



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FES –IZTACALA

Participación de los receptores 5-HT_{1A} del núcleo paraventricular hipotalámico en la regulación de la glucosa, colesterol, triglicéridos y corticosterona sistémica post-ingesta.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

MELISA RITO DOMINGO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN MANUEL MANCILLA DÍAZ

COMITÉ TUTOR: DR. BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO
DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

MÉXICO, D.F.

ABRIL, 2011



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.

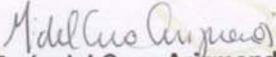
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de febrero de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** del (la) alumno (a) **RITO DOMINGO MELISA** con número de cuenta **098350065** con la tesis titulada **"Participación de los receptores 5-HT1A del núcleo paraventricular hipotalámico en la regulación de la glucosa, colesterol, triglicéridos y corticosterona sistémica post-ingesta"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. JUAN MANUEL MANCILLA DÍAZ**:

Presidente: DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES
Vocal: DR. MAXIMILIANO IBARRA BARAJAS
Secretario: DRA. LETICIA VERDUGO DÍAZ
Suplente: DR. RUDOLF MARINUS BUIJS
Suplente: DR. BENJAMIN FLORÁN GARDUÑO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 3 de marzo de 2011.


Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo del Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT, Beca 225465) y DGAPA (Proyecto PAPIIT IN309008).

Bajo la valiosa aportación del comité tutorial conformado por:

Dr. Benjamín Florán Garduño.

Dra. Carolina Escobar Briones.

Con las valiosas contribuciones realizadas por el jurado conformado por:

Dr. Maximiliano Ibarra Barajas

Dra. Leticia Verdugo Díaz

Dr. Rudolf Marinus Buijs

Esta investigación se llevo a cabo en el laboratorio de neurobiología de la alimentación, del proyecto de investigación en nutrición, de la unidad de investigación interdisciplinaria de ciencias de la salud y educación, UNAM, FES Iztacala, bajo la dirección del Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz.

Índice General

Índice de figuras	5
Índice de Esquemas	5
Índice de Abreviaturas	6
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Antecedentes	15
Núcleo paraventricular hipotalámico, el sistema serotoninérgico, eje hipotálamo pituitaria adrenal (HPA) y el eje simpato adrenomedular (SAM)	15
Síntesis de serotonina	18
Serotonina y alimentación	21
Receptores 5-HT _{1A} y alimentación	25
Hormona liberadora de corticotropina	29
Receptores CRH-R2	33
Planteamiento del Problema	36
Hipótesis	37
Objetivo General	38
Objetivos Particulares	38
Material y métodos	39
Animales	39
Dietas	39
Fármacos	39
Procedimiento	40
Selección de los sujetos experimentales	40
Cirugía	40
Medidas Conductuales	41
Análisis de la Secuencia de Saciedad Conductual	41
Tasa Local de Alimentación	42
Diseño Experimental	42
Determinación de parámetros bioquímicos y colesterol	42
Protocolo de extracción de la muestra	43
Determinación de corticosterona	43
Determinaciones bioquímicas	44
Determinación de Glucosa	44
Determinación de Triglicéridos	44
Determinación de Colesterol	45
Análisis Histológico	45
Tipo de análisis	46
Resultados	47
Ingesta y selección dietaria	47
Secuencia de Saciedad Conductual	49
Área Bajo la Curva	51
Tasa local de alimentación	52
Parámetros Bioquímicos y de Costicosterona	53
Glucosa	53

Triglicérido	53
Colesterol	53
Corticosterona	53
Discusión	54
Conclusión	65
Perspectivas	66
Referencias	67

Índice de Figuras

Figura 1. Corte coronal en el que se muestra el hipotálamo y el NPV	16
Figura 2. Vías metabólicas para la síntesis y metabolismo de la serotonina	19
Figura 3. Estructura molecular del receptor 5-HT _{1A}	26
Figura 4. Distribución del sistema CRH en el sistema nervioso central de rata	30
Figura 5. Diagrama de los receptores CRF1 y CRF2	33
Figura 6. Ingesta	48
Figura 7. Secuencias de Sacidad Conductual	50
Figura 8. Área Bajo la Curva	51
Figura 9. Tasa Local de alimentación	52
Figura 10. Parámetros bioquímicos y corticosterona	54

Índice de Esquemas

Esquema 1	14
Esquema 2	54
Esquema 3	56
Esquema 4	64

Índice de Abreviaturas

4-AF	4-aminofenazona
7-TMD	Receptores con 7 dominios transmembrnales
8-OH-DPAT	8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin
5-HTP	5-Hidroxitriptofano
5-HIAA	5-Hidroxiindolacetico
5-HT	5-hidroxitriptamina, Serotonina
α -MSH	Hormona estimuladora de melanocitos
AANCL	Aminoacidos neutros de cadena larga
ABC	Area Bajo la Curva
ACTH	Hormona adrenocorticotropica
ADP	adenosina-5-difosfato
ATP	adenosina-trifosfato
AS-30	Antisauvagina-30
cAMP	Adenocin monofosfato cíclico
CART	cocaine and amphetamine regulated transcript
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
CRF	Factor liberador de corticotropina
DAP	dihidroxiacetona fosfato
G	Gramos
G3P	glicerol-3-fosfato
GK	glicerol quinasa
Glut	Glutamato
GOD-POD	glucosa oxidasa / peroxidasa
GPCR	Proteinas G acopladas a receptores
GPO	glicerol-3-oxidasa
H ₂ O ₂	peroxido de hidrogeno
HPA	Hipotalamo pituitaria adrenal
LoC	<i>Locus Ceruleus</i>
LPL	lipoprotein lipasa
MI	Mililitros
mCPP	m-chlorophenylpiperazine
mRNA	Ácido Ribonucleico mensajero
MAO	Monoaminooxidasa
NAD	nicotinamida adenina dinucleótido
NE	Norepinefrina
NPV	Nucleo paraventricular hipotalámico
NRD	Núcleo del rafé dorsal
NPY	Neuropeptido Y
NTS	Núcleo del tracto solitario
OMS	Organización mundial de la salud
PKA	Protein cinasa A
PKC	Protein cinasa C
POD	Peroxidasa

PET	Tomografía por emisión de positrones
POMC	Pro-opiomelanocortinas
Seg	Segundos
SAM	Simpato adrenomedular
SB242084	6-Chloro-2,3-dihydro-5-methyl- <i>N</i> -[6-[(2-methyl-3-pyridinyl)oxy]-3-pyridinyl]-1H-indole-1-carboxamide dihydrochloride
SNC	Sistema nervioso central
Tph1/Tph2	Triptofano-5-monooxigenasa / triptofano hidroxilasa
TRY/TRP	Triptofano
Ug	Microgramos
Ucn 1	Urocortina 1
Ucn 2	Urocortina 2
Ucn 3	Urocortina 3
WAY-100635 maleate salt	<i>N</i> -{2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazini1]etil1}- <i>N</i> -(2-piridini1)ciclohexanecarboxamida

Resumen

El núcleo paraventricular hipotalámico (NPV) es una estructura heterogénea que está constituido de poblaciones neuronales agrupadas en neuronas magnocelulares y parvocelulares ambos, grupos celulares se relacionan con el control de la alimentación. En los últimos 35 años se ha sugerido que las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe tienen contacto con el NPV y que la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) liberada regula la saciedad. Por otra parte tenemos que los receptores 5-HT_{1A} inducen hipofagia o hiperfagia debido a la activación con el agonista 8-OH-DPAT. La mayoría de los estudios indican que la serotonina estimula la secreción de ACTH y corticosterona, vía receptor 5-HT_{1A} del NPV. Debido a esto el objetivo de este estudio fue evaluar la participación de los receptores 5-HT_{1A} del núcleo paraventricular hipotalámico en la regulación de la glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona sistémica post-ingesta. Ratas Wistar macho de 200-220g, ambientadas a una dieta de proteínas, carbohidratos y grasas (en comederos separados), fueron canulados estereotáxicamente en el NPV (lado derecho). Se inyectó (pasado el periodo de recuperación postquirúrgico de 5 días), vehículo (ss), 8-OH-DPAT, WAY100635 y Antisauvagine-30 en el NPV, la determinación de corticosterona, triglicéridos, glucosa y colesterol en suero se realizó post-ingesta (lapso de 60 min). Los resultados mostraron que el 8-OH-DPAT disminuye la ingesta de alimento, mientras el WAY 100635 previene el efecto inducido por la estimulación del receptor 5-HT_{1A} y el antagonismo de los receptores-2 a hormona liberadora de corticotropina (CRH-R2) realizada con el antagonista antisauvagina-30 (AS-30), solo contó con un efecto significativo en la concentración sérica de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona sugiriendo que el sistema serotoninérgico, el eje simpático adrenomedular y el eje Hipotálamo pituitaria adrenal (HPA), en el NPV actúan de forma conjunta para inhibir la ingesta y regular moléculas energéticas.

Abstract

The paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus is a heterogeneous structure comprise of neuronal populations that are grouped generally into magnocellular and parvocellular neurons both groups have been implicated in the control of feeding. Over 35 years of research suggest that serotonergic neurons of rafe nucleus inervate the pvn and the serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) release plays an important role in within-meal satiation and post-meal satiety processes. Additionally, serotonin receptor 5-HT_{1A} has been show to induce hypophagia or hyperphagia when the agonist 8-OH-DPAT stimulates these receptors. The majority of studies indicate that 5-HT stimulates ACTH and corticosterone secretion by way of PVN 5-HT_{1A} receptors. That's why the aim of this research was sought the participation of the 5-HT_{1A} receptors of the PVN in the regulation of stimulation of systemic glucose, triglycerides, cholesterol and corticosterone post-meal. Male Wistar rats of 200-220g., Habituated to a proteins, carbohydrates and fats diet (separate bowls), stereotaxic cannulated in PVN (right side), were injected (after the post-surgery recovery 5 days) with: vehicle (ss), 8-OH-DPAT, WAY100635 and Antisauvagine-30 intra-PVN, the serum determination of glucose, triglycerides, cholesterol and corticosterone, was made post-intake (60 min). The results showed that 8-OH-DPAT decrease food intake, while WAY 100635 prevent the effect induce by the stimulation of 5-HT_{1A} receptor and the antagonism of corticotropin realise hormone receptors 2 (CRH-R2) by Antisauvagine-30, only have a significant effect in the serum concentration of glucose, triglycerides, cholesterol and corticosterone, suggesting that serotonin system, (Simptho-adrenomedular) SAM axis, (Hypothalamus Pituitary Adrenal) HPA axis in the PVN act together to inhibit food intake and regulate energy molecules.

I. Introducción

La alimentación es un proceso que responde a la necesidad metabólica que los organismos tienen y es cubierta a través de la ingesta, este proceso voluntario, es regulado y preservado por el sistema nervioso central (SNC), quien se encarga a su vez de la homeostasis y de acoplar e incorporar respuestas fisiológicas en todo el organismo, para cumplir con la demanda energética (consumo y el gasto energético).

La evolución del SNC, ha propiciado la adquisición de nuevas habilidades, que permitan adaptarse continuamente, a los cambios paulatinos en la alimentación reflejándose en los hábitos alimenticios, además de conservar los mecanismos que permitan mantener reservas de energía, para situaciones en las que se requieran alta demanda metabólica y sea escaso el recurso.

El aumento en el consumo energético debido a las dietas que incluyen alimentos ricos en grasas saturadas, azúcares, sal y alimentos procesados, tiende a disminuir el estimado actual de la población mundial mal nutrida el cual es de un billón (17%), estos cambios en la disponibilidad de alimento determinan los patrones de alimentación, generando que una gran cantidad de países estén experimentando un cambio significativo en la forma y tipos de alimentación, así como en las enfermedades asociadas y los mecanismos que regulan el balance energético

Diversos autores han señalado que existen grupos de genes que regulan el almacén de reservas energéticas, estos son llamados genes “ahorradores” o “ahorrativos”, pero debido a la gran disponibilidad energética y el poco gasto tienden a ser una desventaja y un riesgo para la salud (Södersen, *et al.*, 2007).

La obesidad es una de las enfermedades asociadas a los cambios en la alimentación, el cuadro clínico característico de estos pacientes revela un desequilibrio neuroinmunoendócrino, debido a la compleja comunicación neural involucrada (Angelopoulos, *et al.*, 2005, Korner, *et al.*, 2009).

El desarrollo de la obesidad contribuye a la presencia de enfermedades cardiovasculares, a la diabetes, que se ha transformado rápidamente en una epidemia mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que las muertes por diabetes aumentarán en todo el mundo, en más de un 50% en los próximos 10 años, así como enfermedades del aparato locomotor (en particular la artrosis), algunos cánceres, como los de endometrio, mama y colon (Brown, *et al.*, 2009).

Otra enfermedad asociada a los cambios en la alimentación es el lado opuesto de la moneda la anorexia nerviosa, un síndrome que cumple con criterios diagnósticos como: pérdida del peso esperado para la edad y talla (al menos el 85%), miedo intenso a la obesidad, percepción de la imagen corporal distorsionada y amenorrea (al menos por 3 meses). Actualmente la prevalencia en la cultura occidental es un tópico de debate, pero sin embargo se señala una prevalencia de 0.3% para anorexia nerviosa (Atchley & Eckel, 2006, Garner & Keiper, 2010).

Una vez más se describe un desequilibrio neuroinmunoendócrino, donde se menciona al hipotálamo como parte de la regulación conductual involucrada en este padecimiento, debido a su función como censor del estado hambre-saciedad y se describen irregularidades en el sistema serotoninérgico para los pacientes con este trastorno (Kaye., *et al.*, 2005).

La lucha contra estos padecimientos se ha sugerido comienza en el sistema nervioso central donde los mediadores de señales es decir las hormonas y los neurotransmisores juegan un papel específico y característico este ha sido descrito en diversas investigaciones sugiriendo interacciones específicas.

Dado el control que ejerce el hipotálamo sobre la alimentación uno de los principales centros involucrados es el núcleo paraventricular hipotalámico (NPV), como un sitio importante para constituir la homeostasis neuroendocrina, modular la saciedad e integrar circuitos de neurotransmisión expresados en este núcleo (Zsombok & Smith, 2009).

La descripción inmunohistológica, ha determinado dos grupos neuronales para este núcleo, la zona parvocelular y la zona magnocelular, que a su vez cuentan con distribución de receptores y sistemas tales como el serotoninérgico.

Leibowitz y Alexander en 1998, describe que la inyección de serotonina (5-HT), intrahipotalámica (dentro del NPV) produce hipofagia y este efecto es mediado por los receptores 5-HT_{1A}, expresados en la zona parvocelular, describiendo la participación del sistema serotoninérgico sobre la ingesta

Este dato fue corroborado con el uso del agonista selectivo para el receptor 5-HT_{1A}, 8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT), ya que su administración intraperitoneal, produce un efecto hiperfágico o hipofágico dosis dependiente (Dourish, *et al.*, 1986a) y la administración central, muestra un efecto hipofágico, sobre carbohidratos principalmente, acompañado del desarrollo temprano de la secuencia de saciedad conductual (Lopez, *et al.*, 2007).

Los receptores 5-HT_{1A}, han sido descritos en neuronas de la región parvocelular encargadas de la liberación de factor liberador de corticotropina (CRF) y son parte del eje hipotálamo pituitaria adrenal HPA.

Sumando evidencia tenemos que al estimular con el agonista 8-OH-DPAT a los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos del NPV, se encontró aumento en las concentraciones de corticosterona y hormona adrenocorticotropica (ACTH), como efecto de la activación del eje HPA (Yamada, *et al.*, 1998; Haleem, *et al.*, 1999; Zhang, *et al.*, 2004).

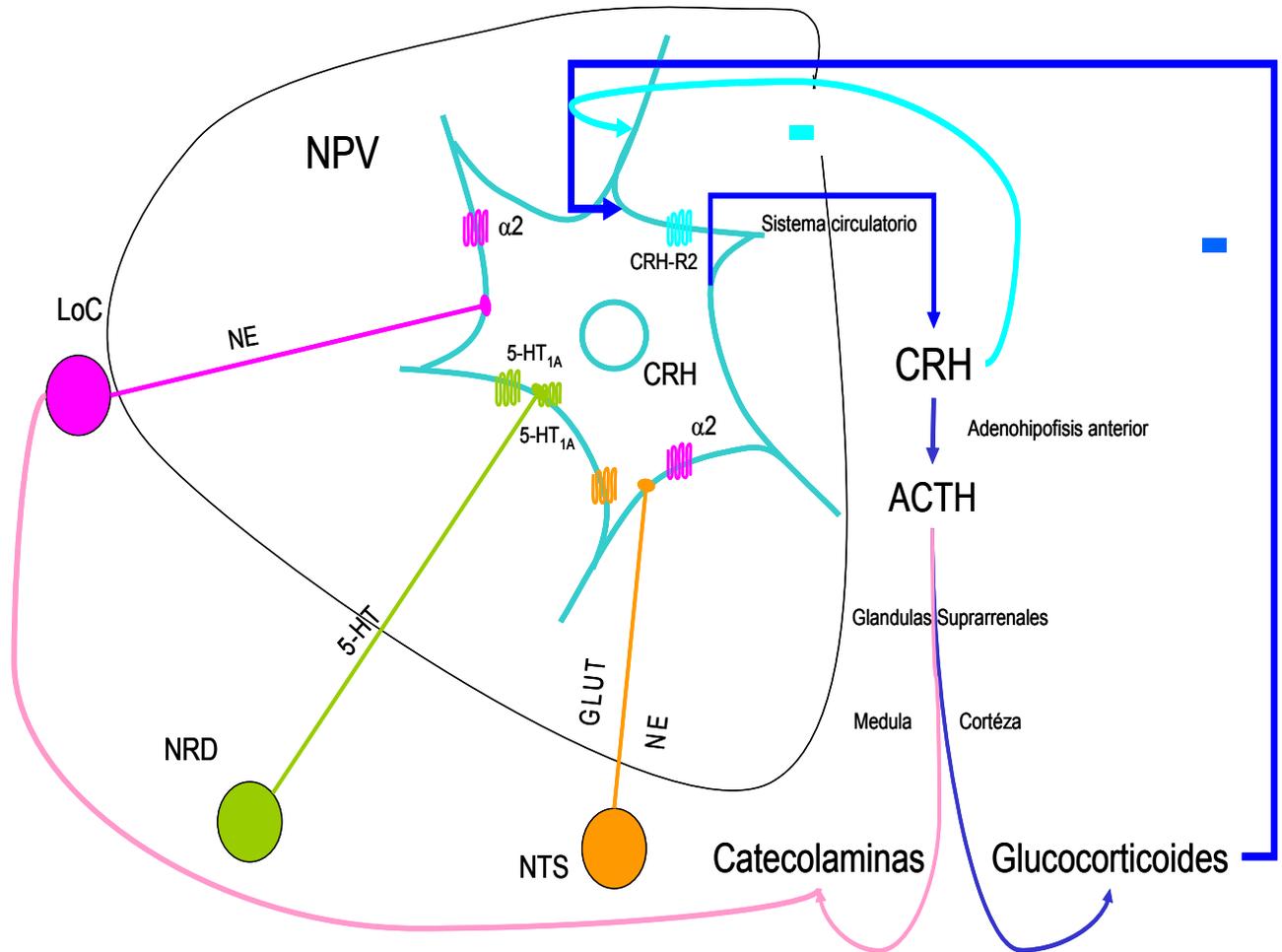
Se ha descrito que la liberación de CRF cuenta con un efectivo supresor sobre la ingesta este efecto es principalmente mediado por los receptores CRF-R2 y la liberación de este factor promueve el aumento en la concentración de ACTH y corticosterona retroalimentando el circuito de forma negativa.

La estimulación del NPV es también asociada al aumento en la actividad simpática que incluye la secreción de catecolaminas de las glándulas adrenales (Martín *et al.*, 2006).

La evidencia histológica describe como al marcar neuronas de la medula espinal estas proyectan al NPV, revelando la participación de este núcleo en la actividad del eje simpato adrenomedular / sistema simpato adrenomedular (SAM), controlado por innervaciones simpáticas, sumado a la presencia de fibras y receptores adrenérgicos y noradrenérgicos (Gunion, *et al.*, 1992; Watkins, *et al.*, 2009).

Algunas investigaciones sugieren que los receptores serotoninérgicos pueden participar en la regulación de la glucosa debido al efecto que tienen sobre la liberación de adrenalina y que la coexpresión de los receptores adrenérgicos y noradrenérgicos en el NPV, con los receptores 5-HT_{1A} producen hiperglucemia e hipoinsulinemia sérica (Bechtholt, *et al.*, 2008; Smith, *et al.*, 1999; Yamada, *et al.*, 1998).

El sistema serotoninérgico a través de los receptores 5HT_{1A} ubicados en la región parvocelular del NPV participan en el control de la alimentación debido a que se encuentran expresados en neuronas que liberan CRH y coexpresados con receptores de otros neurotransmisores que participan también en este proceso (Esquema 1).



Esquema 1. Proyecciones a una neurona parvocelular del NPV. El NPV recibe inervaciones de diversas vías extrahipotalámicas que regulan las funciones homeostáticas incluyendo: 1) núcleo del tracto solitario (NTS), que libera Norepinefrina (NE) y Glutamato (GLUT), 2) del núcleo del rafé dorsal (NRD), que libera serotonina (5-HT), y 3) del *Locus ceruleus* (LoC), que libera Norepinefrina (NE). El NPV libera Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH), que estimula la liberación de Hormona Adrenocorticotropica (ACTH) y estimula la liberación de Glucocorticoides de la corteza adrenal que a su vez inhibe la síntesis de CRH y catecolaminas de la medula adrenal que estimula al LoC. Expresión de los receptores α_2 adrenérgicos, 5-HT_{1A} , CRH-R2 en el NPV. Modificado de Herman *et al.*, 2003.

II. Antecedentes

a) Núcleo paraventricular hipotalámico, el sistema serotoninérgico, eje hipotálamo pituitaria adrenal (HPA) y el eje simpato adrenomedular (SAM).

Diversas áreas del cerebro que regulan funciones autónomas y neuroinmunoendócrinas participan en el control de la alimentación esto ha sido estudiado con la finalidad de entender desórdenes metabólicos y en la alimentación.

El hipotálamo se ha descrito que juega un papel importante en el control de la ingesta y del metabolismo periférico, por ser un centro de convergencia e integración de múltiples señales, relacionadas con la nutrición. Es capaz de censar los cambios en el organismo y al recibir proyecciones neuroanatómicas, brinda la posibilidad de integrar respuesta fisiológica que permitan la homeostasis (Blouet, & Schwartz, 2009).

Conservado filogenéticamente dentro del sistema nervioso central, el hipotálamo se encuentra ubicado debajo del tálamo y limitado en la parte superior por el piso del 3er ventrículo, en la parte anterior por el quiasma óptico, en la parte inferior y lateral por el subtálamo y en la parte posterior por los cuerpos mamilares y la comisura posterior.

Estructuralmente el hipotálamo se divide en varios núcleos con fenotipos celulares específicos, que censan la concentración de nutrientes, a través de señales moleculares y esto deriva en la producción de respuestas neuroquímicas y neurofisiológicas. Estas señales moleculares permiten regular el consumo de alimento y contribuyen a almacenar reservas o permitir que se desencadene la inhibición de la alimentación, manteniendo constantes las concentraciones basales que el organismo requiere (Sánchez, *et al.*, 2010).

El núcleo paraventricular hipotalámico es reconocido por su población neuronal heteróloga, en el se expresan varios sistemas de neurotransmisión, y se encuentra dividido en neuronas magnocelulares y parvocelulares. Ambos grupos se han

identificado en base a la expresión de péptidos blancos y localización en el núcleo (Figura 1).

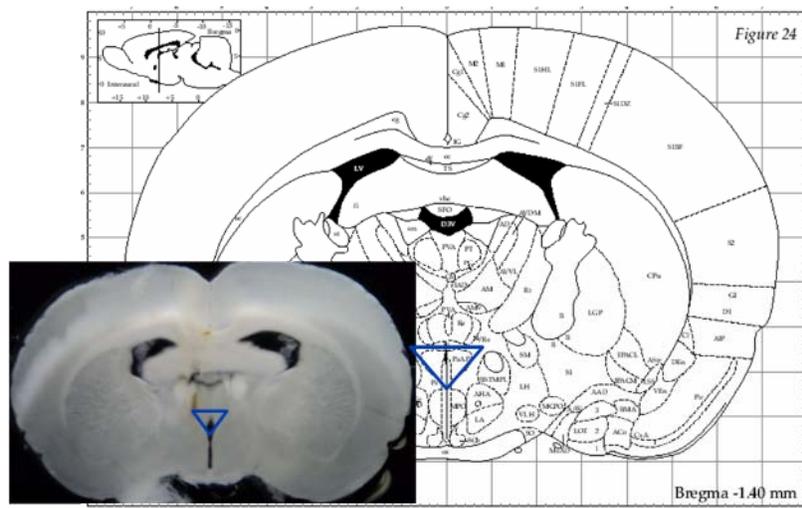


Figura 1. Corte coronal en el que se muestra el hipotálamo y el NPV (Paxinos, G. & Watson, C. 1998).

Las neuronas de la zona parvocelulares son neuroendócrinas y están encargadas de liberar al factor liberador de corticotropina / hormona liberadora de corticotropina (CRH/CRF), esta molécula forma parte del eje hipotálamo pituitaria adrenal (HPA) y regulan a su vez la liberación de adrenocorticotropina (ACTH), al llegar a su receptor en la adenohipófisis anterior, generando la retroalimentación negativa del eje.

Existe evidencia que sugiere una relación funcional entre el sistema serotoninérgico y el eje HPA. Fibras serotoninérgicas originadas en el núcleo del rafe que pertenecen a los grupos celulares B7-B9 inervan el NPV, sus terminales hacen contacto sináptico con neuronas secretoras de CRH, evidencia experimental sugiere que la 5-HT es excitatoria para el eje HPA provocando la liberación de CRH (Berendsen, *et al.*, 1996, Romanova, *et al.*, 2004, Temel, *et al.*, 2003).

El subtipo de receptor del receptor 5-HT, que media el efecto aun no es claro pero se ha observado que la administración del agonista 8-OH-DPAT, ha mostrado que la administración intra-NPV, estimula la liberación de ACTH, debido a la liberación de CRH (Laflamme, *et al.* 1999, Zhang, *et al.*, 2001) y que la administración intra

peritoneal de 8-OH-DPAT, produce un efecto dosis dependiente sobre las concentraciones de corticosterona (Haleem, *et al.*, 1989).

El NPV esta también involucrado en la regulación de la actividad nervosa autónoma y tiene conexiones con el *locus coeruleus*, el mayor núcleo noradrenérgico (Jezova, *et al.*, 1999). Existe fuerte evidencia de la acción endógena de noradrenalina en el NPV, se ha demostrado que la administración de estas catecolamina produce aumento en la ingesta debido a que la zona parvocelular se encuentra densamente inervada por vías aferentes norepinefrina; cuyos cuerpos celulares son originados en el tronco cerebral del grupo celular A2 (Chen & Toney, 2003, Daftary, *et al.*, 2000).

Cummings y Seybold en 1988 mostraron la presencia de adrenoreceptores α_1 y α_2 en neuronas CRH en el NPV. Debido al ser sistemas que se activan en respuesta al estrés, su coparticipación es importante y se complementa, debido a esto no sorprende que CRH participe en la regulación de la adrenalina, en medial los disparos celulares de neuronas del *locus ceruleus* y en el aumento en los niveles de mRNA de tirosina hidroxilasa.

Algunos parámetros que son regulados por ambos sistemas son los de la insulina y la glucosa, debido a que brindan el principal aporte energético inmediato, es así como la administración de noradrenalina en el NPV, eleva las concentraciones plasmáticas de glucosa, este efecto es mediado por receptores α_2 adrenérgicos (Alexander, *et al.*, 1993; Takahashi, *et al.*, 2001).

La interacción de el eje HPA y del sistema SAM son importantes no solo para la alimentación, también para la respuesta hacia amenazas y son sistemas conservados evolutivamente para la supervivencia, de la misma forma sabemos que el sistema serotoninérgico es preservado y que se concentren en el NPV debido a que esta encargado de la homeostasis.

b) Síntesis de serotonina

Debido a la participación del sistema serotoninérgico en la alimentación, es importante conocer como es que se lleva a cabo la síntesis de serotonina en el sistema nervioso central, como esto afecta a la alimentación y cual es la ruta bioquímica específica por la que se sintetiza y degrada.

La alimentación inicia este proceso, ya que tras la ingesta, se produce el catabolismo de los nutrientes, tomando esto en cuenta, tenemos que no todos los aminoácidos son obtenidos mediante el metabolismo, los aminoácidos esenciales como el triptófano (TRY/TRP), solo pueden obtenerse de la dieta.

El triptófano, es el precursor de la serotonina y al igual que los otros aminoácidos es absorbido por transporte activo a nivel del intestino. Una vez transportado, el TRY se puede encontrar en asociación con albúmina, para alcanzar concentraciones en plasma, que puedan pasar la barrera hematoencefálica, los ácidos grasos disocian al TRY de la albúmina, dejándolo disponible (Markus, *et al.*, 2002).

Una vez disociado y en la sangre el L-triptófano, es transportado una vez mas por transporte facilitado y pasa al cerebro, este transporte depende de la competencia con otros aminoácidos; ya que no se permite de forma simple, el paso a través de la barrera hematoencefálica.

El TRY compite para pasar la barrera hematoencefálica con los aminoácidos de cadena larga, mientras el aumento en la concentración de insulina, facilita su paso al SNC (Chaouloff, *et al.* 1989). La secreción de insulina regula la actividad serotoninérgica al promover la entrada del precursor triptófano y aumentando el metabolismo 5-HT los niveles de insulina en plasma tras la ingesta aumentan, propiciando la síntesis de 5-HT y la inhibición de la ingesta en el NPV, la cantidad de insulina liberada es proporcional a la concentración de glucosa. Una dieta con mayor proporción de carbohidratos y menor de proteínas, eleva los niveles de insulina en sangre, favoreciendo la entrada en las células de aminoácidos de cadena larga (LNNA), que provienen del catabolismo de proteínas (Wurtman & Wurtman 1979 a, b).

Una vez que pasa la barrera hematoencefálica, la captura de triptófano por terminales nerviosas se efectúa mediante difusión facilitada (Moreno, *et al.*, 2005). Dentro de la célula el TRY, se puede incorporar a dos vías: 1) la vía Metoxindol y 2) la vía de Kineurina. La vía de Metoxindol permite la formación de serotonina (5-HT) (Oxenkrug, 2010). Dentro de las neuronas serotoninérgicas, el triptófano se convierte en 5-hidroxitriptófano (5-HTP), al hidroxilarse en su C5, esta reacción es catalizada por la enzima triptófano hidroxilasa (triptófano 5-monooxigenasa, Tph1/Tph2) (Smith, 1964, Gershon, *et al.*, 1977), la enzima requiere de la oxidación del cofactor bipterina (Zhang, *et al.*, 2004, Porter, *et al.*, 2008). El 5-HTP (5- hidroxitriptófano), se descarboxila por acción de la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa (Dihidroxifenilalanina descarboxilasa), formando serotonina (5-HT) (De Vitry, *et al.*, 1986, Matsubara, *et al.*, 1994, Chamas, *et al.*, 2004) (Figura 2).

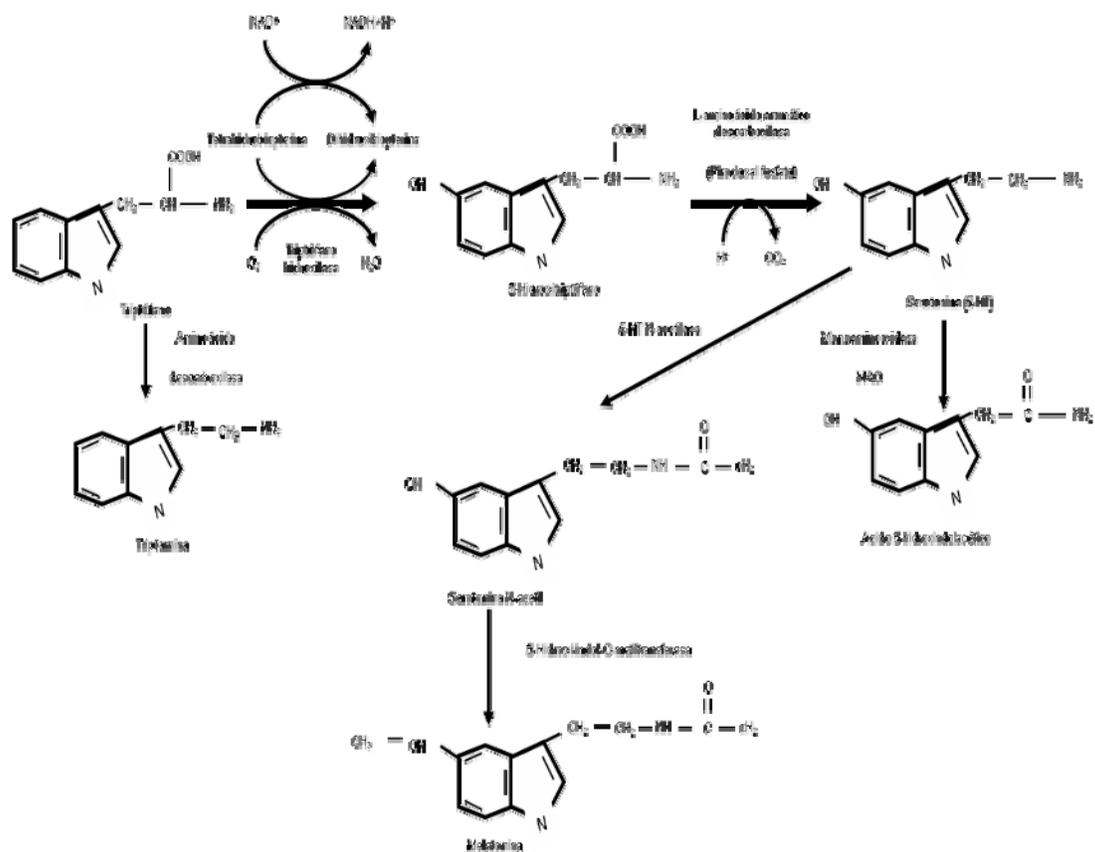


Figura 2. Vías metabólicas para la síntesis y metabolismo de la serotonina, modificado de Alberts *et al.*, 1994.

El paso limitante de la biosíntesis de 5-HT, es la hidroxilación de TRY, catalizado por triptófano hidroxilasa con la formación de 5-hidroxitriptofano (Mathews & Holde, 2000, Walter, *et al.*, 2003). El aumento en la síntesis de 5-HT es dependiente del Ca^{2+} extracelular. Una mayor tasa de síntesis y liberación de 5-HT a largo plazo, resulta en la producción de la enzima triptófano-hidroxilasa (Healy & Leonard, 1987).

La 5-HT es almacenada en vesículas y es liberada por exocitosis, el almacenamiento es necesario para proteger la indolalquilamina de la degradación neuronal por la monoaminoxidasa (MAO) (Izumi, *et al.*, 2007). El catabolismo primario de la 5-HT, es la desaminación oxidativa por la MAO, que la convierte en 5-hidroxi-indoleacetaldehído y este producto es oxidado por una aldehído deshidrogenasa dependiente de NAD^+ para formar ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) (Herrero, *et al.*, 1985).

Se ha sugerido que la disponibilidad de triptófano como sustrato, es otro de los factores limitantes de la biosíntesis de 5-HT, menos del 5% de triptófano es metabolizado a través de esta vía (Gal & Sherman, 1980).

Héry y colaboradores en 1985, sugirieron que la síntesis de serotonina en cerebro de rata es máxima durante la fase de luz y su liberación es activada durante el periodo de oscuridad, debido a su actividad nocturna que esta especie tiene (Akiyosi, *et al.*, 1989). Es así como el precursor de la serotonina y la síntesis, forman parte de la regulación sobre la alimentación, y el mantenimiento tónico de este proceso.

c) Serotonina y alimentación

El sistema serotoninérgico tiene efectos fisiológicos descubiertos desde hace 135 años, pero la molécula fue purificada apenas hace 60 años; inicialmente se conoce su papel dentro del sistema cardiovascular y su participación en la vasoconstricción. (Vergé & Calas, 2000).

En 1949, gracias a su estudio relacionado con la hipertensión, Irvin Page aisló y le dio el nombre de serotonina a la molécula responsable de este efecto en el sistema cardiovascular por otro lado en Italia Esperman en 1930, la describe con actividad dentro de la mucosa gástrica y entérica de mamíferos, pero que también existe evidencia de que se encuentra en fluidos de moluscos, el primer nombre que se le dio fue de enteramina, más tarde en 1954 Gaddum, reportó su presencia no solo en el sistema cardiovascular y gástrico, también en el sistema nervioso central (Green, 2006).

Los estudios filogenéticos determinaron que esta molécula se encuentra en todas las especies que poseen sistema nervioso e interviene en diversas conductas y procesos fisiológicos, como los del balance energético. La forma de acción de la serotonina es comparable entre especies de vertebrados e invertebrados (Tecott, 2007).

La participación del sistema serotoninérgico en funciones fisiológicas (Wesemann & Weiner 1990) y conductuales (Lucki, *et al.*, 1998), van desde su participación en el sistema circulatorio (Ramage & Villalo, 2001; Navalvaiko & Sgoifo, 2009), sistema gastrointestinal (Sanger, *et al.*, 2008), ciclos circadianos (Akiyoshi, *et al.*, 1989), conducta sexual (Centeno, *et al.*, 2007) y alimentación (Orosco & Gerozisis, 2001, Gamaro, *et al.*, 2003).

Diversas investigaciones han determinado la participación del sistema serotoninérgico en la alimentación, indicando que esta cuenta con un efecto supresor de la ingesta y en el peso. La administración de agonistas a nivel periférico y central, así como del neurotransmisor ha permitido recopilar evidencia de su efecto estimulador o supresor y su relación con la alimentación. El aumento en la ingesta se ha demostrado, al usar antagonistas de los receptores

serotoninérgicos o inhibidores de la actividad de este neurotransmisor (Leibowitz & Alexander, 1998).

La Serotonina regula el apetito, influenciando los episodios, es decir las señales a corto plazo, producidas por las respuestas fisiológicas de la ingesta de comida, regulando la alimentación a través de su papel en la saciedad (Halford, *et al.*, 2007).

Es así como Blundell propuso en 1978, que el sistema serotoninérgico tiene no solo un papel inhibitor en la alimentación, sino que es también la llave de la saciedad; que a su vez controla el mecanismo natural de ingesta, por ello se sugiere al sistema serotoninérgico como un blanco viable para el control de peso y de la obesidad.

El hecho, de que de forma temprana se vinculó al sistema serotoninérgico con la alimentación, dando origen al uso de fármacos que permitieran la liberación (fenfluramina) o la recaptura de 5-HT (fluoxetina, sertralina, sibutramina), pese a que en algunos casos no se destinaron inicialmente a su uso terapéutico en esta área.

La mayoría de los fármacos, que se han probado contra la obesidad, fueron inicialmente tratamientos experimentales para algunos desórdenes psiquiátricos y cuentan con efecto sobre diversos receptores a serotonina (Adan, *et al.*, 2008).

La acción de la 5-HT es dependiente de los diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos, los cuales en 1957 Gaddum y Picarelli clasificaron en dos tipos de receptor, el tipo de receptor D, antagonizados por la dibencilina, y los receptores M, bloqueados por la morfina, aunque estas acciones eran débiles.

Con el paso del tiempo y gracias a una gran variedad de técnicas, se han determinado en la actualidad 15 subtipos de receptores 5-HT, de los cuales solo se han descrito efectos sobre la alimentación para los subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₄, 5-HT₇ y recientemente el receptor 5HT₆ (Rask-Andersen, *et al.*, 2010).

Se sabe debido a esto que la activación de los receptores 5-HT_{1B} produce la disminución de la ingesta y disminuye el gasto de energía, mientras que los ratones con deficiencia en el receptor 5HT_{1B} muestran un aumento en el peso corporal (Da Silva, *et al.*, 2004)

Por otra parte, la estimulación de los receptores 5-HT_{2C} produce hipofagia al promover la liberación del agonista endógeno, como se muestra en los experimentos de Vickers y colaboradores en el 2001, quienes al administrar dexfenfluramina muestran un efecto hipofágico mediado por este receptor, ya que al antagonizarlo con SB242084, el efecto es bloqueado.

La m-chlorophenylpiperazine (mCPP) agonista del receptor 5-HT_{2C} genera el mismo efecto hipofágico, los ratones que carecen de este receptor por su parte muestran hiperfagia (Curzon, 1997).

Es a través del sistema melanocortina que los receptores 5-HT_{2C} pueden explicar su efecto modulador en la ingesta, debido a que más del 80% de las neuronas que contienen α -MSH expresan mRNA del receptor 5-HT_{2C} y es probable que cuente con efecto en la activación de neuronas de pro-opiomelanocortina (POMC) (Heisler, *et al.*, 2007).

El uso de *psilocybin* agonista de receptores 5-HT_{1A}/5-HT_{2A}, interrumpe el balance entre estos dos neurotransmisores y permite que el receptor 5-HT_{2A}, tome poder en la actividad produciendo un excesivo potencial de salida neuronal, asociado con ansiedad, característica presente en pacientes con anorexia nerviosa (Kaye, 2008)

La administración de agonistas y antagonistas 5-HT_{2A} en el NPV modula la hiperfagia inducida por el neuropéptido Y (NPY), reportes posteriores indican que receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A} se encuentran expresados en neuronas NPY del NPV, sustentando la interacción del sistema NPY y serotoninérgico.

La ausencia del receptor 5-HT₄, atenúa el estrés inducido por la hipofagia e induce actividad exploratoria, sugiriendo que este receptor está involucrado en la anorexia, inducida por el estrés, además de regular la expresión de mRNA de

CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript), por la vía de señalización cAMP/PKA (Bockaert, *et al.*, 2008).

Los receptores 5-HT₇, se sabe también cuentan con participación en la regulación de la ingesta, debido al efecto mediador en la liberación de glucocorticoides de la glándula adrenal (Parikh, *et al.*, 2003, Hedlund & Sutcliffe, 2004).

La inhibición de los receptores 5HT₆ permite la reducción de la ingesta y del peso corporal, al igual que los ratones deficientes de receptor, esto adquiere importancia terapéutica, ya que el uso de antagonistas podría contar con un efecto antiobesidad (Frassetto, *et al.*, 2008).

Hasta este momento los receptores 5HT mencionados describen efectos sobre la alimentación, esto permite determinar que en efecto el sistema serotoninérgico esta involucrado de forma activa en la regulación de este proceso, pero a su vez debemos destacar la participación de los receptores 5-HT_{1A} descrita por diversos autores así como las características que este receptor presenta y que median su efecto.

d) Receptores 5-HT_{1A} y alimentación

Después de la subdivisión de los receptores 5-HT en 1950, donde se clasificaban en M por ser bloqueados por morfina y D por ser bloqueados por dibenzilina. Bradley y colaboradores propusieron la existencia de tres familias de receptores 5-HT. Llamados 5-HT1-like, 5-HT2 y 5-HT3, esta propuesta fue basada principalmente en su criterio funcional, debido a que los estudios de unión con radioligandos no convencían aun, los estudios de segundos mensajeros eran menos populares y no se había clonado ninguna proteína G en 1984.

Una vez que estos estudios se realizaron, la clasificación fue modificada una vez mas, para empezar se describieron los sitios de unión de los receptores, generando cinco tipos de receptores (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}), al final se ha derivado en cinco receptores (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} y 5-HT_{1F}).

Los receptores 5-HT_{1A}, caracterizados en base a su alta afinidad por serotonina, en ensayos de unión a radioligandos, pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas Gi/o, acoplados de forma negativa a la adenilato ciclasa, disminuyendo a su vez la formación de cAMP, que a su vez en el caso de células presinápticas hiperpolariza la membrana mediante la apertura de canales de K⁺, este mecanismo a su vez reduce la liberación de 5-HT dependiente de Ca²⁺, de las vesículas secretoras hacia el espacio sináptico, en las células pueden permitir la despolarización y la inhibición del disparo, sin embargo también se puede acoplar a IP3 / PKC / vías que movilizan calcio y a proteínas Gz (Hannon & Hoyer, 2008, Serres, *et al.*, 2000, Tecott & Julius, 1993).

Los receptores 5-HT_{1A} fueron los primeros en ser caracterizados y clonados debido a su homología con los receptores β₂-adrenergicos (42%) y con receptores de invertebrados de los cuales se ha sugerido una divergencia de 600-650 millones de años. Estos hallazgos sugieren que los receptores de los mamíferos que evolucionaron después de este punto tienen sus análogos en invertebrados (Peroutka y Howell 1994).

En humanos este receptor cuenta con 422 aminoácidos que son codificado por un gen sin intrones, localizado en el cromosoma 5(5q11.2-q13), típicamente cuenta

con 7 dominios transmembranales, en la terminal amino, tres glicosilaciones asociadas con N, una secuencia conservada TRY en el segmento inicial del tercer enlace citoplasmático y un sitio de fosforilación en la tercera y quinta asa citoplasmática, tenemos que este receptor ha sido bien conservado entre especies de mamíferos, difiriendo su secuencia en humanos en un 80% a 85% homologa con la rata y el ratón respectivamente (Figura 3).

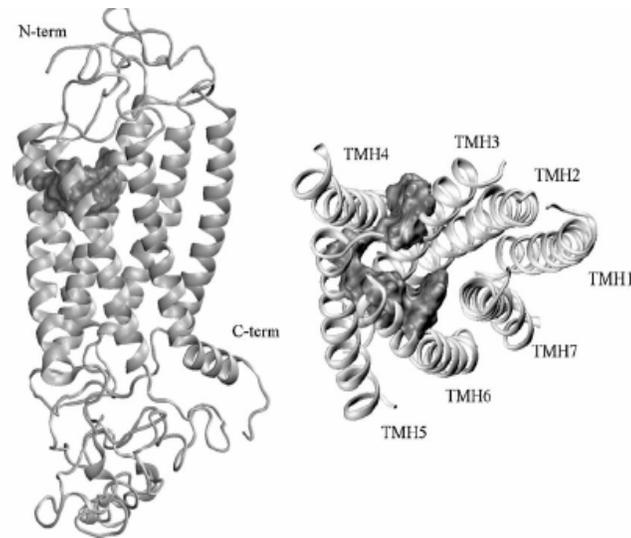


Figura 3. Estructura molecular del receptor 5-HT_{1A} (Dabrowska & Brylinski, 2006).

La diversidad en los genes de esta familia de receptores ha permitido detectar que diferentes secuencias pueden determinar la localización de los receptores, presentando distribución en sitios presináptico (autoreceptores) localizados en cuerpos celulares y dendritas de neuronas serotoninérgicas en el núcleo del raquídeo dorsal (NRD) y post sináptico (heteroreceptores).

La estimulación de los autoreceptores del NRD, no afectan los niveles de cAMP, pero una estimulación similar en neuronas post sinápticas, aumentan de forma significativa la actividad de la adenilil ciclasa. Este efecto ha sido atribuido a la activación de adenilato cilclasa en su isoforma 2 acoplada a la proteína G_{αi2} del receptor 5-HT_{1A}, que requiere la movilización de la subunidad G_γ.

La activación de los autorreceptores induce la inhibición de actividad eléctrica de neuronas 5-HT y aumentando la liberación de 5-HT dentro del núcleo y en el territorio de sus proyecciones.

Los receptores 5-HT_{1A} postsináptico cuentan con evidencia bioquímica y autoradiográfica y han sido encontrados en el hipotálamo (Li, *et al.*, 1997).

Estudios cronobiológicos revelan la presencia de ritmos en varios receptores intracerebrales, dentro de ellos se incluyen los receptores 5-HT_{1A}, debido a una mayor presencia de sitios de unión o receptores (B_{max}) durante el tiempo en el que la síntesis de 5-HT es activada y mínima durante su liberación. Es así como se asume que el ritmo circadiano de los sitios de unión para los receptores 5-HT_{1A}, puede ser regulada por la liberación de 5-HT, aunque otros estudios contrastan esto y encuentran que el mayor pico de 5-HT se da en la mitad del periodo de oscuridad en animales con ciclo de luz invertido.

Sumando evidencia, se sabe que los receptores acoplados a proteínas G se encuentran en estado acoplado y desacoplado y esto produce alta o baja afinidad por agonistas, así como de radioligandos marcados que en el caso del receptor 5-HT_{1A} el agonista más usado ha sido el [3H](±)-8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)tetralin ([3H]8-OH-DPAT) (Assié, *et al.*, 1999).

Debido a su alta afinidad por el receptor 5-HT_{1A}, el agonista 8-OH-DPAT ha sido ampliamente usado en estudios relacionados con este receptor, dentro de los cuales a permitido aclarar el papel de este receptor en diversas conductas como la alimentaria, demostrando que la hiperfagia que puede inducir después de ser inyectado en el núcleo rafe dorsal y medial, debido a la disminución en el número de disparos de las neuronas 5-HT.

Una gran variedad de estudios mencionan que existe influencia directa por parte de la dosis, vía de administración y línea base de la ingesta en el efecto que se observe, ya que se puede presenta tanto hipofagia como hiperfagia ocasionada por este agonista (Clifton, 2000).

La explicación a este efecto bifásico es dependiente de la estimulación, es decir si se estimulan receptores presinápticos somatodendríticos, se inhibe la liberación de 5-HT y esto eleva la ingesta (De Vry & Schreiber, 2000; Dourish, *et al.*, 1985; Hutson, *et al.*, 1988), el efecto hipofágico es mediado por receptores

postsinápticos en conjunto con la estimulación de receptores α 2-adrenergicos y CRH-R2.

Como parte de la evidencia que contribuye a pensar en estos receptores como un blanco terapéutico para casos de anorexia y bulimia se han realizado estudios usando Tomografía por emisión de positrones (PET); donde se muestra el aumento en la unión a los receptores 5-HT_{1A}, en varias áreas corticales de pacientes con bulimia y pacientes que se han recuperado. Una distribución extensa en el área cortical de un mayor número de receptores 5-HT_{1A}, puede reflejar una difusa e irregular actividad serotoninérgica que puede estar asociada con una discapacidad en el control de los impulsos. Un aumento en la unión del receptor al ligando puede indicar o un aumento en la densidad del receptor o una disminución intrasináptica de la concentración del neurotransmisor / neuromodulador. En ausencia de evidencia de un polimorfismo genético funcional del receptor 5-HT_{1A} que es asociado con bulimia, el aumento de la unión al receptor puede reflejar los bajos niveles intrasinápticos de 5-HT.

e) Hormona liberadora de corticotropina

La hormona liberadora de corticotropina / factor liberador de corticotropina (CRH/CRF), es un péptido de 41 aminoácidos, aislado en 1981 del hipotálamo de oveja. Es considerado el principal neuroregulador del eje HPA, por ser mediador de la respuesta endocrina autónoma e inmune, en el estrés además de coordinar respuestas autónomas y conductuales, incluyendo conductas de ansiedad, ingesta de alimento, aprendizaje y memoria (Donaldson, *et al.*, 1996).

Durante las últimas décadas se han identificado otros miembros de la familia de péptidos CRH, que se unen a receptores CRH, estos incluyen a los péptidos CRH, urocortina (Ucn 1), urocortina II (Ucn 2) y urocortina III (Ucn 3) de mamíferos, así como urotensina I, aislado del teleosteo, *Catostomus commersoni* y sauvagina aislada de la rana de árbol, *Phyllomedusa sauvage* (Grammatopoulos & Chrousos, 2002).

Los péptidos de esta familia tienen un importante papel en el control de la ingesta y son considerados anorexigénicos, efecto observado en la pérdida de peso; se ha visto que la administración intraventricular de CRF, inhibe la alimentación en ratas (Nieuwenhuizen & Rutters, 2008; Tanaka, *et al.*, 2009).

Por otra parte se ha demostrado, que la urocortina tiene un efecto aún más fuerte en la supresión de la ingesta, la administración intraventricular realizada por Spina y colaboradores en 1996, disminuía la ingesta de ratas privadas y no privadas (Pan & Kastin, 2008).

La acción de CRH y los péptidos de esta familia, es mediada por receptores transmembranales con 7 dominios (7 TMD) acoplados a proteínas G (GPCRs), que han sido identificados en el corteza cerebral, hipocampo, centros adrenérgicos y noradrenérgicos y otras regiones en el sistema límbico incluyendo al NPV (Figura 4).

CRH

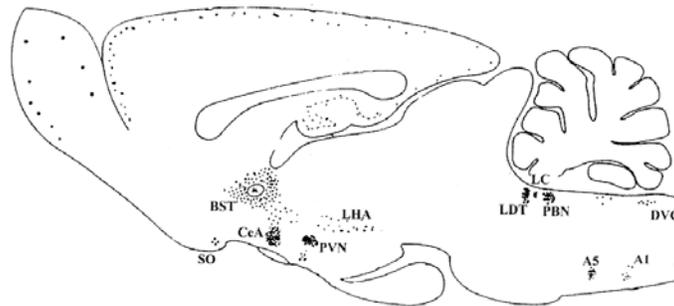


Figura 4. Distribución del sistema CRH en el sistema nervioso central de rata (Smagina, *et al.*, 2001).

La CRH cuenta con dos subtipos de receptores, identificados por clonación molecular: tipo 1 (CRH-R1) y tipo 2 (CRH-R2), codificados por diferentes genes, la acción de los péptidos, sobre estos receptores es modulada por una proteína de unión a CRH (CRH-BP), que se ha propuesto induce la internalización y catabolismo de los péptidos.

Los receptores CRH pertenecen a la clase II de receptores acoplados a proteínas G. CRH-R1 se encuentra extensamente distribuido dentro del SNC y tiene alta afinidad por CRH y baja afinidad por Ucn2 y Ucn 3. Por otra parte la afinidad por Urc 1, que a su vez produce un aumento en la secreción de CRH, ACTH y corticosterona, produciendo la inhibición de alimento, demostrando su contribución en la regulación de la ingesta de alimento (Davis, *et al.*, 2004).

CRH-R2 es codificado por un gen distinto, que cuenta con una variación en el empalme de mRNA, codificando para los receptores R2 α , R2 β y R2 γ , solo en cerebro humano. El receptor CRH-R2 de forma inversa tiene una distribución mas restringida y una baja afinidad por CRF pero una alta afinidad por Ucn 2 y Ucn3 (Hauger, *et al.*, 2003).

CRH y sus receptores se expresan en estructuras que constituyen al eje HPA (Figura 4), en este eje participan tres estructuras principalmente: el núcleo paraventricular del hipotálamo, el lóbulo anterior de la adenohipófisis y la glándula adrenal. Una alta densidad de neuronas secretoras de CRH, han sido detectadas

mediante técnicas inmunoreactivas, en la zona parvocelular del núcleo paraventricular (Bakshi & Kalin 2000).

Las neuronas de la zona parvocelular del NPV, liberan CRH, al sistema porta hipofisiario, llegando a la adenohipófisis anterior, donde al unirse con su receptor, induce la liberación de ACTH a la circulación. ACTH en respuesta, estimula la síntesis y secreción de glucocorticoides del corteza adrenal (Koob, *et al.*, 2010).

ACTH tiene un efecto anoréxico evitando el efecto estimulador de péptidos orexigénicos; su acción se lleva a cabo a través de sistema nervioso central y no es regulado a nivel periférico, debido a que algunos experimentos han demostrado que en ratas adrenalectomizadas el efecto también se presenta (Vergoni, *et al.*, 1990).

La unión de ACTH a sus receptores en la corteza adrenal estimulara la síntesis y secreción de corticosterona, con ayuda de la internalización de colesterol, este es un punto importante debido a que la inhibición de la síntesis de colesterol, por parte de diversos fármacos como lo indica Huffman y Azarnof en 1967, produce una disminución en la concentración de corticosterona.

La corticosterona, ejerce sus efectos mediante la interacción inicial con los receptores intracelulares de las células efectoras; al ser liposoluble difunde con facilidad a través de la membrana celular, una vez en el interior de la célula, se une a proteínas permitiendo que se acople a su receptor en el citoplasma y el complejo hormona receptor, interactúa con secuencias reguladoras específicas de ADN; las cuales son denominados elementos de respuesta a los glucocorticoides, que inducen o reprimen la transcripción génica, dentro de esta interacción cobran importancia los factores de transcripción para la interacción adecuada, esto produce la retroalimentación negativa por parte de la corticosterona al eje HPA (Nieuwenhuizen & Rutters, 2008, Weindenfeld, *et al.*, 1984).

A nivel energético se sabe que la corticosterona promueve la gluconeogénesis en células hepáticas y controla la ingesta, en particular la ingesta de carbohidratos, la administración de corticosterona estimula la ingesta, presentándose como un poderoso agente orexigénico (Kumar, *et al.*, 1988).

Es así como estos elementos participan en la regulación de la alimentación debido a co-expresarse con el sistema serotoninérgico pero para poder entender esta correlación debemos hablar también de los receptores CRH-R2

f) Receptores CRH-R2

La activación de los receptores CRH-R2, ha sido asociada con diversas funciones fisiológicas, dentro de las que se encuentra la ingesta y mediador del eje hipotálamo pituitaria adrenal (Chotiawat & Harris, 2008).

Algunos estudios sugieren que la supresión de la ingesta mediada por péptidos CRH se realiza a través del receptor CRH-R2 (Figura 5), mientras otros estudios sugieren que los receptores CRH-R2, no son funcionales en etapas tempranas de una respuesta anoréxica a la administración de péptidos CRH.

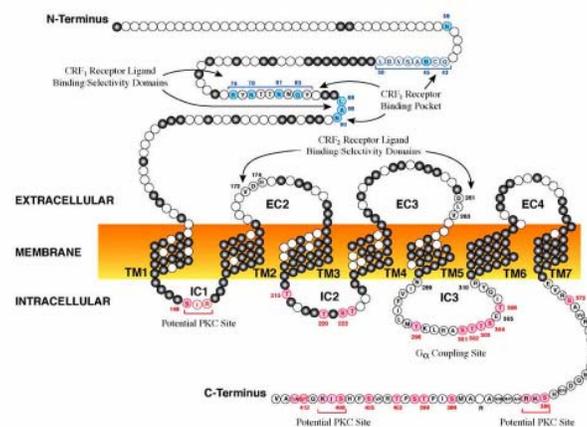


Figura 5. Diagrama de los receptores CRH-R1 y CRH-R2. Este diagrama ilustra la secuencia de aminoácidos con la que cuenta el receptor, se muestra en rojo la serina y treonina y la terminal carboxilo representa el sitio potencial de fosforilación por PKC.

Dentro de la familia de péptidos, el uso de urocortina 2 y 3 agonistas de CRH-R2 demostraron la supresión de la ingesta al ser administrados intracerebro ventricularmente (Ohata & Shibasaki, 2004).

CRH-R2 se encuentra expresado en el NPV y se ha visto que la inyección de Urocortina en este núcleo, produce un efecto anoréxico mediado por los receptores CRH-R2, en el caso de los ratones con depleción de CRH-R2 se muestra la inhibición de la ingesta al comparar a los animales de tipo silvestre (Chance, *et al.*, 2007, Pan & Kastin 2008).

Además el receptor CRH-R2 participa en la activación del metabolismo y su bloqueo produce la reducción en el tiempo de liberación de ACTH, que a su vez se propone contribuye al desarrollo de la anorexia (Connan, *et al.*, 2007).

La liberación de CRH estimula los receptores CRH-R2, y produce el aumento de ACTH y de glucocorticoides que regulan la expresión de CRH, prueba de esto es la hipersecreción tónica de CRH en organismos con adrenalectomía (Cook, 2004)

La corticosterona, que participa en el almacén de grasa, evidencia de esto es a la presencia de irregularidad en el eje HPA en el caso de pacientes con obesidad, ya que el aumento en el peso se considera un factor de estrés para el organismo, presentándose disminución en la sensibilidad de la regulación de la retroalimentación negativo del eje o sensibilidad alterada por parte del tejido graso o de músculo esquelético a glucocorticoides (Gervasoni, *et al.*, 2004).

Estudios en humanos, han brindado fuerte evidencia de sobreingesta inducida por experiencias emocionales, aumentando el consumo de carbohidratos después de una exposición a estrés, es decir se activa el eje HPA a través de los receptores CRF-R2 y se reporta en pacientes un efecto de bienestar, debido al aumento en la secreción de insulina y la proporción de triptófano en plasma; lo cual aumenta la liberación de serotonina involucrada también en el control del humor y de la alimentación (Wurtman & Wurtman, 1998).

Otros estudios han reportado que la exposición crónica a factores estresantes de cierta severidad disminuyen la ingesta y el peso en ratas, a pesar de esto, el tipo la duración y la severidad puede modificar la respuesta al estrés proponiendo que el estrés puede producir un aumento o una disminución en la ingesta, dependiendo de la naturaleza del estresor (Gamaro, *et al.*, 2003).

Se suma como evidencia de la participación de corticosterona en la regulación energética, su presencia a lo largo del ciclo circadiano, caracterizado por un aumento en la fase de oscuridad para los animales nocturnos, seguido de bajas concentraciones a la mitad de la fase oscura y una rápida retroalimentación por activación en el caso del estrés (Vázquez, *et al.*, 2001).

La administración de Ucn 2 se ha visto cuenta con un efecto sobre la neurotransmisión serotoninérgica y este efecto puede ser bloqueado por el antagonista selectivo de los receptores antisauvagina-30 (AS-30), demostrando la coparticipación en la regulación de ambos sistemas (Day, *et al.*, 2004, Amat. *et al.*, 2004).

Diversos estudios han demostrado que la administración de CRH y de los péptidos de esta familia son claves para mediar la respuesta al estrés, la cual incluye la hiperactividad del eje hipotálamo pituitaria adrenal (HPA), aumentando las señales simpáticas e inhibiendo la alimentación (Jezova, *et al.*, 1999).

Se ha demostrado además que CRH del SNC esta involucrado en la regulación de la respuesta de epinefrina adrenal, así como hipoglucemia inducida por insulina jugando un papel importante en la mediación del disparo de neuronas noradrenérgicas en el *locus ceruleus*.

La integración de este receptor a la respuesta dada por el sistema serotoninérgico a través de receptor 5-HT_{1A}, en lo que concierne a la alimentación, genera diversas dudas y permite intentar explicar una parte de esta compleja regulación.

III. Planteamiento del Problema

En la actualidad se sabe que

La estimulación de los receptores 5HT_{1A} en el NPV, promueven la aparición temprana de la saciedad y el desarrollo atípico de la secuencia de saciedad conductual (SSC).

La activación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, con el agonista 8-OH-DPAT, aumenta la secreción de la ACTH y corticosterona.

La administración sistémica (intraperitoneal) de 8-OH-DPAT, aumenta la concentración de glucosa, sugiriendo su participación en el sistema simpatoadrenomedular.

Se desconoce:

El mecanismo por el cual la activación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, participan en la modulación de la ingesta y en las preferencias dietarias.

El mecanismo por el cual la activación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, participan en la expresión de la secuencia de saciedad conductual y en la

El mecanismo por el cual los receptores CRF-R2 del NPV co-participan en la modulación de ingesta y las preferencias dietarias, al ser activados los receptores 5-HT_{1A}.

El mecanismo por el cual los receptores CRF-R2 del NPV co-participan en la expresión de la secuencia de saciedad conductual, al activar los receptores 5-HT_{1A}.

Como la activación de los receptores 5-HT_{1A} y el antagonismo de los receptores CRF-R2 del NPV, producen cambios en las concentraciones séricas glucosa triglicéridos, colesterol y corticosterona.

IV. Hipótesis

Hipótesis Alternativa (Ha): La estimulación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, generará cambios en la ingesta de alimento, secuencia de saciedad conductual y en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona.

Hipótesis Nula (Ho): La activación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, no generará cambios en la ingesta de alimento, secuencia de saciedad conductual y en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona..

H1: La estimulación del receptor 5-HT_{1A} del NPV, cuentan con un efecto en la selección dietaria de proteínas, carbohidratos y grasas e ingesta total.

H2: La estimulación del receptor 5-HT_{1A} del NPV, produce un efecto en la expresión de la secuencia de saciedad conductual.

H3: El antagonismo del receptor CRH-R2 y la estimulación del receptor 5-HT_{1A}, evidenciara la co-participación del sistema CRH y serotoninergico en la modulación de la selección dietaria (proteínas, carbohidratos y grasas), la ingesta total, en la expresión de la secuencia de saciedad conductual y en la tasa local de alimentación.

H4: El antagonismo del receptor CRH-R2 y la estimulación del receptor 5-HT_{1A}, produce la activación del eje hipotálamo pituitaria adrenal y del sistema simpato adrenomedular, reflejándose en parámetros bioquímicos y hormonales (glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona).

V. Objetivo General

Evaluar la participación de los receptores 5-HT_{1A} del núcleo paraventricular hipotalámico en la regulación de la glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona sistémica post-ingesta

VI. Objetivos Particulares

- 1- Evaluar el efecto de la activación de los receptores 5-HT_{1A} del NPV en la selección dietaria (proteínas, carbohidratos y grasas) e ingesta total.
- 2- Evaluar el efecto de la activación de los receptores 5-HT_{1A} del NPV en la expresión de la secuencia de saciedad conductual y la taza local de alimentación.
- 3- Evaluar el efecto del antagonismo de los receptores CRH-R2 y la activación de los receptores 5-HT_{1A} del NPV, en la selección dietaria (proteínas, carbohidratos y grasas) e ingesta total.
- 4- Evaluar el efecto del antagonismo de los receptores CRH-R2 y la activación de los receptores 5-HT_{1A} del NPV, en la expresión de la secuencia de saciedad conductual.
- 5- Determinar las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona, al antagonizar los receptores CRH-R2 y activar los receptores 5-HT_{1A} del NPV post-ingesta.

VII. Materiales y métodos

a. Animales

Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso de 200-230 g. Los animales fueron provistos por el bioterio de la UNAM campus Iztacala. Los procedimientos utilizados en este estudio cumplieron con la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

b. Dietas

El alimento y el agua estuvieron disponibles *ad libitum*, durante toda la investigación. Las dietas utilizadas constaron de: hidratos de carbono (harina de maíz Maseca, maíz nixtamalizado, contenido de proteínas 8%, carbohidratos 85.4%, grasas 6.6%, Molinos Azteca de Chalco S.A. de C.V., Planta Teotihuacan), proteínas (proteína aislada de soya 90% marca Soya Profam 646, distribuido por Food Proteins Corporation, S.A. de C.V., ADM Protein specialties division Decatur, IL 62525 U.S.A.), grasas (manteca vegetal Inca, elaborada por Anderson Clayton y Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México). El agua fue enriquecida con Vitater suplemento vitamínico (Laboratorios Maver), la dosis aplicada fue de 0.15 g /lt.

c. Fármacos

Los fármacos que se usaron fueron: (\pm)-8-Hydroxy-2-(dipropylamino)tetralin, (\pm)-8-OH-DPAT, agonista selectivo del receptor 5HT_{1A}, *N*-{2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazini]etil}-*N*-(2-piridini)ciclohexanecarboxamida, WAY-100635 maleate salt antagonista selectivo 5HT_{1A}, Antisauvagina-30 antagonista selectivo CRH-R2, adquiridos con Sigma Chemical Co. St Louis MO. Estos fármacos fueron diluidos en solución salina fisiológica e infundidos a una velocidad de 0.5 μ l/ 3 min. en el NPV. Para asegurar una difusión completa de las sustancias, el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía para ser retirado posteriormente. La administración de los fármacos fue por medio de una jeringa digital para fluidos de alta precisión (Hamilton Co., Reno, NV.).

d. Procedimiento

Se colocaron a los animales de manera aleatoria en cajas habitación individuales, con tres comederos, en los que se proporciono a cada sujeto una dieta de fuentes separadas para proteínas, carbohidratos y grasas. Cada nutrimento se cambio de lugar de acuerdo a un orden preestablecido para evitar “preferencia de lugar”. Una semana fue el lapso de tiempo bajo estas condiciones. Se dio acceso libre a comida y agua. El ciclo de luz fue invertido luz /oscuridad de 12x12 hr. y fue controlado por un dispositivo de encendido y apagado automático (timer). Los animales se pesaron una hora antes de iniciar el ciclo de oscuridad (8:00 hrs.).

e. Selección de los Sujetos Experimentales

En el periodo de adaptación, se peso la ingesta de nutrientes; así como a los animales cada 24 hrs por 3 días para verificar que la ingesta de alimento y crecimiento de animales fueran adecuados; así como la adaptación a la dieta experimental. Los animales que consumieron menos del 15% o más del 50% del total de su dieta, fueron excluidos del estudio. El modelo usado permite observar a los animales en un estado aproximado al natural es así como la secuencia de saciedad conductual al inicio de la fase de oscuridad se desarrolla y puede denotar efectos generados por los fármacos, además se ha determinado que la privación produce efectos sobre la ingesta al aumentar en la primera hora de realimentación.

f. Cirugía

Los sujetos fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Sedalphorte, 35 mg/kg ip) y posteriormente se implantó estereotáxicamente una cánula de inyección en el área suprayacente del NPV. Las coordenadas estereotáxicas que se emplearon fueron: posterior a bregma + 1.4 mm, lateral + 0.5 mm, ventral + 6.4 mm (Paxinos& Watson, 1998). Los animales tuvieron un periodo de 6 días para recuperarse de la cirugía.

g. Medidas Conductuales

En todos los experimentos, el tratamiento correspondiente fue administrado aproximadamente quince minutos antes de iniciar el período de oscuridad. La recolección de datos comenzó al mismo tiempo que inicio 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 (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 la recolección de lo que cayó de los comederos), para conocer la cantidad de alimento consumido durante este tiempo.

h. Análisis de la Secuencia de Saciedad Conductual (SSC)

Para determinar que los efectos de los tratamientos sobre la ingesta de alimentos, no son producto de mecanismos conductuales indirectos (sedación, hiperactividad, náusea) y están relacionados con el proceso de satisfacción (terminación de la alimentación), y/o al desarrollo de la saciedad (inhibición progresiva de la alimentación), se empleó el análisis de la secuencia de saciedad conductual. El registro de duración continua de 60 min, fue dividido en 12 periodos de 5 min cada uno y se midió la duraciones de cuatro categorías conductuales, mutuamente excluyentes: alimentación, descanso (inactividad motora con o sin ojos cerrados, la cabeza del sujeto se encuentra en el piso de la caja habitación), actividad motora y acicalamiento. Durante el mismo periodo de 60 minutos se determinó la cantidad de alimento ingerido (g).

i. Tasa Local de Alimentación

La tasa local de alimentación se analizó en función de los resultados obtenidos de la conductual y la ingesta, debido a que la cantidad de alimento que se consume (g) entre la duración de los episodios (s), determinan este parámetro.

j. Diseño Experimental

El diseño experimental constó de seis grupos: el grupo control, al cual se le administró el vehículo (vh, solución salina fisiológica), n=6, el segundo grupo experimental tratado con el agonista al receptor 5HT_{1A}, 8-OH-DPAT, n=6; la dosis fue de 0.525 µg, vía central en el NPV, el tercer grupo fue tratado con el antagonista del receptor 5HT_{1A}, WAY 100635, n=6, la dosis usada fue de 2 µg, el cuarto grupo consto de una administración de WAY 100635 + 8-OH-DPAT (0.525 µg /2 µg), n=6, el quinto grupo con una administración del antagonista de los receptores CRH-R2 ∞ , Antisauvagina-30, en este caso se usaron dos dosis las cuales fueron de 2 y 5 µg, n= 5 y el sexto grupo que contó con la administración de Antisauvagine-30 + 8-OH-DPAT (2 µg /0.525 µg), n=5.

En cada uno de los grupos se evaluó la secuencia de saciedad conductual, el área bajo la curva de las conductas evaluadas en la secuencia de saciedad conductual, la tasa local de alimentación (cantidad de alimento consumido por unidad de tiempo, gr/seg) la ingesta total (gr) y por cada nutriente (gr, carbohidratos, proteínas y grasas), la concentración de glucosa, la concentración de triglicéridos, la concentración de colesterol (mg/dl) y la concentración de corticosterona (ng/ml) en suero.

k. Determinación de parámetros bioquímicos y corticosterona

Al terminar el periodo de experimentación, los animales fueron decapitados con la ayuda de una guillotina e inmediatamente se colectó 1.5 ml de sangre del tronco en tubos de vidrio de 10 ml, el tubo fue colocado en una gradilla y se dejó coagular la sangre por un lapso de 15-20 min a temperatura ambiente. Cuando se observó la retracción del coágulo se centrifugó el tubo por un periodo de 10 min a 3500 rpm. Posteriormente se separó el suero (sobrenadante) empleando una

micropipeta. El suero fue almacenado en tubos *ependorf* de 1.5 ml y guardado a una temperatura de -60° C, hasta que se determinaron las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona.

l. Protocolo de extracción de la muestra

Debido a la técnica empleada para la determinación de corticosterona y el procedimiento descrito en el *kit* utilizado, se colocaron 100 μ l de suero en tubos *ependorf* de 1.5 ml, a los cuales se les adiciono etil eter. Usando un *vortex* por 30 segundos se permitió la separación de dos fases. La fase orgánica se separo y se evaporo el solvente con gas nitrógeno. El residuo obtenido se diluyo en *buffer* de extracción y usando solo 10 μ l de este se añadió nuevamente *buffer* de extracción (990 μ l).

m. Determinación de corticosterona

Técnica de Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA).

La técnica de Elisa descrita en el *kit* utilizado, opera en base a la competencia entre la corticosterona conjugada y la corticosterona en la muestra, por un número limitado de sitios de unión en el plato cubierto con anticuerpo.

La muestra o la solución estándar se añadió primero a la placa. Enseguida, se añadió la corticosterona conjugada y se mezcló e incubó a temperatura ambiente por una hora. Durante la incubación tomo lugar la competencia por sitios de unión. La placa se lavó para remover el material que no se unió. La unión de la corticosterona conjugada es detectada al agregar del sustrato que genera un color optimo después de 30 min. La prueba cuantitativa de la prueba se obtuvo al medir y comparar la lectura de la absorbancia de la muestra, con la absorbancia de la curva estándar con espectrofotómetro a 650nm. El color fue inversamente proporcional a la cantidad de corticosterona en el estándar o la muestra.

n. Determinaciones bioquímicas

La determinación de las concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol se realizaron a partir de técnicas enzimáticas de punto final.

o. Determinación Glucosa

10 µl del suero extraído se usaron para la determinación de las concentraciones de glucosa, en un primer paso se realizó una curva patrón para determinar las concentraciones conocidas con 1ml de reactivo R y 1 µl de glucose cal (patrón primario de glucosa 100mg/dl), usando agua destilada para calibrar y como blanco el reactivo R que constó de TRIS pH 7.4 (92 mmol/L), fenol (0.3 mmol/L), glucosa oxidasa (GOD, 15000U/L), peroxidasa (POD, 1000 U/L) y 4-aminofenazona (4-AF, 2.6 mmol/L), una vez realizada la lectura, llevada a cabo en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

La reacción enzimática consta de la conversión de D-glucosa a ácido D-gluconico por medio de la glucosa oxidasa con formación de peróxido de hidrógeno, usado por la reacción peroxidasa para oxidar a la 4-aminofenazona y al fenol dando lugar a una quinonaimina coloreada. La intensidad de color fue proporcional a la concentración de glucosa presente inicialmente. Produciendo la reacción enzimática de punto final de glucosa oxidasa / peroxidasa GOD-POD (spinreact).

p. Determinación de Triglicéridos

10 µl del suero extraído se usaron para la determinación de las concentraciones de triglicéridos, en un primer paso se realizó una curva patrón para determinar las concentraciones conocidas, con 1ml de reactivo R y 1 µl de triglycerides cal (calibrador primario de triglicéridos 100mg/dl), usando agua destilada para calibrar y como blanco el reactivo R que constó de GOOD, pH 6.3 (50 mmol/L), p-clorofenol (2 mmol/L), lipoprotein lipasa (LPL, 15000U/L), glicerol quinasa (GK, 500 U/L), glicerol-3-oxidasa (GPO, 3500 U/L), 4-aminofenazona (4-AF, 0.1 mmol/L) y ATP (0.1, mmol/L), una vez realizada la lectura, llevada a cabo en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm

La reacción enzimática permitieron que los los triglicéridos incubados con lipoproteínas (LPL), liberen glicerol y acidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerol fosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP, en presencia de glicerol quinasa (GK), produce glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P fue entonces convertido en dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peroxido de hidrogeno (H_2O_2) por GPO. El peroxido de hidrogeno (H_2O_2) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD), dando una coloración roja. Produciendo la reacción enzimática de punto final de triglicéridos glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) – peroxidasa (POD) (spinreact).

q. Determinación de Colesterol

10 μ l del suero extraído se usaron para la determinación de las concentraciones de triglicéridos, en un primer paso se realizó una curva patrón para determinar las concentraciones conocidas, con 1ml de reactivo R y 1 μ l de colesterol cal (calibrador primario de triglicéridos 100mg/dl), usando agua destilada para calibrar y como blanco el reactivo R que constó de GOOD, pH 6.3 (50 mmol/L), p-clorofenol (2 mmol/L), lipoprotein lipasa (LPL, 15000U/L), glicerol quinasa (GK, 500 U/L), glicerol-3-oxidasa (GPO, 3500 U/L), 4-aminofenazona (4-AF, 0.1 mmol/L) y ATP (0.1, mmol/L), una vez realizada la lectura, llevada a cabo en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 500 nm.

La determinación de colesterol se basó en la acción de tres enzimas: colesterol esterasa (CE), colesterol oxidasa (CO) y peroxidasa (POD). La 4-aminoantipirina y el ADPS (N-Etil-N-sulfopropil-n-metoxianilina), en reacción catalizada por la peroxidasa produce la formación de una quinonimina roja.

r. Análisis Histológico

El tejido cerebral fue removido después de coleccionar la sangre para el análisis histológico. Posteriormente se realizaron cortes coronales de 60 μ m de espesor con un vibratomo, para poder así verificar el sitio de implantación. Los datos de los sujetos que no estuvieron canulados en el NPV, no fueron considerados para el análisis.

s. *Tipo de análisis*

Los datos fueron expresados en medias \pm error estándar de la media. Para la ingesta de alimentos (g); el área bajo la curva, la taza local de alimentación, así como para las concentraciones de glucosa (mg/dl), colesterol (mg/dl) triglicéridos (mg/dl) y corticosterona (ng/dl). Se usó un ANOVA de una vía para las comparaciones de los grupos (control y experimentales), con un análisis *post hoc* de Tukey para la comparación de los grupos. En todos los casos se usó una $p < 0.05$, para determinar la significancia de las diferencias.

VIII. Resultados

Los resultados obtenidos en la investigación se muestran en esta sección, desglosando la ingesta de alimento total y por cada nutriente, es decir proteínas, carbohidratos y grasas (g) de todos los grupos, la secuencia de saciedad conductual, el área bajo la curva de la ingesta, descanso, acicalado y actividad motora, la tasa local de alimentación y las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona extraído.

1. Ingesta y selección dietaria.

Efecto de la activación del receptor 5-HT_{1A} e inhibición de los receptores CRF-R2 del NPV en la ingesta total y de proteínas, carbohidratos y grasas.

La ingesta total de alimento muestra una reducción significativa ($F_{(5,28)} = 5,129$, $p < 0.05$), en los animales tratados con 8-OH-DPAT comparados con el grupo control y los grupos experimentales, por otra parte los animales tratados con WAY 100635, no muestran diferencias significativas al compararlos con el grupo control y los grupos experimentales.

El efecto hipofágico sobre la ingesta total de alimento, se observa en los animales tratados con 8-OH-DPAT, este efecto es prevenido con la administración del antagonista WAY 100635, confirmando que el efecto es mediado por los receptores 5-HT_{1A}.

Por otra parte la co-administración del antagonista CRH-R2, Antisauvagina-30 (AS-30) y el 8-OH-DPAT, generó una tendencia a la hipofagia lo cual nos muestra una co-participación del sistema serotoninérgico y CRH en la modulación de la ingesta (Figura 6).

Una disminución significativa en la ingesta se hizo evidente en el consumo de carbohidratos al administrar 8-OH-DPAT, ($F_{(5,28)} = 3,196$, $p < 0.05$), como respuesta a la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} del NPV, ya que el antagonismo con el WAY 100635, previene el efecto anorexigénico sobre los carbohidratos, debido al papel que juega este nutriente sobre la síntesis de 5-HT, al producir una

disminución en la liberación de insulina, permitiendo la competencia del triptófano con otros aminoácidos.

Se presenta nuevamente una posible modulación en la ingesta al administrar AS-30 y 8-OH-DPAT, aunque este efecto no es significativo y solo se hace evidente una tendencia (Figura 6).

La ingesta de grasas muestra diferencias significativas al administrar el antagonista WAY 100635, en esta se muestra un aumento en la ingesta de este macronutriente (Figura 6).

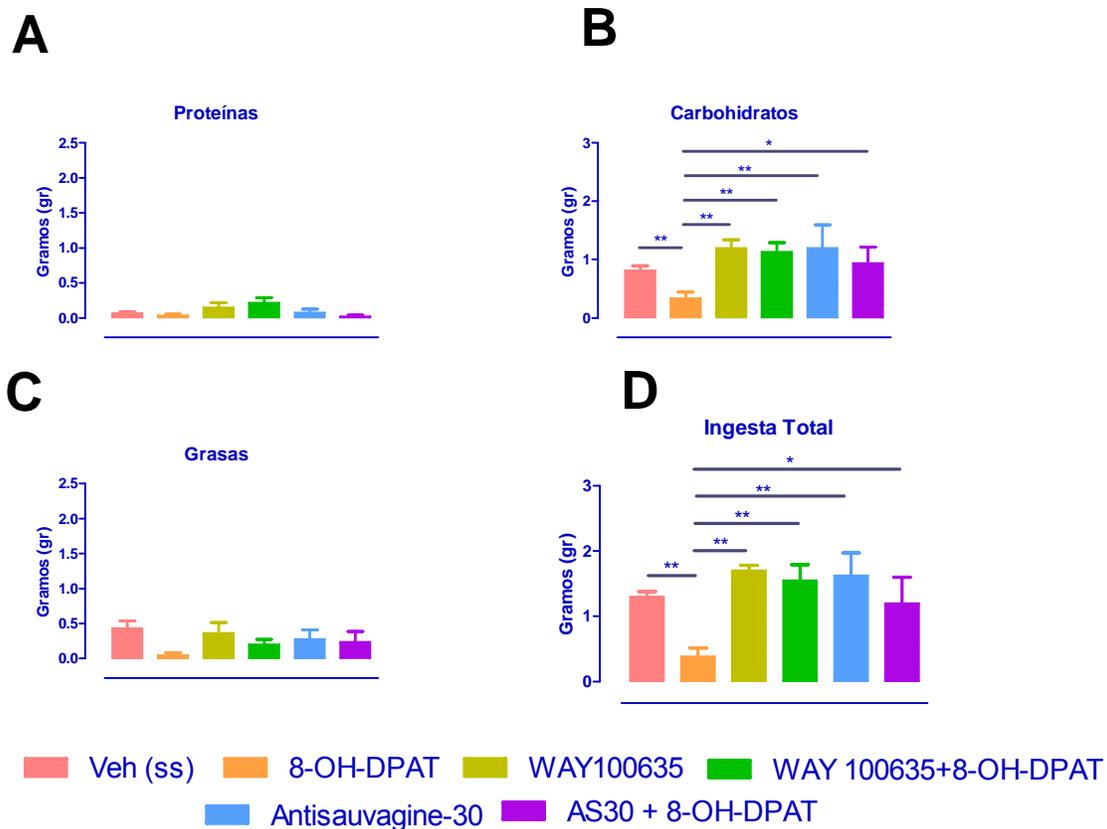


Figura 6 Efecto de la administración del vehículo (SS)(n=6), del agonista 8-OH-DPAT (n=6), del antagonista WAY 100635 (n=6), de WAY 100635 + 8-OH-DPAT (n=6), de la Antisauvagina-30 (AS-30) (n=5) y de AS-30 + 8-OH-DPAT (n=5), en la ingesta de proteínas (A), carbohidratos (B) y grasas (C) e ingesta total del alimento (D). Los datos están expresados en términos de la media \pm EEM de la ingesta total de alimento. La significancia de las diferencias entre los grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

2. *Secuencia de Sacidad Conductual*

Efecto de la activación de los receptores 5HT_{1A} del NPV sobre la secuencia de sacidad conductual.

La secuencia de sacidad conductual, contó con un desarrollo típico al administrar el vehículo (ss), el cual se caracteriza por iniciar con una fase de alimentación, pasando por picos de actividad y la conducta de acicalamiento, hacia una eventual fase predominante de descanso, la sacidad se expresa cuando se alcanza el pico mayor en esta actividad sobre la ingesta (Halford, *et al.*, 1998) presentando la intersección entre la ingesta y el descanso entre el periodo 8-9 (Figura 7A).

La administración del agonista 8-OH-DPAT, promueve el desarrollo temprano de la sacidad presentándose la intersección entre la ingesta y el descanso en el periodo 7 (Figura 7B).

La administración del antagonista WAY 100635, muestra un patrón típico en lo que respecta a la secuencia de sacidad conductual, presentándose la intersección entre la ingesta y el descanso entre el periodo 8 (Figura 7C).

La administración del antagonista WAY 100635 y del antagonista 8-OH-DPAT, mostró un patrón típico y se presento la intersección de la ingesta y descanso entre el periodo 5-6 (Figura 7D).

La administración de Antisauvagina-30 (AS-30), antagonista de los receptores CRH-R2, muestra la intersección entre la ingesta y el descanso en el periodo 7 (Figura 7E).

La administración del antagonista AS-30 y el agonista 8-OH-DPAT en el NPV, mostró una secuencia de sacidad en donde la intersección entre la ingesta y el descanso se ubico entre el periodo 1-2 (Figura 7F).

Secuencia de Siedad Conductual

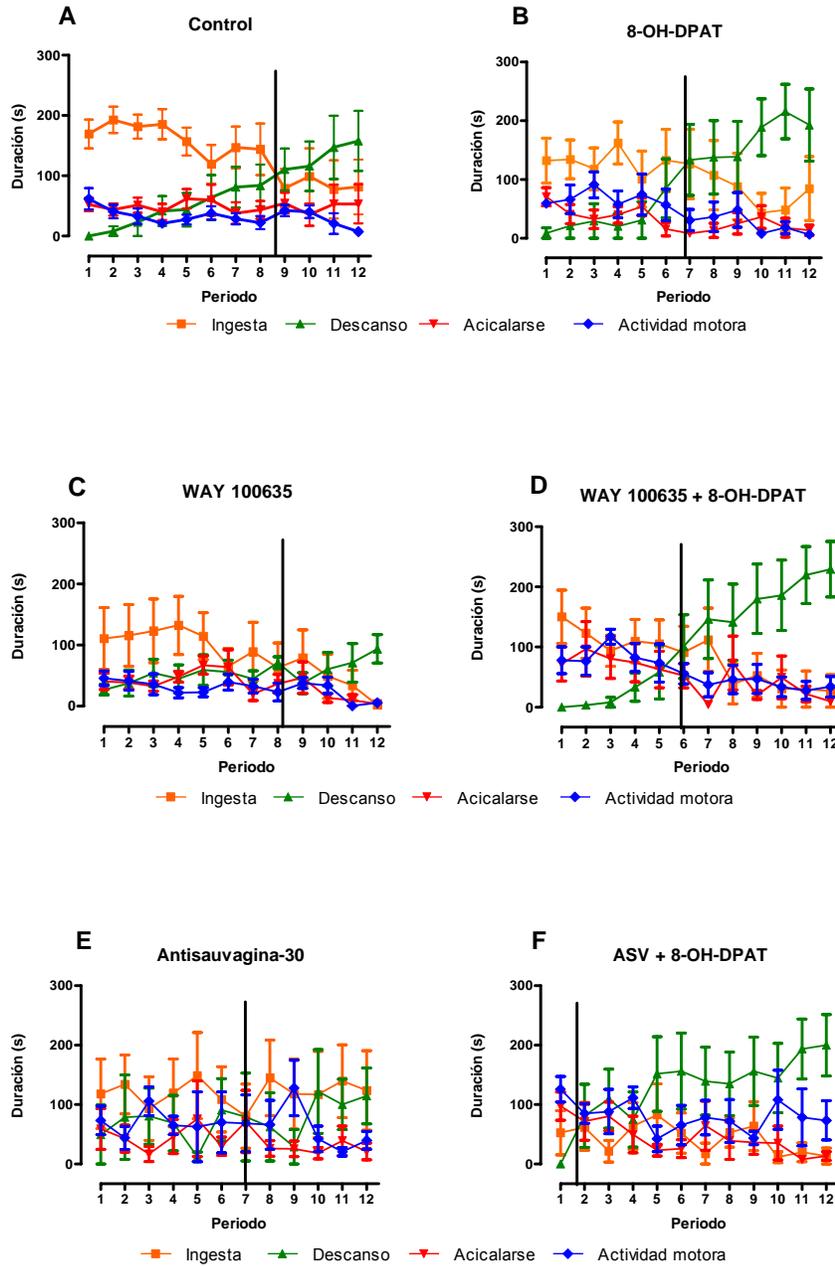


Figura 7. Efecto de la administración de vehículo (ss), n=6 (7A), agonista 8-OH-DPAT, n=6 (7B), antagonista WAY 100635, n=6 (7C), antagonista WAY 100635 y el agonista 8-OH-DPAT, n=6 (7D), antagonista CRH-R2 Antisauvagina-30, n=5 (7E) y antagonista AS-30 y el agonista 8-OH-DPAT, n=6 (7F), en la organización temporal de la secuencia de siedad conductual. Los datos están expresado en términos de las medias de las duraciones acumuladas de las cuatro categorías conductuales (descanso, ingesta, acicalarse y actividad motora). El registro de duración continua fue de 60 minutos dividido en 12 periodos de 5 minutos. Los datos están expresados en términos de la media \pm EEM. La línea vertical indica el momento de la transición entre la conducta de ingesta y la conducta de descanso.

3. Área bajo la curva (ABC)

El área bajo la curva determinada a partir de la secuencia de saciedad conductual (segundos dedicados a comer, descansar, acicalarse y actividad motora / periodo), no mostró diferencias significativas en el tiempo que invirtieron los animales en comer ($F_{(5,28)}=1,518$, $p>0.05$), al administrarles todos los tratamientos (Figura 8).

En lo que respecta al área bajo la curva del descanso no se mostró diferencias significativas en el tiempo que invirtieron los animales ($F_{(5,28)}=0.7413$, $p>0.05$), al administrarles todos los tratamientos (Figura 8).

En lo que respecta al área bajo la curva de acicalarse no se mostró diferencias significativas en el tiempo que invirtieron los animales ($F_{(5,28)}=1.091$, $p>0.05$), al administrarles todos los tratamientos (Figura 8).

En lo que respecta al área bajo la curva de la actividad motora no mostró diferencias significativas en el tiempo que invirtieron los animales ($F_{(5,28)}=1.796$, $p>0.05$), al administrarles todos los tratamientos (Figura 8).

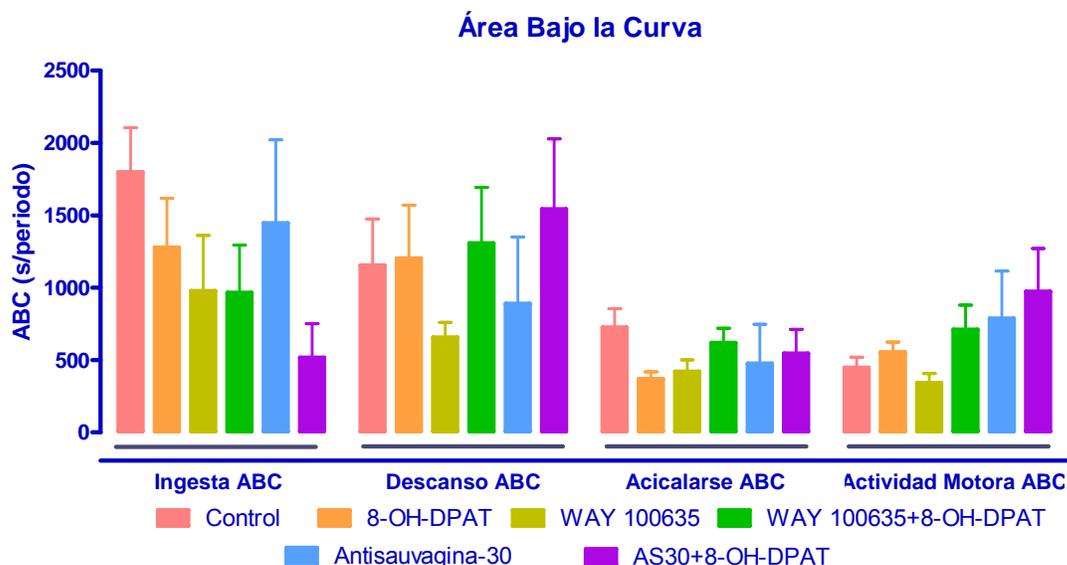


Figura 8. Efecto de la administración del vehículo (SS)(n=6), del agonista 8-OH-DPAT (n=6), del antagonista WAY 100635 (n=6), de WAY 100635 + 8-OH-DPAT (n=6), de la Antisauvagina-30 (AS-30) (n=5) y de AS-30 + 8-OH-DPAT (n=5), en el área bajo la curva de la ingesta, descanso, acicalarse, actividad motora. Los datos están expresados en términos de la media \pm EEM del área bajo la curva.

4. Tasa local de alimentación

La cantidad de alimento consumido por unidad de tiempo, se analizó a través de la tasa local de alimentación, sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($F_{(5,28)} = 0.7926$, $p > 0.05$) entre los grupos (Figura 9).

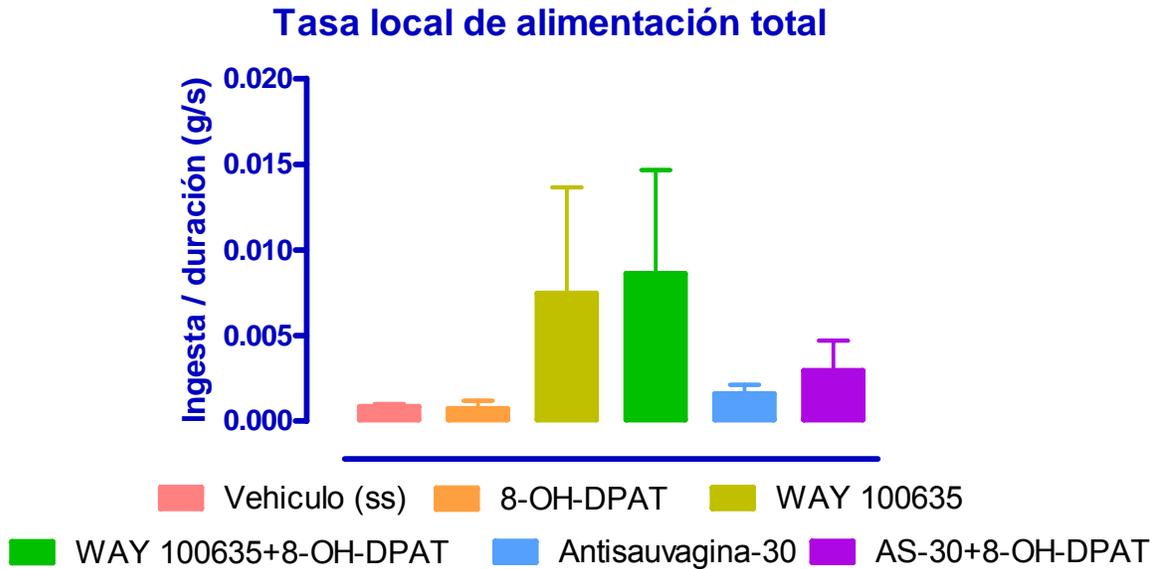


Figura 9. Efecto de la administración del vehículo (SS)(n=6), del agonista 8-OH-DPAT (n=6), del antagonista WAY 100635 (n=6), de WAY 100635 + 8-OH-DPAT (n=6), de la Antisauvagina-30 (AS-30) (n=5) y de AS-30 + 8-OH-DPAT (n=5), en la tasa local de alimentación. Los datos están expresados en media \pm EEM.

5. *Parámetros Bioquímicos y de corticosterona*

Glucosa.

La administración del agonista 8-OH-DPAT produce un aumento en la concentración de glucosa, que se revierte al administrarse el antagonista WAY 100635, por otra parte se observa una disminución significativa, en las concentraciones de glucosa ($F_{(5,28)} = 38.05$, $p < 0.05$), al comparar el grupo experimental vs los grupos con administración del antagonista AS-30 y el agonista 8-OH-DPAT (Figura 10).

Triglicéridos

Las concentraciones de triglicéridos muestran una disminución al administrarse el agonista 8-OH-DPAT, este efecto no se presenta al administrarse el antagonista WAY 100635 ni con la administración de AS-30, pero la coadministración de AS-30 y 8-OH-DPAT, en este caso si cuenta con una disminución significativa en la concentración ($F_{(5,28)} = 21.16$, $p < 0.05$), debemos considerar que la concentración de triglicéridos es un indicador directo y proporcional de la ingesta, pese a que en la ingesta se muestra solo una tendencia, en la cual se hace evidente una leve hipofagia, los triglicéridos muestran un parámetro paralelo (Figura 10).

Colesterol

Las concentraciones de colesterol muestran un aumento significativo ($F_{(5,28)} = 15.43$, $p < 0.05$), al administrar el agonista 8-OH-DPAT, este efecto se previene al administrar el antagonista WAY 100635 y AS-30 (Figura 10).

Corticosterona

La concentración de corticosterona mostró un aumento significativo al administrar el agonista 8-OH-DPAT ($F_{(5,28)} = 55.54$, $p < 0.05$) y una disminución significativa al antagonizar los receptores CRH-R2 (Figura 10).

Parámetros bioquímicos y corticosterona

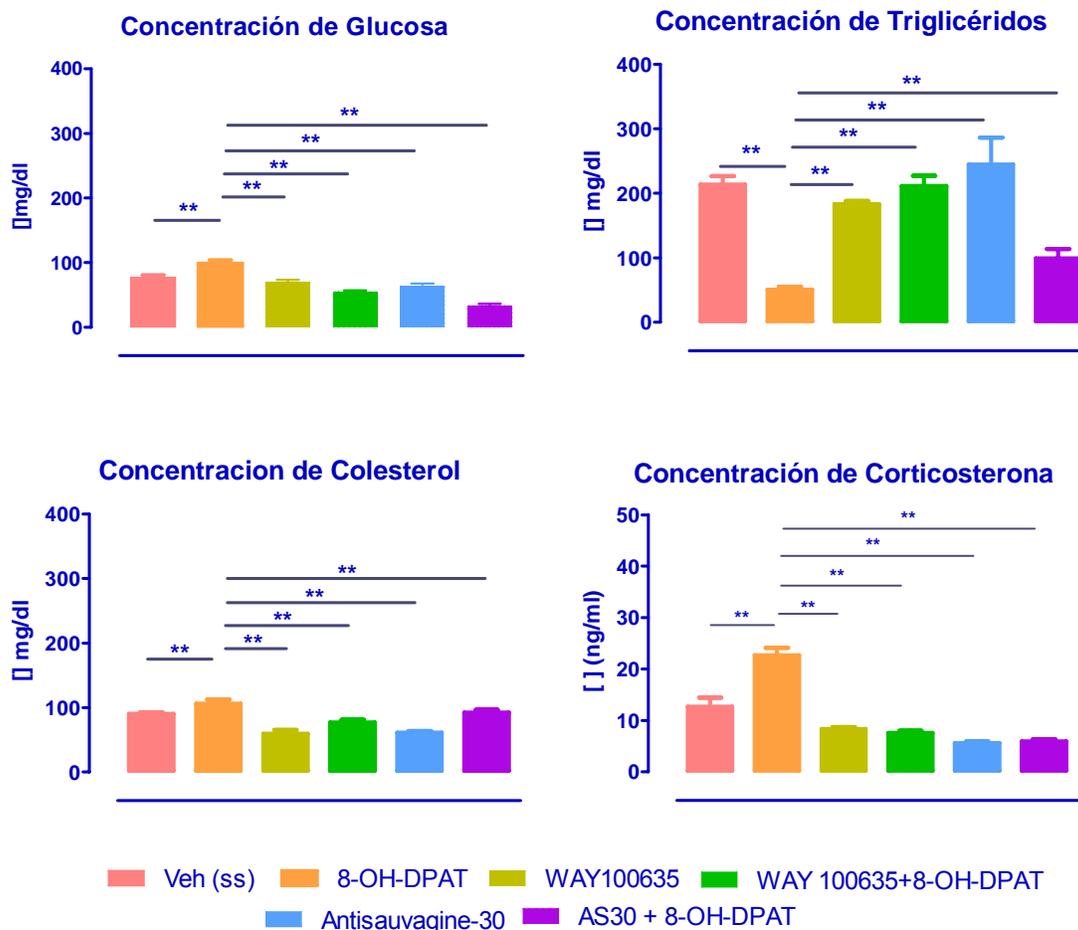
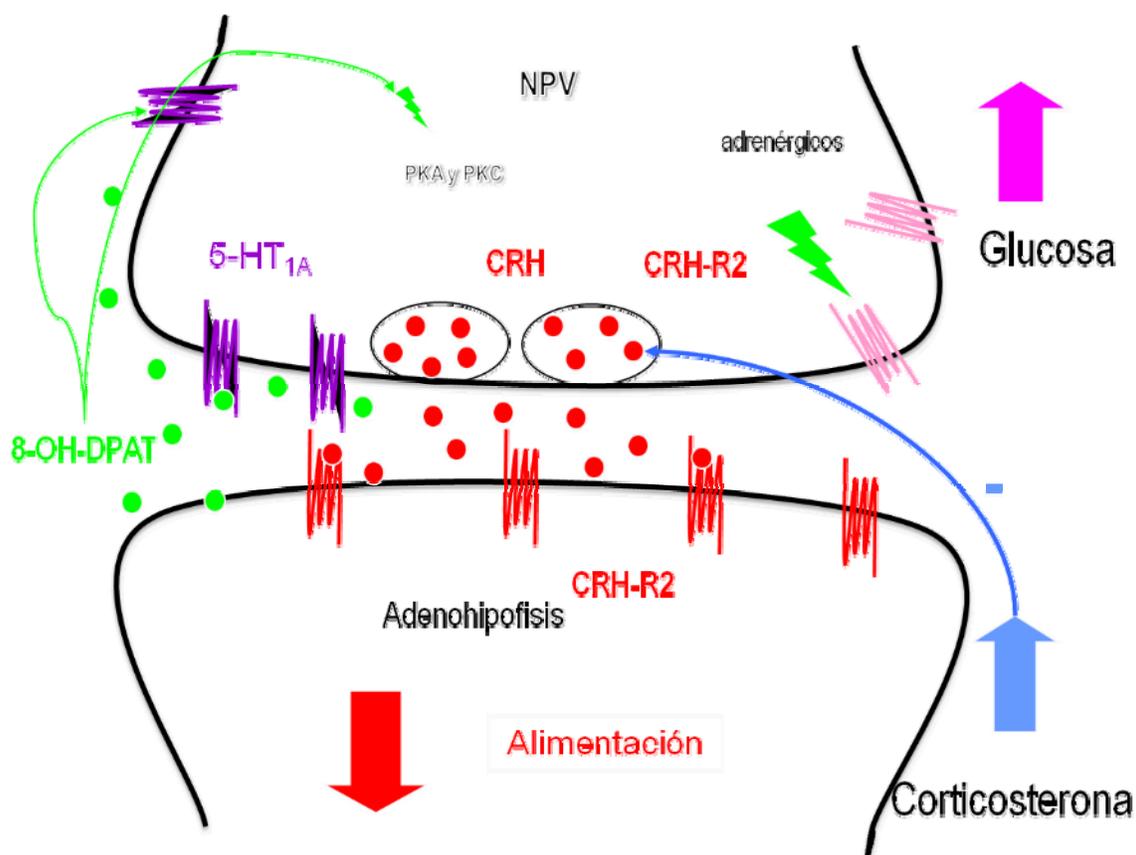


Figura 10 Efecto de la administración del vehículo (SS) (n=6), del agonista 8-OH-DPAT (n=6), del antagonista WAY 100635 (n=6), de WAY 100635 + 8-OH-DPAT (n=6), de la Antisauvagine-30 (AS-30) (n=5) y de AS-30 + 8-OH-DPAT (n=5), en la concentración de glucosa, triglicéridos, colesterol y corticosterona. Los datos están expresados en términos de la media \pm EEM. La significancia de las diferencias entre los grupos fue determinada por la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

IX. Discusión

Los resultados de la presente investigación mostraron un efecto hipofágico, al evaluar la ingesta total, así mismo el efecto sobre la ingesta de nutrimentos, reveló una hipofagia directa sobre carbohidratos (Esquema 2).



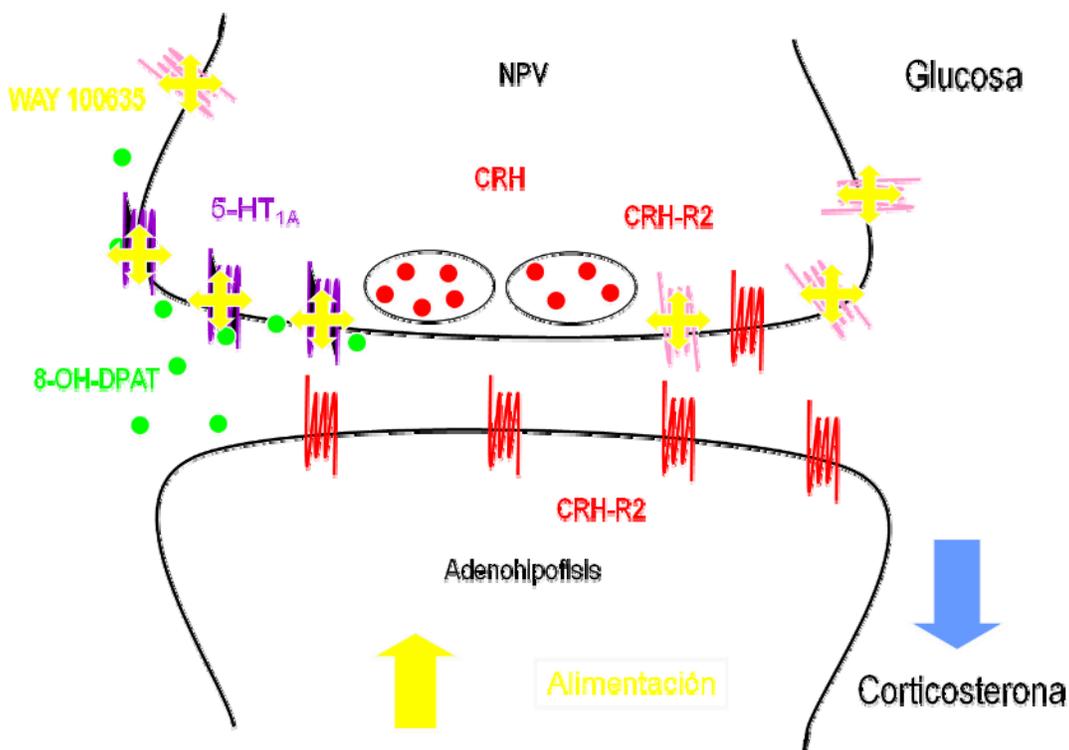
Esquema 2 Efecto de la administración del agonista 8-OH-DPAT, en las neuronas de la zona parvocelular del NPV.

Esto concuerda con lo reportado por autores como Dourish y colaboradores en 1986 (a y b), que mostró evidencia de un efecto hipofágico dosis dependiente a través del tiempo, bajo una administración sistémica, efecto asociado con la estimulación postsináptica de receptores 5-HT_{1A}, además en este estudio señalan que se deben tomar en cuenta la línea base de ingesta debido a que este es un factor para la presencia de diferencias.

Por su parte Blundel en 1986, al tratar con 1 mg de triptofano (aminoácido precursor de la 5-HT), a voluntarios normales observo, que al permitirles escoger su alimento de fuentes altas en proteínas y carbohidratos, los sujetos disminuían la ingesta de carbohidratos de forma significativa, luego de 3 hrs. de la administración, revelando la participación serotoninérgica en las preferencias dietarias.

Integrando estas señales se ha señalado que el aumento en la ingesta de carbohidratos, permite el aumento en la concentración de insulina, paralelo a la concentración de glucosa, esto permite el paso de triptófano produciendo la síntesis y liberación de serotonina, la cual inhibirá la ingesta.

La administración del antagonista WAY 100635, revirtió el efecto en la ingesta provocado por la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} (Esquema 3) y generó una hipofagia en la ingesta de grasas, al ser administrado en el NPV, pese a que no se encontraron diferencias significativas en la ingesta total al administrar el antagonista.



Esquema 3 Efecto de la administración del antagonista WAY 100635, en las neuronas de la zona parvocelular del NPV.

Fletcher y colaboradores en 1996, comprobaron que el WAY 100635 (PK_B 9.47), previene el efecto electrofisiológico inducido por la serotonina vía la estimulación del receptor 5-HT_{1A}, a nivel post sináptico y somatodendrítico *in vitro* e *in vivo* y confirmaron la interacción selectiva por el receptor 5-HT_{1A}, al desplazar la unión del agonista 8-OH-DPAT al receptor (Defraiteur, *et al.*, 2007).

El bloqueo del receptor 5-HT_{1A} por parte de este antagonista ha sido observado en otras investigaciones como la realizada por Steffens y colaboradores en el 2010, donde también se revirtió el efecto generado por el agonista 8-OH-DPAT.

Aunque sabemos que algunos autores mencionan que la afinidad del agonista WAY 100635 no solo es hacia los receptores 5-HT_{1A}, debido a que dosis altas agonizan receptores D4 y que esto podría influir en el aspecto hedónico de la ingesta, este efecto no es determinante para la ingesta de grasas, debido a que la estimulación de los receptores D4 producen la disminución en la ingesta (Martel, *et al.*, 2007).

York y colaboradores en el 2010, proponen que la enterostatina, produce un efecto directo en la ingesta de grasas, al probar que actúa sobre los mecanismos de saciedad controlados por dopamina y serotonina.

Por otra parte experimentos realizados por Lin y colaboradores en el 2005, demuestran que al antagonizar receptores serotoninérgicos del tipo 5-HT_{1B}, se produce una disminución en la ingesta de grasas.

Es por ello que no debemos dejar de considerar que este efecto antagónico puede estar mediado por enterostatina, debido a que el receptor 5-HT_{1A} pertenece a la misma familia que el receptor 5-HT_{1B}.

La estimulación de los receptores 5-HT_{1A} y el antagonismo de los receptores CRH-R2 del NPV, muestran una significancia marginal con respecto al control así como al resto de los grupos experimentales, esto probablemente se debió al número de unidades experimentales usadas en el estudio.

Considerando que las neuronas CRH de la zona parvocelular del NPV, expresan receptores 5-HT_{1A}, y que el estímulo que ejerce el 8-OH-DPAT puede activar vías de señalización de PKA y PKC que a su vez producen la liberación de CRH además

de aumentar la concentración de ACTH, el uso del antagonista AS-30 podría influenciar el efecto anorexigénico observado, tanto CRH como ACTH son consideradas moléculas anorexigénica y podría deberse a un efecto co-regulado tanto por la serotonina como por el eje HPA a través de estas hormonas (Hu, *et al.*, 1992).

Otros estudios no solo mencionan el aumento de CRH o de ACTH al administrar 8-OH-DPAT también muestra actividad cFos en estas neuronas (Laflamme *et al.*, 1999, Zhang, *et al.*, 2001).

El uso del antagonista AS-30 pretendía ser la forma a través de la cual se observaría este efecto pero este solo fue marginalmente significativo por lo que se sugiere un grupo experimental mayor que permita definir si el efecto es significativo.

La secuencia de saciedad conductual mostró un desarrollo típico al administrar el agonista 8-OH-DPAT, pero se promueve el periodo en el que se intersecta la ingesta y el descanso.

El efecto anorexigénico ocasionado por el agonista 8-OH-DPAT, coincide con la interrupción de la SSC, López y colaboradores en el 2007, hablan de este efecto sobre la expresión de la secuencia de saciedad conductual e indican que se presenta un desarrollo típico con un aumento en las conductas de actividad.

La administración de WAY 100635, cuenta con un desarrollo típico y con características cualitativas similares a las encontradas en el grupo con administración de vehículo; Ebenecer y colaboradores en el 2001; al administrar este antagonista encontraron que no existe efecto en el consumo de alimento.

La coadministración de WAY 100635 y 8-OH-DPAT, demuestra el papel del receptor 5-HT_{1A} en el control serotoninérgico de la conducta alimentaria, siendo directamente relacionado con el proceso de saciedad, debido a que el WAY 100635 previene selectivamente la disminución en el consumo de alimento y el cesación temprana de la ingesta, producida por el 8-OH-DPAT.

La secuencia de saciedad conductual muestra cambios en la intersección de la ingesta y el descanso, al adelantarse con respecto al control y predominando el descanso, aunque el patrón no es típico, el área bajo la curva no reveló diferencias estadísticamente significativas.

El receptor CRH-R2 media la conducta ansiolítica, debido a esto AS-30, permite un efecto ansiogénico significativo, sin afectar la locomoción de los sujetos (Brauns, *et al.*, 2001, Takahashi, *et al.*, 2001).

La administración del agonista 8-OH-DPAT, generó un efecto hiperglucemiante, que contrasta con el efecto anorexigénico, aunque se sabe que para organismos con actividad nocturna, el aumento de glucosa previo a la fase de oscuridad, es un indicador de preparación para la actividad, las concentraciones se elevan por arriba del grupo con administración de vehículo.

La síntesis de serotonina es dependiente de la ingesta de carbohidratos, debido a la relación entre la insulina y los aminoácidos largos, Considerando los hallazgos podemos decir que efecto sobre la ingesta de carbohidratos es determinante, debido al efecto con el que cuenta este nutriente y tomando en cuenta el efecto sobre el aumento en la liberación de insulina, que provoca una mayor concentración de glucosa en sangre, generando que el triptófano cuente con una mayor posibilidad de pasar la barrera hematoencefálica y pueda facilitar la síntesis. Es así que la síntesis de 5-HT es dependiente de la ingesta de carbohidratos y produce un retro-alimentación negativa (*feedback* negativo) en el consumo posterior de este nutriente en la síntesis de serotonina.

Chaouloff y colaboradores en 1990, mencionan que el 8-OH-DPAT, produce hipotensión, seguida de un aumento en la presión sanguínea, que tiene su origen en el efecto inhibitor simpático del 8-OH-DPAT. La liberación adrenérgica y las propiedades hiperglicémicas del 8-OH-DPAT, se observaron en este estudio, el cual apoya la hipótesis que señala que la activación de los receptores 5-HT_{1A}, median la liberación de adrenalina e hiperglicemia, por efecto de la acción tardía excitatoria en el sistema simpato adrenal, es así como la serotonina puede

participar en la regulación de la glucosa debido a la liberación de adrenalina (Korte, *et al.*, 1991, Yamada, *et al.*, 1998).

La inyección de CRH i.c.v. se sabe aumenta los niveles de catecolaminas adrenomedulares en plasma además las neuronas parvocelulares del NPV participan en la regulación simpática siendo crítica para la regulación de adrenalina (Jezova, *et al.*, 1999)

Si el episodio fuese hiperfágico, el aumento en la glucosa sería un efecto clásico, pero la hipofagia y el aumento en la glucosa, hacen clara la participación de otros sistemas que hacen posible el aumento de glucosa por medio de otras vías como la gluconeogénesis dentro de los sistemas que podrían estar participando tenemos al sistema simpático adreno medular y al eje hipotálamo pituitaria adrenal.

En estudios realizados con ratas adrenalectomizadas se observa como el efecto hiperglucemiante inducido por el 8-OH-DPAT, puede ser prevenido por el eje HPA (Yamada, *et al.*, 1998).

El NPV recibe señales de neuronas adrenérgicas y noradrenérgicas de la región A2/C2 originadas del núcleo del tracto solitario, estas contribuyen también a la regulación de la concentración de glucosa, debido a que los impulsos adrenérgicos y noradrenérgicos representan la mayor parte de actividad excitatoria del eje HPA, al promover la liberación de CRH y ACTH (Herman, *et al.*, 2003).

El efecto noradrenérgico es mediado por interneuronas glutamatérgicas que median a su vez en efecto de CRH.

La concentración de triglicéridos disminuye al administrar intra-PVN, el agonista 8-OH-DPAT, este es uno de los principales indicadores metabólicos, acorde con el efecto hipofágico.

La evidencia reciente indica, que los niveles elevados de triglicéridos tienen impacto en mecanismos hipotalámicos que controlan la ingesta y pueden inducir la hiperfagia, en ratas con peso normal. La concentración de triglicéridos cuenta con relación directa con la ingesta y con la estimulación de mecanismos centrales involucrados en el proceso anabólico. (Karatayeu, *et al.*, 2009).

Los triglicéridos contribuyen al aumento de la ingesta calórica al reducir la sensibilidad a péptidos del sistema gastrointestinal, debido a que la oxidación está menos regulada que la de carbohidratos (Gaysinskaya, *et al.*, 2007).

El efecto en la ingesta se observó también en el consumo de grasas, el cual disminuyó de forma significativa a la par de la concentración de triglicéridos en suero.

Se sabe que la absorción de grasa del sistema gastrointestinal, causa un rápido aumento de los lípidos circulantes, en proporción directa a la cantidad de grasa consumida (Gaysinskaya, *et al.*, 2007).

La regulación por parte del NPV y su papel en el eje HPA, también regula la concentración de ácidos grasos, debido al gasto energético que se origina de la actividad motora y que no puede ser solo sostenida por la adquisición de glucosa, poniendo en marcha la maquinaria que generara los precursores para la síntesis de glucosa a partir de la lipólisis.

El efecto en la concentración de colesterol fue un aumento en la concentración sérica de esta molécula.

La hipercolesterolemia puede ser consecuencia de múltiples factores como: ingesta excesiva, un aumento en la síntesis de colesterol o el metabolismo anormal de colesterol. En el caso de pacientes con anorexia se ha visto que muchos factores pueden interferir con el metabolismo de lípidos esto incluye la baja ingesta de lípidos, disminución energética, estrés (que induce la secreción de adrenalina y glucagón) y anormalidades en el eje HPA (altos niveles de CRH y altos niveles de cortisol). El eje HPA puede inducir la síntesis de colesterol (Feillet, *et al.*, 2000).

Estudios en los cuales se evaluaron a pacientes con depresión en la cual se sabe los niveles de serotonina son bajos registraron una baja concentración en los niveles de colesterol lo que podría influir en la disponibilidad de los receptores serotoninérgicos (Jow, *et al.*, 2006).

La administración del agonista 8-OH-DPAT en el NPV, aumentó la concentración de corticosterona en suero, esto es un indicador de la actividad del eje HPA, aunque el

efecto orexigénico de la corticosterona no fue observado debido a que su acción posiblemente se desarrollaría posterior a la hora de registro usada.

A nivel del NPV la liberación de serotonina de las terminales del rafe dorsal, actúa sobre los receptores 5-HT_{1A}, aumentando la concentración de ACTH y la liberación de corticosterona. Estudios realizados por Fone & Tropham en el 2002, demostraron que concentraciones elevadas de corticosterona disminuye la expresión de los efectos mediados por agonista 8-OH-DPAT, incluida la hiperglicemia antes mencionada en los datos de este trabajo.

Estudios realizados por Lai y colaboradores en el 2003 indican que la corticosterona es regulada por la exposición a serotonina y noradrenalina a través de los receptores 5-HT_{1A} y β -adrenérgicos, por su parte los niveles de corticosterona regulan el funcionamiento y la expresión del receptor 5-HT_{1A}, ya que la administración crónica reduce el mRNA del receptor (Hensler, *et al.*, 2007).

Las concentraciones de corticosterona aumentaron al estimular los receptores 5-HT_{1A} del NPV, el efecto opuesto se obtuvo al bloquear los receptores CRH-R2 y aunque el efecto no fue significativo se acompañó por una modulación en la ingesta, esto permite señalar que se el eje HPA fue activado.

Además diversas investigaciones señalan que los niveles altos de corticosterona producen lipólisis y proteólisis debido al gasto energético que implica la activación del eje HPA (Nieuwenhuizen, *et al.*, 2008)

Las neuronas CRH de la zona parvocelular, están directamente inervadas por neuronas GABAérgicas, con expresión de receptores GABA-A, que al ser estimulados con muscimol inhiben la secreción de corticosterona y permiten la expresión orexigenica de este neurotransmisor.

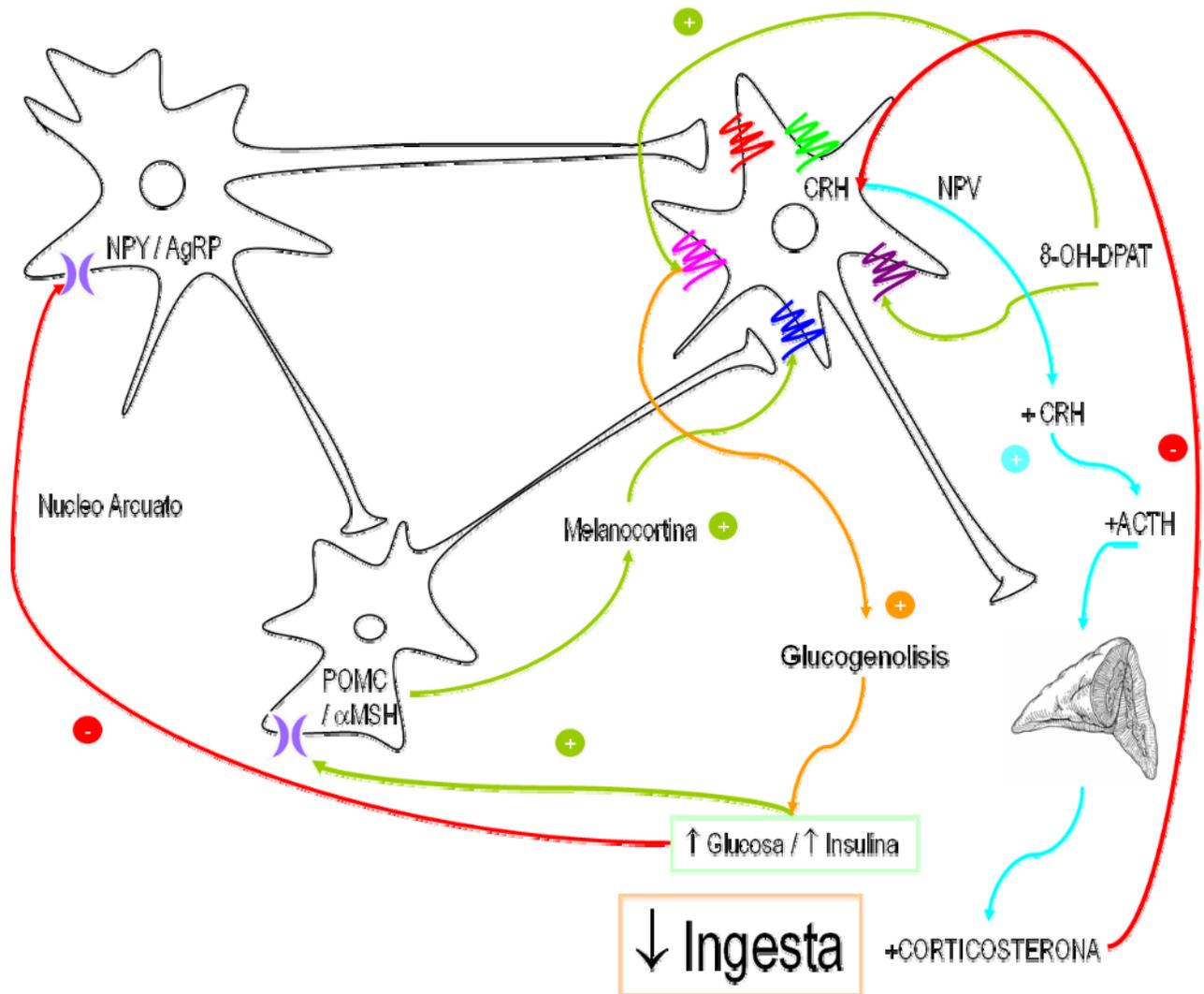
El agonista 8-OH-DPAT, estimula los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos expresados en el NPV, que a su vez se encuentran coexpresados con receptores CRH-R2, receptores a melanocortina MC4-R (Gelez, *et al.*, 2010), receptores a neuropéptido Y (NPY), Y1R y Y5R (Yokosuka, *et al.*, 2001), α 2-adrenérgicos (Gunion, *et al.*, 1992).

La estimulación de los receptores 5-HT_{1A}, activa el eje HPA, aumentando la liberación de CRH, ACTH y corticosterona que por una parte es un indicador de la activación del eje y que por otro lado contribuye a estimular la ingesta.

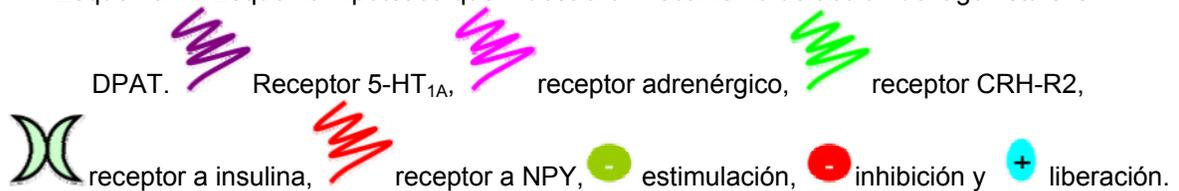
La estimulación simpática contribuyo a la gluconeogénesis, permitiendo el aumento de glucosa en suero, pese al efecto anorexigénico que existe tras la liberación de CRH.

El aumento en la concentración de glucosa estimula la liberación de insulina, que a su vez estimula receptores en el núcleo arqueado en neuronas que liberan melanocortina permitiendo que esta molécula sea liberada y llegue a sus receptores en el NPV, inhibiendo la ingesta.

La insulina también llega a receptores expresados en neuronas que liberan NPY y del péptido liberador de agouti (AgRP), en el núcleo arqueado, pero en este caso se inhibe la liberación permitiendo la disminución de la ingesta (Esquema 4).



Esquema 4. Esquema hipotético que muestra el mecanismo de acción del agonista 8-OH-



X. Conclusión

La estimulación de los receptores 5HT_{1A} del NPV produce un efecto hipofágico.

La estimulación de los receptores 5HT_{1A} del NPV, influye directamente en la ingesta de carbohidratos, al disminuir su consumo de forma significativa, al administrarse el agonista 8-OH-DPAT.

La administración del agonista 8-OH-DPAT, promueve la secuencia de saciedad conductual y produce una disminución significativa en el tiempo que invierten los animales en alimentarse.

Los receptores CRF-R2 cuentan con un efecto modulador en la ingesta, es así que el eje HPA participa en la hipofagia producida por el receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}.

La glucosa, triglicéridos y colesterol, parámetros bioquímicos indicadores del balance energético, interactúan con el sistema serotoninérgico del NPV, mediado por los receptores 5-HT_{1A}.

El efecto observado en las concentraciones de corticosterona es mediado por los receptores 5-HT_{1A} y CRH-R2.

XI. Perspectivas

La presente investigación contribuye con la disección del efecto que produce la estimulación del receptor 5-HT_{1A} del NPV, pero deja aun expectativas sobre como es que este receptor interactúa con otros sistemas como el adrenérgico y el sistema CRH, para lo cual se pueden emplear otras estrategias que permitirán reducir la variabilidad de los experimentos por lo que una propuesta seria realizar experimentos en animales adrenalectomizados, aumentar el numero de sujetos experimentales emplear agonistas y antagonistas de los receptores que podrían estar involucrados como son los receptores CRH α 2, α -2 adrenergicos.

XII. Referencias

- Adan, R.H., Vanderschuren, L.J.M. J. & La Fleur, S.E. 2008. Anti-obesity drugs and neural circuits of feeding. *Trends in Pharmacological Sciences*. 29:208- 216.
- Akirosy, J., Kuranaga, H., Tsuchiyama, K. & Hagayama, H. 1989. Circadian rhythm of serotonin receptors in rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 32: 491-493.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J.D. 1994. *Biología Molecular de la célula*. Barcelona. Ediciones Omega.
- Alexander, J.T., Cheung, W.K., Dietz, C.B., & Leibowitz, S.F. 1993. Meal patterns and macronutrient intake after peripheral and PVN injections of the α_2 -receptor antagonist idazoxan. *Physiology & Behavior*. 4: 623-630.
- Amat, J., Tamblin, J.P., Paul, E.D. & Bland, S.T. 2004. Microinjection of urocortin 2 into the dorsal raphe nucleus activates serotonergic neurons and increases extracellular serotonin in the basolateral amygdala. *Neuroscience* 129:509–519.
- Angelopoulos, N., Goula, A., & Tolis, G. 2005. Current knowledge in the neurophysiologic modulation of obesity. *Metabolism Clinical and Experimental*. 54: 1202-1217.
- Assie, M.B., Cosi, C., & Koek, W. 1999. Correlation between low/high affinity ratios for 5-HT receptors and 1A intrinsic activity. *European Journal of Pharmacology*. 386: 97–103.
- Atchley, D.P.D. & Eckel, L.A. 2006. Treatment with 8-OH-DPAT attenuates the weight loss associated with activity-based anorexia in female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 83:547–553.
- Bakshi, A., Vaishali, P. & Kalin, N.H. 2000. Corticotropin-Releasing Hormone and Animal Models of Anxiety: Gene–Environment Interactions. *Biol Psychiatry*. 48:1175–1198.

- Berendsen, H. H. G., Kester, R. C. H., Peeters, B. W. M. M., Broekkamp, C. L.E. 1996. Modulation of 5-HT receptor subtype-mediated behaviours by corticosterone. *European Journal of Pharmacology* 308: 103-111
- Bechtholt, A.J., Smith, K., Gaughan, S. & Lucki, I. 2008. Sucrose intake and fasting glucose levels in 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor mutant mice. *Physiology & Behavior*. 93: 659–665.
- Blouet, C. & Schwartz, G.J. 2009. Hypothalamic nutrient sensing in the control of energy homeostasis. *Behavioural Brain Research*. 209:1-12.
- Blundell, J.E. & Latham, C.J. 1978. Pharmacological manipulations of feeding behavior: 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.
- Bockaert, J., Claeysen, S., Compan, V. & Dumuis A. 2008. 5-HT₄ receptors: History, molecular pharmacology and brain functions. *Neuropharmacology*. 55:922–931.
- Brauns, O., Liepold, T., Radulovic, J. & Spiess, J. 2001. Pharmacological and chemical properties of astrssin, antisauvagine-30 and α -helCRF: significance for behavioral experiments. *Neuropharmacology*. 41:507-516.
- Brown, W.V., Fujioka, K., Wilson, P.W.F., & Woodworth, K. A. 2009. Obesity: Why Be Concerned?. *The American Journal of Medicine*. 122: S4-S11.
- Centeno, M.L., Sánchez, R.L., Cameron, J.L. & Bethea, C.L. 2007. Hypothalamic expression of serotonin 1A, 2A and 2C receptor and GAD67 mRNA in female cynomolgus monkeys with different sensitivity to stress. *Brain Research*. 1142: 1-12.
- Chen Q.H. & Toney G.M. 2003. Identification and characterization of two functionally distinct groups of spinal cord-projecting paraventricular nucleus neurons with sympathetic-related activity. *Neuroscience*. 118:797–807.

- Chamas, F.M., Underwood, M.D., Arango, V., Serova, L., Kassir, S.A., Mann, J.J. & Sabban, E.L. 2004. Immobilization Stress Elevates Tryptophan Hydroxylase mRNA and Protein in the Rat Raphe Nuclei. *Biol Psychiatry*. 55:278–283.
- Chance, W.T., Dayal, R., Friend, L.A., Thomas, I. & Sheriff, S. 2007. Mediation of burn-induced hypermetabolism by CRF receptor-2 activity. *Life Sciences*. 80:1064–1072.
- Chaouloff, F., Laude, D. & Elghozi, J.L. 1989. Physical exercise: evidence for differential consequences of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals. *J. Neural Transm*. 78:121-130.
- Chotiwat, C. & Harris, R.B.S. 2008. Antagonism of specific corticotropin-releasing factor receptor subtypes selectively modifies weight loss in restrained rats *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 295:R1762–R1773.
- Clifton, P.G. 2000. Meal patterning in rodents: psychopharmacological and neuroanatomical studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 24: 213-222.
- Clineschmidt, B.V. & Bunting, P.R. 1980. Differential effects of pharmacological agents acting on monoaminergic systems on drug-induced anorexia. *Prog. Neuro-Psychopharmacology*. 4: 327-339.
- Connan, F., Lightman, S.L., Landau, S., Wheeler, M., Treasure, J. & Campbell, I.C. 2007. An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa: The role of CRH and AVP. *Journal of Psychiatric Research*. 41:131–143.
- Cook, C.J. 2004. Stress induces CRF release in the paraventricular nucleus, and both CRF and GABA release in the amygdala. *Physiology & Behavior*. 82:751– 762..
- Cunon, G., Gibson, E.L. & Oluyomi, A. 1997. Appetite suppression by commonly used drugs depends on 5-HT receptors but not on 5-HT availability. *TIPS*. 18: 21-25.

- Currie, P.J., Corio, 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 Behavioral*. 71: 709-716.
- Curzon, G., Gibson, L. & Oluyomi, A. 1997. Appetite suppression by commonly used drugs depends on 5-HT receptors but not on 5-HT availability. *Tips*. 28: 21-25.
- Dabrowska, J. & Brylinski, M. 2006. Stereoselectivity of 8-OH-DPAT toward the serotonin 5-HT_{1A} receptor: biochemical and molecular modelling study. *Biochemical Pharmacology*. 72: 498-511.
- Da Silva, R.A., Tomazoni de Oliveira, S., Hackl, L.P.N., Inacio, C., Serralvo, M., Marino-Neto, J. & Paschoalini, M.A. 2004. Ingestive behaviors and metabolic fuels after central injections of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1D/1B} receptors agonists in the pigeon. *Brain Research*. 1026:275– 283.
- Daftary, S.S., Boudaba, C. & Tasker, J.G. 2000. Noradrenergic regulation of parvocellular neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroscience*. Vol. 96, No. 1, pp. 743–751.
- Davis, M.E., Pemberton, C.J., Yandle, T.G., Lainchbury, J.G., Rademaker, M.T., Nicholls, M.G., Frampton, C.M. & Richards, A.M. 2004. Urocortin-1 Infusion in Normal Humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89:1402–1409.
- De Vry, J. & Schreiber, 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 Vitry, Hamon, M., Catelon, J., Dubois, M., & Thibault, J. 1986. Serotonin initiates and autoamplifies its own synthesis during mouse central nervous system development. *Developmental Biology*. 83:8629-8633.
- Defraiteur, C., Plenevaux, A., Scuvée-Moreau, J., Rouchet, N., Goblet, D., Luxen, A. & Seutin, V. 2007. Characterization of 4-(4-hydroxyphenyl)-1-[2'-[N-(2''-

pyridinyl)-p-fluorobenzamido]ethyl]piperazine(p-DMPPF) as a new potent 5-HT_{1A} antagonist. *British Journal of Pharmacology*. 152: 952-958.

Donaldson, C.J., Sutton, S.W., Perrin, M.H., Corrigan, A.Z., Lewis, K.A., Rivier, J.E., Vaughan, J.M. & Vale, W.W. 1996. Cloning and Characterization of Human Urocortin. *Endocrinology*.137 234-241.

Dourish, C.T., Hutson, P.H., Kennett, G.A. & Curzon, G. 1986 a. 8-OH-DPAT Induced hyperphagia: its neural basis and possible therapeutic relevance. En: N. Stilianos (Ed), Serotonergic system, feeding and body weight regulation., London: Academic Press.

Dourish, C.T., Hutson, P.H. & Curzon, G. 1986 b. Para-chlorophenylalanine prevents feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Psychopharmacology*, 89: 467-471.

Dourish, C.T., Hutson, P.H. & Curzon, G. 1985. Characteristics of Feeding Induced by the Serotonin Agonist S-Hydroxy-2-(Di-*n*-Propylamino) Tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Research Bulletin* , 15: 377-384.

Feillet, F., Feillet-Coudray, C., Bard, J.M., Parra, H.J., Favre, E., Kabuth, B., Fruchart, J.C. & Vidailhet, M., 2000. Plasma cholesterol and endogenous cholesterol synthesis during refeeding in anorexia nervosa. *Clinical Chimica Acta*. 294:45-56.

Fletcher, A., Forster, E.A., Bill, D.J., Brown, G., Cliffe, I.A., Hartley, J.E., Jones, D.E., McLenachan, A., Stanhope, K.J., Critchley, D.J.P., Childs, K.J., Middlefell, V.C., Lanfumey, L., Corradetti, R., Laporte, A., Gozlan, H., Hamon, M & Dourish, C.T., 1996. Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Behavioural Brain Research*. 73: 337-353.

Fone, K.C.F. & Thopham, I.A. 2002. Alterations in 5-hydroxytryptamine agonist – induced behaviour following a corticosterone implant in adults rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavioral*. 71: 815-823.

- Frassetto, A., Zhanga, J., Lao, J.Z., White, A., Metzger, J.M., Fonga, T.M. & Chen, R.Z. 2008. Reduced sensitivity to diet-induced obesity in mice carrying a mutant 5-HT₆ receptor. *Brain Research*. 1236: 140-144.
- Fuller, R.W. & Steinberg, M. 1976. Regulation of enzymes that synthesize neurotransmitter monoamines. *Advances in Enzyme Regulation*. 14:347-390.
- Ebenezer, I., Vellucci, S. & Parrott, R. 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 & Behavior*, 73: 223-227.
- Gaddum, J.H. & Picarell, Z.P. 1957. Two kinds of tryptamine receptor. *Brit. J. Pharmacol.* 12, 323-328.
- Gál, E.M. & Sherman, A.D. 1980. L-kynurenine: its synthesis and possible regulatory function in brain. *Neurochem. Res.* 5: 223–239.
- Gamaro, G.D., Manoli, L.P., Torres, I.L.S., Silveira, R. & Dalmaz, C. 2003. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochemistry International*. 42:107–114.
- Garner, D.M. & Keiper, C.D. 2010. Eating Disorders. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios*. 1: 1-26.
- Gaysinskaya, V.A., Karatayev, O., Chang, G.Q. & Leibowitz, S.F., 2007. Increased caloric intake after a high-fat preload: Relation to circulating tryglicerides and orexigenic peptides. *Physiology & Behavior*. 91: 142-153.
- Gershon, C., Dreyfus, F., Pickel, V.M., John, T.H. & Reis, D.J. 1977. Serotonergic neurons in the peripheral nervous system: Identification in gut by immunohistochemical localization of tryptophan hydroxylase. *Neurobiology*. 74: 3089.

- Gervasoni, N., Bertschy, G., Osiek, C., Perret, G., Denis, R., Golaz, J., Rossier, M.F., Bondolfi, G. & Aubry, J. 2004. Cortisol responses to combined dexamethasone/CRH test in outpatients with a major depressive episode. *Journal of Psychiatric Research*. 38:553–557.
- Gelez, H., Poirier, S., Faccinetti, P., Allers, K.A., Wayman, C., Bernabé, J., Alexandre, L. & Giuliano, F. 2010. Neuroanatomical distribution of the melanocortin-4 receptors in male and female rodents brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 56: 345-350.
- Grahame, D.G. 1964. Biochemical and biophysical research communications tryptophan hydroxylation. *Brain*. 16: 17-25.
- Grammatopoulos, D.K. & Chrousos G.P. 2002. Functional characteristics of CRH receptors and potential clinical applications of CRH-receptor antagonists. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 13: 219-235.
- Green, R.A. 2006. Neuropharmacology of 5-hydroxytryptamine. *British Journal of Pharmacology*. 147: S145-S152.
- Gunion, M.W., Rosenthal, M.J., Miller, S., Hoyt, M.A., & Yonzon, D.B. 1992. Role of hypothalamic paraventricular nucleus α - and β -adrenergic receptors in regulation of blood glucose, free fatty acids and corticosterone. *Brain Research*. 588: 84-96.
- Haleem, D.J., Kennett, G.A., Whitton, P.S. & Curzon, G. 1999. 8-OH-DPAT increases corticosterone but not other 5-HT_{1A} receptor-dependent responses more in females. *European Journal of Pharmacology*. 164:435-443.
- Halford, J.C.G., Harrold, J.A., Boyland, E.J., Lawton C.L. & Blundell, J.E. 2007. Serotonergic Drugs Effects on Appetite Expression and Use for the Treatment of Obesity. *Drugs*. 67: 27-55.
- Hauger, R.L., Grigoriadis, D.E., Dallman, M.F., Plotsky, P.M., Vale, W.W. & Dautzenberg, F.M. 2003 International Union of Pharmacology. XXXVI.

Current Status of the Nomenclature for Receptors for Corticotropin-Releasing Factor and Their Ligands. *Pharmacol Rev.* 55:21–26.

Healy, D. & Leonard, B.E. 1987. Monoamine transport in depression: Kinetics and dynamics. *Journal of Affective Disorders.* 12:91-103.

Hedlund, B.P. & Sutcliffe, J.G. 2004. Functional, molecular and pharmacological advances in 5-HT₇ receptor research. *Trends in Pharmacological Sciences.* 25: 481-486.

Hensler, J.G. 2006 Serotonergic modulation of the limbic system. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 30: 203-214.

Hensler, J.G., Advani, T & Monteggia, L.M. 2007. Regulation of serotonin-1A receptors function in inducible brain-derived neurotrophic factor knockout mice after administration of corticosterone. *Biol. Psychiatry.* 62:521-529.

Herman, J.P., Figueiredo, H., Mueller, N.K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M.M., Choi, D.C. & Cullinan, W.E. 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 24: 151-180.

Herrero, E., Aragon, M.C., Diezguerra, J., Valdivieso, F. & Jiménez, C. 1985. Ontogenetic studies on tryptophan transport into plasma membrane vesicles derived from rat brain synaptosomes: effect of thyroid hormones. *Neurochemical Research.* 10: 579-589.

Hu, S., B., Lightman, S., L. & Tannahill, L., A. 1992. 5-Hydroxytryptamine stimulates corticosteroid-sensitive CRF release from cultured foetal hypothalamic cells. Role of protein kinases. *Brain Research.* 574: 266-270.

Huffman, D.H. & Azarnof, D.L. 1967. The effect of hypocholesterolemic drugs on adrenal corticosteroid secretion. *J. Lab. Clin. Med.* 65.

Hutson, P.H., Dourish, C.T. & Curzon, G. 1988. Evidence that the hyperphagic response to 8-OH-DPAT is mediated by 5-HT_{1A} receptors. *European Journal of Pharmacology.* 150: 361-366.

- Izumi, T., Iwamoto, N., Kitaichi, Y., Kato, A., Inoue, T. & Koyama, T. 2007. Effects of co-administration of antidepressants and monoamine oxidase inhibitors on 5-HT-related behavior in rats. *European Journal of Pharmacology*. 565:105–112.
- Jezova, D., Ochedalski T., Glickman, M., Kiss, A. & Aguilera, G. 1999. Central corticotropin-releasing hormone receptors modulate hypothalamic–pituitary–adrenocortical and sympathoadrenal activity during stress. *Neuroscience*. 94:797–802.
- Jow, G.M., Yang, T.T. & Chen C.L. 2006. Leptin and cholesterol levels are low in major depressive disorder, but high in schizophrenia. *Journal of Affective Disorders*. 90: 21-27.
- Kaye, W. 2008. Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. *Physiology & Behavior*. 94:121–135.
- Karatayeu, O., Gaysinskaya, V., Chang, G.Q. & Leibowitz, S.F. 2009. Circulating triglycerides after a high-fat meal: Predictor of increase caloric intake, orexigenic peptides expression, and dietary obesity. *Brain Research*. 1298: 111-122.
- Koob, G.F. 2010. The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Research*. 1314:3–14.
- Korner, J., Woods, S.C. & Woodworth, K.A. 2009. Regulation of energy homeostasis and health consequences in obesity. *The American Journal of Medicine*. 44: 234-239.
- Korte, S., M., Duin, V., S., Bouws, A., H., G., Koolhaas, J., M. & Bohus, B. 1991. Involvement of hypothalamic serotonin in activation of the sympathoadrenomedullary system and hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*. 197:225-228.

- Kumar, B.A., Papamichael, M. & Leibowitz, S.F. 1988. Feeding and macronutrient selection patterns in rats: adrenalectomy and chronic corticosterone replacement. *Physiology & Behavior*. 42: 581-589.
- Lai, M., McCormick, J.A., Chapman, K.E., Kelly, P.A.T., Seckl, J.R. & Yau, J.L. 2003. Differential regulation of corticosteroid receptors by monoamine neurotransmitters and antidepressant drugs in primary hippocampal culture. *Neuroscience*. 118: 975-984.
- Laflamme, N., Feuvrier, E., Richard, D. & Rivest, S. 1999. Involvement of serotonergic pathways in mediating the neuronal activity and genetic transcription of neuroendocrine corticotropin-releasing factor in the brain of systemically endotoxin-challenged rats. *Neuroscience*. 88: 223–240.
- Leibowitz, S.F. & Alexander, J. 1998. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior meal size, and body weight. *Society of Biological Psychiatry*, 44, 851-864.
- Lin, L. & York, D.A. 2005. 5-HT_{1B} receptors modulate the feeding inhibitor effects of enterostatin. *Brain Research*. 1062: 26-31.
- Luo, S. & Li, E.T. 1990. Effects of repeated administration of serotonergic agonists on diet selection and body weight in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 38: 495-500.
- Lucki, I. 1998. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol. Psychiatry*. 44: 151-162.
- López-Alonso, V.E., Mancilla-Díaz, J.M., Rito-Domingo, M., González-Hernández, B. & Escartín-Pérez, R.E. 2007. The effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} receptor agonists on behavioral satiety sequences in rats. *Neuroscience Letter*. 416: 285-288.
- Markus, R., Olivier, B., & Haan, E. 2002. Whey protein rich in α -lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the large neutral amino

acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subject. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2002. 75:1051-6.

Martin, D.S., Eglund, M.C., Barnes, L.U. & Vogel, E.M. 2006. Adrenergic nerves mediate the venoconstrictor response to PVN stimulation. *Brain Research*. 1076: 93–100.

Martel, J., Leduc, N., Ormière, A., Faucillon, V., Danty, N., Culie, C., Cussac, D. & Newman, A. 2007. WAY 100635 has high selectivity for serotonin 5-HT_{1A} versus dopamine D₄ receptors. *European Journal of Pharmacology*. 574: 15-19.

Mathews, C.K. & Holde, K.E. 2000. Bioquímica. España. McGraw-Hill/Interamericana.

Matsubara, K., Ota, M., Takahashi, T., Maruyama, W. & Naoi, M. 1994. Structural studies of condensation products of biogenic amines as inhibitors of tryptophan hydroxylase. *Brain Research*. 655:121-127.

Mayer, C.M., Fick, L.J., Gingerich, S. & Belsham, D.D. 2009. Hypothalamic cell lines to investigate neuroendocrine control. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 34: 65-69.

Moreno, J., Campos, M., Lara, C. & Torner, C. 2005. La plaqueta como marcador biológico periférico de la función serotoninérgica neuronal. *Salud mental*. 28: 79-87.

Mullen, G.B., Hobbs, J., Edwards, G.L. & Martin, R.J. 1998. Dietary Fat Type Influences Protein Consumption in Rats Given 8-Hydroxy-2-(Di-*n*-Propylamino)Tetralin. *Physiology & Behavior*. 63: 745–750.

Nieuwenhuizen, A.G. & Rutters, F. 2008. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiology & Behavior*. 94:169-177.

- Orosco, M. & Gerozissis, K. 2001. Macronutrient-induced cascade of events leading to parallel changes in hypothalamic serotonin and insuline. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 25: 167-174.
- Ohata, H. & Shibasaki, T. 2004. Effects of urocortin 2 and 3 on motor activity and food intake in rats. *Peptides*. 25:1703–1709.
- Oxenkrug, G.F. 2010. Metabolic syndrome, age-associated neuroendocrine disorders, and dysregulation of tryptophan—kynurenine metabolism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1199:1–14.
- Porter, R.J., Mulder, R.T., Joyce, P.R., Miller, A.L. & Kennedy, M. 2008. Tryptophan hydroxylase gene (TPH1) and peripheral tryptophan levels in depression. *Journal of Affective Disorders*. 109: 209–212.
- Pan, W. & Kastin, J. 2008. Urocortin and the brain. *Progress in Neurobiology*. 84:148–156.
- Parikh, V., Welch, W.M. & Schmidt, W.A. 2003. Discovery of a Series of (4,5-Dihydroimidazol-2-yl)-biphenylamine 5-HT₇ Agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 13: 269–271.
- Paxinos, G. & Watson, C. 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press.
- Peroutka, S.J. & Howell, T.A. 1994. The Molecular Evolution of G Protein-coupled Receptors: Focus on 5-Hydroxytryptamine Receptors. *Neuropharmacology*. 33: 319-324.
- Ramage, A.G. 2001. Central cardiovascular regulation and 5-hydroxytryptamine receptors. *Brain Research Bulletin*. 56: 425-439.
- Rask-Andersen, M., Olszewski, P.K., Levine, A.S. & Schiöth, H.B. 2010. Molecular mechanisms underlying anorexia nervosa: Focus on human gene association studies and systems controlling food intake. *Brain Research Reviews*. 62:147–164.

- Romanova, I.V., Ramos, E., Xu, Y., Quinn, R., Chen, C., George, Z., Inui, A., Das, U. & Meguid, M. 2004. Neurobiologic changes in the hypothalamus associated with weight loss after gastric bypass. *Journal of American College of Surgeons*. 199: 887-895.
- Sánchez, C. Köhner, A.C. & Brüning, J.C. 2010. Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 31:4–15.
- Sanger, G. 2008. 5-Hydroxytryptamine and the gastrointestinal tract: where next?. *Trends in Pharmacology Science*. 29: 465-471.
- Serres, F., Li, Q., García, F., Raap, D. K., Battaglia, G., Muma, N. & Van de Kar, L. 2000. Evidence that G_Z-proteins couple to hypothalamic 5-HT_{1A} receptors *in vivo*. *The Journal of Neuroscience*, 20: 3095-3103.
- Smagin, G.N., Heinrich, S.C. & Dunn, A.J. 2001. The role of CRH in behavioural responses to stress. *Peptides*. 22: 713-724.
- Smith, G. 1964. Tryptophan hydroxylation in brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 16: 586-592.
- Smith, B.K., York, D.A. & Bray, G.A. 1999. Activation of hypothalamic serotonin receptors reduce intake of dietary fat and protein but not carbohydrate. *American Physiological Society*. R802-R811.
- Södersten, P., Bergh C. & Zandian M. 2006. Understanding eating disorders. *Hormones and Behavior*. 50:572–578.
- Steffens, M.S., Beckman, D., Faria, S.M., Marino-Neto, J. & Paschoalini, M.P. 2010. WAY 100635 blocks the hypophagia induced by 8-OH-DPAT in the hypothalamic nuclei. *Physiology & Behavior*. 99:632-637.
- Takahashi, L.K., Ho, S.P., Livanov, V., Graciani, N. & Arneric, S.P. 2001. Antagonism of CRF receptors produces anxiolytic behavior in animal models of anxiety. *Brain Research*. 902:135–142.

- Tanaka, C., Asakawa, A., Ushikai, M., Sakoguchi, T., Amitani, H., Terashi, M., Cheng, K., Chaolu, H., Nakamura, N. & Inui, A. 2009. Comparison of the anorexigenic activity of CRF family peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 390: 887-891.
- Tecott, L.H. & Julius, D. A new wave of serotonin receptors. *Current Opinion in Neurobiology*. 3: 310-315.
- Tecott, L.H. 2007. Serotonin and the orchestration of energy balance. *Cell Metabolism*. 6: 352-361.
- Temel, Y. Helmy, A. Pinnock, S. & Herbert, J. 2003. Effect of serotonin depletion on the neuronal, endocrine and behavioural responses to corticotropin-releasing factor in the rat. *Neuroscience Letters*. 338:139–142.
- Vázquez, G., Retana, S., Bonilla, H. & Velásquez, J. 2001. Further definition of the effect of corticosterone on the sleep–wake pattern in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 70:305–310.
- Vergé, D. & Calas, A. 2000. Serotonergic neurons and serotonin receptors: gains from cytochemical approaches. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 18: 41-56.
- Vergoni, A.V., Poggioli, R., Marrama, D. & Bertolini, A. 1990. Inhibition of feeding by ACTH-(1-24): behavioral and pharmacological aspects. *European Journal of Pharmacology*. 179: 347- 355.
- Vickers, S.P., Dourish, C.T. & Kennett, G.A. 2001. Evidence that hypophagia induced by *d*-fenfluramine and *dnorfenfluramine* in the rat is mediated by 5-HT_{2C} receptors. *Neuropharmacology*. 41:200–209.
- Walther, D.J., Peter, J., Bashammakh, S., Hortnagl, H., Voits, M., Fink, H. & Bader, M. 2003. Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Science*. 299: 76.
- Watkins N. D., Cork, S. C. & Piner S. 2009. An immunohistochemical investigation of the relationship between neuronal nitric oxide synthase, GABA and

presympathetic paraventricular neurons in the hypothalamus. *Neuroscience*. 159: 1079-1088.

Weidenfeld, J., Chowers, I., Conforti, N & Feldman, S. 1984. Deafferentation reduces the hypothalamic cell nuclear binding of corticosterone. *Brain Research*. 292: 186-189.

Wesemann, W. & Weiner, N. 1990. Circadian rhythm of serotonin binding in rat brain. *Progress in Neurobiology*. 35: 405-428.

Williams, G., Bing, C., Cai, X.J., Harrold, J.A., King, P.J. & Liu, X.H. 2001. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol. Behav.* 74: 683-701.

Wurtman, J.J. & Wurtman, R. 1979 a. Drugs that enhance central serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. *Life Science*. 24: 895-904.

Wurtman, J.J. & Wurtman, R. 1979 b. Fenfluramine and other serotonergic drugs depress food intake and carbohydrate consumption while sparing protein consumption. *Current Medical Reserch And Opinion*. 6: 28-33.

Wurtman, R. & Wurtman, J.J. 1998. Serotonergic mechanisms and obesity. *J. Nutr. Biochem*. 9: 511-515.

Wurtman, R., Wurtman, J., Regan, M., McDermont, J. & Tsay, H., 2003. Effects of normal meals rich in carbohydrates or proteins on plasma tryptophan and tyrosine ratios. *American Journal Clinical Nutrition*. 2003. 77.128-32.

Yamada, J., Sugimoto, Y., Noma, T. & Yoshikawa, T. 1998. Effects of the non-selective 5-HT receptor agonist, 5-carboxamidotryptamine, on plasma glucose levels in rats. *European Journal of Pharmacology*. 359: 81-86.

Yokosuka, M., Dube, M.G., Kalra, P.S. & Kalra, S.P. 2001. The mPVN mediates blockade of NPY- induce feeding by Y5 receptor antagonist: a c-FOS analysis. *Peptides*. 22:507-514.

- York, D.A., Lin, L., Thomas, S.R., Braymer, H.D. & Park, M. 2006. Procolipase gene expression in the rat brain: Source of endogenous enterostatin production in the brain. *Brain Research*. 1087: 52-59.
- Zhang, Y., D'Souza, D. Raap, D.K. Garcia, F. Battaglia, G. Muma, N.A. & Van de Kar, L.D. 2001. Characterization of the Functional Heterologous Desensitization of Hypothalamic 5-HT1A Receptors after 5-HT2A Receptor Activation. *The Journal of Neuroscience*. 21:7919–7927.
- Zhang, Y., Gray, T.S., D'Souza, D.N., Carrasco, G.A., Damjanoska, K.J., Dudas, B., García, F., Zainelli, G.M., Sullivan N.R., Hanley, S., Battaglia, G., Muma, N.A. & Van de Kar, L. 2004. Desensitization of 5-HT1A receptors by 5-HT2A receptors in neuroendocrine neurons *in vivo*. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 310: 59-66.
- Zhang, X., Beaulieu, J., Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R. & Caron, M. G. 2004. Tryptophan Hydroxylase-2 Controls Brain Serotonin Synthesis. *Science*. 305: 217.
- Zsombok, A. & Smith, B.N., 2009. Plasticity of Central Autonomic Neural Circuits in Diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1792: 423-431.