT_{2A/2C}. En grupos independientes se administraron intraparaventricularmente los agonistas 5-HT_{1A} (8-OHDPAT), 5-HT_{1B} (CP-93129), 5-HT_{2A} (DOI) y 5-HT_{2C} (Ro 600175). Para la activación por pares se administró el Ro 600175 más un agonista 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} o 5-HT_{2A} según correspondiera. El pretratamiento con los antagonistas 5-HT_{1A} (WAY100635), 5-HT_{1B} (SB224289) y 5-HT_{2A} (Ketanserina) determinó la especificidad de dichos receptores sobre la ingesta de alimento. Se utilizó un ANOVA de una vía para determinar las diferencias sobre la ingestión de alimento y parámetros del análisis microestructural. La estimulación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} indujo hipofagia sobre la ingestión de carbohidratos pero la estimulación de los pares 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} y 5HT_{2A/2C} produjo un efecto hipofágico mayor. Sugiriendo que la activación de dos receptores es necesaria para producir un efecto hipofágico completo. El análisis microestructural mostró diferencias en la estructura temporal de la conducta alimentaria. Los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} desarrollaron una Secuencia de Siedad Conductual (SSC) normal en tanto que los agonistas 5-H_{1A} y 5-HT_{2A} interrumpieron el desarrollo de la SSC por hiperactividad.

Palabras clave: Serotonina, Conducta alimentaria, Agonistas 5-HT, Análisis microestructural, Secuencia de siedad conductual, Ingesta de alimento.

Abstract

The nonselective drugs with serotonergic activity are able to produce a stronger hypophagic effect compared with selective agents. However the role of each 5-HT receptors subtypes and their mechanism of action are unknown. Therefore, the purpose of this research was to determine the role of the individual stimulation and the combination of the receptors 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN), on the food intake and associated behaviors in rats. Three experiments were carried out considering the combination of receptors 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} and 5-HT_{2A/2C}. Agonists 5-HT_{1A} (8-OHDPAT), 5-HT_{1B} (CP-93129), 5-HT_{2A} (DOI) and 5-HT_{2C} (Ro 600175) were administered intra-PVN in independent groups. For the combination Ro 600175 followed by agonist 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} or 5-HT_{2A} were injected to would correspond. One-way analyses of variance (ANOVA) were carried out to calculate the differences in food intake and meal patterns. The stimulation of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors induced hypophagia on carbohydrate intake but the co-administration of 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} and 5HT_{2A/2C} agonists produced a strongest hypophagic effect. These findings suggest that it is necessary the activation of two 5-HT receptors in order to produce a complete hypophagic effect. The microstructural analysis showed differences in the temporary structure of the feeding behavior. The 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} agonists promoted a normal development of the natural behavioral satiety sequence (BSS) whereas the 5-H_{1A} and 5-HT_{2A} agonists interrupted the natural development BSS due to hyperactivity.

Key words: serotonin, eating behavior, 5-HT agonist, microstructural analysis, behavioral satiety sequence.

Dos preguntas básicas que han sido el eje de la investigación de la conducta alimentaria son ¿qué variables hacen que se inicie la ingesta de alimento? y consecuentemente ¿qué variables intervienen para terminar la ingesta de alimento? Las hipótesis iniciales sobre la regulación de la ingestión de alimento se fundamentaron en modelos homeostáticos que trataban de explicar los mecanismos del hambre y la saciedad. Así, surgieron múltiples hipótesis como la termostática (Brobeck, 1948), la glucostática (Mayer, 1952), y la lipostática (Kennedy, 1953), entre otras. Las investigaciones actuales han llevado a comprender que la respuesta a estas preguntas es más compleja de lo que parecía inicialmente.

Actualmente se sabe que la conducta alimentaria es regulada por variables sociales, biológicas, económicas, y culturales las cuales controlan el tipo, cantidad y calidad del alimento ingerido. Desde el punto de vista biológico dos tipos de señales regulan el control de la conducta alimentaria, las señales a largo plazo regulan el peso corporal y las de corto plazo modulan la porción y propiedades del alimento a ingerir. La cantidad de alimento ingerido puede estar regulada por factores orofaríngeos, metabólicos y neuroquímicos, siendo estos últimos el interés central del presente trabajo. Los mecanismos neuroquímicos que participan en el control de la conducta alimentaria han sido estudiados principalmente a través de la administración de fármacos, midiendo los efectos inducidos en la cantidad de alimento ingerido. De esta forma se ha revelado la participación de diferentes sistemas de neurotransmisores que influyen en el control de la ingesta de alimento, entre algunos de ellos se puede hacer mención de la noradrenalina, neuropéptido Y, colecistoquinina, dopamina y serotonina, por mencionar sólo algunos.

La investigación de la relación entre la conducta alimentaria y los neurotransmisores, ha sido estudiada bajo diferentes estrategias, una de las más utilizadas es la farmacológica. Desde este punto de vista se sabe de una gran variedad de fármacos que modifican la estructura de la conducta alimentaria. La forma de acción más conocida es la que tiene que ver con la utilización de fármacos que suprimen la ingesta de alimento. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la supresión de la ingesta de alimento inducida

por un fármaco puede deberse a efectos colaterales más que al desarrollo de la saciedad. De tal modo que la investigación de la conducta alimentaria basada en la sola interpretación de la cantidad de alimento ingerido pueden llevar a formular conclusiones parciales o erróneas (De Vry & Schreiber, 2000; Halford, Wanninayake & Blundell, 1998), por lo tanto es recomendable utilizar técnicas que permitan reconocer los cambios producidos por los fármacos sobre la estructura de la conducta alimentaria.

Las técnicas de evaluación conductual como son el análisis microestructural y la secuencia de saciedad conductual (SSC) han sido de gran relevancia en la investigación de la conducta alimentaria, ya que han permitido caracterizar el papel que juegan diferentes agentes farmacológicos utilizados para manipular los sistemas de neurotransmisores. Aunque en este trabajo se presentan evidencias de la participación de algunos de estos sistemas en el control de la ingesta de alimento, se tratará con mayor detalle el sistema serotoninérgico.

La participación de la serotonina (5-HT) en la regulación central de la ingestión de alimento está bien establecida (Hewitt, Lee, Dourish & Clifton, 2002; Leibowitz & Alexander, 1998; Weiss & Suh, 1990). Una gran cantidad de estudios farmacológicos los cuales han utilizado agentes precursores, agonistas o los que incrementan la transmisión de la 5-HT, han evidenciado consistentemente el control de la 5-HT para promover la saciedad y el control selectivo sobre la ingesta de carbohidratos (Leibowitz, Alexander, Cheung & Weiss, 1993; Wurtman & Wurtman, 1977; 1979 a, b;). Las investigaciones han propuesto que las familias de receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ son las principales involucradas en el control de la conducta alimentaria (Schreiber & De Vry, 2002; Schreiber, Selbach, Asmussen, Hesse & De Vry, 2000), pero se desconoce el papel específico de cada uno de los subtipos que conforman a estas familias. Por algún tiempo se pensó que la activación de un receptor 5-HT, por ejemplo el subtipo 5-HT_{1B} era suficiente para inducir hipofagia (Schreiber, et al., 2000), en investigaciones posteriores se sugiere que la participación conjunta de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}, es necesaria para producir una respuesta hipofágica completa (Schreiber & De Vry, 2002), pero se

desconoce el mecanismo a través del cual actúan. La caracterización de nuevos subtipos de receptores 5-HT ha creado la necesidad de esclarecer cuál es el papel funcional que tiene cada uno de estos subtipos en el control de la conducta alimentaria. Además de esclarecer si el activar a dos subtipos de receptores 5-HTérgicos, se produce un efecto hipofágico total en relación a la activación de un solo receptor. Por lo que el objetivo de la presente investigación fue determinar el papel de la estimulación, individual y por pares, de los subtipos de receptores 5-HT_{1A}, 1B, 2A y 2C del núcleo paraventricular hipotalámico (NPVH) sobre la ingesta de alimento y parámetros conductuales asociados en ratas.

Las hipótesis a probar fueron que la estimulación por pares de dos receptores 5-HT (5-HT_{1A/2C}; 5-HT_{1B/2C}; 5-HT_{2A/2C}), produciría una hipofagia mayor a la producida por la estimulación de un sólo receptor, particularmente sobre la ingestión de carbohidratos. Una segunda hipótesis fue que los parámetros de la microestructura de la conducta alimentaría serían afectados diferencialmente al estimular a dos receptores que al estimularlos individualmente. Y finalmente que los parámetros de la secuencia de saciedad conductual serían afectados diferencialmente al estimular a dos receptores que al estimularlos individualmente.

Para probar las hipótesis, se implantó una cánula en el núcleo paraventricular hipotalámico y se administraron los agonistas 8-OHDPAT (5-HT_{1A}), CP-93129 (5-HT_{1B}), DOI (5-HT_{2A}) y Ro 600175 (5-HT_{2C}), en grupos independientes. En otra serie de grupos independientes se coadministraron los fármacos 8-OHDPAT+Ro600175; CP93129+Ro600175 y DOI+Ro600175, para estimular a un par de receptores. Las variables a medir fueron la cantidad de alimento ingerido, análisis microestructural y secuencia de saciedad conductual. Los sujetos experimentales (ratas Wistar), se mantuvieron en un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12x12 hr., con acceso libre a una dieta de fuentes separadas para carbohidratos, proteínas y grasas. Cada nutrimento se cambió de lugar de acuerdo a un orden preestablecido, para evitar "preferencia de lugar". Las observaciones se realizaron al inicio del período de oscuridad con un registro de duración continua de una hora. El análisis estadístico que se

utilizó fue el análisis de varianza de una vía (ANOVA), para la ingestión (g) de proteínas, carbohidratos, grasas y para los parámetros del análisis microestructural.

La revisión bibliográfica fue dividida en tres capítulos. En el primer capítulo se trataron los aspectos generales del Neurotrasmisor Serotonina (5-HT), como son la biosíntesis y familias de receptores 5-HT enfocándose principalmente a los subtipos que han sido asociados a la conducta alimentaria (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}), principales vías de señalización y localización de la 5-HT en áreas cerebrales. En el segundo capítulo se abordaron aspectos relacionados con la Psicobiología de la alimentación como son los antecedentes históricos generales en torno a la investigación de la conducta alimentaria. Posteriormente se presentaron los trabajos pioneros en torno al descubrimiento del neurotrasmisor 5-HT y su participación en el control de la conducta alimentaria. De forma particular se abordaron cada uno de los subtipos de receptores (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}) y su participación en el control de la conducta alimentaria. En el tercer capítulo se presentan los principales procedimientos conductuales utilizados en la investigación de la conducta alimentaria. Específicamente se tratan dos tipos de análisis que son el análisis microestructural de la conducta alimentaria y el conocido como Secuencia de Sacidad Conductual (SSC). El orden de la información responde a la necesidad de 1) sentar las bases de los aspectos fisiológicos y neuroquímicos relacionados con el neurotrasmisor 5-HT. Esto con la finalidad de entender los mecanismos de acción que se activan al administrar los fármacos y que posteriormente permitirán dar explicación del efecto inducido sobre la conducta alimentaria. 2) Una vez entendidas las bases fisiológicas de la 5-HT demostrar a través de los hallazgos de diferentes investigaciones el control que ejerce la serotonina sobre la conducta alimentaria y 3) mostrar que la investigación de la conducta alimentaria ha sido abordada con diferentes técnicas y metodologías. Pero se requiere de técnicas sensibles que permitan establecer efectos sobre las características conductuales de la alimentación.

La Serotonina

1) Síntesis de Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una amina biogénica que se produce a partir del aminoácido triptófano (Ver Figura 1), la hidroxilación del triptófano forma el 5-Hidroxitriptófano (5-HTP), esta reacción es catalizada por la enzima triptófano hidroxilasa y como cofactor la tetrahidrobiopterina (BH₄). El 5-HTP es descarboxilado rápidamente a 5-HT, por la enzima aminoácido-descarboxilasa. Una vez sintetizada, la serotonina se almacena o es inactivada por la Monoaminooxidasa (MAO). El producto de la acción de la MAO es el 5-hidroxiindolacetaldehído que a su vez es oxidado por una aldehído deshidrogenasa a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), el cual es considerado el principal metabolito de la serotonina (Cooper, Bloom & Roth, 1996).

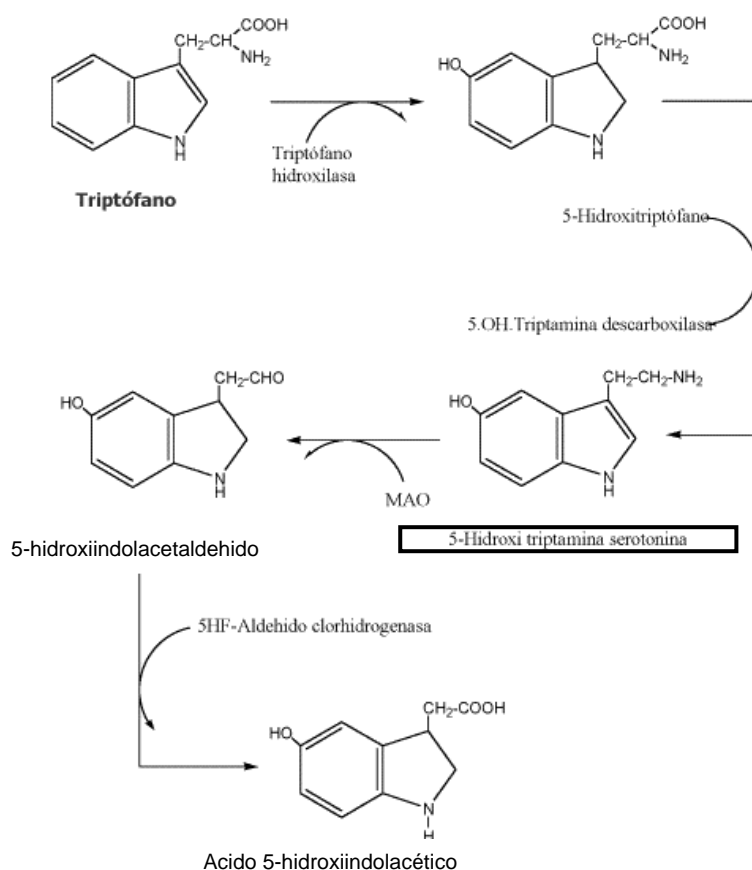


Figura 1. Síntesis y metabolismo de la serotonina.

La 5-HT se encuentra en sistema nervioso periférico y sistema nervioso central, así como en tejidos no neurales por ejemplo, intestino, sistema cardiovascular y en sangre. En términos evolutivos la 5-HT es uno de los neurotransmisores iniciales y ha sido implicado en la etiología de la depresión, ansiedad, fobia social, esquizofrenia, desórdenes obsesivos-compulsivos y de pánico, migraña, hipertensión, hipertensión pulmonar, vómito y desórdenes alimentarios.

En base a consideraciones estructurales, operacionales y de transducción, los receptores 5-HT han sido clasificados en 7 familias (ver Tabla 1) con 14 subtipos de receptores (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer, Hannon & Martín, 2002). A excepción de la familia de receptores 5-HT₃ (ionotrópicos), todos los receptores 5-HT están acoplados a proteínas G, produciendo segundos mensajeros que regulan las funciones celulares vía fosforilación/defosforilación de proteínas intracelulares (Feldman, Neverova & Saywell, 2005; Pauwels, 2000). Debido a los intereses de este trabajo sólo se abordarán los subtipos 5-HT_{1A}, 1B, 2A y 2C.

2) Receptores 5-HT_{1A}

Los receptores 5-HT₁ comprometen cinco diferentes subtipos de receptores (ver Tabla 1), todos ellos acoplados principalmente a la inhibición de la adenilato ciclasa y a la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPC). En algunos sistemas, éste es manifestado por la habilidad para reducir los niveles basales de AMPC, mientras que en otros, la actividad inhibitoria de la adenilato ciclasa se debe a la estimulación de la forskolina (Hoyer, et al., 2002).

El receptor 5-HT_{1A} fue el primer receptor 5-HT secuenciado completamente. El receptor de la rata tiene una homología del 89% con el receptor humano, localizado en el cromosoma 5 (5q11.2-q13) (Ver Tabla 1).

Nomenclatura	Nombre anterior	Agonistas selectivos	Antagonistas selectivos (pK _B)	Radioligandos	Efector proteína-G	Gene/localización cromosomal	Información Estructural
5-HT _{1A}	-	8-OH-DPAT	(±) WAY 100635 (8.7)	[³ H]WAY 100635 [³ H] 8-OH-DPAT	G _{i/o}	HTR1A/5q11.2-q13	h421 P8908 m421 Q64264 r422 P19327
5-HT _{1B}	5-HT _{1Dβ}	Sumatriptan L-694247	GR 55562 (7.4) SB 224289 (8.5) SB 236057 (8.9)	[¹²⁵ I]GTI [¹²⁵ I]CYP (roedores) [³ H]Sumatriptan [³ H]GR 125743	G _{i/o}	HTR1B/6q13	h390 P28222 m386 P28334 r386 P28564
5-HT _{1D}	5-HT _{1Dα}	Sumatriptan PNU 109291	BRL 15572 (7.9)	[¹²⁵ I]GTI [³ H]Sumatriptan [³ H]GR 125743	G _{i/o}	HTR1D/1p34.3-36.3	h377 P28221 m374 Q61224 r374 P28565
5-ht _{1E}	-	-	-	[³ H]5-HT	G _{i/o}	HTR1E/6q14-15	h365 P28566
5-ht _{1F}	5-HT _{1Eβ} , 5-HT ₆	LY 334370	-	[¹²⁵ I]LSD [³ H]LY 334370	G _{i/o}	HTR1F/3p11-p14.1	h366 P30939 m366 Q02284 r366 P30940
5-HT _{2A}	D/5-HT ₂	DOI	Ketanserina (8.5-9.5) MDL 100907 (9.4)	[¹²⁵ I]DOI [³ H]Ketanserina [³ H]MDL 100907	G _{q/11}	HTR2A/13q14-q21	h471 P28223 m471 P35362 r471 P14842
5-HT _{2B}	5-HT _{2F}	BW 723C86	SB 200646 (7.5) SB 204741 (7.8)	[³ H]5-HT	G _{q/11}	HTR2B/2q36.3-q37.1	h481 P41595 m504 Q02152 r479 P30994
5-HT _{2C}	5-HT _{1C}	Ro 600175	Mesulergina (9.1) SB 242084 (9.0) RS 102221 (8.4)	[¹²⁵ I]LSD [³ H]Mesulergina	G _{q/11}	HTR2C/Xq24	h458 P28335 m459 P34968 r460 P08909
5-HT ₃	M	SR 57227 m-clorofenil- biguanida	Granisetron (10) Ondansetron (8-10) Tropisetron (10-11)	[³ H](S)-zacoprida [³ H] tropisetron [³ H] granisetron [³ H]GR 65630 [³ H]LY 278584	Canales ionicos.	HTR3/11q23.1-q23.2	Multisubunidad 5-HT _{3A} , 5-HT _{3B} 5-ht _{3C}
5-HT ₄	-	BIMU 8 RS 67506 ML 10302	GR 113808 (9-9.5) SB 204070 (10.8) RS 100235 (11.2)	[¹²⁵ I]SB 207710 [³ H]GR 113808 [³ H]RS 57639	G _s	HTR4/5q31-33	h387 Y09756 ^{AS} m387 Y09587 ^{AS} r387 U20906 ^{AS}
5-ht _{5A}	5-HT _{5α}	-	-	[¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT	G _{i/o}	HTR5A/7q36.1	h357 P47898 m357 P30966 r357 P35364
5-ht _{5B}	-	-	-	[¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT	No identificado	htr5b/2q11-q13	m370 P31387 r370 P35365
5-ht ₆	-	-	Ro 630563 (7.9) SB 271046 (7.8) SB 357134 (8.5)	[¹²⁵ I]SB 258585 [¹²⁵ I]LSD [³ H]5-HT	G _s	HTR6/1p35-36	h440 P50406 m440 NP_067333 r438 P31388
5-HT ₇	5-HT _X 5-HT _{1-like}	-	SB 258719 (7.9) SB 269970 (9.0)	[¹²⁵ I]LSD [³ H] SB 269970 [³ H]5-CT [³ H]5-HT	G _s	HTR7/10q23.3-24.3	h445 P34969 ^{AS} m448 P32304 ^{AS} r448 P32305 ^{AS}

Tabla 1. Clasificación de los receptores 5-HT propuesta por el comité de la NC-IUPHAR

Tomado de Hoyer, D., Hannon, J.P., Martin, G.M. (2002) Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71, 533-554.

Los receptores 5-HT_{1A} han sido mapeados con técnicas de autoradiografía y se han encontrado concentrados principalmente en áreas límbicas como el hipocampo, el *septum*, la amígdala, la corteza y los núcleos del rafe (Barnes & Sharp, 1999; Roberts, Price & Middlemiss, 2001). En reportes recientes se presentan evidencias de neuronas en el núcleo paraventricular hipotalámico (NPVH) que expresan receptores 5-HT_{1A} (Carrasco et al., 2004; Li, Battaglia & Van de Kar, 1997). Li et al. (1997), con técnicas de *binding* usando [³H]-8-OH-DPAT, reportaron una alta densidad de receptores 5-HT_{1A} en algunos núcleos hipotalámicos, en el NPVH subdivisión parvocelular 14.0±1.8 fmol/mg y en la subdivisión magnocelular 9.1±1.4 fmol/mg. Con estudios de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia también se reportó una alta densidad de receptores 5-HT_{1A} en el NPVH (Zhang, et al., 2004).

Estudios *in vitro* indican que los receptores 5-HT_{1A} se acoplan a la familia de proteínas G_i/G_o, incluyendo las proteínas G_{i1}, G_{i2}, G_{i3} y G_o sensibles a la toxina pertusis, y la proteína G_z insensible a la toxina pertusis. Existen diferencias regionales en el acoplamiento de los receptores 5-HT_{1A} a las proteínas G, en el hipocampo los receptores 5-HT_{1A} se acoplan a proteínas G_o; en la corteza frontal a proteínas G_o y G_{i3}; en el núcleo del rafe dorsal a proteínas G_{i3} y en el hipotálamo a proteínas G_{i1}, G_{i3} y G_z. En el hipotálamo paraventricular la proteína G_z transduce la señal de los receptores 5-HT_{1A} para la secreción de las hormonas oxitocina y adrenocorticotropina (Hensler, 2003; Li et al., 1997; Serres et al., 2000). En una investigación reciente se señala que con técnicas de cromatografía de inmunoafinidad y de *Western Blot* fueron identificadas en el hipotálamo las proteínas G_{i1} y G_z, no encontrando marcaje para proteínas G_s y G_{i2} (Mannoury la Cour, et al., 2006).

El acoplamiento negativo de la adenilato ciclasa es sensible a la toxina *pertusis*, lo cual sugiere que este efecto requiere de proteínas G_i/G_o (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer, et al., 2002; Liu & Albert, 1991; Raymond, Mukhin, Gettys & Garnovskaya 1999). Contrariamente, también existen reportes de que los

receptores 5-HT_{1A} se acoplan positivamente a la adenilato ciclasa (Barnes & Sharp, 1999; Cadogan, Kendall & Marsden, 1994). Aún existen controversias para explicar este efecto, Cadogan y sus colaboradores (1994) llegaron a la conclusión de que el flujo de AMPc en el fluido extracelular en el hipocampo de la rata puede ser detectado por microdialisis *in vivo* y que este fenómeno puede ser mediado por receptores 5-HT_{1A}. Ellos indican que el incremento de flujo del AMPc inducido por la administración de 8-OH-DPAT, fue prevenido con WAY100135 (antagonista 5-HT_{1A}). Recientemente Malmberg y Strange (2000), reportaron que los receptores 5-HT_{1A} son capaces de acoplarse a diferentes proteínas G para evocar la respuesta inhibitoria y excitatoria del AMPc, respectivamente G_s y G_{i/o}, al demostrar que una mutación en el tercer asa (“loop”) intracelular del receptor 5-HT_{1A} puede facilitar el acoplamiento a la proteína G_s. Otros lo atribuyen a la activación de un subtipo de receptor diferente, posiblemente el 5-HT₇, el cual puede ser estimulado por ligandos selectivos a los receptores 5-HT_{1A}, como el 8-OH-DPAT (Barnes & Sharp, 1999; Raymond, et al., 2001).

Otras vías de señalización neural a las que se acoplan los receptores 5-HT_{1A} incluyen la apertura de canales de K⁺ (Barnes & Sharp, 1999; Bayliss, Li & Talley, 1997; Feldman, Meyer & Quenzer, 1996; Katayama, Yakushiji & Akaike, 1997; Raymond, Mukhin, Gettys & Garnovskaya 1999), la inhibición de canales de Ca⁺ (Cardenas, Mar & Scroggs, 1997; Liu & Albert, 1991; Raymond et al., 2001), la activación de la fosfolipasa C y de la fosfolipasa A₂ (Berridge, 2005; Liu et al., 1991; Raymond, et al., 1999; Raymond et al., 2001; Stamford, Davidson, McLaughlin & Hopwood, 2000), y la activación de las quinasas ERK y la MAP (Albert, et al., 2001; Chen, Shen & Meller, 2002).

3) Receptores 5-HT_{1B}

Inicialmente se pensaba que los receptores 5-HT_{1B} se expresaban exclusivamente en roedores (hamster, ratón y rata), pero estudios de clonación y secuenciación de cDNA revelaron una alta homología con el receptor humano 5-HT_{1Dβ} (ver Tabla 1). Los genes que codificaron para el receptor 5-HT_{1B} en el

ratón y en el humano se localizaron en el cromosoma 9 (posición 9E) y cromosoma 6 (6q13), respectivamente. Por tanto, se recomendó el uso de la misma nomenclatura para designar a estos receptores, así el receptor humano 5-HT_{1Dβ} fue renombrado como 5-HT_{1B} (Barnes & Sharp, 1999; Raymond et. al., 2001; Sari, 2004).

Los estudios autoradiográficos han identificado receptores 5-HT_{1B} en el sistema nervioso; en hipocampo, *septum*, amígdala, corteza, núcleos del Rafé y en el cerebelo. Con inmunohistoquímica se han obtenido resultados semejantes pero en adición identifican receptores en la habénula (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer et al., 2002; Roberts, et al., 2001). Una investigación reciente muestra datos de neuronas 5-HT_{1B} inmunoreactivas ampliamente distribuidas en el hipotálamo. La acumulación de neuronas 5-HT_{1B} fueron localizadas en los núcleos magnocelular, supraóptico, retroquiasmático y paraventricular (Makarenko, Seguid & Ugrumov, 2002).

Las investigaciones de las señales de transducción de los receptores 5-HT_{1B} indican que estos receptores están acoplados negativamente a la adenilato ciclasa porque su activación con agonistas selectivos (ver Tabla 1), induce una reducción en la actividad de ésta, la cual es estimulada por forskolina (Hoyer et al., 2002; Millan et al., 2003; Sari, 2004). Esta inhibición de la actividad puede ser bloqueada por antagonistas como, por ejemplo, metiotepina y también toxina *pertusis*, indicando un acoplamiento a proteínas G del tipo G_{i/o} (Gerhardt & Heerikhuizen, 1997). En estudios recientes se hace la observación de que los receptores 5-HT_{1B} se acoplan más eficientemente a la inhibición de la adenilato ciclasa que los receptores 5-HT_{1A} (Lin, Setya, Jonson-Farley & Cowen, 2002).

Los receptores 5-HT_{1B} también pueden activar a la fosfolipasa C (PLC) en algunos tipos de células (Raymond et al 2001). Por otro lado, Berg y Clarke (2001) señalan que los receptores 5-HT_{1A} pueden activar a la PLC y a la fosfolipasa A₂, en tanto que los receptores 5-HT_{1B} sólo son sensibles a la fosfolipasa A₂. Otras investigaciones han mostrado que estos receptores pueden activar a la quinasa ERK (Lin, et al., 2002; Pullarkat, Mysels, Tan &

Cowen, 1998). Particularmente se señala que los receptores 5-HT_{1B} se acoplan mejor a la inhibición de la adenilato ciclasa y a la activación de la ERK que los receptores 5-HT_{1A} (Mendez, Kadia, Somayazula, Badawi & Cowen, 1999).

4) Receptores 5-HT_{2A}

En el caso de la familia 5-HT₂ (ver Tabla 1), se han clonado tres receptores acoplados positivamente a una proteína Gq/11 para incrementar la hidrólisis de fosfato de inositol y elevar las concentraciones de calcio citosólico. El receptor 5-HT_{2A} fue denominado inicialmente como receptor D, descrito por Gaddum y Picarelli en 1957 y posteriormente nombrado receptor 5-HT₂ por Peroutka y Snyder en 1979. El receptor 5-HT_{2A} ha sido localizado en el cromosoma humano 13q14-q21 y compromete 471 aminoácidos en la rata, en el ratón y en el humano. El receptor humano tiene una homología del 87% con su contraparte en la rata (Barnes & Sharp, 1999; Gerhardt et al., 1997; Hoyer et al., 2002).

Con técnicas de autoradiografía usando [³H]-espiperona, [³H]-ketanserina, [³H]-DOI y [³H]-MDL 100907, los receptores 5-HT_{2A} se han localizado particularmente en corteza, núcleo caudado, núcleo *accumbens*, tubérculo olfatorio e hipocampo (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer et al., 2002). También ha sido confirmada su presencia en el NPVH con técnicas de inmunohistoquímica en la subdivisión magnocelular del NPVH (Zhang et al., 2002). Evidencias recientes señalan que los receptores 5-HT_{2A} y su mRNA se localizan en el NPVH (Zhang et al., 2004).

Se ha demostrado que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} activa a la fosfolipasa C en la mayoría de tejidos y en las células en las que se encuentran expresados, resultando en la acumulación de fosfatos de inositol y en la elevación de Ca²⁺ intracelular vía proteínas G. (Barnes & Sharp, 1999; Gerhardt et al., 1997; Grotewiel & Sanders-Bush, 1999; Raymond et al., 2001).

Los receptores 5-HT_{2A} pueden activar otras fosfolipasas, como la fosfolipasa A₂ (PLA₂) y la fosfolipasa D (Tournois, Mutel, Manivet, Launay &

Kellermann, 1998). La activación de la PLA₂ vía proteínas G insensibles a toxina *pertusis*, resulta en la liberación de ácido araquidónico (Berg, Maayani & Clarke, 1998 a,b). Estos receptores no regulan típicamente la formación de AMPc, pero pueden estimular e inhibir la acumulación de AMPc en células específicas (Berg, Clarke, Chen, Ebersole McKay & Maayani, 1994; Garnovskaya, Negibil Arthur, Spurney & Raymon, 1995; Raymond et al., 2001).

Otras vías de señalización neural a las que se acoplan los receptores 5-HT_{2A} incluyen la activación de la quinasa regulada por una señal extracelular (ERK), perteneciente a la familia de la proteína mitogena-activada (MAP) (Greene et al., 2000; Raymond et al., 2001); ligados a la activación de cotransporte de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ (Mayer & Sanders-Bush, 1994); la activación de los canales de Ca²⁺ activan pequeñas conductancias de canales de K⁺ (Jalonen, Margraf, Wielt, Charniga, Linne, & Kimelberg, 1997).

5) Receptores 5-HT_{2C}

Originalmente este receptor fue clasificado como un miembro de la familia 5-HT₁ y fue denominado como 5-HT_{1C}. Sin embargo una vez que el receptor fue clonado y se tuvo más información acerca de sus características fue reclasificado y renombrado como 5-HT_{2C} (Barnes & Sharp, 1999; Hoyer et al., 2002).

Los estudios autoradiográficos han usado una variedad de ligandos incluyendo [³H]-5HT, [³H]-mesulergina y [³H]-LSD con los cuales se ha provisto un mapeo detallado de la distribución de los sitios de *binding* para receptores 5-HT_{2C} en ratas y otras especies. Se ha detectado alta densidad de receptores en plexo coroideo, en corteza, núcleo *accumbens*, hipocampo, amígdala, núcleo caudado y sustancia *nigra* (Barnes & Sharp, 1999; Giorgetti & Tecott, 2004; Hoyer et al., 2002). Park, Harrold, Widdowson y Williams (1999), reportaron una alta densidad de receptores 5-HT_{2C} en el NPVH de ratas (34.0±2.3 fmol/mg), con técnicas de *binding* usando [³H]-mesulergina.

En el caso de los receptores 5-HT_{2C} se ha reconocido que son capaces de activar la fosfolipasa C en varias especies y en células transfectadas acopladas

a mecanismos vía proteínas G (Barnes & Sharp, 1999). En células transfectadas la acumulación de fosfatos inositol debidos a la estimulación de la PLC ha sido relacionada con receptores 5-HT_{2C} (Grotewiel et. al., 1999). En una investigación reciente se señala que los receptores 5-HT_{2C} pueden acoplarse tanto a la PLC como a la fosfolipasa A₂ (Berg, Crooper, Niswender, Sanders-Bush, Emeson & Clarke, 2001).

Tanto a bajas densidades como a altas densidades los receptores 5-HT_{2C} pueden activar a la fosfolipasa C, así como a la adenilato ciclasa. Este receptor también puede inhibir a la adenilato ciclasa pero solo a altas densidades, posiblemente ésto se deba al acoplamiento del receptor a distintas proteínas G (Gerhardt, 1997; Raymond et al., 2001).

Los receptores 5-HT_{2C} pueden regular canales de K⁺ y de Cl⁻. Se ha demostrado que receptores 5-HT_{2C} clonados cierran los canales de K⁺ y estimulan la conductancia de Cl⁻ (Hung, Loo & Wright, 1993).

Psicobiología de la alimentación

1) Antecedentes

Los trabajos pioneros de Heterington y Ranson en 1939 y los de Anad y Brobeck en 1951 demostraron que la lesión del núcleo hipotalámico ventromedial causa sobrealimentación y una ganancia excesiva de peso. En contraste la lesión del hipotálamo lateral previene la alimentación voluntaria, ocasionando muerte por inanición. Esto llevó a concluir que el centro de “saciedad” se localizaba en el hipotálamo ventromedial y el centro del “hambre” en el hipotálamo lateral (citados en: Ahima & Osei, 2001; Escobar 1999; Smith 1997). Este modelo del “centro dual”, que conceptualmente es atractivo, ha sido cuestionado severamente, ya que los efectos observados por la lesión del área lateral o medial del hipotálamo sobre la alimentación pueden deberse a otros factores, como es la alteración de la información sensorial debida a la lesión del sistema del trigémino, la alteración en el equilibrio del peso corporal, la alteración en el equilibrio hormonal (cambios en los niveles de insulina), y el daño sobre fibras de paso, principalmente dopaminérgicas (via nigroestriatal y proyecciones mesocorticolímbicas) (Elmqvist, Elias & Saper, 1999; Kandel, Scharz & Jessell, 2001). Actualmente esta hipótesis de “centros” separados ya no es defendible, sin embargo estos experimentos establecieron el papel del hipotálamo en la regulación de la ingesta de alimento y del peso corporal, además de sentar las bases que dieran inicio a la búsqueda por el control neural de la conducta alimentaria.

Investigaciones posteriores han probado que otros núcleos hipotalámicos como el núcleo paraventricular (Leibowitz & Alexander, 1998), el núcleo dorsomedial (Bellinger & Bernardis 2002), el núcleo supraquiasmático (Nagai, Nagai, Sugahara, Niiijima & Nakagawa, 1994) y el núcleo arqueado (Nakata, et al., 2004), también contienen mecanismos neurales que están implicados en aspectos específicos de la alimentación. Por ejemplo, la administración de noradrenalina en el núcleo paraventricular (NPVH), estimula la ingesta de alimento en general, pero en animales a los que se les permite elegir entre carbohidratos, proteínas y grasas, selectivamente incrementan la

ingesta de carbohidratos, contrariamente la administración de serotonina (5-HT) en el mismo núcleo inhibe la ingesta de este nutriente (Currie, 1993; Leibowitz, Weiss, Yee & Tretter, 1985; Leibowitz & Wortley, 2004; Stanley, Schwartz, Hernandez, Leibowitz & Hoebel, 1989). Dos péptidos (por mencionar algunos) que han sido relacionados fuertemente con el control de la alimentación son la galanina y el Neuropeptido Y. La administración de galanina en el núcleo paraventricular se ha reportado que estimula la ingesta de alimento, incrementando selectivamente la ingesta de grasas (Leibowitz et al., 2004). Por otro lado, el Neuropeptido Y es un potente estimulante de la ingesta de alimento, la inyección de éste en el NPVH está relacionado con el incremento selectivo de la ingesta de carbohidratos y con los patrones conductuales de la ingesta de carbohidratos (Stanley, Daniel, Chin & Leibowitz, 1985; Wang, et al., 1998).

Aunque el hipotálamo sigue siendo considerado un sitio primario del sistema nervioso central para el control de la conducta alimentaria, actualmente se sabe que otras estructuras también contribuyen en la regulación de esta conducta. Por ejemplo, Bakshi y Kelley (1993) encontraron que los opioides en el estriado ventral incrementan la ingesta de alimento, en tanto que Badiani, Leone, Beth y Stewart (1995) reportaron que en el área tegmental ventral, facilitaban las conductas relacionadas con la alimentación, específicamente reduciendo la latencia para iniciar la alimentación e incrementado la interacción con el alimento. Por otro lado, Ward, Somerville y Clifton (2000) reportaron que el GABA en el núcleo accumbens aumenta la cantidad de alimento ingerido. Recientemente Carlini, Varas, Cragolini, Schiöth, Scimonelli y Barioglio (2004) reportaron que la grelina (hormona péptidica) en el hipocampo y en el núcleo del rafe incrementa la ingesta de alimento significativamente.

Los reportes antes mencionados muestran que la investigación de la conducta alimentaria se ha realizado bajo dos lineamientos principales: a) establecer las estructuras anatómicas y b) los neurotransmisores que están relacionados con el control de la conducta de alimentación. Sin embargo, se denota la gran complejidad para establecer cuáles son las estructuras cerebrales que controlan las diferentes facetas de la conducta alimentaria y

cuáles son los neurotransmisores relacionados con la regulación de la alimentación.

2) Serotonina y alimentación.

Diversos estudios han demostrado que la regulación central de la conducta alimentaria es mediada por hormonas, sistemas de neurotransmisores y neuropéptidos (Ahima et al., 2001; Inui, 2000; van de Pol, 2003). En las últimas tres décadas se han sugerido al menos 25 sustancias de origen endógeno involucradas en el control de la conducta alimentaria (ver Tabla 2).

Estimulan la alimentación	Inhiben la alimentación
Norepinefrina (receptor α_2)	Norepinefrina (receptor β)
Acido Gama Aminobutírico (GABA)	Serotonina (5-HT)
Neuropéptido Y (NPY)	Dopamina
Péptidos Opioides (β -endorfinas y dinorfinas)	Histamina
Galanina	Corticotropina (CRF)
Hormona de crecimiento	α -Melanocitos
Melanina	Glucagon
Orexinas	Transcripción Cocaína-Anfetamina (CART)
Noradrenalina	Neurotensina
	Colecistoquinina
	Amilina
	Polipéptido pancreático
	Adrenomedulina
	Enterostatina
	Oxitocina
	Anorectina
	Tirotropina
	Leptina
	Insulina
	Interleucina
	Bombesina
	Neurotensina

Tabla 2 Muestra algunos de los neurotransmisores, hormonas y neuropéptidos que se ha reportado participan en la regulación de la alimentación.

La lista de neurotransmisores-alimentarios incluye a la serotonina (5-HT), neurotransmisor que ha cautivado fuertemente la atención de los investigadores. La serotonina es un mediador importante de la saciedad, la literatura señala que el aumento de la actividad del sistema serotoninérgico al ser estimulado periférica o centralmente promueve la saciedad (Clifton, Barnfield & Philcox, 1989; Fletcher & Paterson, 1989; Halford & Blundell, 1996; Hewitt, Lee, Dourish & Clifton, 2002; Kitchner & Dourish, 1994; Leibowitz & Alexander, 1998; Leibowitz, Weiss & Suh, 1990; Weiss, Rogacki, Fueg, Buchen, Suh, Wong & Leibowitz, 1991). Los reportes indican que la estimulación de esta monoamina reduce la ingesta de alimento y el peso corporal en animales y humanos. Las primeras evidencias fueron presentadas por Wurtman y Wurtman (1977, 1979a, 1979b), al administrar periféricamente fenfluramina, fluoxetina o MK-212 (agentes que favorecen la disponibilidad de 5-HT), sus resultados sugirieron que el efecto anoréxico específico sobre la ingestión de carbohidratos era dependiente de mecanismos serotoninérgicos. En investigaciones posteriores se demostró que la administración central de agentes serotoninérgicos producen el mismo fenómeno, la administración de 5-HT, fluoxetina ó d-norfenfluramina en el NPVH también redujo selectivamente la ingestión de carbohidratos, particularmente al inicio de la fase oscura del ciclo natural de luz/oscuridad (Leibowitz, Alexander, Cheung & Weiss, 1993). Las evidencias de este fenómeno se han extendido a otros núcleos del hipotálamo medial particularmente a los núcleos ventromedial, supraquiasmático y dorsomedial (Leibowitz & Alexander 1998).

Las investigaciones relacionan principalmente a las familias 5-HT₁ y 5-HT₂ con el control de la alimentación, sin embargo aún se desconoce el papel que juega cada uno de los diferentes subtipos: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}. Por lo tanto, el conocimiento de la existencia de cada subtipo de receptor 5-HT es un llamado a tratar de caracterizar los mecanismos bajo los cuales la 5-HT manifiesta su acción inhibitoria sobre la alimentación. De Vry, Eckel, Khul y Schreiber (2000) señalan que los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} han sido relacionados en el control de la conducta alimentaria. Particularmente se ha establecido que los subtipos 5-HT_{2C}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2A} inducen hipofagia (Schreiber & De Vry, 2002; Schreiber,

Selbach, Asmussen, Hesse & De Vry, 2000) en tanto que la estimulación del subtipo 5-HT_{1A} produce hiperfagia (Currie, Coscina & Fletcher, 1998).

3) Receptor 5-HT_{1A} y conducta alimentaria

La inyección central y sistémica del 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}), induce hiperfagia debido a la inhibición de la liberación de la 5-HT en el hipotálamo (Park, et al., 1999), el efecto es específico sobre la ingesta de carbohidratos (Luo, Ransom & Li, 1990). Se ha reportado que el 8-OH-DPAT es capaz de bloquear el efecto hipofágico de la colecistoquinina, de la fenfluramina y de la fluoxetina (Currie, et al., 1998; Currie, Braver, Mirza & Sricharoon, 2004; Poeschla, Gibbs, Simansky & Smith, 1992). Sin embargo también existen resultados contradictorios respecto al efecto hiperfágico inducido por la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} y que posiblemente tengan que ver con la metodología utilizada, dosis, periodos y tiempo de observación. Se ha reportado que el efecto hiperfágico del 8-OH-DPAT es dependiente de la condición de línea base de ingesta de alimento con la que se esté realizando la comparación, de esta forma cuando la línea base de ingesta es baja puede observarse la hiperfagia, pero contrariamente al compararse con una línea base alta la ingesta parece reducirse (Clifton, 2000). Por otro lado, también se reportó que la administración del 8-OH-DPAT en el rafe medio disminuyó la ingesta de alimento al inicio del ciclo de oscuridad (Wirtshafter, 2001), en tanto que en el reporte de otro fármaco agonista 5-HT_{1A} se señala que es al final del intervalo de alimentación cuando se observa este efecto, así la administración periférica de ipsapirona produjo un efecto bifásico sobre la alimentación, notando una pérdida progresiva de la hiperfagia y la ocurrencia de hipofagia al final del intervalo o a altas dosis, sugiriendo que este efecto puede ser el resultado de un proceso compensatorio (rebote hipofágico) (Schreiber, et al., 2000). El efecto hipofágico también se ha observado con fármacos no selectivos como el RU 24969 (agonista 5-HT_{1A/1B}), pero que tienen actividad sobre el receptor 5-HT_{1A} (Luo & Li, 1991). Otra variable que puede influir sobre los efectos de los fármacos es el sexo de los sujetos experimentales. Existe el reporte que la administración del 8-OH-DPAT en el núcleo del rafe para revertir el efecto hipofágico de la fluoxetina es dependiente del sexo, en ratas macho el pretratamiento del 8-OH-DPAT fue más efectivo

que en las hembras para prevenir la hipofagia inducida por la fluoxetina, implicando la participación de mecanismos neuroendocrinos (Currie, et al., 2004). Adicionalmente se señala que la administración intracerebroventricular del 8-OH-DPAT fue incapaz de afectar la conducta alimentaria en pichones (Da Silva et al., 2004). Las evidencias de estas investigaciones sugieren que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} inducen efectos bifásicos sobre el consumo de alimento, es decir tanto pueden aumentar como disminuir la cantidad de alimento ingerido. Posiblemente el aumento de la ingesta de alimento se deba a la activación de receptores presinápticos somatodendríticos, que al ser activados inhiben la liberación de serotonina y consecuentemente se eleva la ingestión de alimento (De Vry & Schreiber, 2000; Dourish, Hutson & Curzon, 1985; Hutson, Dourish & Curzon, 1988). Ebenezer, Velluci y Parrott (2001) sugieren que el efecto hipofágico es mediado por receptores 5-HT_{1A}, sin embargo la metodología empleada no les permite concluir, si es a través de receptores postsinápticos o presinápticos. Otras investigaciones sugieren que este efecto puede estar mediado por la activación de receptores 5-HT_{1A} postsinápticos y la contribución de receptores α 2-adrenérgicos en las células del Núcleo hipotalámico paraventricular (De Vry & Schriber, 2000; De Vry, Schriber, Daschke & Jentzsch, 2003).

4) Receptor 5-HT_{1B} y conducta alimentaria

En términos generales se ha reportado que la activación de los receptores 5-HT_{1B} reduce la ingesta de alimento, de agua y de alcohol. Los fármacos con alta afinidad por los receptores 5-HT_{1B} como el RU24969 y el CP94253 reducen la ingesta de alimento y generan anorexia, a causa de los efectos producidos en el desarrollo de la secuencia de saciedad conductual. Los ratones mutantes o *knockout* 5-HT_{1B} (faltos de receptores 5-HT_{1B}), comparados con ratones *wild type* (hermanos heterocigotos que sí expresan el receptor), se caracterizan por un incremento del peso corporal, aumento de la ingesta de alimento y del agua. El incremento de peso no está relacionado con la obesidad (Bouwknicht et al., 2001).

Postsinápticamente los receptores 5-HT_{1B} pueden actuar como heteroreceptores, controlando la liberación de otros neurotransmisores como la dopamina, acetilcolina, noradrenalina, glutamato y GABA (Bouwknicht et al., 2001; Chenu, Dailly & Bourin, 2005; Sari 2004;). Un ejemplo del efecto modulador es la investigación reportada por Lin y York (2005), quienes demostraron que la administración de enterostatina (pentapeptido de la procolipasa pancreática, que reduce selectivamente la ingesta de grasas), en el núcleo dorsal de la amígdala redujo la ingesta de una dieta alta en grasas en ratones hembras y machos. El pretratamiento con el antagonista 5-HT_{1B} GR 55526 en el NPVH, bloqueó el efecto de la enterostatina. Estos resultados implican que, la respuesta anoréxica de la enterostatina puede ser modulada por receptores 5-HT_{1B}.

De Vry y Schriber (2000) reportaron que el CP 94253 (agonista 5-HT_{1B}), produce hipofagia bajo la utilización de diferentes paradigmas como pueden ser programas de conducta operante, alimentación libre e infusión oral del alimento, entre otras. Tanto la administración periférica como central de agonistas 5-HT_{1B} son capaces de producir hipofagia. Los reportes señalan que la aplicación intraperitoneal del CP 94253 redujo la ingesta de una dieta paladeable, así mismo, la administración de CP 93129 (agonista 5-HT_{1B}) en el NPVH y en el núcleo parabrancial redujo marcadamente la ingestión de alimento (Lee, Aloyo, Fluharty & Simansky, 1998; Lee, Kennett, Colin, & Clifton, 2002; Park, et al., 1999). Recientemente se reportó un efecto hipofágico menor del CP 94253 en ratones mutantes o *knockout* 5-HT_{1B}, en comparación al efecto producido en ratones *wild type*. Adicionalmente en la misma investigación se demostró que el efecto hipofágico inducido por el CP 94253 en ratones *wild type* es revertido por el pretratamiento del antagonista selectivo 5-HT_{1B} SB224289, concluyendo que la activación de los receptores 5-HT_{1B} son un componente importante de los mecanismos endógenos de saciedad en el ratón (Lee, Somerville, Kennett, Dourish & Clifton, 2004).

Por algún tiempo se pensó que la sola activación de los receptores 5-HT_{1B} era suficiente para inducir hipofagia (Schreiber, et al., 2000), pero en investigaciones posteriores se reportó que la interacción funcional entre los

receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} es necesaria en la mediación de la respuesta hipofágica (Schreiber & De Vry, 2002).

5) Receptor 5-HT_{2A} y conducta alimentaria

Existen evidencias de que los receptores 5-HT_{2A} están asociados a la reducción de la ingesta de alimento (Hewitt, et al., 2002), la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} del núcleo paraventricular hipotalámico puede bloquear el efecto hiperfágico inducido por el neuropéptido Y (Grignaschi, Sironi & Samanin, 1996). De acuerdo con Currie, Coiro, Niyomchai, Lira y Farahmand (2002), la hipofagia inducida por la administración de 5-HT puede relacionarse con el bloqueo de la acción del NPY vía la activación selectiva del receptor 5-HT_{2A}; ya que han mostrado que el efecto de la administración de NPY sobre la ingestión de alimento es prevenido por el DOI, agonista de los receptores 5-HT_{2A/2C} y dicha inhibición de los efectos del NPY fue revertido por la espiperona y la ketanserina. Mancilla, Escartin, López y Cruz (2002) demostraron que el efecto supresor de la 5-HT sobre la ingestión de alimento es prevenido por la administración de mianserina, antagonista de los receptores 5-HT_{2A/2B}. También se ha reportado que el efecto hipofágico de la *d*-fenfluramina es prevenido en ratas pretratadas con ketanserina (Hewson, Leighton, Hill & Hughes, 1988). Los efectos hipofágicos inducidos por el DOI (agonista 5-HT_{2A/2C}) han sido reportados utilizando diferentes paradigmas (De Vry & Schreiber, 2000). Se dice que el efecto hipofágico inducido por el DOI es dependiente de la dosis utilizada (Schreiber, et al., 2000). Los resultados de un estudio reciente apoyan fuertemente la hipótesis de que se requiere de la estimulación de los receptores 5-HT_{2A/2C} para la expresión total de la hipofagia inducida por la administración intrahipotalámica de 5-HT (Mancilla, Escartín & López, 2006).

6) Receptor 5-HT_{2C} y conducta alimentaria.

La activación de los receptores 5-HT_{2C} se ha relacionado con el efecto hipofágico y control del peso corporal. Tecott et al. (1995) demostraron que los ratones mutantes o *knockout* (faltos de receptores 5-HT_{2C}, al eliminar el gen

que codifica para estos receptores), tienen sobrepeso comparados con ratones *wild type* (hermanos heterocigotos que no expresan la ausencia del receptor), ligando este efecto al incremento de la ingesta de alimento. Diferentes investigaciones han demostrado que los agonistas 5-HT_{1B/2C} m-CPP y TFMPP producen hipofagia (De Vry & Schriber, 2000; Kennett & Curzon, 1988; Kennett, Dourish & Curzon, 1987; Walsh et al., 1994), la cual es bloqueada por antagonistas selectivos de los receptores 5-HT_{2C} (Giorgetti, et al., 2004; Hewitt, et al., 2002;). Recientemente se demostró que dosis bajas de m-CPP en conejos producen hipofagia y patrones típicos de satisfacción en el cual el número de intervalos de alimentación se reduce; así como se incrementa la conducta de descanso, en tanto que otras conductas no son afectadas (Simansky et al., 2004). La administración del Ro 600175 (agonista de los receptores 5-HT_{2C}), en el NPVH y en el núcleo hipotalámico ventromedial se ha reportado reduce la ingesta de alimento (Grottick, Fletcher & Higgins, 2000; Hikiji, Inoue, Iwasaki, Ichihara & Kiriike, 2004).

A través de diferentes metodologías de investigación como, el pretratamiento con antagonistas selectivos 5-HT_{2C} o la lesión del núcleo parabranchial medial, se ha demostrado que la hipofagia inducida por d-fenfluramina y d-norfenfluramina, es mediada principalmente por receptores 5-HT_{2C} (Trifunovic & Reilly 2006; Vickers, Dourish & Kennett, 2001), confirmando los hallazgos de investigaciones previas las cuales sugirieron, que los receptores hipotalámicos 5-HT_{2C} posiblemente eran los mediadores del efecto hipofágico de la d-fenfluramina (Clifton, Lee & Dourish, 2000; Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999; Vickers et al., 2000).

Los fármacos no selectivos como el m-CPP y el TFMPP que poseen actividad para los receptores 5-HT_{1B/2C} son capaces de producir un efecto hipofágico mayor al compararse con el producido por agentes selectivos como el ORG 37684 (Schriber, Selbach, Asmussen, Hesse & De Vry, 2000; Schriber & De Vry, 2002). Consistentemente se ha demostrado que los ratones mutantes o *knockout* 5-HT_{2C} son menos sensibles que los ratones *wild type* al efecto hipofágico inducido por el m-CPP (Dalton, Lee, Kennett, Dourish & Clifton, 2006). Los resultados de estas investigaciones hacen evidente que se

requiere de la estimulación de ambos receptores 5-HT_{1B/2C} para obtener una respuesta hipofágica completa.

Recientemente se reportó el efecto del WAY163909 (agonista novedoso 5-HT_{2C}), el cual reduce el peso corporal y los niveles de triglicéridos, lo cual lo hace un fármaco potencialmente atractivo para el tratamiento de la obesidad (Dunlop et al., 2005); la administración crónica de YM348, m-CPP, Ro 600175 y del WAY-161503 (agonistas de los receptores 5-HT_{2C}) han llevado también a concluir que los receptores 5-HT_{2C} intervienen en la disminución del peso corporal, sin embargo las características en el desarrollo de tolerancia a la acción hipofágica es diferente (Hayashi, Suzuki, Sasamata & Miyata, 2005; Rosenzweig-Lipson et al., 2006).

Procedimientos conductuales para la investigación de la conducta alimentaria.

Desde el punto de vista de la farmacología de la alimentación, está bien documentada la existencia de una gran variedad de fármacos que modifican la conducta de alimentación, la forma de acción más conocida hasta el momento, es la que tiene que ver con la utilización de fármacos que suprimen la ingesta de alimento.

Un aspecto importante que no todas las investigaciones consideran y que está relacionado con la supresión de la ingesta de alimento debida a la administración de un fármaco, es que un animal puede dejar de comer por varias razones que pueden o no estar relacionadas necesariamente con el hambre. Por ejemplo, existen fármacos que actúan inhibiendo conductas motoras, otros que producen somnolencia o contrariamente un estado de actividad exagerado, generando así situaciones que son incompatibles con las conductas relacionadas con la alimentación como son el acercarse al alimento y llevárselo a la boca. Por lo tanto, la sola interpretación de datos que han resultado estadísticamente significativos acerca de los gramos de alimento consumidos por un animal al que se le ha administrado un fármaco puede llevar a conclusiones parciales o incluso erróneas (De Vry & Schreiber, 2000; Halford, Wanninayake & Blundell, 1998).

Es recomendable que las investigaciones en el campo de la farmacología de la alimentación utilicen metodologías y herramientas que permitan conocer no solo la cantidad de alimento consumido, sino que también consideren el “flujo conductual”, el cual incluye las características cualitativas de la conducta de alimentarse, como la duración y frecuencia de conductas particulares (sujetar el alimento, morderlo, caminar, husmear, acercarse de nuevo a la comida, etc.). De esta forma se consideran las conductas que preceden y que suceden a cada período de alimentación, sólo así se puede entender que cuando un animal deja de comer debido a la acción de un fármaco, no sólo se debe a que “no tiene hambre”, sino porque existe una estructura de la conducta de alimentación que puede estar sufriendo cambios

que se reflejan sobre el consumo de alimento (Blundell, 1981; Blundell, & McArthur, 1981; Velazco, 1989).

Para la investigación de la conducta alimentaria, es necesario distinguir las variables de análisis, como son la tendencia a obtener el alimento, la conducta consumatoria de alimentación y la cantidad de alimento consumido (López & Mancilla, 1995; Mancilla & Pérez, 1992). Considerando estos aspectos se puede diferenciar entre el “hambre”, definida como el proceso mediante el cual se estimula el inicio de comer (contacto con el alimento), y el “apetito”, el proceso por el cual se dirige y guía el comer (duración del episodio alimenticio y tamaño [g] de la ingesta). El término “satisfacción” se refiere al proceso debido al cual la alimentación cesa (cuando la duración de un episodio alimenticio es más largo, se dice que el proceso de satisfacción fue demorado), en tanto que “saciedad” es el estado de inhibición sobre una próxima alimentación; cuando el tiempo que transcurre entre un episodio alimenticio y otro es más largo, se dice que el estado de saciedad fue desinhibido (Blundell, 1979; Blundell & Latham, 1979; Blundell, 1984; Mancilla & Pérez, 1992; Mancilla, Escartín, López & Camacho, 2006). Frecuentemente la acción de una droga que inhibe la ingesta de alimento es reconocida como una acción sobre el proceso de satisfacción alimentaria. Sin embargo, la satisfacción puede ser sólo desencadenada cuando el cese de la alimentación es realizado como consecuencia de la ingesta de alimento (Velazco, 1989). La mera observación del decremento parcial de la ingestión es insuficiente para justificar el uso del término satisfacción o saciedad (Blundell, 1979; Blundell & Latham, 1979).

Dentro de los procedimientos conductuales para investigar la conducta de alimentación se requiere, que las observaciones y el análisis de la estructura de la conducta alimentaria no sólo sean una técnica para detectar las diferencias ocasionadas por la administración de una droga sobre la cantidad de alimento consumido, sino también es necesario evidenciar procesos motivacionales fundamentales (hambre, saciedad, satisfacción, entre otros), los cuales controlan la alimentación y son afectados por los fármacos. De acuerdo a ésto, se han creado nuevos procedimientos para el estudio de la

farmacología de la alimentación, que incluyen un análisis fino de la estructura temporal de la conducta alimentaria (López & Mancilla, 1995).

1) Análisis Microestructural

Una técnica que distingue entre la ingesta de alimento y la conducta alimentaria, es la denominada Análisis Microestructural de la Conducta Alimentaria, la cual permite caracterizar de manera precisa, lo que constituye un período de alimentación. De esta forma, se han clasificado y medido categorías de la conducta alimentaria, identificando parámetros como: total de alimento ingerido (g), latencia para iniciar el primer episodio de alimentación (seg), frecuencia, tamaño de los episodios alimenticios y duración (seg) de éstos, tasa local de alimentación (g/seg) y tiempo total empleado en comer (seg) (Blundell & Hill, 1986; Blundell & Latham, 1980; López & Mancilla, 1995; Mancilla & Pérez, 1992;).

La utilización de este análisis ha llevado a diferenciar el efecto anoréxico inducido por fármacos, por ejemplo aunque la anfetamina (liberador de dopamina) y la fenfluramina (liberador e inhibidor de la recaptura de 5-HT) suprimen la ingesta de alimento, la caracterización conductual del efecto anoréxico de cada una de ellas es diferente. La anorexia producida por la anfetamina se caracterizó por el aplazamiento para iniciar el primer episodio de alimentación, episodios alimentarios poco frecuentes y muy cortos, en tanto que, la fenfluramina afecta la tasa local de alimentación provocando una marcada lentitud para ingerir una porción de alimento (Blundell, Latham & Leshem, 1976; Blundell & Latham, 1978; Blundell & Latham, 1980; Burton, Cooper & Popplewell, 1981; Cooper & Francis, 1980; Grinker, Drewnowsky, Enns & Kissileff, 1980; Willner & Towell, 1982). De forma particular se ha demostrado que la administración sistémica de agonistas 5-HT ejerce control sobre aspectos temporales de la alimentación (Leibowitz & Alexander, 1998; Mancilla et al., 1993) caracterizados por la disminución del tamaño y duración de los intervalos alimentarios y la reducción de la tasa local de alimentación. La latencia para iniciar el intervalo de alimentación y la frecuencia no son

afectados, lo que sugiere que la 5-HT influye el término de la alimentación más que el inicio de ésta. La administración de 5-HT en los núcleos hipotalámicos paraventricular y ventromedial, reduce la ingestión de carbohidratos, esta reducción se caracteriza conductualmente por la reducción de la tasa de ingestión de carbohidratos (Leibowitz & Alexander, 1998).

Estudios realizados en nuestro laboratorio revelaron que el efecto supresor de la 5-HT sobre la ingesta de carbohidratos puede ser bloqueado por la ciproheptadina (antagonista 5-HT_{2C}) y la mianserina (antagonista 5-HT_{1B/2A/1D}) al inicio del período natural de alimentación. El patrón conductual que caracterizó la ingesta de carbohidratos en el grupo pretratado con mianserina fue, una disminución de la frecuencia e incremento de la duración de los episodios alimentarios y la reducción de la tasa local de alimentación. El pretratamiento con mianserina no previno la disminución de la frecuencia de los episodios y de la tasa local de alimentación inducido por la administración de 5-HT, sin embargo el incremento de la duración sugiere la afectación del proceso de satisfacción (Mancilla, Escartín, López & Cruz, 2002). El pretratamiento con ciproheptadina no evitó la reducción de la tasa local de alimentación inducida por la 5-HT, pero previno la reducción de la frecuencia y del tiempo entre los episodios, sugiriendo que el proceso afectado fue el de satisfacción (Mancilla, Escartín & López 2003). Algunos investigadores han sugerido que los subtipos de receptores 5-HT pueden influir un parámetro microestructural específico, los receptores 5-HT_{2C} parecen controlar predominantemente la tasa local de alimentación en tanto que los 5-HT_{1B} afectan principalmente la duración de los episodios (Schreiber & De Vry, 2002).

También en nuestro laboratorio se confirman los hallazgos de investigaciones previas, en donde se afirma que el GABA y el sistema opioide están involucrados en el control de la ingesta de alimento. La administración en el hipotálamo ventromedial (HVM) de muscimol (agonista GABA_A) y baclofén (agonista GABA_B) estimularon la ingesta de alimento. Conductualmente el incremento de la ingesta de alimento se caracterizó para el muscimol por un incremento del tiempo total de ingesta y de la duración de los episodios de

carbohidratos y proteínas. Mientras que para el baclofén hubo un incremento de la duración de los episodios de carbohidratos, de la duración de los episodios de grasas, tiempos entre episodios de carbohidratos y tiempo total de ingesta. Esto hace pensar en que los episodios son más largos pero menos frecuentes. Ambos fármacos produjeron cambios en la microestructura alimentaria que sugieren una inhibición del proceso de satisfacción (López, Mancilla, Durán, Escartín, Cobos & Garfias, 2000). La administración de naloxona (antagonista de los receptores μ) en el HVM, provocó una reducción de la ingesta de alimento, conductualmente caracterizado por el incremento de la latencia, disminución de la frecuencia y duración de los episodios de carbohidratos y duración total de los episodios alimentarios. Estos cambios en la microestructura alimentaria sugieren la inhibición del apetito favoreciendo la satisfacción y la saciedad principalmente sobre la ingestión de carbohidratos (Escartín, López & Mancilla, 1999).

Estas investigaciones evidencian que la técnica del análisis microestructural junto con alguna estrategia de manipulación de los neurotransmisores son una alternativa para evaluar los mecanismos neuroquímicos responsables de la alimentación y la expresión conductual de ésta en términos cuantitativos y cualitativos. Así, el análisis de los aspectos cualitativos de la alimentación permite diferenciar si los fármacos actúan sobre el apetito, el hambre, la satisfacción o la saciedad.

2) Secuencia de Saciedad Conductual

En general el efecto hipofágico inducido por la administración de fármacos serotoninérgicos ha sido atribuido a la aceleración del proceso de saciedad. Algunos investigadores han sugerido que los fármacos que liberan la 5-HT y los que estimulan los receptores 5-HT_{2C} y/o 5-HT_{1B} específicamente incrementan la saciedad en ratas (Clifton, Barnfield & Curzon, 1993; Halford, Wanninayake & Blundell, 1998; Kitchner & Dourish, 1994; Samanin & Grignashi, 1996; Simansky & Vaidya, 1990). Una técnica conductual que puede

distinguir si la hipofagia inducida por un fármaco se debe al desarrollo de la saciedad o a reacciones colaterales adversas como náusea, sedación, hiperactividad y/o paladeabilidad del alimento, es el análisis de Secuencia de Saciedad Conductual [SSC] (López, Mancilla & Escartín; 2002).

En el caso de la conducta de alimentación se ha observado, que inmediatamente después de la ingestión de alimento se presenta una secuencia característica, que muestra un patrón altamente estereotipado (Gao, Harvey, Mook & Zeigler, 1998). Después de que cesa la ingesta de alimento en turno, el animal se acicala o explora el interior de su caja-habitación y la secuencia típicamente 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. La SSC puede ser utilizada para identificar, si la hipofagia producida por un fármaco se debe a mecanismos “naturales” ligados a la saciedad o a mecanismos no relacionados que alteran el patrón de la SSC. La interrupción de la secuencia de saciedad da cuenta de que la reducción de la ingesta de alimento se debe a mecanismos diferentes a la saciedad, como por ejemplo la inducción de náusea, dolor, sedación o hiperactividad (De Vry & Schreiber, 2000; Gao, Harvey, Mook & Zeigler, 1998; Halford et al., 1998; McGuirk, Muscat & Willner, 1992; Vickers et al., 1999). Bajo este razonamiento, los fármacos que inducen anorexia pueden clasificarse en los que preservan la secuencia de saciedad y los que la interrumpen (Halford, Lawton & Blundell, 1998). La SSC parece estar fuertemente relacionada con el proceso de satisfacción (terminación del intervalo de alimentación) y el desarrollo de la saciedad (inhibición postingestiva de alimento) (Blundell, 1984; Gao et al., 1998; Halford et al, 1998; López, Mancilla & Escartín, 2003; Vickers et al., 1999).

Para el análisis conductual se han propuesto 8 categorías mutuamente excluyentes que son: comer, beber, acicalarse, locomoción, encabritarse, husmear, descansar y otras (Halford et al, 1997). Cada una de estas categorías puede comprender una serie de subcategorías, por ejemplo las conductas

activas englobarían el husmear, locomoción y encabritarse. La categoría de acicalamiento puede dividirse en diferentes subcategorías como acicalamiento de genitales, acicalamiento facial y acicalamiento del tórax. Si se utiliza esta definición operacional de conductas entonces las categorías principales a registrar son alimentación, acicalamiento, conducta activa y de descanso (Halford et al., 1998; Halford et al., 1997; Montgomery & Willner, 1988; Vickers et al., 1999). El tiempo de observación varía en cada investigación. Sin embargo, se puede apreciar que el tiempo mínimo de registro continuo es de 40 minutos, este tiempo es subdividido en 8 períodos de 5 minutos cada uno y en cada período se evalúan las categorías conductuales ya definidas.

Los efectos hipofágicos inducidos por la administración de fármacos serotoninérgicos típicamente han sido atribuidos a la saciedad, sin establecer si los fármacos preservan el desarrollo de la secuencia de saciedad normal o reducen la alimentación por mecanismos no específicos. En el estudio que reportaron Kitchner y Dourish (1994), la SSC fue utilizada para caracterizar la acción del DOI (1-[2,5-dimetoxi-4-iodofenil]-2-aminopropano, agonista de los receptores 5-HT₂), del mCPP (1-[3-cloro-fenil]piperazina, agonista 5-HT_{2C/1B}), del TFMPP (1-[3-(trifluorometil)fenil]piperazina, agonistas de los receptores 5-HT_{1B}/5-HT_{1C}, los receptores 5-HT_{1C} actualmente son denominados como 5-HT_{2C}) y de la RU-24969 (5-metoxi-3[1,2,3,6-tetrahidropiridina-4-y1]-1H-indol, agonista 5-HT_{1A/1B}), sobre la alimentación en ratas. Los cuatro fármacos redujeron la ingesta en ratas que fueron privadas (17 h). La TFMPP y la mCPP produjeron saciedad, el efecto en la SSC fue parecido al de un grupo que utilizaron como referencia (no grupo control), que fue sometido a una sesión de prealimentación sin haberle inyectado nada. En contraste, la RU24969 y el DOI no produjeron el perfil conductual que refleja la saciedad, la RU24969 elevó las conductas activas y no aceleró el descanso. Mientras que el DOI parece inducir hipofagia por una fragmentación conductual específica, es decir, la ingesta se caracterizó por numerosos episodios alimentarios de corta duración. Con estos resultados sugieren que la activación simultánea de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1C} (actualmente 5-HT_{2C}) puede ser suficiente para provocar la saciedad

conductual en la rata. En contraste la activación de los receptores 5-HT_{2A} no induce saciedad pero provoca conductas activas y reduce la alimentación.

En nuestro laboratorio demostramos que el efecto hipofágico inducido por la administración de 5-HT en el NPVH, se debe al desarrollo prematuro de la SSC. Caracterizada por la reducción del tiempo que las ratas emplearon para alimentarse, un incremento inicial de conductas activas y la reducción posterior de éstas, seguidas de un rápido desarrollo de las conductas de descanso. El análisis de la SSC producida por los pre-tratamientos de ciproheptadina y mianserina, sugieren que el bloqueo del efecto hipofágico inducido por la 5-HT se debió a que el proceso conductual de la satisfacción se pospuso con ambos pre-tratamientos. Afectando parámetros conductuales distintos posiblemente mediados por receptores 5-HT_{2C}. El pre-tratamiento con mianserina incrementó el tiempo de alimentación y retrasó la presencia de las conductas activas, lo cual permitió que el tiempo dedicado para alimentarse fuera más largo al inicio de la observación, no afectando la conducta de descanso. En tanto que la ciproheptadina incrementó el tiempo de alimentación, retrasó las conductas activas y pospuso el desarrollo de las conductas de descanso aunque no de forma significativa, sin embargo esto permitió la presencia de la conducta de alimentación hasta el final de la medición. Los resultados obtenidos en los parámetros conductuales de alimentación sugieren que la prevención del efecto hipofágico inducido por la 5-HT, al administrar el pre-tratamiento de mianserina y el pre-tratamiento de ciproheptadina es mediado posiblemente por receptores 5-HT_{2C} (López, Mancilla & Escartín, 2003). Recientemente Somerville, Horwood, Lee Kennett y Clifton (2007) demostraron que el agonista selectivo 5-HT_{2C} VER23779 es capaz de reducir la ingesta de alimento al ser administrado vía sistémica. El patrón conductual se caracterizó por el incremento de las conductas de descanso sin afectar el desarrollo normal de la SSC.

La utilización de ambos análisis (análisis microestructural y SSC) en una misma investigación puede constituir una herramienta poderosa, al identificar tanto las conductas que se presentan durante el período de alimentación como las que suceden a éste. Sólo así se puede explicar que cuando un animal deja

de comer debido a la acción de un fármaco, no sólo se debe a que “no tiene hambre”, sino porque existe una estructura de la conducta alimentaria que puede estar sufriendo cambios que se reflejan sobre el consumo de alimento.

Justificación y planteamiento del problema.

Para caracterizar la contribución que tiene cada uno de los receptores 5-HTérgicos sobre el control de la ingestión de alimentos y su relación con los diversos mecanismos conductuales, incluyendo los efectos sobre la saciedad, es necesario realizar estudios farmacológicos con metodologías de investigación acordes a la naturaleza compleja de la conducta alimentaria. Además de considerar los mecanismos fisiológicos, neuroanatómicos y conductuales implicados en los efectos hipofágicos de estos componentes. También es necesario esclarecer la posibilidad de que al activar simultáneamente dos subtipos de receptores 5-HTérgicos, se produzca un efecto hipofágico mayor al de la activación de un sólo receptor. Dado lo anterior es necesario investigar el papel de la estimulación individual y por pares, de los subtipos de receptores 5-HT1A/1B/2A/2C del NPVH sobre la ingesta de alimento y parámetros conductuales asociados.

Aunque está bien establecido que los agonistas de los receptores serotoninérgicos con alta o moderada afinidad a los subtipos 5-HT1 y/o 5-HT2 afectan la ingestión de alimento, no es claro el papel de los diferentes subtipos. Así, la presente investigación contribuiría con elementos que permitirían conocer el papel de la estimulación individual o por pares de los subtipos de receptores 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A y 5-HT2C, y su relación con la conducta de alimentación, incluyendo los efectos sobre la saciedad y el apetito. También contribuiría en el establecimiento de los mecanismos fisiológicos y neuroanatómicos implicados en los efectos hipofágicos de estos componentes, los cuales tampoco han sido establecidos totalmente. A nivel clínico los fármacos con actividad 5-HT podrían ser considerados como una alternativa potencial para el tratamiento de trastornos como la obesidad y la anorexia.

Considerando los antecedentes antes mencionados el presente trabajo se fundamenta en los siguientes supuestos:

- Se sabe que el NPVH es un centro cerebral del control de la conducta alimentaria e ingesta de alimento.
- También se sabe que el NPVH recibe inervación serotoninérgica.

- Existen evidencias de la presencia de los receptores de interés en el NPVH.
- También se sabe del control de la 5-HT sobre la conducta alimentaria en otros núcleos cerebrales.
- La 5HT participa en el control de la conducta alimentaria e ingesta de alimento en el NPVH al activar a los receptores 1A, 1B, 2A y 2C.
- La administración de agentes que favorecen la disponibilidad de 5-HT en el NPVH particularmente inhiben la ingestión de carbohidratos.

Por lo tanto las hipótesis de trabajo a probar son:

- H₁: La estimulación por pares de dos receptores 5-HT (5-HT_{1A/2C}; 5-HT_{1B/2C}; 5-HT_{2A/2C}) producirá una hipofagia mayor a la producida por la estimulación de un sólo receptor, particularmente sobre la ingestión de carbohidratos.
- H₂: Los parámetros de la microestructura de la conducta alimentaría (*latencia para iniciar el período de alimentación, frecuencia, duración y tiempo entre episodios de alimentación, tasa local de alimentación, beber, descansar*) serán afectados diferencialmente al estimular a dos receptores que al estimularlos individualmente.
- H₃: Los parámetros de la secuencia de saciedad conductual (ingesta, actividad, descansar) serán afectados diferencialmente al estimular a dos receptores que al estimularlos individualmente.

Dado lo anterior, el objetivo general de la presente investigación fue determinar el papel de la estimulación individual y por pares, de los subtipos de receptores 5-HT1A, 1B, 2A y 2C del núcleo paraventricular hipotalámico (NPVH) sobre la ingesta de alimento y parámetros conductuales asociados en ratas.

Objetivos particulares:

1. Evaluar, sí la estimulación individual de los receptores 5-HT_{1A}, 1B, 2A y 2C, ejerce control sobre la ingesta de alimento, principalmente sobre la ingesta selectiva de carbohidratos.
2. Determinar la especificidad de los receptores 5-HT_{1A}, 1B, 2A y 2C sobre la ingesta de alimento con la administración de los antagonistas respectivos.
3. Evaluar sí la activación de dos subtipos de receptores 5-HT (5-HT_{1A/2C}; 5-HT_{1B/2C}; 5-HT_{2A/2C}), produce un efecto hipofágico mayor.
4. Caracterizar la secuencia de saciedad conductual al estimular tanto individualmente como por pares a los receptores 5-HT.
5. Caracterizar la microestructura de la conducta alimentaria al estimular tanto individualmente, como por pares a los receptores 5-HT.

Método

Sujetos

Se utilizaron 120 ratas macho de la cepa Wistar de 200-230 g. Los animales fueron provistos por el Bioterio de la UNAM campus Iztacala. Los procedimientos utilizados en este estudio cumplen con la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999), especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio

Dietas

El alimento y el agua estuvieron disponibles durante toda la investigación. Las ratas tuvieron acceso a una dieta de fuentes separadas para carbohidratos, proteínas y grasas. Para lo cual se adquirieron los siguientes productos: Hidratos de carbono (harina de maíz Maseca, maíz nixtamalizado, Molinos Azteca de Chalco S.A. de C.V., planta Teotihuacan), proteínas (proteína aislada de soya 91.5% marca Supro 500 E, distribuido por *Protein Technologies International*, S.A. of C.V. Checkerboard Square, St. Louis, MO), grasas (manteca vegetal Inca. Elaborado por Anderson Clayton & Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México). En el agua se agregó el suplemento vitamínico Vitater de uso veterinario (Laboratorio Maver), la dosis utilizada fue la sugerida por el producto y que es considerada como preventiva (3g en cada 20 litros).

Fármacos

Los fármacos utilizados fueron: 2,5-Dimetoxi-4-iodoamfetamina (DOI agonista 5-HT_{2A}, también activa receptores 5-HT_{2C}, 7.2 µg/0.5µl); 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino)tetralina (8-OH-DPAT agonista selectivo 5-HT_{1A}, 0.5 µg/0.5µl); 5-H-Pirrolo[3,2-b]piridina-5-uno, 1,4-dihidro-3-(1,2,3,6-tetrahydro-4-piridinila] (CP-93129 agonista selectivo 5-HT_{1B}, 7.5 µg/0.5µl); (S)-2-(6-cloro-5-fluoroindol-1-yl)-1-metiletilamina (Ro 60-0175, agonista 5-HT_{2C}, 3µg/0.5µl), 6-cloro-5-metil-1-[2-(2metilpiridil-3-oxi)-pirida-5-il carbamoil] indolina (SB-242084 antagonista selectivo 5-HT_{2C}, 0.50 µg/0.5µl), (SB 224289 antagonista de los receptores 5-HT_{1B}, 29.6 ng/0.5µl), N-(2-(4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil)etil)-N-(2-piridil)-

ciclohexanecarboxamida triclorado (WAY 100635 antagonista de los receptores 5-HT_{1A}, 2 µg/0.5µl), Ketanserina (antagonista selectivo 5-HT_{2A}, 2µg/0.5µl). Estos fármacos fueron adquiridos con Sigma Chemical Co., St. Louis, MO. Todos los fármacos fueron infundidos a una velocidad de 1µl/3min en el núcleo paraventricular hipotalámico (NPVH). Para asegurar una difusión completa de las sustancias el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía, luego fue retirado. La administración de los fármacos se realizó con una jeringa digital para fluidos de alta precisión (Hamilton Co., Reno, NV).

Las dosis utilizadas se eligieron a partir de las reportadas en investigaciones previas y que fueron administradas en el NPVH, para el 8-OH-DPAT 1.6 nmol utilizada por Currie y Coscina (1993), el CP-93,129 (70 nmol) sugerida por Lee, Aloyo, Fluharty y Simansky (1998), la dosis de DOI (7.2 µg) se eligió considerando el reporte de De Vry y Schreiber (2000). En el caso de la WAY 100635 y la Ketanserina en nuestro laboratorio se ha probado y utilizado la dosis de 2 µg (Mancilla, Escartín, López, Floran & Romano, 2005).

Procedimiento general

Se realizaron 3 experimentos, todos bajo las mismas condiciones experimentales. Cada experimento correspondió al papel de la estimulación individual y por pares de uno de los receptores. En el Experimento 1 se probó la activación del receptor 5-HT_{1A} y del par de receptores 5-HT_{1A/2C}, en el Experimento 2 se activó al receptor 5-HT_{1B} y al par de receptores 5-HT_{1B/2C} y en el Experimento 3 se activó al receptor 5-HT_{2A} y al par de receptores 5-HT_{2A/2C}. En los tres experimentos se incluyó un grupo control y un grupo en el que se activó el receptor 5-HT_{2C}, estos dos grupos fueron los mismos para los tres experimentos. Para determinar la especificidad de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} se administró en grupos independientes un pretratamiento con el antagonista correspondiente para estos receptores. Se colocaron las ratas de manera aleatoria en cajas habitación-individuales, con tres comederos y mantenidas en un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12x12 hr con acceso libre al agua y al alimento. Los animales se pesaron una hora antes de iniciar el ciclo de oscuridad (8:00 hr). Las ratas tuvieron acceso a una dieta

de fuentes separadas para carbohidratos, proteínas y grasas. Cada nutrimento se cambió de lugar de acuerdo a un orden preestablecido, para evitar "preferencia de lugar", por ejemplo, el primer día el orden de los comederos de izquierda a derecha fue; proteínas, carbohidratos y grasas, el segundo día carbohidratos, grasas y proteínas, el tercer día grasas, proteínas y carbohidratos. El tiempo bajo estas condiciones fue de una semana para que los sujetos se ambientaran a las condiciones experimentales. Los sujetos que no se adaptaron a la dieta (consumo mínimo de cada uno de los nutrimentos y peso corporal entre los 230 a 250g) fueron excluidos de la investigación.

Después de lo anterior, los animales fueron anestesiados con hidrato de cloral (450 mg/kg, ip). Una vez anestesiados, se fijaron a un estereotáxico y se les implantó una cánula (1.5 cm de longitud), 2mm por arriba del NPVH del lado derecho, considerando las coordenadas sugeridas en el Atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986). Las coordenadas fueron corregidas previamente por ensayo y error en un grupo de ratas que "no" fueron consideradas para el análisis de resultados, inyectando azul de metileno a través de la cánula guía hasta teñir el NPVH. Este grupo de ratas permitió establecer las coordenadas para localizar el NPVH, según las características (peso) de los sujetos, para evitar variabilidad. Se consideró que los sujetos experimentales tuvieran un peso de 230-250g, al momento de realizar la cirugía. Una vez corregidas las coordenadas utilizadas fueron posterior a bregma -1.30; lateral a la línea media -0.3 y de profundidad a partir de dura madre -6.4. Finalmente se aplicaron 50.000 U/kg, im de penicilina benzatínica para prevenir infecciones.

Cuatro días después de la implantación de la cánula los sujetos experimentales fueron asignados a uno de 12 grupos independientes ($n=10$):

1. control
2. agonista 5-HT_{2C}
3. agonista 5-HT_{1A},
4. agonista 5-HT_{1B}
5. agonista 5-HT_{2A}
6. agonista 5-HT_{2C}+agonista 5-HT_{1A}
7. agonista 5-HT_{2C}+agonista 5-HT_{1B}

8. agonista 5-HT_{2C}+agonista 5-HT_{2A}
9. pretratamiento con antagonista 5-HT_{1A}
10. pretratamiento con antagonista 5-HT_{1B}
11. pretratamiento con antagonista 5-HT_{2A}
12. pretratamiento antagonista 5-HT_{2C}.

En cada experimento se incluyeron 5 de estos grupos, el grupo control, al que se le administró vehículo seguido de vehículo. Un segundo grupo, que recibió vehículo seguido del agonista 5-HT_{2C} Ro 60-0175 (vehículo + Ro-600175). Estos dos grupos fueron utilizados en los tres experimentos. En un tercer grupo para activar a uno de los receptores se suministró vehículo seguido de alguno de los agonistas 5-HT_{1A} (vehículo + 8-OHDPAT), 5-HT_{1B} (vehículo + CP-93129) o 5-HT_{2A} (SB242084+DOI), según el experimento correspondiente. Debido a que comercialmente no hay un fármaco selectivo para estimular a los receptores 5-HT_{2A}, en el tercer experimento se administró el pretratamiento con el antagonista selectivo 5-HT_{2C} (SB242084+DOI), para antagonizar la actividad del DOI sobre este receptor. En un cuarto grupo se aplicó el agonista 5-HT_{2C} (Ro 60-0175), seguido de alguno de los agonistas para los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} o 5-HT_{2A} (Ro 600175 + 8OHDPAT, Ro 600175 + CP-93129 o Ro 600175 + DOI respectivamente), para activar a dos de los receptores 5-HT. Para verificar que los efectos obtenidos sobre el consumo de alimento se debió a la estimulación de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2A} en un quinto grupo se administró un pretratamiento con los antagonistas respectivos (WAY100635+8-OHDPAT, SB224289+CP-93129 y Ketanserina+DOI).

En todos los grupos el tratamiento correspondiente fue administrado diez minutos antes de iniciar el período de oscuridad. Entre la primera y segunda administración hubo un intervalo de tiempo de 5 min aproximadamente. Inmediatamente después de la segunda inyección las ratas fueron colocadas individualmente en cajas habitación con acceso libre al alimento para dar inicio a las observaciones.

Recolección de datos

En todos los experimentos el tratamiento correspondiente fue administrado aproximadamente diez minutos antes de iniciar el período de oscuridad. La recolección de datos empezó al mismo tiempo que inició el período de oscuridad, se consideraron dos sistemas de registro para realizar la recolección de datos. Un registro de duración continua de 60 minutos, el cual sirvió para elaborar los análisis conductuales (análisis microestructural y secuencia de saciedad conductual). Los 60 minutos de observación fueron video-grabados con una cámara para baja intensidad de luz (todas las sesiones fueron grabadas), desde un cuarto contiguo para no interferir la conducta de los sujetos experimentales. El segundo registro fue un control de la cantidad de alimento ingerido, al finalizar el registro de duración continua se pesaron los comederos (cuidando de recolectar lo que cayó de los comederos), para conocer la cantidad de alimento consumido durante este tiempo.

Análisis Histológico

Finalmente los animales fueron perfundidos intracardialmente, primero con solución isotónica de NaCl al 0.9 % y luego con formalina al 10.0 %, para la remoción del cerebro, el cual se mantuvo 15 días en formol al 10.0 %. Posteriormente se realizaron cortes histológicos coronales de 60 μ de espesor con un vibratomo, para luego teñirlos con la técnica de Nissl y poder así verificar el sitio de implantación. Los datos de los sujetos que no estuvieron canulados en el NPVH no fueron considerados para el análisis.

Análisis de datos

Para cuantificar el efecto de los fármacos sobre la ingesta de alimento y conducta alimentaria se realizaron dos procedimientos de análisis, 1) el análisis microestructural, el cual examina el desarrollo del intervalo de alimentación y 2) la secuencia de saciedad conductual, en donde se evalúa la consecuencia del intervalo de alimentación.

Para el análisis microestructural fueron consideradas 19 variables definidas como sigue: Se considerará como un episodio alimenticio, a un período de alimentación in-interrumpido por otra conducta. Los parámetros del análisis microestructural considerados a partir de esta primera definición serán frecuencia de los episodios alimentarios y duración de éstos en segundos, tiempo entre episodios alimentarios, beber, descansar y otras conductas (acicalarse, desplazamiento en la caja, rascarse, husmear etc.). Las unidades de medición que se utilizaron para cada uno de estos parámetros fueron los segundos (s), a excepción de la frecuencia.

La frecuencia se define como el número de episodios alimentarios presentes en un período de registro (60 minutos). En forma particular se consideró la frecuencia de los episodios alimentarios para proteínas (Fpro), carbohidratos (Fcho) y grasas (Ffat), y en general la frecuencia total (Ftot) de los episodios alimentarios. La duración del episodio alimentario se definió como el tiempo total de ingesta entre la frecuencia de los episodios alimentarios. Considerando así, la duración del episodio para proteínas (Dpro), carbohidratos (Dcho) y grasas (Dfat). El tiempo total de ingesta (TTotal) se entendió como el tiempo total que emplea el sujeto en alimentarse sin importar el tipo de alimento seleccionado. El tiempo entre episodios alimentarios, se definió como el tiempo que transcurre entre un episodio alimentario y otro. Nuevamente aplicándolo para cada uno de los nutrimentos en particular conformando así las variables para proteínas (Teepro), carbohidratos (Teepcho) y grasas (Teepfat) y en general el tiempo entre episodios alimentarios sin considerar el tipo de alimento seleccionado (Teeptot). También se consideraron las conductas de beber definida como el tiempo que permaneció el sujeto en contacto con el bebedero, descansar como el tiempo en segundos en el que las ratas permanecen inactivas con cabeza en el piso. Finalmente la categoría de otras conductas (otras) incluyó el desplazamiento del animal dentro de su caja habitación, husmear, acicalarse y levantarse en patas traseras y rascarse.

Para realizar el análisis de la secuencia de saciedad conductual (SSC), los 60 minutos de registro continuo fueron divididos en 12 segmentos de 5 minutos cada uno y se analizaron considerando las siguientes categorías

conductuales: ingesta (definida como el tiempo en segundos que dedican las ratas para alimentarse), descanso (tiempo en segundos en el que las ratas permanecen inactivas con cabeza en el piso), y actividad (tiempo en segundos que dedican para, desplazarse, acicalarse, husmear, levantarse sobre las patas traseras etc. dentro de la caja-habitación).

Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para la ingestión (g) de proteínas, carbohidratos y grasas así como para cada uno de los parámetros del análisis microestructural.

Resultados.

Experimento 1: 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}) y RO60175 (agonista 5-HT_{2C})

Posterior a la verificación del sitio de implantación, los grupos quedaron conformados de la manera siguiente: Control ($n=10$), 8-OH-DPAT ($n=9$), RO60175 ($n=9$), 8-OHDPAT+RO600175 ($n=7$).

Ingestión

En la Figura 2, se presentan los resultados obtenidos con los fármacos en términos de las medias de ingestión de proteínas, carbohidratos y grasas. Los datos obtenidos para la ingestión de proteínas y grasas no revelaron diferencias estadísticas significativas, sin embargo se observó que la administración individual de los agonistas 8-OHDPAT y RO600175 indujeron una disminución de la ingesta de éstos, comparados con el grupo control. Con la coadministración del 8-OHDPAT+RO600175 (8-OH+Ro), el efecto anoréxico en el caso de la ingestión de proteínas fue mayor comparado con el grupo control, contrariamente la ingestión de grasas tendió a incrementarse en relación a todas las condiciones.

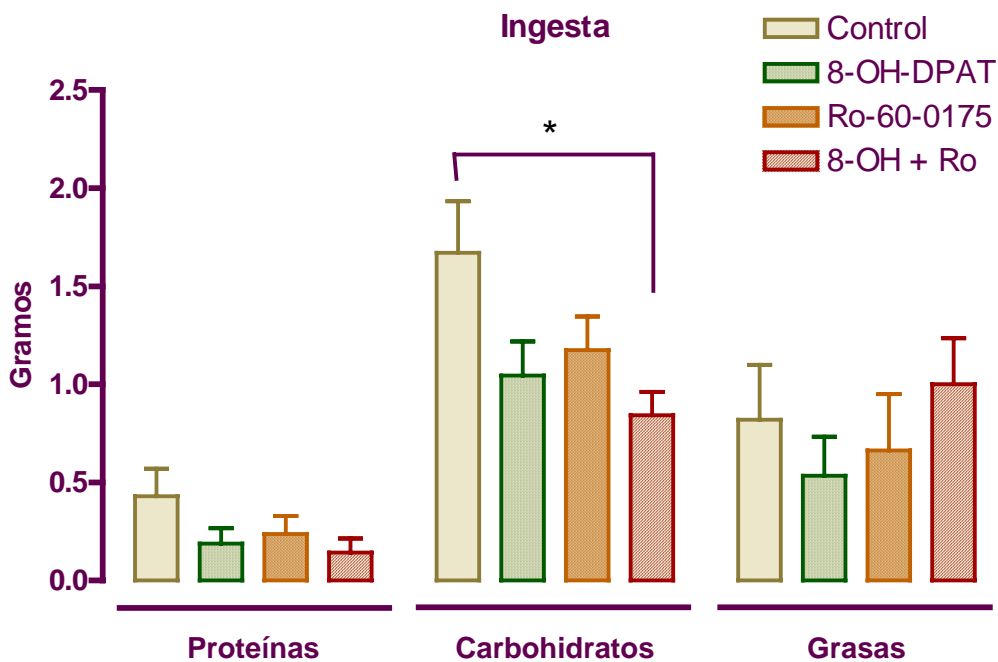


Figura 2. Media±ESM de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas durante 1h de registro al administrar individualmente y por pares los agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C}. * $p<0.05$.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas en la ingestión de carbohidratos [$F(3,31) = 3.101$; $p < 0.05$]. La comparación por pares (*Tukey*) indicó que la administración del 8-OHDPAT+RO600175 disminuyó significativamente la ingestión de carbohidratos, en comparación con el grupo control (ver Figura 2). Los fármacos agonistas 8-OHDPAT y RO600175 tendieron a disminuir la ingestión de carbohidratos al ser administrados individualmente.

El pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{1A} WAY 100635 (WAY+8-OH) atenuó el efecto anoréxico inducido por el 8-OHDPAT sobre la ingesta de carbohidratos (ver Figura 3). El análisis estadístico no reveló diferencias significativas.

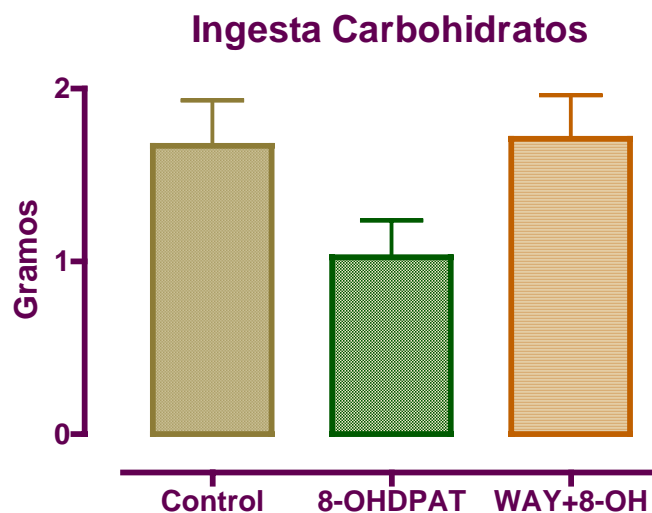


Figura 3. Media \pm ESM de la ingesta de carbohidratos durante 1h de registro al administrar el pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{1A} WAY 100635 ($n=9$).

Análisis microestructural.

Latencia

El análisis estadístico (ANOVA), reveló que existen diferencias significativas en la latencia para iniciar el primer episodio de ingestión de

carbohidratos [$F(3,31)=6.5$; $p<0.001$], la comparación por pares (Tukey) determinó que la coadministración de los fármacos induce un incremento del tiempo para iniciar la ingesta de carbohidratos en comparación con los grupos control, 8-OHDPAT y RO600175 (ver Tabla 3). En el caso de la latencia para iniciar la ingestión de proteínas y grasas no se encontraron efectos significativos por efecto de las inyecciones intrahipotalámicas

	Control	8-OHDPAT	RO-600175	8-OH+RO
Latencia (s)				
Proteínas	1515.1±494.4	1457.3±543.4	1533.1±536.8	1901.1±610.8
Carbohidratos	71.6±35.3	43.1±24.3	60.7±28.7	370.5±124.4**
Grasas	831.1±392.4	1170.2±471.7	1616.5±554.8	772.8±488.5
Frecuencia de episodios				
Proteínas	5.0±1.5	5.2±2.3	3.8±1.5	5.1±2.8
Carbohidratos	18.3±3.5	14.2±2.2	22.0±4.2	11.0±2.4
Grasas	7.8±3.9	4.6±1.8	6.0±2.6	9.2±3.9
Duración de episodios (s)				
Proteínas	29.9±10.7	29.4±11.2	30.1±13.7	13.8±7.9
Carbohidratos	117.3±21.1	55.1±8.2	72.3±27.9	35.6±5.6*
Grasas	42.4±14.2	18.1±5.9	24.0±8.5	41.6±16.4
Tiempo entre episodios (s)				
Proteínas	79.5±26.1	50.3±16.2	115.7±55.5	78.4±55.9
Carbohidratos	95.0±27.4	77.4±13.0	113.2±36.9	119.6±23.6
Grasas	162.6±46.6	332.7±201.0	87.1±44.9	120.3±29.9
Tasa local de alimentación (g/s)				
Proteínas	0.0027±0.0014	0.0025±0.0014	0.0052±0.0035	0.0026±0.0017
Carbohidratos	0.00127±0.00017	0.0027±0.0014	0.0019±0.0009	0.0047±0.0025
Grasas	0.011±0.0086	0.006±0.0021	0.0031±0.0015	0.0081±0.0051

Tabla 3 Media ± ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y por pares los agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C}.

** $P<0.001$ 8-OH+RO vs. control, 8-OH-DPAT y RO-600175

* $P<0.035$ Control vs. 8-OH+RO

Duración de los episodios

Al analizar la duración de la ingestión de carbohidratos (ver Tabla 3), la prueba estadística mostró diferencias significativas [$F(3,31)=3.24$; $p<0.05$]. La comparación *post hoc* mostró que la coadministración de los fármacos (8-OHDPAT+RO60015) produce una disminución significativa en la duración de los episodios de carbohidratos al compararlo con el grupo control. La

administración individual del 8-OHDPAT o del RO600175 produjo la tendencia a disminuir la duración de los episodios en comparación al grupo control, potenciando este efecto al administrar simultáneamente los fármacos.

Para los parámetros del análisis microestructural de la conducta alimentaria, frecuencia de los episodios alimentarios, tiempo entre episodios alimentarios y tasa local de alimentación (ver Tabla 3) no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Tampoco se encontraron diferencias estadísticas significativas en el caso de las conductas de descanso, beber y otras conductas (ver Tabla 4).

	Descansar	Beber	Otras
Control	503.0 \pm 253.4	103.9 \pm 23.7	906.4 \pm 145.5
8-OH-DPAT	927.8 \pm 255.0	121.1 \pm 32.3	964.0 \pm 139.5
RO-600175	562.0 \pm 264.2	244.2 \pm 70.8	1247.6 \pm 195.4
8-OH+RO	1328.1 \pm 329.5	125.4 \pm 44.1	1384.4 \pm 170.6

Tabla 4 Media \pm ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y por pares los agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C}.

Secuencia de Saciedad Conductual

El grupo control muestra un desarrollo ordenado de la SSC, el tiempo dedicado para alimentarse es prioritario (ver figura 4A), seguido de la presencia de otras conductas y posteriormente del descanso. La transición entre la conducta de alimentarse y el descanso para este grupo se observó entre los Períodos 11 y 12.

La administración del agonista 5-HT_{1A} 8-OHDPAT (ver Figura 4B) produjo la aceleración de la secuencia de la saciedad. En cuanto a la transición de la conducta de alimentarse y el descanso se observó un desplazamiento a la izquierda (entre Período 6 y 7), al compararse con el grupo control. La presencia de conductas activas se eleva al ser comparado con el grupo control a partir del periodo 3, indicando que el efecto anoréxico causado por el 8-OHDPAT posiblemente se deba a la interrupción de la SSC.

El grupo que recibió el agonista 5-HT_{2C} RO600175 (ver Figura 4C) preservó la secuencia de la saciedad conductual. La transición de la conducta de alimentarse y de la de descanso se desplazó a la izquierda (entre Períodos 10 y 11) en comparación con el grupo control, lo cual indica que el efecto anoréxico inducido por este fármaco se debe al desarrollo temprano de la secuencia de saciedad.

El análisis de la SSC reveló que la coadministración de los fármacos 8-OHDPAT+RO600175 (ver Figura 4D) interrumpió la secuencia de saciedad conductual debida principalmente al incremento de las conductas activas. Entre los períodos 1 y 6 predomina la presencia de otras conductas, seguida de la alimentación y del descanso. La transición de la conducta de alimentarse y de descanso fue desplazada a la izquierda (Periodo 6), indicando que la potenciación del efecto anoréxico puede deberse a la interrupción de la SSC, ya que estas conductas predominan desde el inicio del registro, rompiendo con el patrón normal de la SSC.

Secuencia de Siedad Conductual

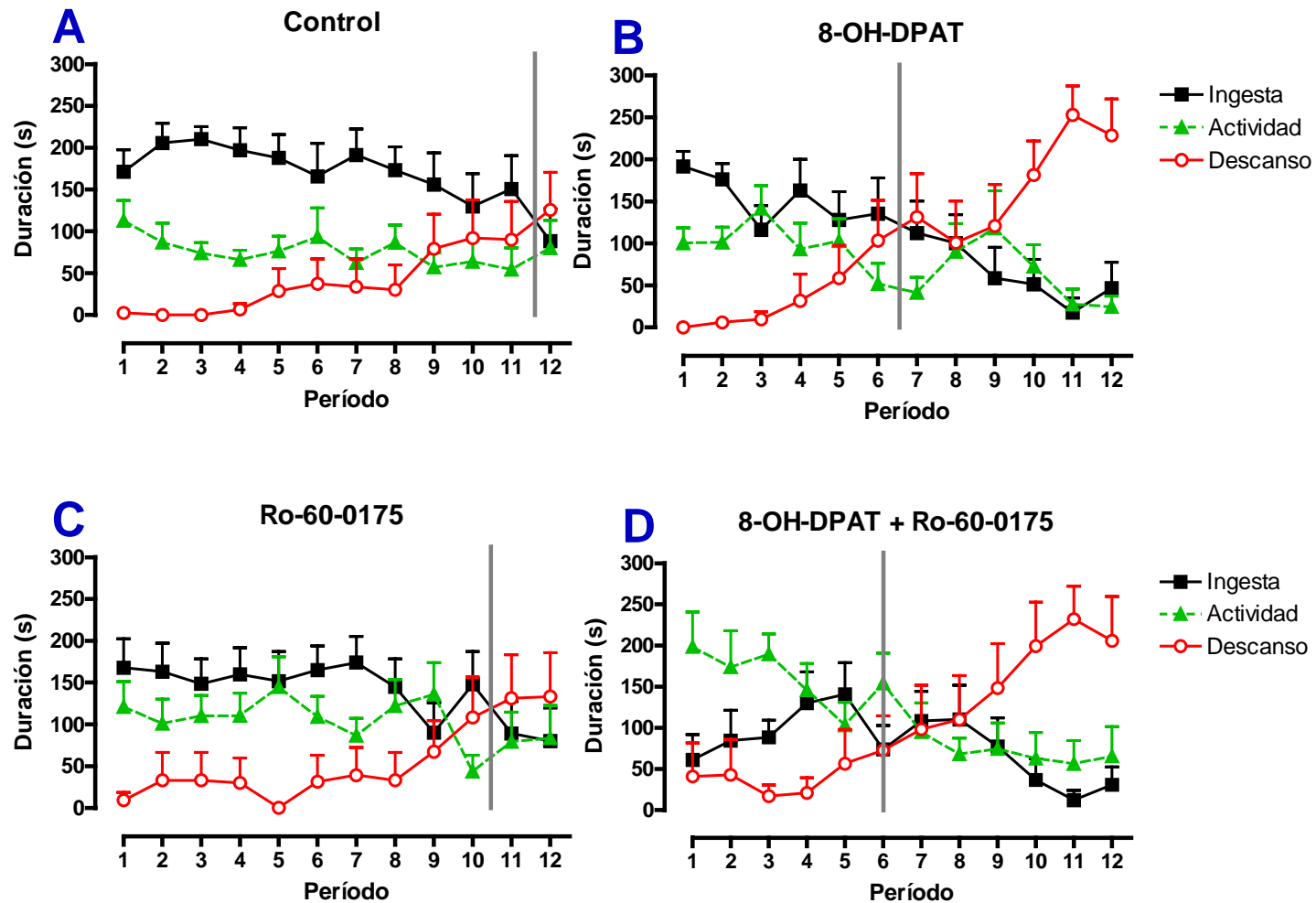


Figura 4. Media \pm ESM de los parámetros de la Secuencia de Siedad Conductual al administrar los agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C}. La línea vertical indica el momento de la transición entre la conducta de ingesta y la conducta de descanso.

Discusión Experimento 1

En la presente investigación, la administración del 8-OHDPAT y del Ro 600175 en el núcleo paraventricular hipotalámico indujo la reducción de la ingestión de alimento, particularmente inhibiendo la ingestión de carbohidratos. Estos resultados confirman los hallazgos de reportes previos en donde se señala el efecto hipofágico inducido por la 5-HT, al ser administrada periféricamente, afecta selectivamente la ingestión de carbohidratos (Shor-Posner, Ian, Brennan, Cohn, Moy, Ning & Leibowitz, 1993; Tempel, Shor-Posner, Dwyer & Leibowitz, 1989; Wurtman & Wurtman, 1977; 1979 a, 1979b). En esta investigación, la coadministración de los fármacos (8-OH-DPAT+Ro 600175), provocó mayor hipofagia sobre la ingestión de carbohidratos, indicando que ambos receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} son necesarios para producir un efecto hipofágico completo. Confirmando hallazgos previos en los que se demuestra que la expresión hipofágica inducida por la administración de 5-HT en el NPVH, es mediada por receptores 5-HT_{1A} (Mancilla, Escartín, López, Florán & Romano, 2005).

La administración individual del 8-OH-DPAT y del Ro 600175 en el NPVH disminuyó la ingestión de alimento durante el arranque natural del periodo de alimentación (oscuridad). Estos datos son consistentes con reportes previos en los que se señala que los agonistas 5-HT_{1A}, bajo ciertas condiciones experimentales pueden inducir hipofagia (Clifton, 2000; De Vry & Schreiber 2000; Schreiber, Selbach, Asmussen, Hesse & De Vry, 2000; Wirtshafter, 2001). Con la inyección central del agonista 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT) se han reportado datos contradictorios. Por un lado se ha reportado un efecto hiperfágico (Park, Harrold, Widdowson & Williams, 1999); el cual es atribuido a la activación de receptores presinápticos somatodendríticos que al ser activados inhiben la liberación de serotonina y consecuentemente se eleva la ingestión de alimento (Dourish, Hutson & Curzon, 1985; De Vry & Schreiber, 2000). Por otro lado se ha reportado un efecto hipofágico al inicio del ciclo de oscuridad (Wirtshafter, 2001), los datos de la presente investigación coinciden con el efecto hipofágico. Posiblemente, el efecto hipofágico puede estar mediado por la activación de receptores 5-HT_{1A} postsinápticos localizados en

fibras noradrenérgicas, inhibiendo la liberación de noradrenalina y la consecuente estimulación de receptores α_2 -adrenérgicos en las células del núcleo hipotalámico paraventricular e incremento de la corticotropina (De Vry, Schriber, 2000; De Vry, Schriber & Jentsch, 2003). Los efectos contradictorios sobre la ingesta de alimento al administrar agonistas 5-HT_{1A} posiblemente también están relacionados con la activación de diferentes vías de señalización. La activación de receptores 5-HT_{1A} en diferentes regiones del cerebro pueden producir respuestas opuestas debido al acoplamiento diferencial a proteínas G. Algunas investigaciones han sugerido que los receptores 5-HT_{1A} en el hipotálamo liberan oxitocina y adrenocorticotropina vía proteínas G insensibles a toxina pertussis en tanto que, en el hipocampo se inhibe la adenilato ciclasa y se abren canales de potasio vía proteínas G_o sensibles a toxina pertussis (Serres, et al 2000; Crane, et al 2007). Así mismo el efecto hipofágico inducido por la administración individual del Ro 600175, concuerda con reportes en los que se ha demostrado que la estimulación de los receptores 5-HT_{2C} al menos en parte son responsables en la mediación del efecto hipofágico (Dalton, Lee, Kennett, Dourish & Clifton, 2006; De Vry & Schreiber, 2000; Schreiber & De Vry 2002; Vickers *et al.*, 1999).

En la presente investigación el análisis microestructural también señala cambios en el desarrollo temporal de la conducta alimentaria, al administrar el 8-OHDPAT+Ro 600175, específicamente se encontró la reducción de la duración de los episodios de carbohidratos y el incremento de la latencia para iniciar la ingesta de carbohidratos. Estos resultados concuerdan con investigaciones previas en las que se señala, que la administración periférica de agonistas 5-HT ejerce control sobre aspectos temporales de la alimentación caracterizados por, la disminución del tamaño y duración de los intervalos alimentarios y reducción de la tasa local de alimentación (Leibowitz & Alexander, 1998; Mancilla, Cisneros, López, Ocampo, Alvarez, Vázquez, Osornio & Rosales, 1993;). La latencia para iniciar el intervalo de alimentación y la frecuencia no son afectados, lo que sugiere que la 5-HT influye el término de la alimentación más que el inicio de ésta (Leibowitz & Alexander, 1998). En la presente investigación la coadministración del 8-OHDPAT+Ro 600175 demoró el inicio del primer episodio alimentario, este efecto ha sido reportado

en algunas investigaciones en la que se ha utilizado fenfluramina, 5-HT, 5-Hidroxitriptófano y RO600175 (Clifton, Lee, Dourish, 2000; Cooper & Francis, 1980; Grinker, Drewnowski, Enns & Kissileff, 1980; Mancilla, López, Ocampo-Tellez, Alvarez, Vázquez, Ruíz, Mejía & Alvarado, 1993). La reducción de la duración de los episodios sugiere que la coadministración de los fármacos promueve el proceso de satisfacción y el incremento de la latencia una afectación del estado de saciedad.

El análisis de la secuencia de saciedad conductual indica que en el grupo control se ve una progresión ordenada de la conducta alimentaria, es decir los sujetos comen, presentan conductas activas y posteriormente descansan, patrón estereotipado que se ha descrito en investigaciones previas, y que se considera como un indicador de la saciedad (Gao, Harvey, Mook & Zeigler, 1998; Halford *et al.*, 1998; McGuirk, Muscat & Willner, 1992; Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999). La reducción de la ingesta de alimento debida a la administración del 8-OHDPAT se acompañó por un incremento moderado de la actividad y el desarrollo temprano de las conductas de descanso. En el caso del Ro 600175 disminuyó la ingesta de alimento, pero se preservó el patrón de desarrollo normal de la SSC. Este resultado concuerda con investigaciones previas, en las que se ha reportado que la administración periférica de Ro 600175 produce un efecto hipofágico dependiente de la dosis y un desarrollo típico de la SSC (Clifton, Lee & Dourish, 2000; Hewitt, Lee, Dourish & Clifton, 2002). La potenciación de la anorexia inducida por la coadministración del 8-OHDPAT+Ro 600175 se explica conductualmente por un aumento de la actividad al inicio del período de alimentación y la promoción de las conductas de descanso. Es decir, la administración simultánea de los fármacos no induce la saciedad, ya que el patrón estereotipado de la SSC no se observa bajo esta condición. Existen reportes de que el Ro 600175 produce hiperactividad (Higgins & Fletcher 2003), en la presente investigación se observó un incremento de la actividad al administrar este agonista individualmente en comparación con el grupo control, sin embargo no afectó al desarrollo normal de la SSC, pero al administrarlo simultáneamente con el 8-OHDPAT se potencia la actividad interrumpiendo el desarrollo típico de la saciedad.

En conclusión, los resultados del presente experimento confirman lo reportado en estudios previos en relación a que el sistema serotoninérgico juega un papel importante en la regulación de la conducta alimentaria controlando particularmente la ingesta de carbohidratos. La expresión de la hipofagia requiere de la participación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} del núcleo paraventricular hipotalámico. Los resultados sugieren la existencia de una interacción funcional receptor-acción entre los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} para la regulación de la conducta alimentaria, ya que al estimularlos por pares el efecto hipofágico es mayor. Los efectos sobre la secuencia de saciedad conductual fueron diferentes al administrar individualmente los fármacos que al coadministrarlos, en el caso de la anorexia inducida por la coadministración de los fármacos se atribuye a la interrupción del desarrollo típico de la saciedad.

Experimento 2: CP-93129 (agonista 5-HT_{1B}) y Ro-600175 (agonista 5-HT_{2C})

Después de verificar el sitio de implantación, los grupos quedaron constituidos de la siguiente manera: grupo Control ($n=10$), grupo CP-93129 ($n=8$), grupo Ro-600175 ($n=9$) y grupo CP-93129+Ro-600175 ($n=7$).

Ingestión

En la Figura 5, se presentan los resultados obtenidos sobre la ingestión de proteínas, carbohidratos y grasas en términos de las medias. Los datos obtenidos para la ingestión de proteínas y grasas no revelaron diferencias estadísticas significativas; sin embargo, se observó que la administración individual de los agonistas CP-93129 y RO600175 indujeron una disminución de la ingesta de éstos, comparados con el grupo control.

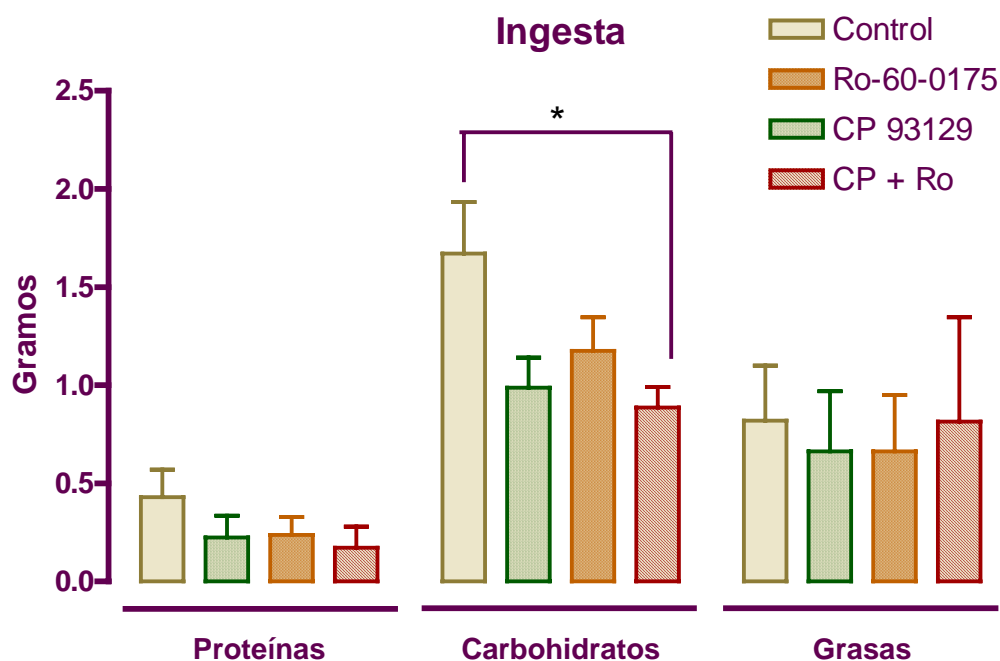


Figura 5. Media \pm ESM de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas durante 1h de registro al administrar individualmente y coadministrar los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}. * $p<0.02$.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas en la ingestión de carbohidratos [$F(3,30) = 3.69$; $p<0.02$]. La comparación por pares (*Tukey*) indicó que la coadministración del CP-93129+RO600175 (CP+Ro) disminuyó

significativamente la ingestión de carbohidratos, en comparación con el grupo control (ver Figura 5). Los fármacos agonistas CP-93129 y RO600175 tendieron a disminuir la ingestión de carbohidratos al ser administrados individualmente.

El pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{1B} SB 224289 (SB+CP), atenuó el efecto anoréxico inducido por el CP-93129 sobre la ingesta de carbohidratos (ver Figura 6). El análisis estadístico no reveló diferencias estadísticas significativas.

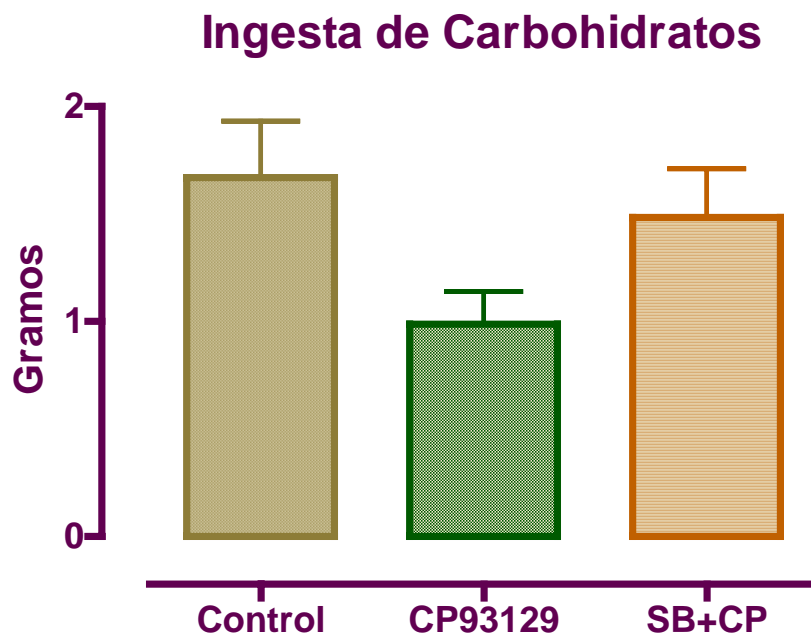


Figura 6. Media±ESM de la ingesta de carbohidratos durante 1h de registro al administrar el pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{1B} SB224289 (n=6).

Análisis microestructural.

Duración de los episodios

Cuando se analizó la duración de los episodios alimenticios de carbohidratos (ver Tabla 5), se observó que los tres tratamientos redujeron la

duración de los episodios de carbohidratos. La prueba estadística mostró diferencias estadísticas significativas [$F(3,30)=3.13$; $p<0.05$]. La comparación *post hoc* mostró que la administración individual del CP 93129 produce una disminución significativa en la duración de los episodios de carbohidratos al compararlo con el grupo control. No encontrando efectos sobre la duración de la ingestión de proteínas y grasas.

	Control	CP-93129	RO-600175	CP+RO
Latencia (s)				
Proteínas	1515.1 ± 494.4	1500.5 ± 616.3	1533.1 ± 536.8	1707.1 ± 671.9
Carbohidratos	71.6 ± 35.3	213.8 ± 151.5	60.7 ± 28.7	66.4 ± 36.1
Grasas	831.1 ± 392.4	1271.1 ± 534.7	1616.5 ± 554.8	1215.8 ± 629.8
Frecuencia de episodios				
Proteínas	5.0 ± 1.5	6.1 ± 2.4	3.8 ± 1.5	4.4 ± 3.4
Carbohidratos	18.3 ± 3.5	23.8 ± 5.1	22.0 ± 4.2	13.7 ± 2.1
Grasas	7.8 ± 3.9	7.6 ± 3.3	6.0 ± 2.6	5.5 ± 4.0
Duración de episodios (s)				
Proteínas	29.9 ± 10.7	14.4 ± 8.4	30.1 ± 13.7	27.0 ± 13.5
Carbohidratos	117.3 ± 21.1	42.4 ± 7.9*	72.3 ± 27.9	46.2 ± 8.1
Grasas	42.4 ± 14.2	23.6 ± 7.3	24.0 ± 8.5	28.9 ± 17.9
Tiempo entre episodios (s)				
Proteínas	79.5 ± 26.1	1566.1 ± 598.7***	115.7 ± 55.5	2276.2 ± 635.2***
Carbohidratos	95.0 ± 27.4	126.6 ± 37.8	113.2 ± 36.9	119.4 ± 27.2
Grasas	62.6 ± 46.6	1111.0 ± 544.9	87.1 ± 44.9	2172.3 ± 674.7**
Tasa local de alimentación (g/s)				
Proteínas	0.0027 ± 0.0014	0.0015 ± 0.0006	0.0052 ± 0.0035	0.0030 ± 0.0010
Carbohidratos	0.0012 ± 0.0002	0.0013 ± 0.0002	0.0019 ± 0.0009	0.0019 ± 0.0005
Grasas	0.011 ± 0.008	0.0020 ± 0.001	0.0031 ± 0.001	0.0037 ± 0.001

Tabla 5 Media ± ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y coadministrar los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}.

*** $P<0.001$ Control vs. CP-93129; CP+RO

** $P<0.002$ Control vs. CP+RO

* $P<0.040$ Control vs. CP-93129

Tiempo entre episodios (s)

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la ingestión de proteínas y grasas bajo ninguno de los tratamientos, el análisis del tiempo entre episodios alimentarios (ver Tabla 5) mostró diferencias significativas para

proteínas [$F(3,30)=7.793$; $p<0.001$] y grasas [$F(3,30)=6.257$; $p<0.002$]. En la comparación por pares se observó un aumento en el tiempo entre episodios alimentarios de la ingesta de proteínas de los grupos CP 93129 y del grupo CP+Ro. En el caso de las grasas se encontró que los tres tratamientos indujeron un incremento del tiempo entre episodios alimenticios, sin embargo este aumento solo fue significativo al coadministrar los fármacos (CP+Ro). En el caso de los carbohidratos no se encontraron diferencias significativas aunque se puede apreciar un ligero incremento del tiempo entre episodios en relación al grupo control bajo todas las condiciones.

Para los parámetros del análisis microestructural de la conducta alimentaria, latencia, frecuencia de los episodios alimentarios, y tasa local de alimentación (ver Tabla 5), no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

	Descansar	Beber	Otras
Control	503.0 ± 253.4	103.9 ± 23.7	906.4 ± 145.5
CP-93129	730.6 ± 275.1	188.8 ± 43.8	1390.8 ± 194.1
RO-600175	562.0 ± 264.2	244.2 ± 70.8	1247.6 ± 195.4
CP+RO	1593.7 ± 364.7*	89.8 ± 29.5	950.1 ± 172.3

Tabla 6 Media ± ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y coadministrar los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}.

* $P<0.05$ Control vs. CP+RO

El análisis estadístico (ANOVA) reveló diferencias significativas sobre la conducta de descansar [$F(3,30)=2.830$; $p<0.05$]. En la Tabla 6, se observa un incremento significativo en el tiempo dedicado a descansar en el grupo CP+RO, en comparación con el grupo control. No encontrando diferencias estadísticas significativas en el tiempo que dedican a beber y para otras conductas.

Secuencia de Siedad Conductual

En la Figura 7A se aprecia que el grupo control presenta un desarrollo ordenado de la SSC, preferentemente el tiempo es dedicado para alimentarse en segundo lugar para otras conductas y finalmente para el descanso. La

transición entre la conducta de alimentarse y el descanso para este grupo se observó entre los Períodos 11 y 12.

El grupo que recibió el tratamiento con el agonista 5-HT_{2C} RO600175 (ver Figura 7B), preservó el desarrollo de la secuencia de la saciedad conductual. La transición entre la conducta de alimentarse y la de descanso se localizó entre los Períodos 10 y 11, en comparación con el grupo control se observó el desplazamiento a la izquierda del punto de transición, lo cual indica que el efecto anoréxico inducido por este fármaco se debe al desarrollo temprano de la secuencia de saciedad.

La administración del agonista 5-HT_{1B} CP 93129 (ver Figura 7C) produjo la aceleración de la secuencia de la saciedad. En cuanto a la transición de la conducta de alimentarse y el descanso se observó un desplazamiento a la izquierda (Período 9), al compararse con el grupo control. La presencia de conductas activas es elevada desde el inicio del registro, manteniéndose por arriba de la conducta de alimentarse y el desarrollo temprano del descanso. Aunque el tiempo dedicado a la actividad es ligeramente más alto, no parece haber una interrupción de la SSC ya que el tiempo dedicado para alimentarse se mantiene a través de los 12 períodos de alimentación.

El análisis de la SSC reveló que la coadministración de los fármacos CP 93129+RO600175 (ver Figura 7D) induce el desarrollo temprano de la secuencia de saciedad. La transición de la conducta de alimentarse y de descanso fue desplazada a la izquierda (Período 3), indicando que la potenciación del efecto anoréxico, puede deberse al desarrollo prematuro de la SSC.

Secuencia de Sacidad Conductual

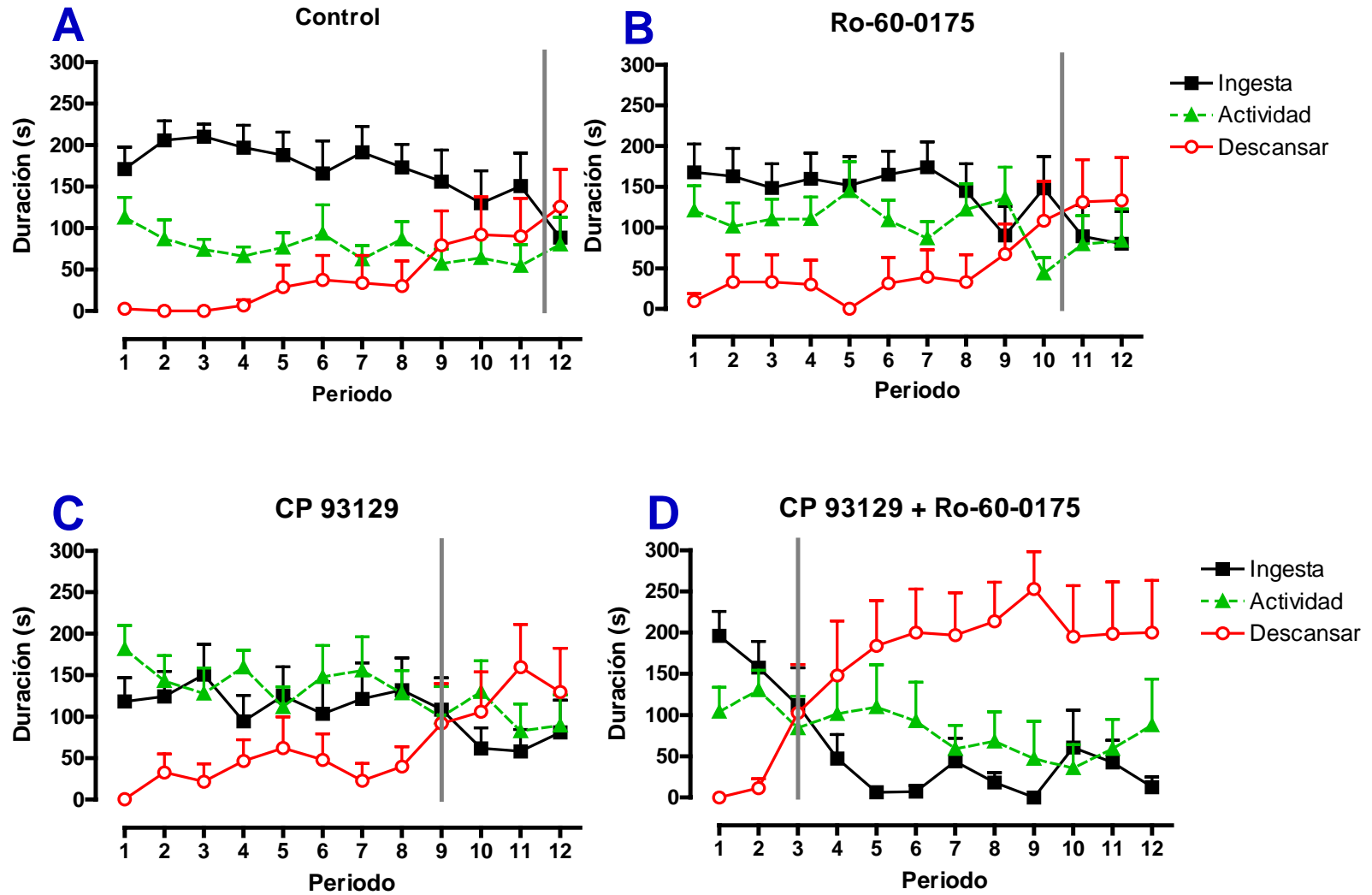


Figura 7. Media \pm ESM de los parámetros de la Secuencia de Sacidad Conductual al administrar los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}. La línea vertical indica el momento de la transición entre la conducta de ingesta y la conducta de descanso.

Discusión Experimento 2

En el presente estudio también se encontró que la administración del agonista CP 93129 (agonista de los receptores 5-HT_{1B}), en el NPVH disminuye la ingesta de alimento particularmente la ingestión de carbohidratos. Este efecto concuerda con investigaciones en las que se ha reportado que la activación de los receptores 5-HT_{1B} reduce la ingesta de alimento (Lee & Simansky, 1997; Lee et al, 1998; Park et al, 1999; Lee et al, 2002).

La coadministración del CP 93129 + Ro 600175, provocó un efecto hipofágico mayor sobre la ingestión de carbohidratos, implicando que la participación de ambos receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} es necesaria para producir un efecto hipofágico completo. Estos resultados van en contra de aquellas investigaciones en las que se ha señalado que la sólo activación de los receptores 5-HT_{1B} es suficiente para inducir hipofagia (Halford & Blundell, 1996; Simansky 1996). Apoyando aquellas en las que se plantea que el efecto hipofágico se debe a la interacción funcional entre los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} (Dalton, Lee, Kennett, Dourish & Clifton, 2006; Schreiber et al, 2002). La literatura señala que la administración de fármacos con actividad mixta 5-HT_{1B/2C} como el m-CPP produce un efecto hipofágico mayor que el obtenido con fármacos selectivos como el ORG 37684 (agonista 5-HT_{2C}) o el CP 94253 (agonista 5-HT_{1B}) (Schreiber et al, 2002).

El análisis microestructural permite señalar que la administración del CP 93129 afectó reduciendo la duración de los episodios de alimentación. Estos resultados son congruentes con investigaciones en las que se ha demostrado que la activación de los receptores 5-HT_{1B} principalmente reduce la duración de los episodios alimentarios (Clifton & et al., 1993; Schreiber et al, 2002; Simansky 1996; Lee & Simansky 1997). La reducción de la duración de los episodios sugiere que la administración del CP 93129 promueve el proceso de satisfacción.

Aunque en la ingestión de proteínas no se encontraron cambios estadísticos significativos, en el análisis microestructural se encontró que el

tiempo entre episodios alimentarios de proteínas aumenta, la coadministración del CP 93129 + Ro 600175 también facilitó el aumento del tiempo entre episodios alimentarios de proteínas y grasas, estos resultados sugieren la afectación del estado de saciedad. Conductualmente esto explica la tendencia a reducir de forma no significativa la ingestión de proteínas. La no afectación de la ingestión de proteínas al estimular el sistema serotoninérgico está documentado en los trabajos pioneros de Wurtman y Wurtman (1977, 1979) a lo que ellos denominaron "*protein sparing effect*". El análisis microestructural también reveló un incremento significativo de la conducta de descanso en el grupo CP 93129 + Ro 600175. Además de la afectación del proceso de satisfacción sobre la ingestión de carbohidratos el aumento de las conductas de descanso puede explicar la presencia de un efecto hipofágico mayor.

Como ya se discutió en el experimento anterior, el análisis de la secuencia de saciedad conductual indica que en el grupo control se ve una progresión ordenada de la conducta alimentaria. En el caso del Ro 600175 (agonista 5-HT_{2C}), disminuyó la ingesta de alimento, pero se preservó el patrón de desarrollo normal de la SSC. La reducción de la ingesta de alimento debida a la administración del CP 93129 se caracterizó por el incremento moderado de la actividad y el desarrollo temprano de las conductas de descanso. La administración de CP 94253 (agonista 5-HT_{1B}), se reportó reduce la frecuencia y duración de los episodios alimentarios y una tendencia a incrementar la actividad. Sin embargo, la hipofagia no se atribuye a la interrupción o fragmentación de los episodios alimentarios, sino a un efecto sobre la satisfacción (Lee & Simansky 1997). En una investigación posterior a ésta se concluye que la hipofagia producida por el CP 94253 se debe el desarrollo de la secuencia de saciedad (Lee, Kennett, Colin Dourish & Clifton, 2002). Este patrón concuerda con el análisis de la SSC de la presente investigación, en donde se encontró el incremento de la actividad al estimular al receptor 5-HT_{1B}, sin embargo esta actividad no parece interrumpir la conducta alimentaria. Se puede decir, que la administración del CP 93129 en el NPVH produce el desarrollo normal de la SSC.

El efecto hipofágico inducido por la coadministración de CP 93129+Ro600175, se explica conductualmente por el desarrollo temprano de las conductas de descanso, pero preservando el patrón típico de la SSC. Es decir hay una aceleración de la SSC, ya que en los primeros periodos de observación se dio prioridad a la conducta de alimentación, seguida de la actividad y finalmente la aparición temprana de las conductas de descanso. En la literatura se señala que fármacos con actividad mixta 5-HT_{1B/2C} como el m-CPP o el TFMPP preservan la estructura de la SSC (Halford et al, 1998). Tanto el análisis de la SSC como el análisis microestructural señalan que en este grupo la conducta de alimentación es desplazada rápidamente por la conducta de descanso.

Los resultados de la presente investigación permiten sugerir que la expresión de la hipofagia requiere de la participación de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} del núcleo paraventricular hipotalámico. Las evidencias señalan que la estimulación de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} produce hipofagia por si mismos. Sin embargo el presente estudio permite plantear que para obtener un efecto hipofágico completo se necesita de ambos subtipos de receptores, los cuales controlan diferentes aspectos cualitativos como lo muestran el análisis microestructural y la SSC. El que este par de receptores sean capaces de desarrollar una secuencia de saciedad normal, los hace atractivos para su potencial uso terapéutico en la obesidad, la bulimia y los trastornos por atracón alimentario.

Experimento 3: DOI (agonista 5-HT_{2A}) y Ro-600175 (agonista 5-HT_{2C})

Al verificar el sitio de implantación de la cánula, los grupos quedaron constituidos de la siguiente manera: Control ($n=10$), grupo SB24+DOI ($n=8$), grupo Ro-600175 ($n=9$) y grupo DOI+Ro-600175 ($n=8$).

Ingestión

Para antagonizar la actividad del DOI sobre los receptores 5-HT_{2C} se administró el antagonista SB242084. Los resultados sobre la media de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas no mostraron diferencias estadísticas significativas con el ANOVA de una vía. Sin embargo se encontró una tendencia a disminuir la ingestión de los tres nutrimentos, principalmente en el grupo pretratado (SB24+DOI), en comparación al grupo control (ver Figura 8).

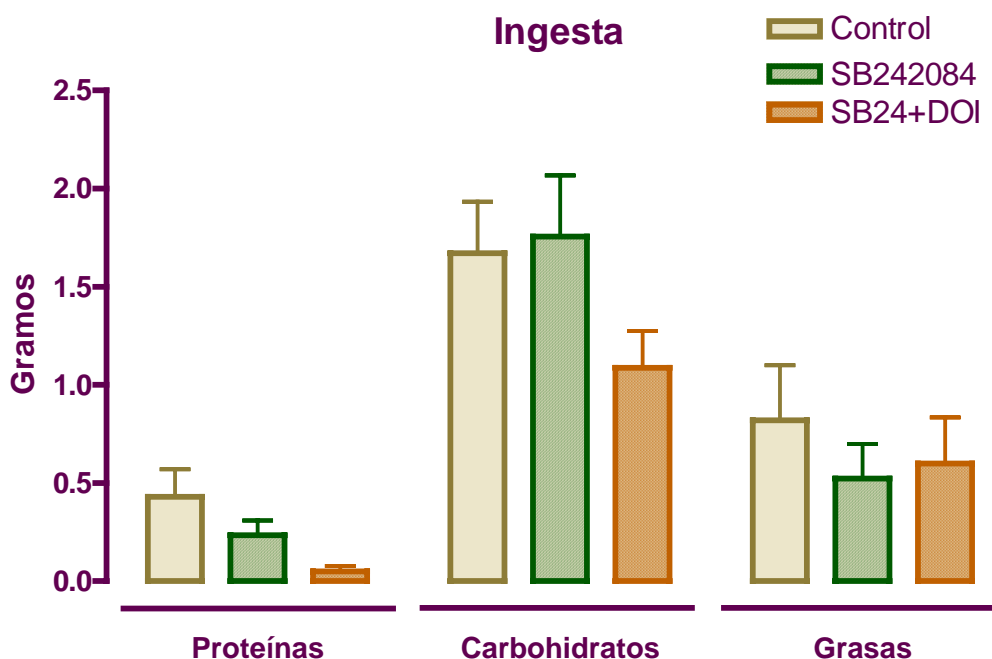


Figura 8. Media \pm ESM de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas durante 1h de registro al administrar el pretratamiento con el antagonista 5-HT_{2C} SB242084.

En la Figura 9, se presentan los resultados obtenidos sobre la ingestión de proteínas, carbohidratos y grasas en términos de las medias. El análisis

estadístico reveló diferencias significativas [$F(3,31) = 3.73$; $p < 0.02$] en la ingestión de carbohidratos. La comparación por pares (Tukey) indicó que la administración de DOI+Ro-600175 (DOI+Ro) disminuyó significativamente la ingestión de carbohidratos, en comparación con el grupo control.

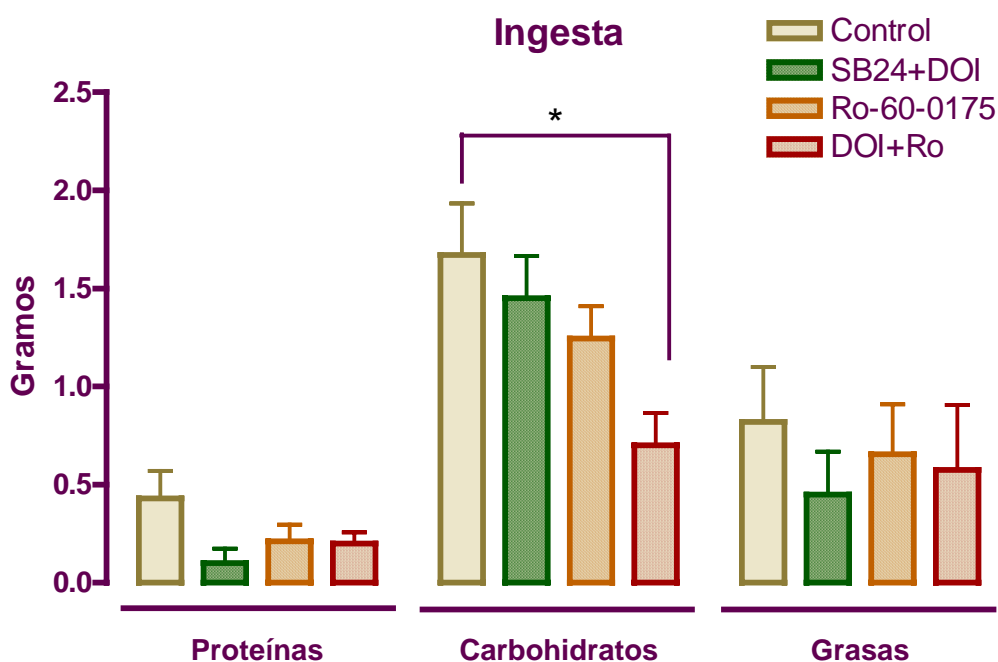


Figura 9. Media \pm ESM de la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas durante 1h de registro al administrar individualmente y coadministrar los agonistas 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. * $p < 0.02$.

El pretratamiento con el antagonista de los receptores 5-HT_{2A} Ketanserina (Ket+DOI), sólo previno el efecto anoréxico inducido por el DOI sobre la ingesta de carbohidratos (ver Figura 10), al compararse con el grupo control. El pretratamiento con el antagonista 5-HT_{2C} (SB24+DOI) atenuó mejor el efecto hipofágico del DOI (ver Figura 9).

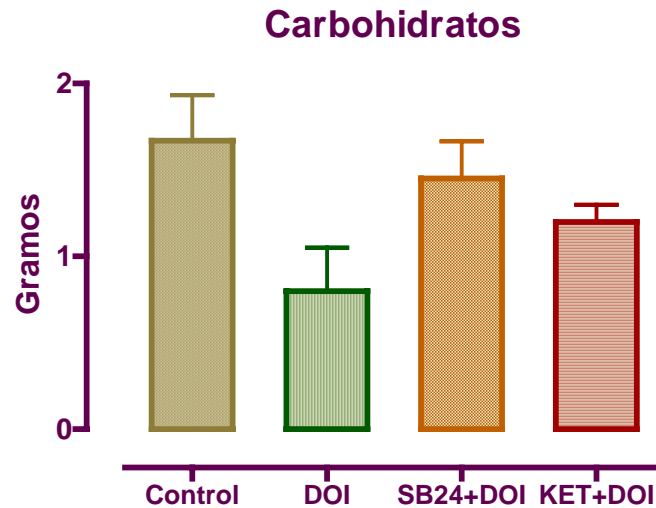


Figura 10. Media±ESM de la ingesta de carbohidratos durante 1h de registro al administrar el agonista DOI (n=6) y antagonista 5-HT_{2A} Ketanserina (n=6).

Análisis microestructural

Tiempo entre episodios (s)

El análisis del tiempo entre episodios alimentarios (ver Tabla 8) mostró diferencias significativas para proteínas y grasas [$F(3,31)=12.06$; $p<0.000$] y grasas [$F(3,31)=5.72$; $p<0.003$]. En la comparación por pares se observó un aumento en el tiempo entre episodios alimentarios de la ingesta de proteínas de los grupos SB242084+DOI y del grupo DOI+Ro-600175 con respecto al grupo control y del SB242084+DOI en relación al grupo Ro-600175. En el caso de las grasas se encontró que los tratamientos indujeron un incremento del tiempo entre episodios alimenticios entre los grupos DOI+Ro-600175 y SB242084+DOI al compararse con el grupo control y los grupos. DOI+ Ro-600175 y SB242084+DOI con respecto al grupo Ro-600175.

Aunque en el análisis de la ingestión de carbohidratos se encontraron diferencias estadísticas significativas en el grupo DOI+Ro vs. grupo Control. En el análisis microestructural para este nutrimento no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, la tendencia de los parámetros del análisis microestructural para carbohidratos en este grupo fue la siguiente: Incremento de la latencia para iniciar la ingestión de carbohidratos, decremento

de la frecuencia y duración de los episodios de carbohidratos, sin cambios en los tiempos entre episodios alimentarios y tasa local de alimentación (ver Tabla 8).

	Control	SB24+DOI	RO-600175	DOI+RO
Latencia (s)				
Proteínas	1515.1 ± 494.4	2562.4 ± 512.03	1533.1 ± 536.8	720.7 ± 426.38
Carbohidratos	71.6 ± 35.3	112.7 ± 42.8	60.7 ± 28.7	467.87 ± 332.7
Grasas	831.1 ± 392.4	1959.4 ± 531.0	1616.5 ± 554.8	1357.5 ± 526.7
Frecuencia de episodios				
Proteínas	5.0 ± 1.5	1.2 ± 0.61	3.8 ± 1.5	4.1 ± 1.3
Carbohidratos	18.3 ± 3.5	13.9 ± 2.61	22.0 ± 4.2	11.1 ± 2.9
Grasas	7.8 ± 3.9	3.9 ± 1.2	6.0 ± 2.6	4.9 ± 2.6
Duración de episodios (s)				
Proteínas	29.9 ± 10.7	23.75 ± 21.3	30.1 ± 13.7	72.0 ± 30.16
Carbohidratos	117.3 ± 21.1	85.4 ± 24.7	72.3 ± 27.9	75.5 ± 13.4
Grasas	42.4 ± 14.2	10.7 ± 3.6	24.0 ± 8.5	34.6 ± 20.9
Tiempo entre episodios (s)				
Proteínas	79.5 ± 26.1	2578.8 ± 499.5*	115.7 ± 55.5	1401.6 ± 553.7*
Carbohidratos	95.0 ± 27.4	182.4 ± 57.4	113.2 ± 36.9	94.79 ± 18.9
Grasas	162.6 ± 46.6	1622.1 ± 589.3**	87.1 ± 44.9	1760.9 ± 579.5**
Tasa local de alimentación (g/s)				
Proteínas	0.0027 ± 0.0014	0.0010 ± 0.0005	0.0052 ± 0.0035	0.0 ± 0.0
Carbohidratos	0.0013 ± 0.0002	0.0019 ± 0.0004	0.0019 ± 0.0009	0.0012 ± 0.0003
Grasas	0.011 ± 0.008	0.0037 ± 0.0014	0.0031 ± 0.001	0.0030 ± 0.001

Tabla 8 Media ± ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y coadministrar los agonistas 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.

**P*<0.000 Control vs. SB24+DOI; Control vs. DOI+RO; RO vs. SB24+DOI.

***P*<0.003 Control vs. DOI+RO; Control vs. SB24+DOI; RO vs. DOI+RO; RO vs. SB24+DOI

En el caso de las conductas de descansar, beber y otras, no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el tiempo (ver Tabla 9). Aunque la tendencia en el grupo DOI+Ro fue un incremento de la conducta de descanso y de otras conductas.

	Descansar	Beber	Otras
Control	503.0 ± 253.4	103.9 ± 23.7	906.4 ± 145.5
SB24+DOI	1045.1 ± 293.6	183.9 ± 68.5	1187.4 ± 156.9
RO-600175	562.0 ± 264.2	244.2 ± 70.8	1247.6 ± 195.4
DOI+RO	1079.6 ± 377.2	146.8 ± 125.5	1178.0 ± 245.7

Tabla 9 Media ± ESM de los parámetros del análisis microestructural durante 1h de registro al administrar individualmente y al coadministrar los agonistas 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}.

Secuencia de Saciedad Conductual

En la Figura 11A se muestra que el grupo control presenta un desarrollo ordenado de la SSC, esto es, tiempo dedicado para alimentarse seguido de otras conductas y finalmente el descanso. La transición entre la conducta de alimentarse y la conducta de descanso para este grupo se observó entre los Períodos 11 y 12.

La SSC en el grupo al que se le administró el SB242084+DOI (ver Figura 11B), no produce el desarrollo normal de la secuencia de saciedad. La presencia de conductas activas es elevada desde el inicio del registro, seguida de la conducta de alimentarse y el desarrollo temprano del descanso. El período de transición de las conductas de alimentación y descanso se localizó entre los Períodos 4 y 5, en comparación al grupo control el desplazamiento fue hacia la izquierda. Este patrón sugiere que el efecto anoréxico se debe a la interrupción de la SSC por hiperactividad; la duración de la actividad es más alta que la duración de la conducta de ingesta.

El grupo al que se le administró el tratamiento con el agonista 5-HT_{2C} RO600175 (ver Figura 11C), preservó el desarrollo de la secuencia de la saciedad conductual. La transición entre la conducta de alimentarse y la de descanso se localizó entre los Períodos 10 y 11, en comparación con el grupo control el desplazamiento de la transición se observó recorrido a la izquierda, lo cual indica que el efecto anoréxico inducido por este fármaco se debe al desarrollo temprano de la secuencia de saciedad.

El grupo en el que se coadministraron los dos agonistas 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} (DOI+RO), se desarrolló la aceleración de la secuencia de la saciedad. (ver Figura 11D). En cuanto a la transición de la conducta de alimentarse y el descanso se observó un desplazamiento a la izquierda (Período 5), en relación al grupo control. La presencia de conductas activas es elevada desde el inicio del registro, manteniéndose por arriba de la conducta de alimentarse y el desarrollo temprano del descanso. Aunque el tiempo dedicado a la actividad es ligeramente más alto, no parece haber una interrupción de la SSC, ya que el tiempo dedicado para alimentarse se mantiene a través de los 12 períodos de alimentación.

Secuencia de Sacidad Conductual

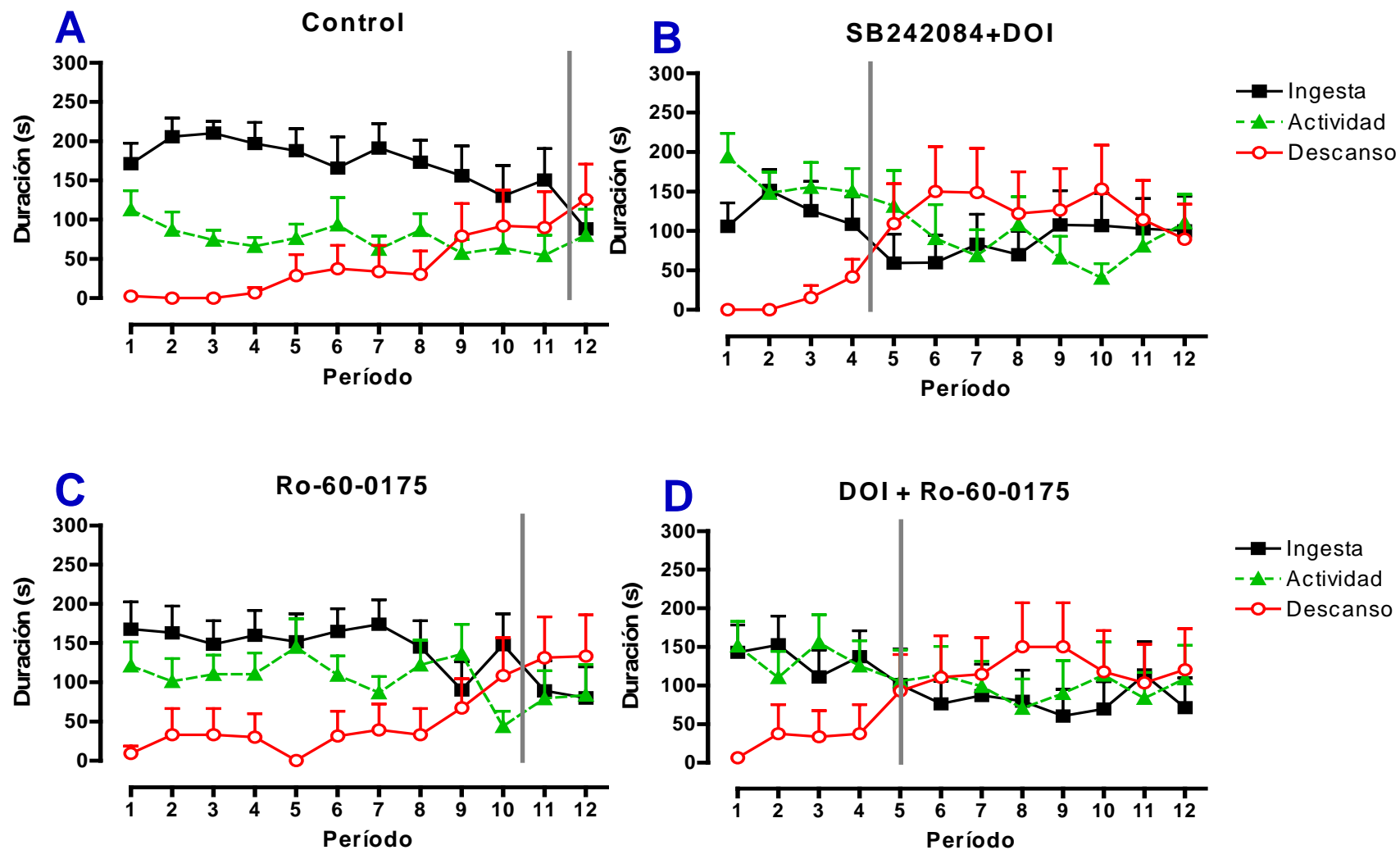


Figura 11. Media \pm ESM de los parámetros de la Secuencia de Sacidad Conductual al administrar los agonistas 5- H_{2A} y 5- HT_{2C} . La línea vertical indica el momento de la transición entre la conducta de ingesta y la conducta de descanso.

Discusión Experimento 3

En la presente investigación también se confirman hallazgos de investigaciones previas en donde se ha demostrado que los receptores 5-HT_{2A} tienen un papel fundamental en el control de la conducta alimentaria (De Vry & Schreiber, 2000, Hewitt, et al., 2002, Mancilla et al, 2006).

Aunque el grupo pretratado con SB242084 + DOI decrementó la ingesta de alimento debido a la estimulación de los receptores 5-HT_{2A}. La coadministración del DOI + Ro 600175 (DOI+Ro) provocó un efecto hipofágico mayor sobre la ingestión de carbohidratos. Estos datos son consistentes con reportes previos en los que se ha mostrado que los fármacos que facilitan la transmisión serotoninérgica disminuyen la ingestión de alimento (Klodzinska & Chojnacka-Wojcik, 1990; Kitchener & Dourish, 1994; Leibowitz, et al,1990; Leibowitz & Alexander, 1998), particularmente Lawton y Blundell (1993) reportaron la reducción de la ingesta de carbohidratos debida a la administración de DOI. Estos resultados también sugieren que la activación de ambos receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} es necesaria para obtener un efecto hipofágico mayor, estos resultados son consistentes con el reporte de que los agonistas no selectivos tienen un efecto anoréxico mayor al ser comparados con fármacos selectivos (Screiber et al, 2000).

En el presente experimento la coadministración de DOI + Ro 600175 produjo un efecto hipofágico mayor sobre la ingestión de carbohidratos; a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el análisis microestructural de la ingestión de carbohidratos, se observó una tendencia a disminuir la frecuencia y duración de los episodios alimenticios en el grupo DOI + Ro, estos datos sugieren una afectación del proceso de satisfacción. Kitchner y Dourish (1994) señalan que la administración de DOI (IP) solo causó la reducción significativa de la frecuencia de los episodios alimenticios en los primeros 5 minutos de observación, no encontrando diferencias en la frecuencia total a la hora. Aun cuando existen evidencias de que la administración del DOI directamente en el hipotálamo induce hipofagia los estudios conductuales no muestran un patrón específico que pueda explicar

dicho efecto, algunas investigaciones sugieren que el efecto hipofágico del DOI (agonista 5-HT_{2A/2C}), sobre los patrones conductuales es inespecífico (De Vry & Schreiber 2000; Schreiber Selbach et al, 2000). Por otro lado, Simansky (1996) señala que el DOI selectivamente reduce el tiempo de alimentación como consecuencia de la interrupción frecuente de la conducta alimentaria para ejecutar otras conductas. En la presente investigación se encontró la tendencia a disminuir la duración de los episodios alimentarios.

El análisis de la SSC indica que el grupo control desarrolló una progresión ordenada. En el caso del Ro 600175 (agonista 5-HT_{2C}), la ingesta de alimento disminuyó preservando el patrón de desarrollo normal de la SSC.

En el presente trabajo al administrar el pretratamiento con el antagonista selectivo 5-HT_{2C} SB242084 + DOI se observó que no hay un desarrollo normal de la SSC, estos resultados concuerdan con reportes en los que se señala que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} no produce el desarrollo clásico de la SSC, atribuyendo la hipofagia a la interrupción de la SSC por hiperactividad (Halford et al, 1998; Kitchner & Dourish, 1994; Simansky, 1996). Aunque en la ingesta de proteínas y grasas no mostró diferencias estadísticas significativas al administrar SB242084 + DOI el análisis estadístico señala un incremento significativo del tiempo entre episodios para estos nutrientes. Posiblemente este incremento sea un reflejo del aumento de la actividad. Es decir el tiempo entre un episodio y otro es mayor al presentarse otras conductas no relacionadas con la alimentación.

Aunque la conducta de actividad fue elevada en el grupo al que se le coadministró DOI + Ro 600175 el desarrollo de la SSC parece conservar el patrón normal y se observa la aceleración del proceso de saciedad. Como ya se mencionó, en general se piensa que el efecto hipofágico inducido por la administración de fármacos serotoninérgicos acelera el proceso de saciedad. Algunos investigadores han sugerido que los fármacos que liberan la 5-HT como la fenfluramina y los que estimulan los receptores 5-HT_{2C} y/o 5-HT_{1B} específicamente incrementan la saciedad en ratas (Clifton, Barnfield & Curzon, 1993; Halford, Wanninayake & Blundell, 1998; Kitchner & Dourish, 1994;

Samanin & Grignashi, 1996; Simansky & Vaidya, 1990). En tanto que la hipofagia debida a la estimulación del receptor 5-HT_{2A} parece estar más relacionada con la interrupción de la SSC (Halford et al, 1998; Kitchner & Dourish, 1994; Simansky, 1996). Por otro lado, se sugiere que aunque ambos receptores están involucrados en el control de la conducta alimentaria cada uno de ellos regula una función diferente. Los receptores 5-HT_{2C} contribuyen en el control de la cantidad de alimento ingerido en tanto que los receptores 5-HT_{2A} regulan aspectos sensoriales (olfato) de la conducta alimentaria (Huang & Storlien, 2004). La ingesta de proteínas y grasas no mostró diferencias estadísticas significativas al coadministrar DOI + Ro 600175, pero el análisis estadístico del análisis microestructural indicó un incremento significativo del tiempo entre episodios para estos nutrientes, sugiriendo la afectación del estado de saciedad. El tiempo entre un episodio y otro es mayor al presentarse otras conductas no relacionadas con la alimentación.

Los resultados de la presente investigación permiten sugerir que la expresión de la hipofagia requiere de la participación de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} del núcleo paraventricular hipotalámico. La hipofagia inducida por la estimulación del receptor 5-HT_{2A} se debió principalmente a la interrupción de la SSC por hiperactividad. La coadministración de DOI + Ro (agonistas 5-HT_{2A/2C}) provocó un efecto hipofágico mayor y disminuyó la hiperactividad inducida por la estimulación del receptor 5-HT_{2A}. Estos datos sugieren que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} son necesarios para producir un efecto hipofágico completo, los cuales controlan diferentes aspectos cualitativos de la conducta alimentaria como lo muestra la SSC.

Discusión General

Sobre la Ingesta de Alimento

Estudios previos han demostrado que la actividad de la serotonina en NPVH está relacionada con el control de la conducta de alimentación y el peso corporal (Leibowitz, Alexander, Cheung & Weiss, 1993; Leibowitz & Alexander, 1998). Los estudios en roedores indican que bajas dosis de 5-HT o de fármacos que incrementan la liberación de la 5-HT inhiben de forma preferencial la ingesta de carbohidratos más que la de grasas o proteínas (Wurtman & Wurtman, 1977, 1979 a, 1979b). Este fenómeno es mediado en parte por receptores 5-HT localizados en varios núcleos del hipotálamo medio. Leibowitz y Alexander (1998) reportaron que la administración de 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico provoca un decremento selectivo de la ingestión de carbohidratos principalmente al inicio del período natural de alimentación (al inicio del periodo de oscuridad). En la presente investigación se observó un efecto sinérgico en la hipofagia inducida en la ingestión de carbohidratos al coadministrar en el NPVH los agonistas 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} (8OHDPAT+Ro600175), los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} (CP 93129+Ro 600175) y los agonistas 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} (DOI+Ro 600175). Estos datos sugieren que para obtener un efecto hipofágico completo se requiere de la activación de los pares de receptores 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} y/o 5-HT_{2A/2C} del NPVH.

El pretratamiento con el antagonista WAY 100635 (antagonista 5-HT_{1A}) previno el efecto hipofágico inducido por el 8-OHDPAT. Confirmando los resultados de investigaciones previas en las que se sugiere que el efecto hipofágico del 8-OHDPAT es mediado por receptores 5-HT_{1A} (De Vry, Schriber & Jentsch, 2003; Ebenezer, Velluci & Parrott, 2001). Adicionalmente se reporta que la activación de los autoreceptores 5-HT_{1A} disminuye la actividad 5-HT y tiene un efecto antiserotoninérgico pero la activación postsináptica de los receptores 5-HT_{1A} puede promover el efecto serotoninérgico (Carey, De Palma, Damianopoulos, Müller & Huston, 2004). La activación de los receptores 5-HT_{1A} del NPVH por agonistas como el 8-OHDPAT induce el incremento de la secreción de las hormonas oxitocina, corticotropina y

adrenocorticotropina vía proteínas G_z insensibles a tóxina pertussis (Serres, et al 2000; Zhang et al, 2004). Los hallazgos de estas investigaciones permiten sugerir que el efecto hipofágico observado en la presente investigación posiblemente está mediado al menos en parte por receptores 5-HT_{1A} postsinápticos y la consecuente liberación de la hormona corticotropina.

En el caso del pretratamiento con el antagonista SB 224289 (antagonista 5-HT_{1B}), previno la reducción de la ingestión de carbohidratos inducida por el CP93129. Estos resultados son consistentes con los estudios en los que se ha reportado que el receptor subtipo 5-HT_{1B} está involucrado en el control de la conducta alimentaria (Lee, et al, 2002, Mancilla et al, 2005; Schreiber et al, 2002). Se ha demostrado que la activación del receptor 5-HT_{1B} inhibe la ingesta de alimento. La activación presináptica de los receptores 5-HT_{1B} reduce la liberación de 5-HT a nivel vesicular, postsinápticamente los heteroreceptores 5-HT_{1B} influyen en la liberación de otros neurotransmisores como GABA, glutamato, acetilcolina y noradrenalina (Bouwknicht et al, 2001). El NPVH recibe aferencias locales Gabaérgicas (inhibitorias) y glutamatérgicas (excitatorias) de varias áreas intrahipotalámicas como es el núcleo supraquiasmático y el núcleo arqueado. Recientemente Ho, Chow y Yung (2007), demostraron que la activación presináptica del receptor 5-HT_{1B} inhibe la transmisión GABAérgica en el NPVH. Es posible que la fuente de este efecto inhibitorio sea el núcleo arqueado, el cual se sabe produce neuropéptido Y, estimulador de la ingesta. Adicionalmente hay un incremento de la vasopresina y de la oxitocina las cuales se sabe producen hipofagia en ratas. Los hallazgos de estas investigaciones permiten sugerir que el efecto hipofágico observado en la presente investigación en parte es mediado por receptores 5-HT_{1B} postsinápticos.

Respecto a la hipofagia inducida por el DOI (agonista 5-HT_{2A/2C}), la administración de los antagonistas SB242084 (antagonista selectivo 5-HT_{2C}) y Ketanserina (antagonista selectivo 5-HT_{2A}), solo previnieron en parte la reducción de la ingesta de carbohidratos. Investigaciones en las que se ha reportado el uso de pretratamientos con antagonistas 5-HT_{2A} altamente selectivos fallan para bloquear completamente el efecto hipofágico del DOI.

Sugiriendo que este efecto posiblemente puede también estar mediado en parte por receptores 5-HT_{2B} (Schreiber, Selbach, Asmussen, Hesse & De Vry, 2000), por otro lado la literatura también reporta que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} del NPVH incrementa la liberación de corticotropina, la cual se sabe reduce la cantidad de alimento ingerido (Grignaschi, Sironi & Samanin 1996). Zhang et al. (2002), reportaron que la administración de DOI en el NPVH incrementó los niveles en plasma de oxitocina, prolactina, corticotropina, corticosterona y renina. Además con técnicas de inmunohistoquímica localizaron en el NPVH receptores 5-HT_{2A} sobre células de oxitocina y del factor liberador corticotropina. Los datos de estas investigaciones permiten sugerir que el efecto hipofágico observado en la presente investigación posiblemente está mediado al menos en parte por receptores 5-HT_{2A} y la consecuente liberación de la hormona corticotropina.

La administración de Ro-600175 redujo la ingesta de alimento al ser administrado en el NPVH, confirmando resultados de investigaciones previas en las que se demuestra que la estimulación de los receptores 5-HT_{2C} son necesarios para inducir hipofagia (Dunlop et al, 2005; Grottick, Fletcher & Higgins, 2000; Hikiji, Inoue, Iwasaki, Ichihara & Kiriike, 2004,). Damjanoska et al (2003) reportan que el Ro 600175 estimula la liberación de corticotropina, corticosterona, oxitocina y prolactina por mecanismos independientes a la activación de receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. Sugieren que el incremento de la liberación de hormonas al administrar el Ro 600175 posiblemente esté mediado por receptores adrenérgicos o histaminérgicos. Recientemente Heisler et al (2007), demostraron utilizando una técnica de marcaje neurohistoquímico que la mitad de las neuronas que expresan la hormona liberadora de corticotropina coexpresan el mRNA de receptores 5-HT_{2C}. Las neuronas de la hormona liberadora de corticotropina consistentemente se despolarizan en presencia de agonistas altamente selectivos 5-HT_{2C}, efecto que es bloqueado por antagonistas 5-HT_{2C}.

Son pocas las investigaciones, que por el momento están tratando de dar explicación al mecanismo de acción, a través del cual están actuando dos receptores. Particularmente estos trabajos se han enfocado al par de

receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}. Aunque se sabe poco acerca de la manera en que estos receptores interactúan se han planteado dos posibles hipótesis. Algunos investigadores piensan que la hipofagia inducida por la activación de estos receptores es mediada por mecanismos separados (Dalton et al., 2006), en tanto que algunos otros han sugerido la existencia de vías comunes (Kennett & Curzon, 1988). Acordemente se ha reportado que es necesario activar concurrentemente a ambos subtipos de receptores para obtener un efecto hipofágico completo (Schreiber & De Vry, 2000) arguyendo que cada receptor actúa sobre parámetros conductuales diferentes, la estimulación de los receptores 5-HT_{2C} afecta la tasa local de alimentación en tanto que los receptores 5-HT_{1B} influyen sobre el tamaño del intervalo (duración). Aunque los datos obtenidos a través de este trabajo no permiten ser concluyentes respecto a si el mecanismo de acción es a través de vías comunes o independientes. Permiten sugerir que la administración de los agonistas 8-OHDPAT, CP 93129, Ro 600175 y DOI son capaces de inducir hipofagia por si mismos al activar respectivamente a los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos, 5-HT_{1B} postsinápticos, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, los cuales desencadenan una respuesta a través de una vía de señalización específica.

Los receptores pertenecientes a la familia 5-HT₁ están acoplados principalmente vía proteínas Gi/o a la inhibición de la adenilato ciclasa (ver Figura12), y a la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPC), en tanto que los receptores pertenecientes a la familia 5-HT₂ están acoplados positivamente a una proteína Gq/11 para incrementar la hidrólisis de fosfato de inositol (Hoyer, et al., 2002). Por lo tanto, esto lleva a sugerir que el efecto sinérgico observado en la presente investigación sobre la hipofagia al coadministrar dos fármacos parece al menos inicialmente deberse a la activación independiente de dos vías de señalización ya que cada fármaco está activando una vía diferente.

Los resultados de la presente investigación sugieren que el sinergismo sobre el efecto hipofágico al activar a un par de receptores 5-HT es más complicado de lo que plantea la hipótesis anterior. Ya que la estimulación del

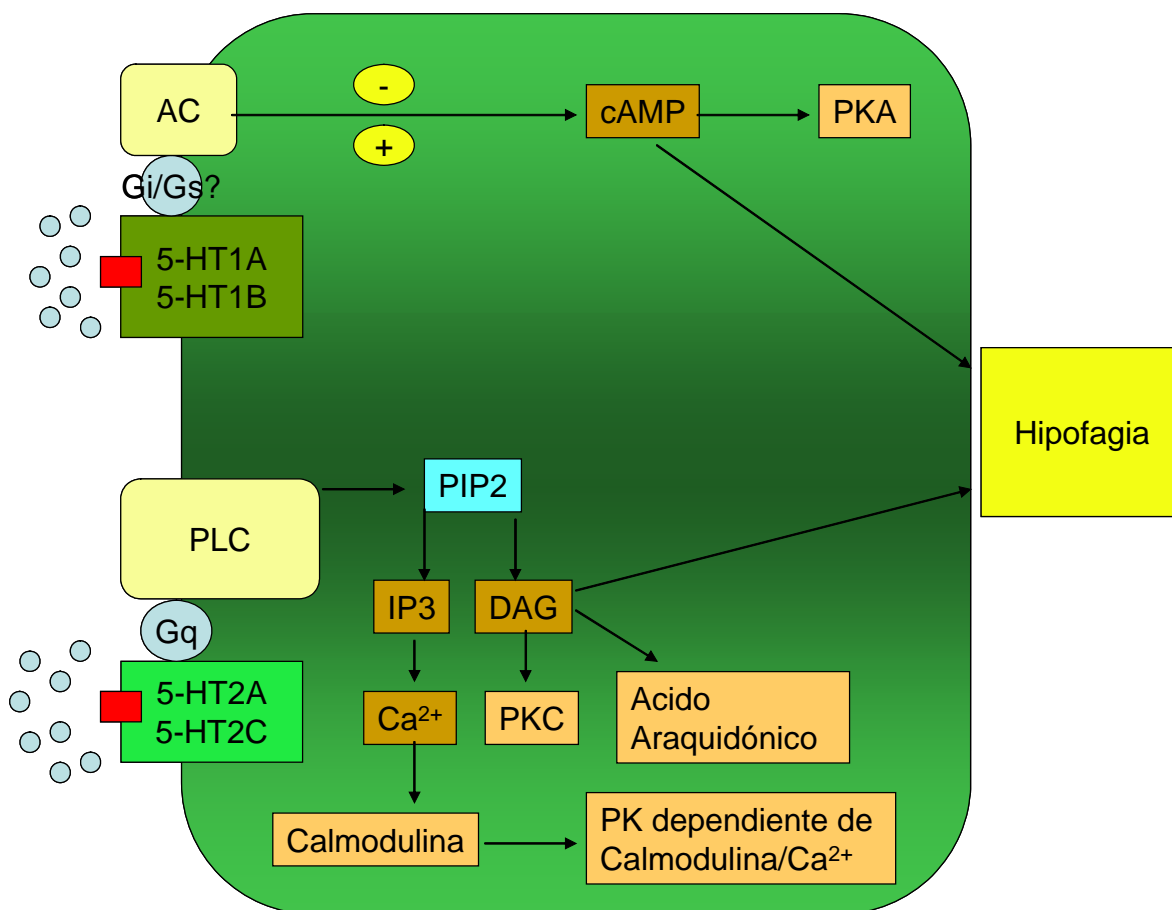


Figura 12. Representación esquemática de las vías de señalización que se activan al coadministrar los fármacos agonistas pertenecientes a las familias 5-HT₁ y 5-HT₂. La coadministración de los agonistas puede inducir un efecto sinérgico sobre la hipofagia.

sistema serotoninérgico desencadena un circuito complejo que incluye la activación e inhibición de otros sistemas de neurotransmisores que convergen en el NPVH y posiblemente también la activación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenales (HPA). En la Figura 13 se plantea un modelo hipotético de este circuito al estimular el sistema serotoninérgico con agonistas 5-HT. La literatura sugiere la existencia de una interacción mutua entre los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico del NPVH (Weidenfeld, Feldman, Itzik, Van de Kar & Newman, 2002). Particularmente Leibowitz y Alexander (1998) señalan que la 5-HT puede actuar antagonicamente sobre la NE a través de los receptores α_2 -noradrenérgicos. Tanto la administración de serotonina como NE estimulan la liberación de CRH (hormona liberadora de corticotropina) en el

hipotálamo (Feldman, Newman & Weidenfeld, 2000; Leibowitz & Shor-Posner, 1986).

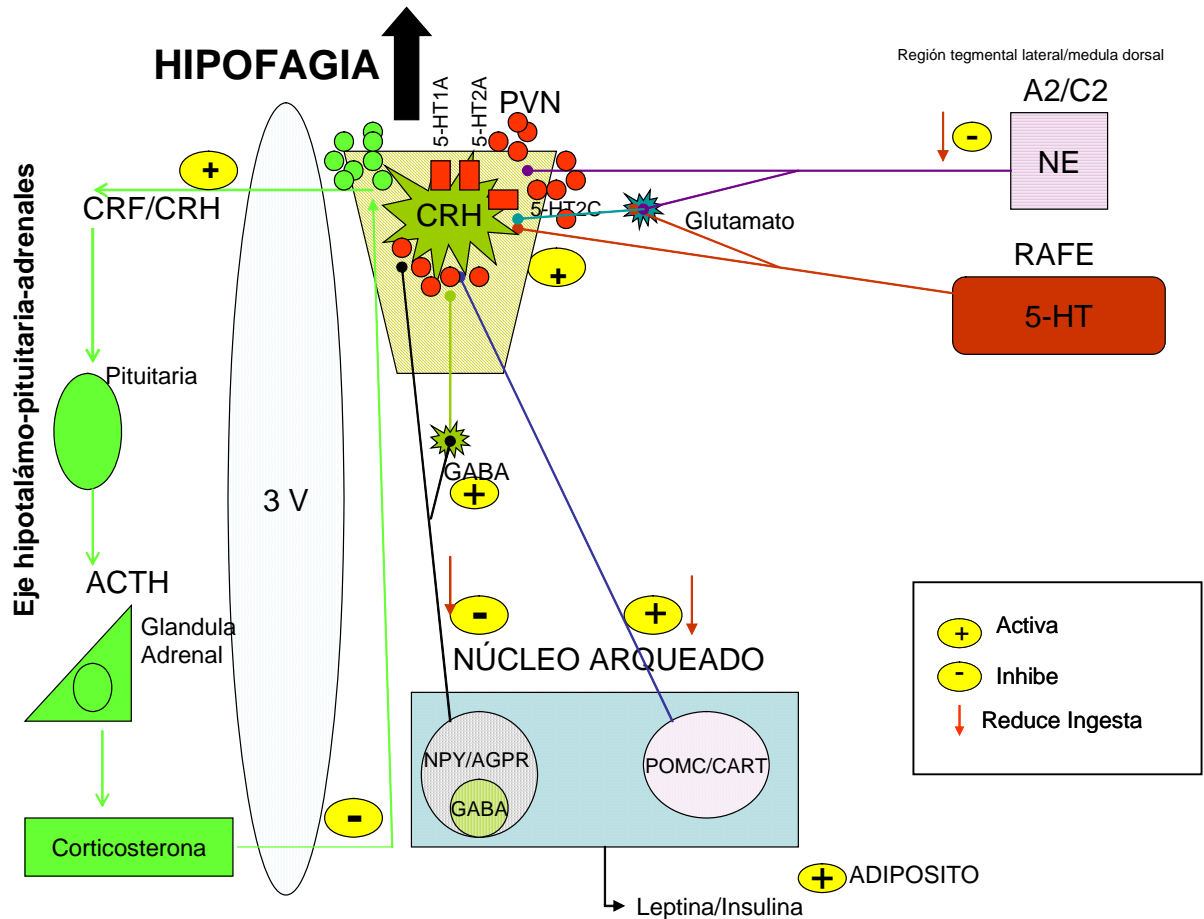


Figura 13 Modelo hipotético que muestra las vías que convergen en el Núcleo Paraventricular Hipotalámico y la acción que ejerce sobre ellas la administración de agonistas serotoninérgicos.

Adicionalmente Weidenfeld et al. (2002) sugieren que el efecto de la NE y 5-HT sobre las neuronas CRH pueden incluir la mediación de efectos excitatorios glutamatérgicos e inhibitorios gabaérgicos. El NPVH es el sitio de integración de otras vías provenientes del núcleo arqueado que han sido relacionadas con el control de la alimentación como son la NPY/AGPR y la POMC/CART. Las evidencias indican que los sistemas hipotalámicos NPYérgicos y 5-HTérgicos interactúan en forma antagonista en el control de la

conducta alimentaria. Los niveles de NPY se reducen al administrar agonistas 5-HT e incrementan al administrar antagonistas 5-HT en el NPVH (Currie et al., 2002; Currie, 2003). En otros reportes se indica que la administración de NPY en el NPVH estimula la liberación de corticosterona y que sus efectos son facilitados por neuronas locales GABA que simultáneamente reducen el disparo de las neuronas POMC en el núcleo arqueado (Leibowitz & Wortley, 2004; Wang et al., 1998). También está documentada la interacción de los sistemas 5-HTérgicos y POMC/CART, la administración de agentes serotoninérgicos como la d-fenfluramina y el m-CPP incrementan la expresión del sistema POMC/CART en el hipotálamo (Heisler et al. 2003, Nonogaki, Ohashi-Nozue & Oka 2006).

Por otro lado, en el NPVH las terminales nerviosas 5-HT hacen contacto sináptico con neuronas que contienen el factor liberador de corticotropina (Hemrick-Luecke & Evans 2002; Raap & Van de Kar, 1999; Serres et al, 2000). El NPVH es la fuente principal de la hormona corticotropina la cual regula la liberación de adrenocorticotropina, corticosterona y/o cortisol en el humano (Bagdy, 1996). La administración del factor liberador de corticotropina induce hipofagia cuando es administrado en el NPVH pero no en otras áreas que se sabe están relacionadas con la alimentación y es capaz de bloquear el efecto hiperfágico inducido por noradrenalina (Krahn, Gosnell, Levine & Morley, 1988). La inervación serotoninérgica y la expresión de receptores 5-HT en el NPVH indican que en parte este neurotransmisor puede mediar las respuestas neuroendocrinas. La administración sistémica de agonistas 5-HT_{2A/2C} como la quipazina, m-CPP y DOI dependientemente incrementan la concentración de corticosterona en plasma (Hemrick-Luecke & Evans 2002). Zhang et al. (2002) con técnicas de inmunohistoquímica y radioinmunovaloración demostraron que la administración sistémica de DOI principalmente activa receptores 5-HT_{2A} en el NPVH e incrementa los niveles en plasma de oxitocina, adrenocorticotropina, corticosterona, prolactina y renina. Estos efectos fueron bloqueados con el antagonista 5-HT_{2A} MDL100,907 administrado en el NPVH 15 minutos antes del DOI. Treinta minutos después de administrar el DOI se recolectó la sangre del sujeto para obtener el plasma y determinar la concentración de hormonas.

En estudios recientes se demostró que las neuronas de CRH del NPVH co-expresan receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} (Zhang et al., 2004; Heisler, et al., 2007). Estos hallazgos sugieren que hay una interacción recíproca entre el sistema serotoninérgico y el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA).

Sobre el Análisis Conductual

La hipofagia inducida por la co-administración 8OHDPAT+Ro 600175 conductualmente se explica por el incremento del tiempo para iniciar la ingesta de carbohidratos y una duración menor de los episodios, estos datos sugieren la afectación del estado de saciedad y del proceso de satisfacción. El patrón que siguió la SSC indica que la ingesta de alimento termina tempranamente debido a la interrupción de la secuencia por hiperactividad. En el caso del grupo al que se coadministró el CP-93129+Ro 600175 el patrón conductual del análisis microestructural se caracterizó por un decremento de la duración de los episodios de carbohidratos (afectación del proceso de satisfacción), el incremento del tiempo entre episodios alimentarios de proteínas y grasas (afectación del estado de saciedad), e incremento de la conducta de descanso. La hipofagia inducida por el DOI+Ro 600175 no mostró un patrón conductual específico en el análisis microestructural para la ingestión de carbohidratos. Pero el tiempo entre episodios alimentarios para proteínas y grasas se incrementó sugiriendo la afectación del estado de saciedad. El análisis de la SSC fue más sensible para detectar cambios en la estructura de la conducta alimentaria al estimular al receptor 5-HT_{2A}. La activación del receptor 5-HT_{2A} indujo hipofagia debido a la interrupción de la SSC. La hipofagia debida a la co-administración del DOI+Ro 600175 desarrolló una SSC normal. Estos datos sugieren que aunque los tres tratamientos inducen hipofagia el mecanismo de acción es diferente. Por lo tanto cuando se prescribe en la clínica un tratamiento farmacológico es necesario considerar que los fármacos utilizados para inducir anorexia pueden clasificarse en los que preservan la secuencia de saciedad y los que la interrumpen (Halford, Lawton & Blundell, 1997). La SSC parece estar fuertemente relacionada con el proceso de satisfacción (terminación del intervalo de alimentación) y el desarrollo de la saciedad (inhibición postingestiva de alimento) (Blundell, 1984; Gao & et al., 1998;

Halford & et al. 1998; Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999). Schreiber et al. (2001) sugieren que los receptores 5-HT_{1B} posiblemente están involucrados en la regulación de la duración de los episodios alimenticios en tanto que los receptores 5-HT_{2C} parecen estar controlando la tasa local de alimentación y la duración de los episodios alimentarios. Los datos de la presente investigación sugieren que el sinergismo sobre el efecto anoréxico al estimular a dos receptores serotoninérgicos se explica al considerar que cada subtipo de receptor afecta diferencialmente pero a su vez cada uno complementa el desarrollo de la saciedad.

El análisis de la SSC reveló que la administración de los agonistas 5-HT provocó la tendencia a elevar la conducta de actividad en todos los experimentos pero no en todos los casos este incremento ocasionó la interrupción del patrón normal de la SSC. Estos resultados son consistentes con investigaciones previas en donde se reportó que agonistas 5-HT como el Ro 600175, la RU24969, el CP 94253 y el DOI producen un aumento de la actividad sin interrumpir el desarrollo de la SSC (Halford & Blundell, 1996; Halford et al., 1998; Higgins & Fletcher, 2003; Kitchner & Dourish, 1994; Lee & Simansky, 1997). Particularmente se sugiere que la administración de agonistas 5-HT_{1A} puede activar o inhibir la actividad locomotora dependiendo de las condiciones ambientales bajo las cuales se esté realizando la investigación; en espacios grandes y/o bajo condiciones novedosas la actividad locomotora se inhibe y en espacios pequeños y/o condiciones familiares la actividad se incrementa (Müller, Carey, Huston & De Souza, 2007). En el caso del m-CPP (agonista 5-HT_{2A/2C}) hay reportes de que no incrementa la locomoción pero incrementa la actividad motora no ambulatoria como por ejemplo conductas de vigilancia alrededor del entorno ambiental, movimientos de cabeza asociados con husmear, cambios de posición corporal y acicalamiento (Abrams, Jonson, Hay-Schmidt, Mikkelsen, Sherkar & Lowry, 2005). Por otro lado Dalton et al (2004), señalan que la hiperactividad inducida por el m-CPP en ratones mutantes 5-HT_{2C} o en ratones “*wildtype*” pretratados con un antagonista 5-HT_{2C} se atribuye a la activación de los receptores 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}, adicionalmente sugieren que la co-estimulación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} también inducen hiperlocomoción, estos efectos

son dependientes de la densidad de receptores funcionales 5-HT_{2C}. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la presente investigación, la administración de los agonistas 5-HT en el NPVH indujeron el incremento de la actividad sin embargo es necesario esclarecer si el incremento de la actividad se debe al incremento de la conducta locomotora o a conductas no motoras como acicalarse, rascarse etc. Algunos investigadores sugieren que el aumento de la actividad motora no ambulatoria puede ser reflejo del incremento en el estado de ansiedad, complementariamente los reportes señalan que el sistema serotoninérgico juega un rol importante en la modulación de las respuestas conductuales y fisiológicas relacionadas con la ansiedad (Abrams et al., 2005; Fone & Topham, 2002; Lowry & Moore, 2006). Por lo tanto, el incremento de la actividad al estimular a los receptores 5-HT del NPVH en la presente investigación, posiblemente esté relacionado a efectos ansiogénicos inducidos por la administración de los agonistas 5-HT. Sin embargo no se puede omitir el hecho de que el sistema serotoninérgico interacciona con otros sistemas de neurotransmisores y facilita la activación del eje HPA al activar neuronas que expresan el factor liberador de corticotropina. En investigaciones previas se demuestra que la microinyección del factor liberador de la hormona corticotropina en el NPVH incrementa la conducta de acicalamiento y conductas locomotoras en ambientes familiares (Krahn, Gosnell, Levine & Morley, 1988; Mönnikes, Heymann-Mönnikes & Taché, 1992). De tal forma que el incremento de la actividad, no solo es mediado por el sistema serotoninérgico, sino que es controlado por un circuito complejo en el que otros sistemas de neurotransmisores también se están activando o inhibiendo, al administrar los agonistas 5-HT en el NPVH (ver figura 13). Estos resultados, pueden constituir una aportación importante para explicar la etiología del patrón reportado en estudios clínicos en humanos, que han asociado el exceso de actividad y ejercicio con desórdenes alimentarios como la anorexia (Kaye, 2008; Shroff et al., 2006).

La participación del sistema serotoninérgico en el control de la conducta alimentaria está ampliamente documentada, sin embargo la existencia de diferentes subtipos de receptores 5-HTérgicos requiere de la caracterización de cada uno de ellos para un mejor entendimiento de los mecanismos de acción

que se activan o se inhiben. Aunque el NPVH no es el único que participa en la regulación de la conducta alimentaria, sí es uno de los de mayor interés; ya que es un área integradora de varios sistemas de neurotransmisores y de factores neuroendocrinos que se sabe controlan la conducta alimentaria. Las características neuroquímicas y neuroanatómicas de este núcleo son motivo de investigación para poder elucidar el circuito específico que controla la conducta alimentaria. El funcionamiento anómalo del sistema serotoninérgico y/o del eje HPA se ha relacionado con la patofisiología de desórdenes afectivos, desórdenes de ansiedad y desórdenes alimentarios. El desbalance de la modulación de la 5-HT es el antecedente de los desordenes alimentarios, estados premorbidos de ansiedad, estados obsesivos y de rasgos de perfeccionismo en adolescentes. Algunos factores que se han relacionado con el inicio de la anorexia y bulimia nervosa son entre otros, los cambios gonadales relacionados con la edad en mujeres púberes; los cuales pueden también causar la desregulación del sistema 5-HT. Las presiones sociales, culturales y estresantes pueden también contribuir a la activación de este sistema. Los cambios en la dieta diaria pueden originar el incremento de la transmisión serotoninérgica, creando así un estado de vulnerabilidad. Por lo tanto, los datos de la presente investigación constituyen un aporte importante para el entendimiento de los mecanismos cerebrales y neuroendocrinos, que participan en la etiología de la anorexia nerviosa y del patrón conductual asociado a esta como es el exceso de actividad y ejercicio al incrementar la actividad 5-HT.

Conclusión

Los datos de la presente investigación son una evidencia más del control que ejerce la serotonina sobre la conducta alimentaria. La estimulación de los receptores 5-HT_{1A}, 1B, 2A y 2C bajo ciertas condiciones experimentales inducen hipofagia por si mismos, sin embargo la estimulación por pares de los receptores 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} y 5-HT_{2A/2C} produce un efecto sinérgico sobre la hipofagia. Apoyando fuertemente la hipótesis de que la activación de dos receptores es necesaria para producir un efecto hipofágico completo. Aunque la estimulación de estos receptores indujo hipofagia cada uno de ellos parece

actuar a través de mecanismos conductuales diferentes. Los receptores 5-HT_{1B} y 2C parecen desarrollar una SSC normal. En tanto que los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} inducen hipofagia al interrumpir el desarrollo de la SSC principalmente por hiperactividad. Estos datos sugieren una importante participación, de los receptores 5-HT_{1A/2C}, 5-HT_{1B/2C} y 5-HT_{2A/2C} en mecanismos conductuales específicos; regulando la ingestión y duración de los episodios alimentarios (proceso de satisfacción) e inhibiendo la ingestión voluntaria de carbohidratos. Los resultados de la presente investigación constituyen una aportación importante para el entendimiento de la etiología de algunos trastornos alimentarios como la anorexia nervosa.

Referencias

- Abrams, J.K., Johnson, P.L., Schmidt, A.H., Mikkelsen, J.D., Shekar, A. & Lowry, A. (2005). Serotonergic systems associated with arousal and vigilance behaviors following administration of anxiogenic drugs. *Neuroscience*, 133, 983-997.
- Ahima, R. & Osei S.Y. (2001). Molecular regulation of eating behavior: new insights and prospects for therapeutic strategies. *TRENDS in Molecular Medicine*, 7(5), 205-213.
- Albert, P. & Tiberi, M. (2001). Receptor signaling and structure: insights from serotonin-1 receptors. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism*, 12(10), 453-460.
- Aulakh, C.S., Mazzola-Pomietto, P., Hulihan-Giblin, B.A. & Murphy, D.L. (1995). Lack of cross-tolerance for hypophagia induced by DOI versus m-CPP suggests separate mediation by 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors, respectively. *Neuropsychopharmacology*, 13, 1-8.
- Badiani, A., Leone, P., Noel, M.B. & Stewart, J. (1995). Ventral tegmental area opioid mechanisms and modulation of ingestive behavior. *Brain Research*, 670, 264-276.
- Bagdy, G. (1996). 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, 277-280.
- Bakshi, P.V. & Kelley, A.E. (1993). Feeding induced by opioid stimulation of the ventral striatum: role of opiate receptor subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265(3), 1253-1260.
- Barnes, N.M. & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38, 1083-1152.
- Bayliss, D., Li, Y. & Talley, E. (1997). Effects of serotonin on caudal raphe neurons: activation of an inwardly rectifying potassium conductance. *Journal of Neurophysiology*, 77, 1349-1361.
- Bellinger, L.L. & Bernardis, L.L. (2002). The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: Lessons learned from lesioning studies. *Physiology and Behavior*, 76, 431-442.

- Berg, K. & Clark, W. (2001). Regulation of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor system by phospholipid signaling cascades. *Brain Research Bulletin*, 56, 471-477.
- Berg, K., Clarke, W., Chen, Y., Ebersole, B., McKay, R. & Maayani, S (1994). 5-Hydroxytryptamine type 2A receptors regulate cyclic AMP accumulation in a neuronal cell line by protein kinase C-dependent and calcium/calmodulin-dependent mechanisms. *Molecular Pharmacology*, 45, 826-836.
- Berg, K., Crooper, J., Niswender, C., Sanders-Bush, E., Emeson, R. & Clarke, W. (2001). RNA-editing of the 5-HT_{2C} receptor alters agonists-receptor-effect coupling specificity. *British Journal of Pharmacology*, 134, 386-392.
- Berg, K., Maayani, S. & Clarke, W (1998b). Interactions between effectors linked to serotonin receptors. *Annals of the New York Academy of Science*, 861(1), 111-120.
- Berg, K., Maayani, S., Golfarb, J. & Clarke, W (1998a). Pleiotropic behavior of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor agonists. *Annals of the New York Academy of Science*, 861(1), 104-110.
- Berridge, M. (2005). Unlocking the secrets of cell signaling. *Annual Review of Physiology*, 67, 1-21.
- Blundell, J. E. & Latham, C. J. (1978). Pharmacological manipulations of feeding behaviour: possible influences of serotonin and dopamine on food intake. En: S. Gararrini & R. Samanin (Eds.), *Central Mechanisms of Anorectic Drugs* (pp. 83-109). Nueva York, NY, EE.UU.: Raven Press.
- Blundell, J. E. & Latham, C. J. (1979). Pharmacology of food and water intake. In S. Cooper & K. Brown (Eds.), *Chemical Influences on Behavior* (pp. 201-254). Londres, Inglaterra: Academic Press.
- Blundell, J. E. & Latham, C. J. (1980). Characterisation of adjustments to the structure of feeding behaviour following pharmacological treatment: Effects of amphetamine and fenfluramine and the antagonism produced by pimozide and metergoline. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 12, 717-722.
- Blundell, J. E. & McArthur, R.A. (1981). Behavioral flux and feeding: Continuous monitoring of food intake and food selection, and the video recording of

- appetitive and satiety sequences for the analysis of drug action. En: R. Samanin & S. Garattini E. (Eds.), *Anorectic Agents: Mechanism of action and tolerance* (pp. 19-43.). Nueva York, NY, EE.UU.: Raven Press.
- Blundell, J. E. (1979). Serotonin and feeding. In W.B Essman (Ed). *Serotonin in Health and Disease Clinical applications* (pp 403-450). Nueva York, NY, EE.UU.: Spectrum.
- Blundell, J. E. (1981). Bio-grammar of feeding: Pharmacological manipulations and their interpretation. En: S.J. Cooper (Ed.), *Theory in Psychopharmacology* (pp. 233-276). Londres, Inglaterra: Academic Press.
- Blundell, J. E. (1984). Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*, 23 (128), 1537-1551.
- Blundell, J. E., Latham, C. J., Leshem, M.B. (1976). Differences between the anorexic actions of amphetamine and fenfluramine possible effects on hunger and satiety. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 28, 471-477.
- Blundell, J.E. & Hill, A.J. (1986). Behavioural pharmacology of feeding relevance of animals experiments for studies in man: En O. Carruba & Blundell, J.E. (Eds.), *Pharmacology of Eating Disorders: Theoretical and Clinical Development*. (pp. 51-70). Nueva York, NY, EE.UU.: Raven Press.
- Bouwknicht, J. A, van der Gugten, J., Hijzen, T.H., Maesb, R.A., Henc, R., Olivier, B. (2001). Male and female 5-HT_{1B} receptor knockout mice have higher body weights than wildtypes. *Physiology and Behavior*, 74, 507–516.
- Burton, M.J., Cooper, S.J. & Popplewell, D.A. (1981). The effects of fenfluramine on the microstructure of feeding and drinking in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 72, 621-633.
- Brobeck, J.R. (1948) Food intake as a mechanism of temperature regulation. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 20, 545-552.
- Cadogan, A., Kendall, D. & Marsden, C. (1994). Serotonin 5-HT_{1A} receptors activation increases cyclic AMP formation in the rat hippocampus in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 62(5), 1816-1820.

- Cardenas, C., Mar, L. & Scroggs, R. (1997). Two parallel signaling pathways couple 5-HT_{1A} receptors to N- and L-type calcium channels in C-like rat dorsal root ganglion cells. *Journal of Neurophysiology*, *77*, 3284-3296.
- Carey, R.J., De Palma, G., Damianopoulos, E., Müller, C.P. & Huston, J.P. (2004). The 5-HT_{1A} receptor and behavioral stimulation in the rat: effects of 8-OHDPAT on spontaneous and cocaine-induced behavior. *Psychopharmacology*, *177*, 46-54.
- Carlini, V.P., Varas, M.M., Cragnolini, A.B., Schiöt, H.B., Scimonelli, T.N. & Barioglio, S.R. (2004). Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *313*, 635-641.
- Carrasco, G., Barker, S., Zhang, Y., Damjanoska, K., Sullivan, N., García, F., Souza, D., Muma, N. & Van de Kar, L. (2004). Estrogen treatment increases the levels of regulator of G protein signaling-Z1 in the hypothalamic paraventricular nucleus: possible role in desensitization of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors. *Neuroscience*, *127*, 261-267.
- Chen, J., Shen, C. & Meller, E. (2002). 5-HT_{1A} receptor-mediated regulation of mitogen-activated protein kinase phosphorylation in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, *452*, 155-162.
- Chenu, F., Dailly, E., & Bourin, M. (2005). 5-HT_{1B} receptor: A target for antidepressant drugs? *Drug Development Research*, *65*, 141-146.
- Clifton, P. G., Barnfield, A. M., Curzon, G. (1993). Effects of m-CPP on the ingestive behaviour of male and female rats: a microstructural analysis. *Journal of Psychopharmacology*, *7*, 257-264.
- Clifton, P.G. (2000). Meal patterning in rodents: psychopharmacological and neuroanatomical studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *24*, 213-222.
- Clifton, P.G., Barnfield, A.M.C., Philcox L.A. (1989). A behavioural profile of fluoxetine-induced anorexia. *Psychopharmacology*, *97*, 89-95.
- 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*, *152*, 256-267.

- Cooper, J.R., Bloom, F.E., & Roth, R.H. (1996). *The Biochemical Basis of Neuropsychopharmacology*, (7a. ed.). Nueva York, NY, EE.UU.: Oxford University Press.
- Cooper, S.J. & Francis, L.R. (1980). Interactions of clordiazepoxide and anorectic agents on rate and duration parameters of feeding in the rat. *Psychopharmacology*, *19*, 997-1003.
- Crane, J.W., Shimizu, K., Carrasco, G.A., García, F., Jia, C., Sullivan, N.R., D'Souza, D., Zhang, Y., Van de Kar, L., Muma, N. & Battaglia, G. (2007). 5-HT_{1A} receptors mediate (+)8-OH-DPAT-stimulation of extracellular signal-regulated kinase (MAP kinase) in vivo in rat hypothalamus: Time dependence and regional differences. *Brain Research*, *1183*, 51-59.
- Currie, P.J. (1993). Differential effects of NE, CLON and 5-HT on feeding and macronutrient selection in genetically obese (ob/ob) and lean mice. *Brain Research Bulletin*, *32*(2), 133-142.
- Currie, P.J. (2003). Integration of hypothalamic feeding and metabolic signals: focus on neuropeptide Y. *Appetite*, *41*, 335–337.
- Currie, P.J., Braver, M., Mirza, A. & Sricharoon, K. (2004). Sex differences in the reversal of fluoxetine-induced anorexia following raphe injections of 8-OH-DPAT. *Psychopharmacology*, *172*, 359-364.
- 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 and Behavior*, *71*, 709–716.
- Currie, P.J., Coscina, D.V. & Fletcher, P.J. (1998). Reversal fenfluramine and fluoxetine anorexia by 8-OH-DPAT is attenuated following raphe injections of 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Research*, *800*(1), 62-68.
- Da Silva, R., Tomazoni, S., Hackl, L., Spilere C., Serralvo, M., Marino-Neto, J. & Paschoalini, M. (2004). Ingestive behaviors and metabolic fuels alter central injections of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1D/1B} receptors agonists in the pigeon. *Brain Research*, *1026*, 275-283.
- Dalton, G.L., Lee, M.D., Kennett, G.A., Dourish, C.T. & Clifton, P.G. (2004). mCPP-induced hyperactivity in 5-HT_{2C} receptor mutant mice is mediated by activation of multiple 5-HT receptor subtypes. *Neuropharmacology*, *46*, 663–671.

- Dalton, G.L., Lee, M.D., Kennett, G.A., Dourish, C.T. & Clifton, P.G. (2006) Serotonin 1B and 2C receptor interactions in the modulation of feeding behaviour in the mouse. *Psychopharmacology*, 185, 45-57.
- Damjanoska, K.J., Muma, N.A., Zhang, Y., D'Souza D.N., García, F., Carrasco, G.A., Kindel, G.H., Haskins, K.A., Shankaran, M., Petersen, B.R. & Van de Kar. (2003) Neuroendocrine evidence that (S)-2-(Chloro-5-fluoro-indol-L-YI)-1-methylethylamine fumarate (Ro 60-0175) is not a selective 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor agonist. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 304(3), 1209-1216.
- De Vry, J. & Scriber, R. (2000). Effects of selected serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonists on feeding behavior: possible mechanisms of action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 341-353.
- De Vry, J. & Scriber, R., Daschke, A. & Jentsch K.R. (2003). Effects of serotonin 5-HT receptor agonists in a limited-access operant 1/2 food intake paradigm in the rat. *European Neuropsychopharmacology*, 13, 337-345.
- De Vry, J., Eckel, G., Kuhl, E. & Scriber, R. (2000). Effects of serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonist in a conditioned taste aversion paradigm in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 66(4), 797-802.
- Dourish, C.T., Hutson, P.H. & Curzon, G. (1985). Characteristics of feeding induced by serotonin agonist 8-hydroxy-2(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Research Bulletin*, 15, 377-384.
- Dunlop, J., Sabb, A.L., Mazandarani, H., Zhang, J., Kalgaonker, S., Shukhina, E., Sukoff, S., Vogel, R.L., Stack, G., Schechter, L., Harrison, B.L. & Rosenzweig-Lipson, S. (2005). WAY-163909 [(7bR,10aR)-1,2,3,4,8,9,10,10a-Octahydro-7bHcyclopenta [b][1,4] diazepino [6,7,1hi] indole], a novel 5-hydroxytryptamine 2C receptor-selective agonist with anorectic activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(2), 862-869.
- Ebenezer, I.S., Vellucci, S.V. & Parrott, R.F. (2001). The differential effects of intravenously administered 8-OH-DPAT on operant food intake in satiated and food-deprived pigs are mediated by central 5-HT_{1A} receptors. *Physiology and Behavior*, 73, 223-227.

- Elmqvist, J.K., Elias, C.F. & Saper, C.B. (1999). From lesions to leptin hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*, 22, 221-232.
- Escartín Pérez, R.E., López Alonso, V. & Mancilla Díaz, J.M. (1999). Sistemas opioides en la modulación de la conducta alimentaria. *Revista de Psicología del Valle de México*, 1, 35-46.
- Escobar, B.C. (1999). Hambre, saciedad y equilibrio energético. Teorías y procesos centrales. En: Escobar, B.C (Coord) *Fisiología de las conductas motivadas* (pp. III:1-III:32). México: Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.
- Feldman, J., Neverova, N. & Saywell, S.A. (2005). Modulation of hypoglossal motoneurons excitability by intracellular signal transduction cascades. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 147, 131-143.
- Feldman, R., Meyer, J. & Quenzer, L. (1996). *Principles of Neuropsychopharmacology*. (pp. 345-389). Massachusetts, EE.UU.: Sinauer Associates.
- Feldman, S., Newman, M. & Weidenfeld, J. (2000). Effects of adrenergic and serotonergic agonists in the amygdala on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Brain Research Bulletin*, 52(6), 531-536.
- Fletcher, P.J. & Paterson, A. I. (1989). A comparison of the effects of tryptamine and 5-Hydroxytryptamine on feeding following injection into the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 32, 907-911.
- Fone, K.C. & Topham, I.A. (2002). Alteration in 5-hydroxytryptamine agonist-induced behaviour following a corticosterone implant adult rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 71, 815-823.
- Gao, P., Harvey, M., Mook, G. & Zeigler P. (1998). A "pre-satiety sequence" in rats drinking sucrose solutions. *Physiology and Behavior*, 65(2), 355-359.
- Garnovskaya, M., Negibil, C., Arthur, J., Spurney, R. & Raymond, J. (1995). 5-Hydroxytryptamine_{2A} receptors expressed in rat renal mesangial cells inhibit cyclic AMP accumulation. *Molecular Pharmacology*, 48, 230-237.
- Gerhardt, C. & Heerikhuizen, H. (1997). Functional characteristics of heterology expressed 5-HT receptors. *European Journal of Pharmacology*, 334, 1-23.

- Giorgetti, M. & Tecott, L. (2004). Contributions of 5-HT_{2C} receptors to multiple actions of central serotonin systems. *European Journal of Pharmacology*, 488, 1-9.
- Greene, E., Houghton, O., Collinsworth, G., Garnovskaya, M., Nagai, T., Sajjad, T., Bheemanathini, V., Grewal, J., Paul, R. & Raymond, J. (2000). 5-HT_{2A} receptors stimulate mitogen-activated protein kinase via H₂O₂ generation in rat renal mesangial cells. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 278, F650-F658.
- Grignaschi, G., Sironi, F. & Samanin, R. (1996). Stimulation of 5-HT_{2A} receptors in the paraventricular hypothalamus attenuates neuropeptide Y-induced hyperphagia through activation of corticotrophin releasing factor. *Brain Research*, 708(1-2), 173-176.
- Grinker, J.A., Drewnowski, A., Enns, M. & Kissileff, H. (1980). Effects of amphetamine and fenfluramine on feeding patterns and activity of obese and Lean Zucker rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 12, 265-275.
- Grotewiel, M. & Sanders-Bush, E. (1999). Differences in agonist-independent activity of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors revealed by heterologous expression. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology*, 359, 21-27.
- Grottick, A.J., Fletcher, P.J., & Higgins, G. (2000). Studies to investigate the role of 5-HT_{2C} receptors on cocaine -and food- maintained behavior. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295(3), 1183-1191.
- Haldford, J.C.G. & Blundell, J.E. (1996). The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequences. *Physiology and Behaviour*, 60(3), 933-939.
- Haldford, J.C.G., 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 sequences. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 56(1), 41-46.
- Haldford, J.C.G., Wanninayake, C.D. & Blundell, J.E. (1998). Behavioral satiety sequences (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 61(2), 159-168.

- Hayashi, A., Suzuki, M., Sasamata, M. & Miyata, K. (2005). Agonist diversity in 5-HT_{2C} receptor-mediated weight control in rats. *Psychopharmacology*, *178*, 241–249.
- Hemrick-Luecke, S.K. & Evans D.C. (2002). Comparison of the potency of MDL 100,907 and SB 242084 in blocking the serotonin (5-HT)₂ receptor agonist induced increases in rat serum corticosterone concentrations: evidence for 5-HT_{2A} receptor mediation of the HPA axis. *Neuropharmacology*, *42*, 162–169.
- Hensler, J.G. (2003). Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Science*, *72*, 1665-1682.
- Heisler, L.K., Cowley, M.A., Kishi, T., Tecott, L.H., Fan, W., Low, M.J., Smart, J.L., Rubinstein, M., Tatro, J.B., Zigman, J., Cone, R.D. & Elmquist, J.K. (2003). Central serotonin and melacortin pathways regulating energy homeostasis. *Annals of New York Academy of Science*, *994*, 169-174.
- Heisler, L.K., Pronchuk, N., Nonogaki, K., Zhou, L., Raber, J., Tung, L., Yeo, G., O’Rahilly, S., Colmers, W.F., Elmquist, J.K. & Tecott, L. (2007). Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. *Journal of Neuroscience*, *27*(26), 6956-6964.
- 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 and Behavior*, *71*, 691-700.
- Higgins, G.A: & Fletcher, P.J. (2003). Serotonin and drug reward: focus on 5-HT_{2C} receptors. *European Journal of Pharmacology*, *480*, 151– 162.
- Hikiji, K., Inoue, K., Iwasaki, S., Ichihara, K. & Kiriike, N. (2004). Local perfusion of mCPP into ventromedial hypothalamic nucleus, but not into lateral hypothalamic area and frontal cortex, inhibits food intake in rats. *Psychopharmacology*, *174*, 190–196.
- Ho, S.S.N., Chow, B.K.C. & Yung, W-H. (2007) Serotonin increases the excitability of the hypothalamic paraventricular nucleus magnocellular neurons. *European Journal of Neuroscience*, *25*, 2991-3000.
- Hoyer, D., Hannon, J. & Martin, G. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *71*, 533-554.

- Hung, B.C., Loo, D.D. & Wright, E.M. (1993). Regulation of mouse choroids plexus apical Cl⁻ and K⁺ channels by serotonin. *Brain Research*, 617, 285-295.
- Hutson, P.H., Dourish, C.T. & Curzon, G. (1988). Evidence that the hyperphagic response to 8-OH-DPAT is mediated by 5-HT₁ receptors. *European Journal of Pharmacology*, 150, 361-366.
- Inui, A. (2000). Transgenic approach to the study of body weight regulation. *Pharmacological Review*, 52, 35-61.
- Jalonen, T., Margraf, R., Wielt, D., Charniga, C., Linne, M. & Kimelberg, H. (1997). Serotonin induces inward potassium and calcium currents in rat cortical astrocytes. *Brain Research*, 758, 69-82.
- Kandel, E.R., Scharz, J.H. & Jessell, T.M. (2001). *Neurociencia y conducta*. (pp. 653-670). España: Prentice Hall.
- Katayama, J., Yakushiji, T., Akaike, N. (1997). Characterization of the K⁺ current mediated by 5-HT_{1A} receptor in the acutely dissociated rat dorsal raphe neurons. *Brain Research*, 745, 283-292.
- Kaye, W. (2008). Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. *Physiology and Behavior*, 94, 121–135.
- Kennett, G. & Curzon, G. (1988). Evidence that mCPP may have behavioural effects mediated by central 5-HT_{1C} receptors. *British Journal of Pharmacology*, 94, 137-147.
- Kennett, G., Dourish, C. & Curzon, G.(1987). 5-HT_{1B} agonists induce anorexia at a postsynaptic site. *European Journal of Pharmacology*, 141, 429-435.
- Kennedy, G.C. (1953). The role of depot fact in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 140, 578-592.
- 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 agonist using post-prandial satiety sequence in rats. *Psychopharmacology*, 113(3-4), 369-377.
- Krahn, D., Gosnell, B., Levine, A. & Morley, J. (1988). Behavioral effects of corticotropin-releasing factor: localization and characterization of central effects. *Brain Research*, 443, 63-69.

- Lawton, C.L. & Blundell, J.E. (1993). 5-HT and carbohydrate suppression: Effects of 5-HT antagonists on the action of d-fenfluramine and DOI. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *46*, 349-360.
- Lee M., Aloyo, V., Fluharty, S. & Simansky. (1998). Infusion of the serotonin_{1B} (5-HT_{1B}) agonist CP-93,129 into the parabrachial nucleus potently and selectively reduce food intake in rats. *Psychopharmacology*, *136*, 304-307.
- Lee, M., Kennett, G., Dourish C. & Clifton, P. (2002). 5-HT_{1B} receptors modulate components of satiety in the rat: behavioural and pharmacological analyses of the selective serotonin_{1B} agonists CP-94,253. *Psychopharmacology*, *164*, 49-60.
- Lee, M., Somerville, E., Kennett, G., Dourish, C. & Clifton, P. (2004). Tonic regulation of satiety by 5-HT_{1B} receptors in the mouse: converging evidence from behavioural and c-fos immunoreactivity studies? *European Journal of Neuroscience*, *19*, 3017-3025.
- Lee, M.D. & Simansky, K. J. (1997). CP-94,253: a selective serotonin_{1B} (5-HT_{1B}) agonist that promotes satiety. *Psychopharmacology*, *131*, 264-270.
- Leibowitz, S.F. & Alexander, J.T. (1998). Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biological Psychiatry*, *44*, 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 and Behavior*, *45*, 185-194.
- Leibowitz, S.F. & Shor-Posner, G. (1986). Brain serotonin and eating behavior. En: S. Nicolaidis (Ed). *Serotonergic System Feeding and Body Weight Regulation*. (pp. 1-14). Londres, Inglaterra: Academic Press.
- Leibowitz, S.F.; Weiss, G.F.; Yee, F. & Tretter J.B. (1985). Effects of infusión of norepinephrine into the paraventricular nucleus on intake of carbohydrate, protein and fat. *Brain Research Bulletin*, *14*, 561-567.
- Leibowitz, S.F.; Weiss, G.F.; Suh, J.S. (1990). Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *37*, 735-742.

- Leibowitz, S. & Wortley, K.E. (2004). Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides* 25, 473-504.
- Li, Q., Battaglia, G. & Van de Kar, L. (1997). Autoradiographic evidence for differential G-protein coupling of 5-HT_{1A} receptors in rat brain: lack of effect of repeated injections of fluoxetine. *Brain Research*, 769, 141-151.
- Lin, L., York, D (2005). 5-HT_{1B} receptors modulate the feeding inhibitory effects of enterostatin. *Brain Research*, 1062, 26–31.
- Lin, S., Setya, S., Jonson-Farley, N. & Cowen, D. (2002). Differential coupling of 5-HT₁ receptors to G protein of the Gi family. *British Journal of Pharmacology*, 136, 1072-1078.
- Liu, Y.F. & Albert (1991). Cell specific signaling of the 5-HT_{1A} receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 266(35), 23689-23697.
- López A.V.E., Mancilla D.J.M., & Escartín, P.E.R. (2002). Secuencia de saciedad conductual: un análisis de la conducta de alimentación. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 28(2), 131-144.
- López, A.V.E. & Mancilla D., J.M. (1995). Análisis microestructural: un método para la investigación de la conducta alimenticia. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 21 (2), 129-144.
- López, A.V.E., Mancilla, D.J.M. & Escartín P.R.E. (2003). Efectos de la 5-HT en ratas pretratadas con mianserina o ciproheptadina sobre la secuencias de saciedad conductual. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 29(1), 13-30.
- López, A.V.E., Mancilla, D.J.M., Duran, D.A. Escartín, P.R.E Cobos, Z.G. & Garfias, A.A. (2000). Efectos de la administración central de agonistas GABAérgicos sobre la microestructura de la conducta alimentaria. *Revista de Sanidad Militar*, 54(6), 279-284.
- Lowry, C.A., Moore, F.L. (2006). Regulation of behavioral responses by corticotropin-releasing factor. *General and Comparative Endocrinology*, 146, 19–27.
- Luo S. & Li, E.T. (1991). Effects of repeated administration of serotonergic agonists on diet selection and body weight in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38, 495-500.

- Luo, S., Ransom, T. & Li, E. (1990). Selective increase in carbohydrate intake by rats treated with 8-Hydroxy-2-(di-n-propilamino)-tetraline or buspirone. *Life Science*, 46, 1643-1648.
- Makarenko, I.G., Meguid, M.M. & Ugrumov (2002). Distribution of serotonin 5-Hydroxytryptamine 1B (5-HT_{1B}) receptors in the normal rat hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 328, 155-159.
- Malmberg, A. & Strange, P. (2000) Site-directed mutations in the third intracellular loop of the serotonin 5-HT_{1A} receptors alter G protein coupling from G_i to G_s in a ligand-dependent manner. *Journal of Neurochemistry*, 75(3), 1283-1293.
- Mancilla, D. J. M, Escartín P. R. E., López-A.V. E., Floran G. B. & Romano, C.B.(2005). Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the hypophagic effect of 5-HT on the structure of feeding behavior. *Medical Science Monitor*, 11(3), BR74-BR79.
- Mancilla, D.J. M, Escartín, P.R.E. & López, A.V. E. (2003). The effects of 5-HT on the feeding behavior in mianserin or cyproheptadine-pretreated rats. *Eating and Weight Disorders/Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, 8(4), 268-173.
- Mancilla, D.J.M, Escartín, P.R.E, López, A.V.E. (2006) Efectos de la 5-HT en ratas pretratadas con ketanserina sobre la estructura de la conducta alimentaria. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32, 55-71.
- Mancilla, D.J.M. & Pérez, R.B.E. (1992). Serotonina-Conducta alimenticia. *Revista Mexicana de Psicología*, 9(2), 143-149.
- Mancilla, D.J.M.; Cisneros, C.A.; López, A.V.; Ocampo, T-G. M.T.; Alvarez, R.G.; Vázquez, A.R.; Osornio, C.L. & Rosales, L.S. (1993). Efectos del 5-HdITP: un análisis microestructural de la conducta alimenticia. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 19(1, 2), 19-32.
- Mancilla, D.J.M., Escartín, P.R.E., López, A.V.E. & Cruz, M.S.E. (2002). The effect of 5-HT in mianserin-pretreated rats on the structure of feeding behavior. *European Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(5), 445-451.
- Mancilla, D.J.M, Escartín, P.R.E, López, A.V.E. & Camacho, R.E.J (2006). Psicobiología de la alimentación. En J. M. Mancilla & G. Gómez (Eds.).

- Trastornos alimentarios en Hispanoamérica* (pp. 229-250). Manual Moderno: México.
- Mancilla, J., López, A. V., Ocampo-Tellez, G. M., Alvarez, R. G., Vázquez, A. R., Ruíz, M. A., Mejía, G. R., & Alvarado, C. G. (1993). Microanálisis de la conducta alimenticia [Resumen]. *Memorias 24 Congreso Interamericano de Psicología*, 190.
- Mannoury la C.C., El Mestikawy, S., Hanoun, N., Hamon, M. & Lanfumey, L. (2006). Regional differences in the coupling of 5-Hydroxytryptamine-1A receptors to G proteins in the rat brain. *Molecular Pharmacology*, 70(3), 1012-1021.
- Mayer, J. (1952). Regulation of energy intake and body weight. The glucostat theory and the lipostat hypothesis. *Annals of New York Academy of Science*, 63, 15-43.
- Mayer, S. & Sanders-Bush, E. (1994). 5-Hydroxytryptamine type 2A and 2C receptors linked to Na⁺/K⁺/Cl⁻ cotransport. *Molecular Pharmacology*, 45, 991-996.
- McGuirk, J., Muscat, R. & Willner, P. (1992). Effects of the 5-HT uptake inhibitors, femoxetine and paroxetine, and a 5-HT_{1A/B} agonist, eltoprazine, on the behavioural satiety sequence. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 41, 801-805.
- Mendez, J., Kadia, T., Somayazula, R., Badawi K. & Cowen, D (1999). Diferencial coupling of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors to activation of ERK2 and inhibition of adenylyl cyclase in transfected CHO cells. *Journal of Neurochemistry*, 73, 162-168.
- Millan, M.J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, 70, 83–244.
- Montgomery, A.M.J. & Willner, P. (1988). Fenflutamine disrupts the behavioural satiety sequence in rats. *Psychopharmacology*, 94, 397-401.
- Mönnikes, H., Heymann-Mönnikes, I. & Taché, Y. (1992). CRF in the paraventricular nucleus of the hypothalamus induces dose-related behavioral profile in rats. *Brain Research*, 574, 70-76.
- Müller, C.P., Carey, R.J., Huston, J.P. & De Souza, M. (2007). Serotonin and psychostimulant addiction: Focus on 5-HT_{1A}-receptors. *Progress in Neurobiology*, 81, 33–178.

- Nagai, K., Nagai, N., Sugahara, K., Nijima, A. & Nakawaga, H. (1994). Circadian rhythms and energy metabolism with special reference to the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 18(4), 579-584.
- Nakata, M., Kohno, D., Shintani, N., Nemoto, Y., Hashimoto, H., Baba, A., & Yada, T. (2004). PACAP deficient mice display reduced carbohydrate intake and PACAP activates NPY-containing neurons in the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroscience Letters*, 370, 252-256.
- Nonogaki, K., Ohashi-Nozue, K. & Oka, Y (2006). A negative feedback system between brain serotonin systems and plasma active ghrelin levels in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 341, 703–707.
- Park, S., Harrold, J.A., Widdowson, P.S. & Williams, G. (1999). Increased binding at 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{2A} receptors and 5-HT transporters in diet-induced obese rats. *Brain Research*, 847, 90-97.
- Pauwels, P.J. (2000). Diverse signaling by 5-Hydroxytryptamine (5-HT) receptors. *Biochemical Pharmacology*, 60, 1743-1750.
- Paxinos, G. & Watson, Ch. (1986.). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Nueva York, NY, EE.UU.: Academic Press.
- Poeschla, B., Gibbs, J., Simansky, K.J. & Smith, G.P. (1992). The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT attenuates the satiating action of Cholecystokinin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 42, 541-543.
- Pullarkat, S., Mysels, D., Tan, M. & Cowen, D. (1998). Coupling of serotonin 5-HT_{1B} receptors to activation of mitogen-activated protein kinase (ERK-2) and p70 S6 kinase signaling systems. *Journal of Neurochemistry*, 71, 1059-1067.
- Raap, DK. & Van de Kar, L. (1999). Selective serotonin reuptake inhibitors and neuroendocrine function. *Life Science*, 65(12), 1217-1235.
- Raymond, J., Mukhin, Y., Gelasco, A., Turner, J., Collinsworth, G., Gettys, T., Grewal, J. & Garnovskaya, M. (2001). Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacology and Therapeutics*, 92, 179-212.

- Raymond, J., Mukhin, Y., Gettys, T. & Garnovskaya, M. (1999). The recombinant 5-HT_{1A} receptors: G protein coupling and signaling pathways. *British Journal of Pharmacology*, 127, 1751-1764.
- Roberts, C., Price, G.W., Middlemiss D. (2001). Ligands for the investigation of 5-HT autoreceptor function. *Brain Research Bulletin*, 56(5), 463-469.
- Rosenzweig-Lipson, S., Zhanga, J., Mazandarania, H., Harrisonb, B.L., Sabbb, A., Sabalskib, J, Stackb, G., Welmakerb, G., Barretta, J.E. & Dunlop, J. (2006). Antiobesity-like effects of the 5-HT_{2C} receptor agonist WAY-161503. *Brain Research*, 1073–1074, 240–251.
- Samanin, R. Y Grignashi, S. (1996). Role 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in satiety and animal models of eating disorders. In: S. J. Cooper & P. G. Clifton (Eds.). *Drug receptor subtypes and ingestive behaviour* (pp 39-58). Londres, Inglaterra: Academic Press.
- Sari, Y. (2004). Serotonin_{1B} receptors: from protein to physiological function and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 565-582.
- Shroff, H., Reba, L., Thornton, L., Tozzi F, Klump K., Berrettini, W. (2006). Features associated with excessive exercise in women with eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 39, 454–461.
- Schreiber, R. & De Vry; J. (2002). Role of 5-HT_{2C} receptors in the hypophagic effect of m-CPP, ORG 37684 and CP-94,253 in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26, 441-449.
- Schreiber, R., Selbach, K., Asmussen, M., Hesse, D. & De Vry; J. (2000). Effects of serotonin $\frac{1}{2}$ receptor agonists on dark-phase food and water intake in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 67, 291-305.
- Serres, F., Li, Q., García, F., Raap, D., Battaglia, G., Muma, N. & Van de Kar, L. (2000). Evidence that Gz-proteins couple to hypothalamic 5-HT_{1A} receptors in vivo. *Journal of Neurosciencie*, 20(9), 3095-3103.
- Shor-Posner, G., Ian, C., Brennan, G., Cohn, T., Moy, H., Ning, A. & Leibowitz, S. (1993). Self-selection albino rats exhibit differential preferences for pure macronutrient diets: Characterization of three subpopulations. *Physiology and Behavior*, 50, 1187–1195.
- Simansky, K. J. & Vaidya, A. H. (1990). Behavioural mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats:

- comparison with directly acting 5-HT agonist. *Brain Research Bulletin*, 25, 953-960.
- Simansky, K. J. (1996). Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behavioural Brain Research*, 73, 37-42.
- Simansky, K., Dave, K., Inemer, B., Nicklous, D., Padron, J., Aloyo, V. & Romano, A. (2004). A 5-HT_{2C} agonist elicits hyperactivity and oral dyskinesia with hypophagia in rabbits. *Physiology and Behavior*, 82, 97-107.
- Smith, G.P. (1997). Eating and the American Zeitgeist. *Appetite*, 29, 191-200.
- Somerville, E.M., Horwood, J.M., Lee, M.D., Kennett, G.A. & Clifton, P. (2007). 5-HT_{2C} receptor activation inhibits appetitive and consummatory components of feeding and increases brain c-fos immunoreactivity in mice. *European Journal of Neuroscience*, 25, 3115-3124.
- Stamford, J., Davidson, C., McLaughlin, D. & Hopwood, S. (2000). Control of dorsal raphe 5-HT function by multiple 5-HT₁ autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality? *TRENDS in Neuroscience*, 23, 459-465.
- Stanley, B.G., Daniel, D.R., Chin, A. & Leibowitz, S. (1985). Paraventricular nucleus injections of peptide YY and neuropeptide Y preferentially enhance carbohydrate ingestion. *Peptides*, 6, 1205-1211.
- Stanley, B.G.; Schwartz, D.H.; Hernandez, L.; Leibowitz, S.F. & Hoebel, B.G (1989). Patterns of extracellular 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in the paraventricular hypothalamus (PVN): Relation to circadian rhythm and deprivation-induced eating behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 33(1), 257–260.
- Tecott, L., Sun, L., Akana, Strack, A., Lowenstein, D.H., Dallman, M. & Julius, D. (1995) Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature*, 374, 542-546.
- Tempel, D.L., Shor-Posner, G., Dwyer, D., Leibowitz, S.F., (1989). Nocturnal patterns of macronutrient intake in freely feeding and food pharmacology. *American Journal of Physiology*, 256, R541 – R548.
- Tournois C., Mutel, V., Manivet, P., Launay, J. & Kellermann, O. (1998). Cross-talk between 5-hydroxytryptamine receptors in a serotonergic cell line. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 17498-17503.

- Trifunovic, R. & Reilly, S. (2006). Medial parabrachial nucleus neurons modulate d-fenfluramine-induced anorexia through 5-HT_{2C} receptors. *Brain Research*, 1067, 170-176.
- Van den Pol, A.N. (2003). Weighing the role of hypothalamic feeding neurotransmitters. *Neuron*, 40, 1059-1061.
- Velasco, A.V. (1989). Los agentes anoréxicos ¿Realmente suprimen el alimento? *Revista Facultad de Medicina, UNAM*, 216-223.
- Vickers, S., Dourish, C. & Kennett, G. (2001). Evidence that hypophagia induced by d-fenfluramine and d-norfenfluramine in the rat mediated by 5-HT_{2c} receptors. *Neuropharmacology*, 41, 200-209.
- Vickers, S.P., Benwell, K.R., Porter, R.H., Bickerdike, M.J., Kennett, G.A. & Dourish, C.T. (2000). Comparative effects of continuous infusion of mCPP, Ro 60-0175 and d-fenfluramine on food intake, water intake, body weight and locomotor activity in rats. *British Journal of Pharmacology*, 130, 1305-1314.
- 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*, 143, 309-314.
- Walsh, A., Smith, K., Oldman, A., Williams, C., Goodall, E. & Cowen, P. (1994). m-Chloropiperazine decreases food intake in a test meal. *Psychopharmacology*, 116, 120-122.
- Wang, J., Akabayashi, A., Dourmanshkin, J., Yu, H.J., Alexander, J.T., Chae, H.J. & Leibowitz, S.F. (1998). Neuropeptide Y in relation on carbohydrate intake, corticosterone and dietary obesity. *Brain Research* 802, 75-88.
- Ward, B.O., Somerville, E.M. & Clifton, P.G. (2000). Intra accumbens baclofen selectively enhances feeding behavior in the rat. *Physiology and Behavior*, 68, 463-468.
- Weidenfeld, J., Feldman, S., Itzik, A., Van de Kar, L. & Newman, M. (2002). Evidence for a mutual interaction between noradrenergic and serotonergic agonists in stimulation of ACTH and corticosterone secretion in the rat. *Brain Research*, 941, 113–117.
- Weiss, G.F., Rogacki, N., Fueg, A., Buchen, D., Suh, J.S., Wong, D.T. & Leibowitz S.F. (1991) Effect of hypothalamic and peripheral fluoxetine

- injection on natural patterns of macronutrient intake in the rat. *Psychopharmacology*, 105, 467-476.
- Willner, P. & Towell, A. (1982). Microstructural analysis of the involvement of beta-receptors in amphetamine anorexia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17, 255-262.
- Wirstshafter, D. (2001). The control of ingestive behavior by the median raphe nucleus. *Appetite*, 36, 99-105.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1977). Fenfluramine and fluoxetine spare protein consumption while suppressing caloric intake by rats. *Science*, 198, 1178-1180.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1979 a). Drugs that enhance serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. *Life Sciences*, 24, 895-904.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1979 b). Fenfluramine and other serotonergic drugs depress food intake and carbohydrate consumption while sparing protein consumption. *Current Medical Research Opinion*, 6 (Suppl. 1), 28-33.
- Zhang, Y., Damjanoska, K., Carrasco, G., Dudas, B., D'Souza, D., Tetzlaff, J., García, F., Sullivan, N., Scripathirathan, K., Petersen, B., Gray, T., Battaglia, G., Muma, N. & Van de Kar, L. (2002). Evidence that 5-HT_{2A} receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus mediate neuroendocrine responses to (-) DOI. *Journal of Neuroscience*, 22(21), 9635-9642.
- Zhang, Y., Gray, T., D'Souza, D., Carrasco, G., Damjanoska, K., Dudas, B., García, F., Zainelli, G., Sullivan, N., Battaglia, G., Muma, N. & Van de Kar, G. (2004). Desensitization of 5-HT_{1A} receptors by 5-HT_{2A} receptors in neuroendocrine neurons in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310, 59-66.