



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTOS CONDUCTUALES DE LA SACAROSA EN
RATA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

KARINA SANTIAGO GONZÁLEZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MILAGROS MÉNDEZ UBACH**

Ciudad Universitaria, CD. MX., 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno

Santiago
González
Karina
5546337418
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
307506557

2. Datos del tutor

Dra.
Milagros
Méndez
Ubach

3. Datos del sinodal 1

Dra.
María de Lourdes
Massieu
Trigo

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Lucía Alba
Martínez
Mota

5. Datos del sinodal 3

Dra.
María del Carmen
Miñana
Solís

6. Datos del sinodal 4

Dr.
Gabriel
Roldán
Roldán

7. Datos del trabajo escrito.

Efectos conductuales de la sacarosa en rata.
102 p
2017

Esta tesis se realizó en el laboratorio de Neurobiología Molecular del Departamento de Neuroquímica en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM), como parte del Taller “Drogas de Abuso y Trastornos Afectivos” de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Citar esta tesis como: Santiago, K. (2017). Efectos conductuales de la sacarosa en rata. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 102 pp.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la Facultad de Ciencias por ser el inicio de mi formación científica, por las inolvidables prácticas de campo y las excelentes clases con maestros como Francisco Javier Vega Vera, Miguel Ángel Palomino, María del Carmen Miñana, Abraham Kowelkowsky, David Salinas y Patricia Rivas que hicieron de la carrera algo increíble y me enseñaron que la biología es pasión, creatividad y trabajo.

Al INPRFM y a la Dra. Milagros Méndez Ubach por el apoyo para la realización de este trabajo.

Al jurado revisor. Dra. María de Lourdes Massieu, Dra. Lucía Alba Martínez, Dra. María del Carmen Miñana y al Dr. Gabriel Roldán porque sus comentarios y consejos contribuyeron a mejorar este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres, porque su prioridad siempre ha sido brindarme las mejores herramientas para desarrollarme académica y personalmente, por apoyarme sin cuestionar ninguna de mis decisiones, por impulsarme a alcanzar mis metas, por llevarme a la facultad, al laboratorio y de regreso a la facultad todos los días y especialmente por soportar mi mal genio que quedará justificado cuando lean esta tesis.

A Pepi, Paloma y Presi. Cuando llevas más de 10 años compartiendo un sinfín de momentos, sólo queda agradecer que continúen siendo parte de mi vida porque es un gusto verlos crecer, tatuarse, mudarse o ganar votantes a base de una retórica elegante. Ha sido bueno.

A Abán, Kaza, Pelu, Taracena y Arantxa, lo que empezó como un encuentro afortunado en la Facultad de Ciencias se ha convertido en algo Bien Divertido. Gran parte de la biología para mí han sido ustedes, durante y después de la carrera, gracias por todas las buenas historias que tengo para contar, me alegra compartir la incapacidad para ser adulto funcional o conjugar el verbo “ser” con cinco personas tan geniales y únicas. Vivir y trabajar juntos siempre será una de las épocas que más risas, aprendizaje y experiencias me ha dejado. Sea como sea la vida siempre han demostrado ser un gran apoyo, unos grandes amigos. Es bien, fuerte apretón de manos.

A Kike por las canciones, por la cineteca, por la sidra, por muchas cosas.

A Inari, Joana, Martinell por estar en el precario límite entre la rareza y genialidad que nos dio momentos memorables en la prepa y en la carrera.

A Cosette, Marcelo y Edith, fundamentales en la realización de esta tesis por su guía y ayuda en el laboratorio, pero especialmente por su corazón negro como su humor y por el apoyo moral brindado estos años. A Fernando y Erick por haber hecho más llevadero el trabajo en su paso por el laboratorio.

A Diego, por su apoyo incondicional, su compañía, por los detalles y todo su cariño.

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
I. Importancia social y clínica del consumo excesivo de azúcares.....	4
II. Ciclo de uso, abuso y dependencia a drogas de abuso y comida.....	6
III. Circuitos neuronales de reforzamiento y recompensa.....	10
IV. Efecto fisiológico de la comida palatable.....	14
IV a. Dopamina.....	16
IV b. Opioides.....	17
IV c. Acetilcolina.....	18
V. Efecto conductual de la comida palatable.....	19
V a. Escalamiento del consumo.....	19
V b. Sensibilización.....	20
V c. Abstinencia.....	21
JUSTIFICACIÓN.....	24
HIPÓTESIS.....	25
OBJETIVOS.....	25
MATERIAL Y MÉTODOS.....	26
I. Sujetos de estudio.....	26
II. Análisis de la actividad locomotora.....	26
III. Clasificación de los animales en alta y baja respuesta (HR-LR).....	28
IV. Concentración de glucosa en sangre.....	29
V. Determinación de alcohol en sangre.....	30
V a. Obtención de plasma.....	30
V b. Desproteínización de las muestras.....	30
V c. Determinación de la concentración de alcohol en sangre (BAC).....	30
VI. Análisis estadísticos.....	31
VI a. Actividad locomotora.....	31
VI b. Concentración de glucosa en sangre.....	31
VI c. Concentración de alcohol en sangre (BAC).....	31
RESULTADOS.....	32
I. Evaluación conductual.....	32
I a. Movimientos horizontales (MOV-HOR).....	35
I b. Movimientos verticales (MOV-VER).....	45
I c. Conductas estereotipadas (EST).....	54
II. Respuesta a la novedad.....	63
III. Concentración de glucosa en sangre.....	75
IV. Determinación de alcohol en sangre.....	77
DISCUSIÓN.....	78
PERSPECTIVAS.....	86

CONCLUSIONES.....	88
BIBLIOGRAFÍA.....	89
ANEXOS.....	96

RESUMEN

México es uno de los países con tasas de obesidad más altas en el mundo. Estudios previos han demostrado que, bajo determinados patrones de consumo, el azúcar es capaz de provocar cambios neuroquímicos y conductuales similares a los producidos por drogas de abuso. La pérdida de control en el consumo de alimentos ricos en azúcar podría explicar el porqué de la actual epidemia de sobrepeso y obesidad. En este trabajo se estudiaron los cambios inducidos por distintas dosis de sacarosa sobre la actividad locomotora de ratas Wistar en campo abierto. Se registraron movimientos horizontales, verticales y estereotipias en animales con administración aguda intraperitoneal de sacarosa 0.5, 1, 2, 2.5 o 3.5 g/Kg; se usó etanol 1 y 2.5 g/Kg como droga de referencia por tener efectos estimulantes de la conducta motora a dosis bajas y sedantes a dosis altas. Todas las dosis de sacarosa aumentaron los movimientos horizontales y estereotipias. Mientras que el efecto de las dosis altas es inmediato, existe retraso en el aumento de la actividad que generan las dosis bajas, aunque éstas se caracterizan por tener efecto más duradero. Sólo la dosis de 2.5 g/Kg incrementó los movimientos verticales. Se observó la tendencia a que un ambiente nuevo influya en la respuesta motora a la administración de sacarosa y etanol. Estos resultados sugieren que el consumo de sacarosa provoca cambios conductuales que pueden sobrepasar el efecto de una droga de abuso como el etanol, y apoyan la teoría de “adicción a la comida”.

INTRODUCCIÓN

I. Importancia social y clínica del consumo excesivo de azúcares.

Actualmente, la obesidad se ha posicionado como epidemia de escala global con consecuencias que afectan la calidad de vida, sin importar el estrato social, la edad o el sexo y que además implica una carga económica importante sobre la economía nacional.

México se ubica entre los países con tasas de obesidad más altas. De acuerdo a la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Gutiérrez *et al.*, 2012), la prevalencia de sobrepeso y obesidad entre niños menores a 5 años es de 9.7%, mientras que para la población en edad escolar (entre 5 y 11 años) es de 34.4%. Para adolescentes entre 12 a 19 años la prevalencia es de 35.8% en mujeres y de 34.1% en hombres; en el caso de los adultos de 20 años en adelante la prevalencia es de 73.0% en mujeres y de 69.4% en hombres.

El aumento desmedido en los índices de obesidad ha promovido el debate de las causas que la generan y las medidas de prevención y control de los factores causantes de dicha enfermedad. Entre las numerosas respuestas que se han dado al incremento de la obesidad en México se incluye el cambio de la dieta; por ejemplo, el aumento en la disponibilidad de comidas procesadas de bajo costo con altas cantidades de azúcar, grasa y sodio (Rivera *et al.*, 2002), el aumento en el consumo de comida rápida y el consumo de comida fuera de casa para un gran sector de la población (Rivera *et al.*, 2004). Asimismo, México es el país líder en el consumo de bebidas azucaradas en el mundo con una ingesta estimada de 163 litros por persona al año. Las bebidas calóricas contribuyen entre el 20 y 23% del total del total de calorías diarias recomendadas (Barquera *et al.*, 2013). Las probabilidades de un niño de volverse obeso incrementan 1.6 veces por cada lata o vaso de bebida azucarada consumida por día (Ludwig, 2001).

En nuestro país la obesidad y las dietas poco saludables forman parte de los seis principales factores de riesgo de mortalidad (Barquera *et al.*, 2013). En 2013, los costos de cuidado de salud estimados para enfermedades relacionadas con la obesidad, como diabetes tipo 2 e hipertensión, alcanzaban los 880 millones de dólares (Rtveladze *et al.*,

2014). De acuerdo a este estudio, si no se controla la tendencia, en 2020 la carga económica ascenderá a más de un billón de dólares.

Se estima que hasta un 80% de los niños obesos se convertirá en adultos obesos (Whitaker *et al.*, 1997). La poca efectividad de campañas y métodos comerciales de reducción de peso, y de las estrategias en los programas de salud pública son evidencia de la dificultad de adherirse a hábitos de alimentación saludables por largos periodos de tiempo, a pesar de conocer los efectos perjudiciales de la obesidad y el sobrepeso sobre el bienestar físico, social y económico.

En los últimos años se ha popularizado el término de “adicción a la comida”. La adicción se define como el uso compulsivo e incontrolable de una droga de abuso cuya intensidad aumenta con el tiempo. La primera etapa de la drogadicción está vinculada a los efectos reforzadores, es decir, el placer provocado por la droga. Un reforzador positivo es todo estímulo que provoque la repetición de la conducta para conseguir el reforzador (Rada & Avena, 2005).

La adicción a la comida se entiende entonces como la comparación entre la obesidad y otras adicciones, donde algunos alimentos podrían tener habilidades reforzadoras similares al alcohol y a otras drogas de abuso (Avena *et al.*, 2012).

Todos los estímulos de recompensa son reforzadores, pero no todos los reforzadores producen recompensa. Existen reforzadores negativos; por ejemplo, choques eléctricos que entrenan a un animal para desarrollar aversión a estímulo dado.

La recompensa es un estímulo que refuerza el comportamiento positivamente, es decir, que incrementa la probabilidad de que la conducta se repita debido a sus efectos relacionados con el placer. Los estímulos de recompensa naturales incluyen comida, agua, sexo, novedad, juego, entre otros; mientras que las drogas más comúnmente asociadas a la recompensa son la cocaína, anfetamina, heroína, morfina, tetrahidrocannabinol (THC) y el alcohol (Anselme, 2009).

Con frecuencia experimentamos que la recompensa asociada a la comida, y no el hambre, es el principal factor en la elección de nuestros alimentos. No son raros los casos de personas que buscan el consumo de alimentos altos en azúcar por su capacidad para generar cambios favorables en el estado de ánimo, para lidiar con el estrés, dolor o fatiga (Ahmed *et al.*, 2013), como tampoco lo es el deseo imperante o “antojo” por consumir determinados alimentos, principalmente aquellos muy dulces o salados (Alsiö *et al.*, 2012).

Se estima que entre el 10 y 20% de las personas que consumen comidas altamente palatables, es decir, comidas de sabor placentero que se relacionan a elevado valor hedónico, presentan síntomas asociados a la adicción (*vide infra*); esto ocurre en una proporción similar a la de usuarios de cocaína y heroína que desarrollan adicción (Ahmed, 2013).

Mientras la comida es necesaria para la supervivencia, las drogas de abuso no lo son. Sin embargo, los sistemas neurales involucrados en el consumo de comida son los mismos en la búsqueda y consumo de drogas (Avena *et al.*, 2008b, 2012). Es factible que las dietas palatables con alto contenido calórico, aquellas ricas en carbohidratos, grasas o la combinación de ambas, sean nocivas no sólo por la ganancia de peso y los riesgos a la salud asociados, sino también porque conllevan adaptaciones en la neurobiología del individuo, que dirigen el consumo de alimento fuera del control voluntario hacia la compulsividad.

II. Ciclo de uso, abuso y dependencia a drogas de abuso y comida

El término adicción implica la dependencia y el abuso de sustancias, ambas forman parte de los trastornos por consumo de sustancias (American Psychiatric Association, 2013).

La dependencia consiste en el grupo de síntomas cognoscitivos, conductuales y fisiológicos que comienza con el uso ocasional de la sustancia y evoluciona en la necesidad de recurrir a cantidades crecientes de esta para alcanzar el efecto deseado (tolerancia). El sujeto sufre recaída al intentar abstenerse, incluso mucho tiempo después de que las señales físicas del síndrome de abstinencia han remitido, lo que hace a la adicción una condición adversa, generalmente de por vida (Avena, 2010; Alsiö

et al., 2012). Implica un trastorno más severo que el abuso de sustancias debido a que las consecuencias producto de la autoadministración repetida a menudo lleva a la tolerancia, la abstinencia y al consumo compulsivo de la sustancia, condiciones asociadas a mayor riesgo de problemas médicos inmediatos y a la mayor frecuencia de recaídas (American Psychiatric Association, 2013).

Además de la tolerancia y la abstinencia, el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM V, por sus siglas en inglés), incluye otros criterios característicos de la dependencia. Por ejemplo, continuar con el consumo durante períodos de tiempo más largos, intentos infructuosos de regular o abandonar el consumo, gran inversión de tiempo en obtener la sustancia, tomarla o recuperarse de sus efectos, el abandono de importantes actividades sociales, laborales o recreativas debido al consumo y la continuación del consumo a pesar de reconocer los problemas psicológicos y fisiológicos por efecto del uso de la sustancia (p. ej., graves síntomas de depresión o lesiones de órganos). La aparición de tres o más de estos síntomas en el transcurso de 12 meses es suficiente para diagnosticar la dependencia a sustancias (American Psychiatric Association, 2013).

A diferencia de los criterios para la dependencia de sustancias, el diagnóstico para el abuso de sustancias incluye únicamente las consecuencias dañinas del consumo repetido; por ejemplo, ausencia laboral, consumo recurrente de la sustancia en situaciones de riesgo, y los problemas legales, sociales e interpersonales causados o exacerbados por el uso de la sustancia. Aunque es más probable el diagnóstico de abuso de sustancias en los sujetos que recién han empezado el consumo, algunos de ellos continúan experimentando consecuencias sociales adversas durante largo período de tiempo, sin presentar signos de dependencia (American Psychiatric Association, 2013).

El abuso de drogas tiene naturaleza cíclica y progresiva que se caracteriza por la desregulación hedónica-homeostática del individuo, es decir, las señales asociadas a la recompensa ejercen influencia sobre el aumento o reducción de la motivación a consumir la sustancia de acuerdo al estado fisiológico del individuo (Alcaro *et al.*, 2007).

Si bien la “adicción a la comida” aún no es diagnóstico categorizado en el DSM V, la escala de Yale de Adicción a la Comida (YFAS, por sus siglas en inglés) es actualmente la herramienta más usada y aceptada para medir la “adicción a la comida”. Las preguntas están adaptadas específicamente a la ingesta de comidas altamente palatables. Esta escala mide consumo, deseo compulsivo (“craving”), interferencia con las actividades diarias, anticipación del consumo, tolerancia y síntomas de abstinencia (Hone-Blanchet & Fecteau, 2014).

Para Corsica & Pelchat, (2010), al considerar los mismos criterios de dependencia de sustancias, muchas personas podrían cumplir los criterios de “adicción a la comida” (Tabla 1).

Tabla 1. Paralelismos entre los criterios de dependencia a sustancias y el consumo de comida	
Criterios de dependencia a sustancias incluidos en el DSM V	Problemas relacionados al control del consumo de comida
Tolerancia	Empezar por el consumo de una galleta, incrementando gradualmente hasta el consumo de la caja entera
Síntomas de abstinencia (reforzamiento negativo)	Comer habitualmente para aliviar la depresión, ansiedad y otros estados emocionales; sensaciones físicas negativas al abstenerse de carbohidratos
Consumo de una cantidad mayor a la pretendida	Intentar comer una sola porción y, en cambio, comer el paquete entero
Intentos de restringir el consumo	Intentos frecuentes de alimentarse correctamente (evitar la alimentación en exceso o comer ciertos alimentos) que sólo pueden mantenerse por cortos periodos de tiempo
Se invierte mucho tiempo en la búsqueda, el consumo o la recuperación tras el consumo de la sustancia	Pensar frecuentemente en comida, planear el consumo, preparación y/o descansar o dormir tras el consumo excesivo
Reducción o discontinuación de actividades importantes por el uso	Comer en lugar de pasar tiempo con amigos; sentir demasiado malestar por comer en exceso que interfiere con hacer cualquier otra actividad
Continuación a pesar de las consecuencias negativas	Comer demasiado a pesar del sobrepeso, enfermedad física y/o angustia por comer demasiado

Modificado de Corsica & Pelchat, 2010.

El ansia o “craving” por comida se define como el deseo intenso de consumir un alimento en particular (Hone-Blanchet & Fecteau, 2014). Investigaciones previas han revelado que puede inducirse por el consumo repetido de una sustancia en específico al estar hambriento; así, es posible que el anhelo de carbohidratos sea la consecuencia natural del consumo repetido de botanas o aperitivos con alto contenido en carbohidratos (Corsica & Pelchat, 2010).

Cabe mencionar que aunque la necesidad irresistible o compulsiva de consumo o “craving” no está incluida específicamente en los criterios diagnósticos, se observa en la mayoría de los pacientes con dependencia de sustancias. En el caso de la comida, los episodios de consumo excesivo son seguidos típicamente por periodos de dieta o restricción a comidas “seguras” con bajo contenido calórico. Sin embargo, la restricción en la dieta promueve el “craving” por alimentos más palatables y fomenta el futuro “atacón” o “binge” de comidas “prohibidas” (Figura 1). El consumo tipo “binge” se define como el consumo de una cantidad de comida más grande que lo que la mayoría de los individuos comería bajo circunstancias similares en un periodo de tiempo corto (American Psychiatric Association, 2013).



Figura 1. Ciclo de sobreconsumo de comida palatable (modificado de Alsiö *et al.*, 2012).

El consumo tipo “binge” en humanos puede ocurrir en individuos tanto saciados como hambrientos; generalmente las comidas consumidas son altas en calorías (grasa y/o azúcar) (Avena & Bocarsly, 2012).

En la adicción, el uso compulsivo de la droga se mantiene por el estado emocional negativo y disforia asociada con la abstinencia. Se ha propuesto que el consumo compulsivo de comida puede resultar como forma de automedicación para aliviar el estado emocional negativo asociado con la abstinencia a comidas palatables. La abstinencia de comidas palatables puede entonces ser responsable del síndrome de abstinencia caracterizado por disforia, ansiedad y anhedonia, que pueden llevar a su vez a la recaída en forma de consumo tipo “binge” (Iemolo *et al.*, 2012).

Por lo tanto, mientras que los métodos de restricción de comida palatable pueden ser efectivos para reducir el consumo de calorías, y así propiciar la pérdida de peso, su efecto es transitorio, ya que en realidad no rompen el círculo vicioso, únicamente retrasan la recaída en el sobreconsumo. Esto se debe a que los mecanismos neurales involucrados en los fenómenos de palatabilidad están siempre listos para restaurar rápidamente los hábitos previos de sobrealimentación (Alsiö *et al.*, 2012).

Aunque el comportamiento de alimentación es mucho más complejo en humanos a causa de la interacción de otros factores; por ejemplo, la exposición a diferentes tipos de comida, horarios de alimentación variables, influencia de anuncios comerciales y otras señales que promocionan el consumo de determinados alimentos, los modelos animales pueden proveer un panorama del proceso de adicción en sus diferentes fases. Actualmente, la teoría de “adicción a la comida” se sustenta en investigaciones relativamente recientes que han proporcionado evidencia de la capacidad de la sacarosa para inducir ingesta tipo “binge” o de atracón, escalamiento de la ingesta, tolerancia, respuesta de abstinencia, sensibilización cruzada y cambios neuroquímicos, entre otros.

III. Circuitos neuronales de reforzamiento y recompensa

Reforzadores naturales tales como el comportamiento sexual, la interacción social y la comida son esenciales para la supervivencia. Sin embargo, por su carácter hedónico pueden compartir vías cerebrales con sustratos neurales involucrados en el consumo de drogas de abuso para modular e inducir neuroplasticidad en las vías de recompensa, de manera similar a las drogas tradicionales (Hone-Blanchet & Fecteau, 2014).

Uno de los sistemas neurales involucrados en la recompensa es el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (DA-ML). Su actividad es clave en la cadena de eventos que lleva de la acción molecular de las drogas al establecimiento de hábitos compulsivos (Alcaro *et al.*, 2007; Rada & Avena, 2005). El sistema DA-ML está constituido por neuronas dopaminérgicas ubicadas en el área tegmental ventral (ATV) del mesencéfalo, que proyectan a la porción ventral del estriado, hacia el área que se considera el enlace entre el sistema límbico y el sistema motor, denominada núcleo *accumbens* (NAc). Uno de los eventos cruciales en el reforzamiento es la liberación de dopamina (DA) en el NAc, inducida por drogas de abuso y/o comida. El NAc lleva señales a otras partes del sistema límbico, incluyendo la corteza prefrontal (PFC), la amígdala y el hipocampo (Rada & Avena, 2005; Tulloch *et al.*, 2015) (Figura 2).

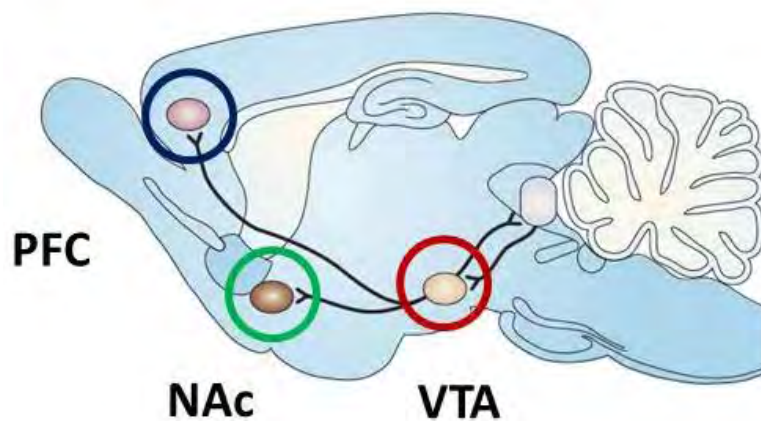


Figura 2. Sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Se origina en el área tegmental ventral (ATV) con proyecciones hacia el núcleo *accumbens* (NAc) y la corteza prefrontal (PFC) (modificado de Broderick *et al.*, 2008).

Drogas como el alcohol también afectan la transmisión dopaminérgica de otras vías, por ejemplo la vía nigroestriatal. Al igual que el circuito dopaminérgico mesocorticolímbico, la vía nigroestriatal se compone de neuronas dopaminérgicas, en este caso las señales se envían de la sustancia nigra al estriado dorsal y su actividad se relaciona al control motor. Aunque la vía nigroestriatal no forma parte de los circuitos de reforzamiento y recompensa de las drogas de abuso, la actividad dopaminérgica de esta vía podría ser

componente importante en los procesos de adicción (Anselme, 2009; Méndez, 2013; Tulloch *et al.*, 2015).

En los mamíferos, la mayoría de las neuronas que producen dopamina están agrupadas en tres áreas mesencefálicas: células A8 en el campo retrorubral, A9 en la sustancia nigra y A10 en el ATV. Los grupos dopaminérgicos mesencefálicos carecen de límites anatómicos claros y sus proyecciones se superponen parcialmente en los campos de sus proyecciones.

El impacto de la transmisión de dopamina en la actividad neural depende principalmente de los receptores dopaminérgicos. La dopamina actúa en dos subtipos principales de receptores que se distinguen entre sí por su modulación en la formación del AMP cíclico intracelular (cAMP). Los receptores D1 están acoplados positivamente a la adenilil ciclasa y estimulan la formación de cAMP, mientras los receptores D2 están acoplados negativamente a la enzima. La activación de los receptores D2 es inhibitoria, mientras que la de los D1 es excitadora (Alcaro *et al.*, 2007; MacDonald *et al.*, 2004; Self, 2004). Numerosos estudios han revelado que el receptor D2 es determinante para experimentar placer de eventos normales de la vida como leer un buen libro, hacer ejercicio, escuchar música, entre otros. La deficiencia en el número de receptores D2 es marcador común del incremento en el riesgo de abuso de alcohol y otras drogas (Fortuna, 2010). Los receptores dopaminérgicos se encuentran distribuidos principalmente en el núcleo caudado y putamen, y en menor cantidad en el NAc (Hall *et al.*, 1994). Las neuronas pueden expresar tanto receptores D1 como D2 (Self, 2004).

Algunos facilitadores de la liberación de dopamina, como la cocaína o anfetamina, y los agonistas de los receptores dopaminérgicos promueven el despertar y la activación conductual en mamíferos. Las ratas y ratones incrementan la actividad locomotora y conductas estereotipadas en respuesta a dichas drogas (Alcaro *et al.*, 2007).

Por otro lado, la acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor capaz de antagonizar el efecto de la dopamina. Las neuronas colinérgicas presentes en múltiples regiones cerebrales tienen importantes funciones en varios procesos cerebrales diferentes y diversas conductas. Dos proyecciones principales de ACh inervan componentes clave en el

sistema de recompensa: una proyección del prosencéfalo del *nucleus basalis magnocellularis*, que provee la aferencia (entrada o “input”) al hipocampo y la amígdala, y proyecciones del rombencéfalo de neuronas de ACh de grupos de células mesopontinas directamente al ATV, donde modulan la actividad de neuronas dopaminérgicas que inervan el NAc (Avena & Rada, 2012).

Las interneuronas colinérgicas en el NAc comprenden menos del 1% de las neuronas del área. El NAc recibe aferencias colinérgicas de manera indirecta por proyecciones de neuronas de ACh que activan neuronas de DA en la ATV y de manera directa por la influencia local de las interneuronas colinérgicas (Avena & Rada, 2012).

Otro sistema modulador de las acciones de varias drogas de abuso como alcohol y opiáceos (también de la comida palatable) es el sistema opioidérgico. Incluye a los péptidos opioides endógenos como encefalina, dinorfina, β -endorfina y a sus respectivos receptores δ , κ y μ . Los péptidos opioides y sus receptores están ampliamente distribuidos en el cerebro, pero aquellos más estrechamente relacionados con la recompensa a la comida se localizan en el ATV, el NAc, y el pálido ventral (Tulloch *et al.*, 2015). Los péptidos opioides se expresan ampliamente a través del sistema límbico y ejercen algunos de sus efectos en el procesamiento del reforzamiento de las drogas de abuso al interactuar con los sistemas dopaminérgicos (Avena *et al.*, 2008b).

Un neurotransmisor de gran relevancia en las investigaciones sobre adicciones es el glutamato. Es el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso central, que regula hasta el 70% de las transmisiones sinápticas. Existen proyecciones glutamatérgicas y/o neuronas que expresan receptores de glutamato en numerosos circuitos del cerebro, incluyendo el sistema mesolímbico dopaminérgico. Por ejemplo, el ATV recibe proyecciones glutamatérgicas de la corteza frontal, la amígdala, el tegmento pedúnculo pontino (PPT) y el tegmento laterodorsal (LDT). De manera simultánea, el NAc recibe una convergencia de entradas glutamatérgicas de la corteza frontal, la amígdala, la formación hipocámpal y varios núcleos del tálamo. Finalmente, la corteza frontal recibe entradas glutamatérgicas de la formación hipocámpal, la amígdala y el tálamo (Gass & Olive, 2008).

La activación de las moléculas y circuitos neuronales aquí revisados tiene efecto sobre la respuesta fisiológica de los individuos expuestos al consumo de comida palatable.

IV. Efecto fisiológico de la comida palatable

La palatabilidad se define como la percepción hedónica de la comida. Esta percepción resulta de características organolépticas (especialmente sabor y olor) de la comida saboreada, pero también del estado motivacional del sujeto (cuánta necesidad tiene de esa comida) y su experiencia en relación con el alimento en cuestión. El aumento en la palatabilidad percibida es suficiente para incrementar el consumo del alimento, el tamaño de la porción, reducción del tiempo de masticado, y duración de la pausa entre comidas; en otras palabras, animales saciados son capaces de comer más allá de sus necesidades homeostáticas en caso de que la comida sea palatable (Barbano & Cador, 2007).

El desarrollo de la adicción es consecuencia de cambios a nivel molecular y celular en los circuitos neurales (Alcaro *et al.*, 2007). Esto incluye cambios en la morfología y la plasticidad sináptica, así como cambios o alteraciones en la señalización glutamatérgica, dopaminérgica, opioidérgica, cannabinoidérgica y serotoninérgica (Alsiö *et al.*, 2012).

Muchas regiones cerebrales son activadas en humanos por comida palatable: zonas corticales en la parte frontal del cerebro, como la corteza orbitofrontal y la corteza anterior cingulada; otras zonas de la corteza como la corteza insular; estructuras límbicas del prosencéfalo subcortical, como la amígdala, el NAc, y el pálido ventral y sitios profundos en el tallo cerebral (Berridge, 2007) (Figura 3).

Las áreas límbicas también desempeñan un papel crucial en el consumo de comida. El tálamo lleva información de los sistemas de control energético en el hipotálamo, región donde muchos neuropéptidos relacionados con la alimentación ejercen sus efectos en la selección de macronutrientes bajo el control de hormonas. El hipotálamo envía proyecciones directamente hacia el NAc, involucrado en los aspectos hedónicos y motivacionales de la alimentación y los procesos de recompensa orosensoriales (Avena & Bocarsly, 2012). Por ejemplo, la grelina, hormona orexigénica liberada por el intestino durante el ayuno, activa el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico vía receptores de

grelina en el ATV, al estimular el consumo de comida palatable sobre el alimento habitual (Alsiö *et al*; 2012) (Figura 3).

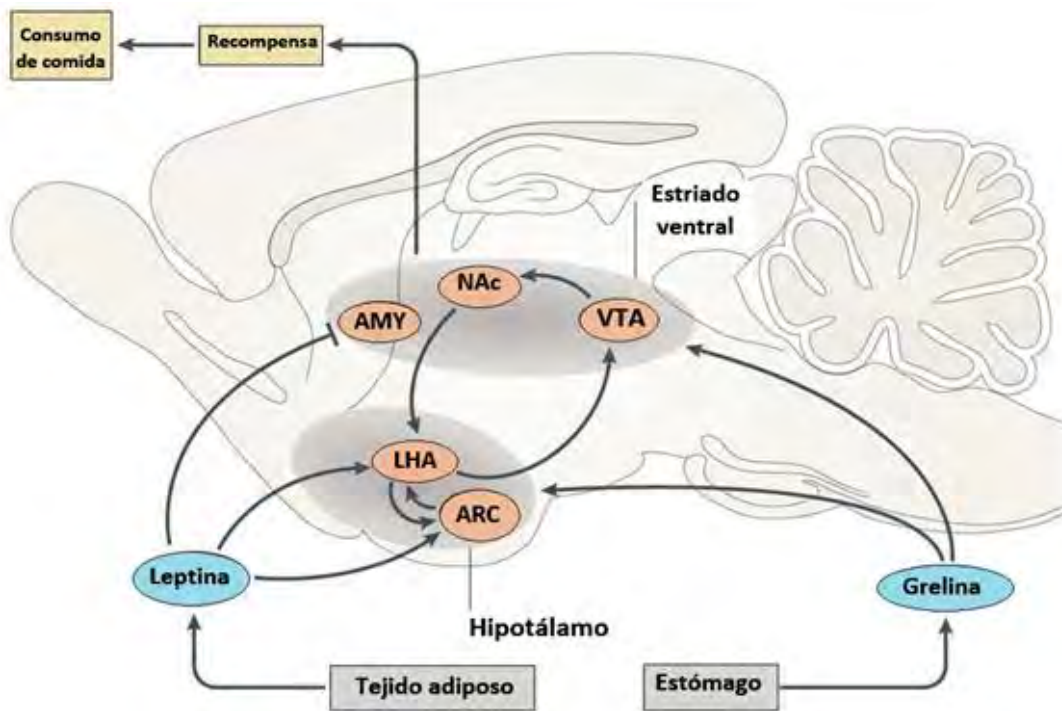


Figura 3. Circuitos neurales que procesan la información relacionada a la recompensa de la comida. Los circuitos de recompensa incluyen a la neuronas dopaminérgicas mesolímbicas en el área tegmental ventral que se proyectan al NAc y otras regiones cerebrales como la amígdala. El área hipotalámica lateral (LHA) integra la información relacionada con la recompensa proveniente del NAc con información relacionada con la homeostasis energética en el núcleo *arcuato* (ARC). La liberación de leptina por parte del tejido adiposo provoca reacciones que se traducen en la sensación de saciedad, al contrario, el resultado de la liberación de grelina, hormona gástrica, elimina esta sensación y da como resultado el aumento de apetito. En conjunto, la homeostasis energética funciona por la respuesta coordinada entre la saciedad y la recompensa que genera la comida. Área tegmental ventral (VTA), núcleo *accumbens* (NAc), área lateral hipotalámica (LHA), núcleo *arcuato* (ARC), amígdala (AMY). (Modificado de Morton *et al.*, 2014).

Las drogas de abuso actúan directamente sobre blancos moleculares en los circuitos de reforzamiento, mientras que las comidas altas en azúcar deben ser procesadas primero, vía sistemas sensoriales y por respuestas metabólicas a través de la estimulación anticipatoria a la llegada de comida; segundo, a través de la estimulación de células

especializadas en el sabor dulce presentes en la boca; y tercero, vía mecanismos postabsorción que involucran a la señalización de la glucosa en el sistema nervioso central (Ahmed *et al.*, 2013).

Entre los principales neurotransmisores y neuromoduladores implicados en el reforzamiento de la comida que existen, aquí se revisarán las características y acciones de la dopamina, los opioides y la acetilcolina.

IV a. Dopamina

El sistema dopaminérgico mesocorticolímbico modula los efectos de recompensa y la excitación locomotora a través de su neurotransmisor, la dopamina (DA). La mayoría de las drogas de abuso activan neuronas dopaminérgicas en regiones cerebrales que procesan el reforzamiento del comportamiento, y provocan la liberación de dopamina en el NAc (Alcaro *et al.*, 2007; Avena, 2007; Avena *et al.*, 2008b).

Bassareo & Di Chiara (1997) encontraron que la comida palatable también provoca la liberación de dopamina, pero contrario a lo que pasa con las drogas de abuso, el efecto disminuye con el acceso repetido, o sea, cuando la comida ya no es novedosa. Asimismo, la anticipación a la llegada de comida, la palatabilidad y el estado energético negativo pueden ocasionar la liberación de dopamina (Bassareo & Di Chiara, 1997; Rada *et al.*, 2005).

Una de las similitudes neuroquímicas más fuertes entre el acceso tipo “binge” al azúcar y las drogas de abuso es su efecto sobre la dopamina extracelular. Se ha demostrado que en ratas con régimen de consumo de sacarosa tipo “binge” no hay disminución en la liberación de dopamina como resultado de la pérdida de novedad, sino que la dopamina del NAc es liberada cada vez que el animal entra en contacto con la sacarosa después de un periodo de privación (Rada *et al.*, 2005; Avena *et al.*, 2006).

Aunado a lo anterior, Alsio *et al.*, (2010) examinaron los patrones alimenticios de ratas con acceso libre a dietas altas en grasas o en azúcar. Al diferenciar ratas en grupos con tendencia a la obesidad (“*obesity-prone*”, OP) y resistentes a la obesidad (“*obesity-resistant*”, OR), encontraron que en las ratas OP había decremento en la expresión de

los receptores de dopamina D1 y D2 en el NAc durante la fase de acceso a la dieta y después de la abstinencia a comida palatable. Adicionalmente, notaron decremento en la expresión del receptor opioide μ en el NAc de ratas OP durante la fase de acceso a la dieta, pero no durante la abstinencia.

En conjunto, estos hallazgos demuestran la importancia de la transmisión dopaminérgica en la respuesta conductual a estímulos relacionados con un reforzador natural como la sacarosa. Más aún, ejemplifican cómo la variación en los patrones de consumo puede alterar la liberación de este neurotransmisor en el NAc, sitio donde la presencia de la dopamina se ha relacionado con el aumento del apetito (Hoebel *et al.*, 2007).

IV b. Opioides

Los animales pueden mostrar signos de abstinencia a opiáceos cuando la sustancia de abuso es removida luego de la exposición repetida, o los receptores a opioides son bloqueados. La abstinencia a opiáceos en ratas se caracteriza por signos somáticos y fisiológicos específicos como comportamiento agresivo y ansiedad, así como disforia y depresión (Avena, 2007).

Posteriormente al acceso intermitente a azúcar, se han observado señales similares a la abstinencia a opiáceos cuando es precipitada por un antagonista a opioides (naloxona), así como cuando el azúcar es removida (Colantuoni *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2008b). Por ejemplo, el bloqueo del receptor opioide μ en el NAc disminuye el consumo de comida palatable en ratas (Katsuura & Taha, 2014). Otros autores han reportado hallazgos parecidos a aquellos observados durante la abstinencia a opiáceos, incluyendo disminución en la temperatura corporal en respuesta a la remoción de azúcar (Wideman *et al.*, 2005), y signos de comportamiento agresivo durante la abstinencia a una dieta de acceso intermitente al azúcar (Galic & Persinger, 2002).

También se ha sugerido que la preferencia por el azúcar o la “adicción” a azúcar puede ser comportamiento compensatorio por deficiencia en el sistema de β -endorfinas. Algunos estudios han demostrado que la administración de una solución de sacarosa vía oral a neonatos que han sufrido un evento doloroso, como venopunción o punción

de talón, disminuye notablemente el aumento en la frecuencia cardíaca, el llanto y los signos faciales asociados al dolor (Stevens *et al.*, 2004).

Varios estudios han demostrado previamente que los receptores opioides κ (kappa) y μ (mu) están implicados en los comportamientos de alimentación; su activación incrementa la ingesta de comida, mientras que su bloqueo tiene efectos anorexigénicos, aunque sus respectivos papeles aún no están claros (Hone-Blanchet & Fecteau, 2014). Por otro lado, (D-Ala², MePhe⁴, Gly-ol⁵) encefalina (DAMGO), un agonista del receptor opioide mu, es una herramienta efectiva para estimular el consumo de comida en ratas saciadas (MacDonald *et al.*, 2004).

Los datos indican que los opioides desempeñan un papel esencial en el consumo hedónico de alimentos, es decir, estimulan el consumo de comida por su efecto de recompensa. Por lo tanto, sus efectos facilitan y estimulan el consumo de alimentos palatables ricos en azúcar, lo que fomenta el consumo excesivo y el potencial desarrollo de conductas adictivas.

IV c. Acetilcolina

Durante la abstinencia a drogas de abuso, el balance de dopamina se modifica y esta decrece mientras que la acetilcolina aumenta (Avena, 2007). La abstinencia de azúcar provoca desbalance neuroquímico entre la DA y la ACh cualitativamente similar al observado con alcohol, nicotina, morfina y otras drogas de abuso (Colantuoni *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2009).

Un estudio de microdiálisis realizado en ratas que consumieron sacarosa reveló la disminución de la DA extracelular (82% de la línea base) y el aumento de ACh (157% de la línea base) en el NAc tras la administración de naloxona. Lo mismo ocurre con el ayuno por 24 horas en ratas con consumo tipo “binge” de sacarosa (Colantuoni *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2008a).

Asimismo, la liberación de ACh en el NAc aumenta durante el transcurso de la comida y alcanza su máximo hacia el final, cuando el animal deja de comer (Avena & Bocarsly, 2012). Sin embargo, se ha observado que bajo un régimen de consumo de sacarosa tipo

“binge”, la liberación de ACh en el NAc se demora, lo que podría significar un retraso en la saciedad (Rada *et al.*, 2005).

En conclusión, la dopamina y la acetilcolina actúan en conjunto. Su actividad determina los estímulos de saciedad o apetito, donde la inhibición de la conducta de alimentación está relacionada con el aumento de los niveles de acetilcolina en el NAc.

V. Efecto conductual de la comida palatable

Además de los cambios en la transmisión de DA, opioides, y ACh, la “adicción” a la sacarosa se manifiesta en patrones conductuales propios de las drogas de abuso, incluyendo “craving”, sobreconsumo o escalamiento del consumo, tolerancia, síndrome de abstinencia, sensibilización y proclividad al consumo de otras sustancias. A continuación se revisan algunos de estos aspectos.

V a. Escalamiento del consumo

El sobreconsumo de comidas y bebidas ricas en azúcar es motivado inicialmente por el placer del sabor dulce (Lenoir *et al.*, 2007). Los sabores dulces generan expresiones hedónicas positivas de apetencia. En ratas, esto se observa como protrusiones rítmicas de la lengua y lamida de labios (Berridge & Kringelbach, 2015).

Se sabe que el acceso continuo y de largo plazo a comida palatable puede promover el aumento en la búsqueda de esta comida, mientras que la motivación por otros reforzadores es atenuada. Por ejemplo, en un experimento de respuesta motivada, ratas “naive” presionaron frecuentemente la palanca para acceder a endulzantes no calóricos. Al parecer, el sabor de la sacarosa es estímulo suficiente ya que incluso ratas con fístula gástrica implantada quirúrgicamente muestran escalamiento del consumo, como lo hacen sus controles con la fístula gástrica cerrada (Alsiö *et al.*, 2009). Además, la preferencia fuerte y persistente por la sacarosa se mantiene incluso frente a sustancias consideradas altamente adictivas, como la cocaína (Lenoir *et al.*, 2007), las anfetaminas (Kanarek *et al.*, 1996) y la nicotina (Lesage, 2009).

Entre los protocolos dirigidos a investigar la dificultad en la moderación del consumo de comida palatable destaca el de Avena y colaboradores (Avena *et al.*, 2008b), quienes

desarrollaron un modelo animal en donde las ratas con acceso intermitente a una solución de sacarosa al 10% durante 12 horas diarias duplicaron su consumo en tan solo diez días, con un mayor consumo durante la primera hora de acceso diario (Figura 4). En estudios sobre consumo de drogas, el escalamiento en el consumo es interpretado como el desarrollo de tolerancia a la droga (Alsiö *et al.*, 2009), por lo que estos resultados podrían reflejar la tolerancia a los efectos recompensantes del azúcar.

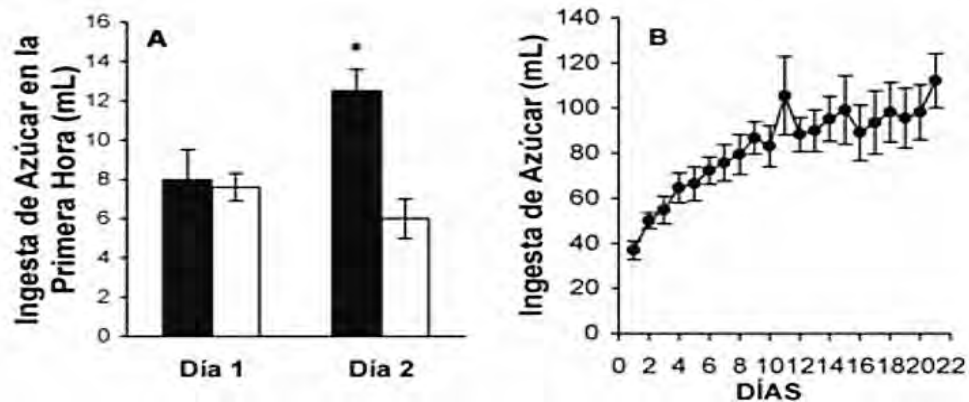


Figura 4. (A) Consumo de sacarosa tipo "binge" en ratas con acceso restringido al azúcar durante 12 horas al día (barras negras) versus ratas con acceso *ad libitum* a sacarosa (barras blancas). (B) Ratas con acceso restringido a sacarosa escalan su consumo durante los 21 días. * $p < 0.05$ (tomado de Rada & Avena, 2005).

V b. Sensibilización

La sensibilización conductual se define como el incremento en los efectos de estimulación locomotora de una droga tras la administración repetida de ésta. Este fenómeno se ha observado con varias drogas de abuso, como cocaína, morfina y alcohol (Avena & Hoebel, 2003a).

La sensibilización se manifiesta como el aumento de conductas motoras y está asociada al aumento de la administración de drogas y a la dependencia. En modelos animales se observa aumento significativo de la actividad locomotora, que progresa mientras la adicción a la sustancia aumenta. Animales que han sido sensibilizados a una droga también muestran sensibilización cruzada. Esto significa que un animal sensibilizado con cocaína, aumentará su actividad locomotora al ser inyectado con otra droga (Rada & Avena, 2005). Usando la prueba de laberinto en ratones con acceso diario a alimento de

roedor dulce, se demostró el aumento de la actividad locomotora con el tiempo (Le Merrer & Stephens, 2006). Además, animales con consumo previo de alimento de roedor dulce presentan sensibilización cruzada a cocaína y morfina (Gosnell, 2005; Le Merrer & Stephens, 2006).

Otra evidencia de sensibilización cruzada con sacarosa es el experimento realizado por Avena y Hoebel (2003a), donde estudiaron sensibilización conductual a la anfetamina. Demostraron que animales con dieta de 12 h de acceso a solución de sacarosa al 10% alternadas con 12 horas de acceso a alimento estándar de roedor, es decir, dieta con alternancia entre la privación y el acceso a la sacarosa, lleva a la sensibilización a anfetamina. De igual manera, los animales sensibilizados con anfetamina consumen más azúcar que los animales control tratados con salina (Avena & Hoebel, 2003b).

Además de sus efectos sobre la actividad locomotora, la sensibilización a drogas puede llevar al aumento en el consumo de otra droga o sustancia, es decir, es la puerta de entrada al consumo de otras drogas (Avena, 2007). Por ejemplo, la abstinencia a una dieta intermitente de azúcar ha demostrado ser suficiente para provocar el aumento en el consumo de etanol de hasta el 9% (Avena *et al.*, 2004).

V c. Abstinencia

Los alimentos palatables provocan la liberación de opioides y dopamina en el sistema mesolímbico y, de manera inversa, la inyección de opiáceos o dopamina en el NAc puede estimular el consumo de comida palatable en animales. Las sinapsis de opioides y dopamina en el sistema mesolímbico actúan sobre el reforzamiento conductual, la evidencia sugiere que las drogas de abuso pueden crear dependencia a través de este sistema (Colantuoni *et al.*, 2002).

La abstinencia por comida fue reportada por primera vez por Le Magnen (1990 en Colantuoni *et al.*, 2002), quien encontró que ratas con dieta tipo cafetería (alta en grasas y carbohidratos) exhibían temblores corporales al ser administradas con naloxona. Colantuoni y colegas utilizaron ratas restringidas de alimento durante 12 h y con acceso a glucosa 25% o sacarosa 10% las siguientes 12h, y analizaron el efecto de la administración de naloxona y de la privación de alimento. La administración de naloxona

(3 mg/Kg por vía subcutánea) provocó castaño de dientes, temblor de patas, sacudimientos de cabeza y manifestaciones conductuales de ansiedad (Colantuoni *et al.*, 2002). De manera similar, indicios conductuales de ansiedad han sido reportados tras el ayuno forzado en ratas con consumo de azúcar tipo “binge” (12 horas de acceso a alimento de roedor estándar y sacarosa al 10% seguidas de 12 horas de abstinencia), colocadas en el laberinto elevado en cruz por 5 minutos, tras privarlas del acceso intermitente al alimento y sacarosa durante 24 horas. Estas ratas pasaron 6% del tiempo en los brazos abiertos, en comparación con el 11% de tiempo invertido por el grupo con acceso *ad libitum* al alimento de roedor estándar con ayuno de 36 horas antes de la prueba (Avena *et al.*, 2008a). En conjunto, estos resultados demuestran que la abstinencia a azúcar puede provocar señales de dependencia a opioides.

En otro estudio, ratas que han experimentado manipulación neonatal, considerada como un análogo de experiencias estresantes en la vida temprana, han demostrado consumir más comida dulce en comparación a los controles. Estos resultados sugieren que la exposición a un estresor en la edad temprana puede provocar cambios en el funcionamiento de los circuitos de recompensa, que lleven al aumento en la motivación para obtener comida dulce (Hajnal & Norgren, 2001).

Entre las manifestaciones de la abstinencia a opioides también se encuentra la depresión conductual. A través de la prueba de nado forzado, se ha demostrado que la restricción de una dieta intermitente rica en azúcar provoca depresión conductual, lo que se manifiesta como un tiempo significativamente mayor de inmovilidad (interpretado como un aumento en la desesperanza), supresión de los comportamientos de escape (nado y escalada) y aumento de los comportamientos pasivos (flotación) (Avena *et al.*, 2008a, Lemolo *et al.*, 2012). Estas ratas además exhibieron comportamiento tipo anhedónico, indicado por la disminución del consumo de una solución de sacarosa 0.8% *ad libitum* a las que las ratas fueron familiarizadas una semana antes, que fue revertido con el restablecimiento del acceso a la dieta palatable (Lemolo *et al.*, 2012). Esto sugiere que las ratas con acceso restringido a comida palatable pueden desarrollar comportamiento semejante a la dependencia a opioides, adaptaciones en el comportamiento de consumo y cambios asociados a la ansiedad.

Por otra parte, cuando las ratas que han tenido acceso prolongado a comida palatable son transferidas de nuevo a alimento estándar de roedor, comen muy pocas calorías y pierden peso, es decir, el apetito por la dieta estándar disminuye por la exposición a dieta palatable. Este rechazo a alimento estándar de roedor se observa ya tras la primera semana de acceso a alimentos palatables (Heyne *et al.*, 2009). En contraste, con el consumo restringido de alimento estándar de roedor, la conducta apetitiva dirigida a comidas palatables incrementa durante la abstinencia forzada y toma características compulsivas, manifestadas como búsqueda de comida y consumo excesivo a pesar de las consecuencias negativas a corto y largo plazo (Alsiö *et al.*, 2009).

Mediante condicionamiento operante, Avena y colaboradores (2005) investigaron también el consumo de azúcar después de la abstinencia, demostraron que ratas con consumo de azúcar tipo “binge” pulsaban la palanca 23% más por azúcar luego de dos semanas de abstinencia en comparación con el principio del experimento, esto sugiere que el cambio en el impacto motivacional del azúcar persiste e incrementa durante el periodo de abstinencia.

El aumento en la motivación por azúcar tras la abstinencia es la base para el inicio del ciclo de consumo excesivo. El aumento del “craving”, el surgimiento de señales de dependencia como las producidos por opioides, tales como la ansiedad, y cambios en el consumo de azúcar cuando esta vuelve a estar disponible, pueden extrapolarse fácilmente a algunas de las sensaciones que reporta una persona cuando restringe los carbohidratos en su dieta; de ahí la importancia del estudio de los efectos de la sacarosa durante la abstinencia.

El estudio de la conexión entre el consumo de la sacarosa y la obesidad ha derivado en evidencia que en su mayoría relaciona fuertemente determinados tipos de consumo con los criterios más comunes para el diagnóstico de la adicción. Sin embargo, aún es necesario caracterizar conductualmente los efectos de la sacarosa implicados en el consumo del azúcar y los efectos dependientes de la dosis. Este estudio busca determinar los cambios conductuales de cinco dosis diferentes de sacarosa en un campo abierto, así como su relación con el efecto de una droga ya conocida, el etanol.

JUSTIFICACIÓN

Al día de hoy, las investigaciones sobre la “adicción a la comida” han reconocido diversas similitudes entre el sobreconsumo de alimentos palatables y la dependencia a sustancias. Por lo general, dichos hallazgos están enfocados en patrones de consumo específicos, por ejemplo el consumo tipo “binge”. Entre los efectos que denotan “adicción” al azúcar se hallan el escalamiento en el consumo o tolerancia, los síntomas de abstinencia posteriores a la restricción, la pérdida del control en el consumo y señales conductuales de sensibilización, además de cambios neuroquímicos en receptores dopaminérgicos, el balance dopamina-acetilcolina y de otros sistemas de neurotransmisores y neuromoduladores.

La posibilidad de que la sacarosa por sí misma ejerza un efecto importante en los mecanismos de recompensa tiene serias implicaciones. Se sabe que el sobreconsumo de dietas ricas en azúcar es uno de los factores principales en la epidemia de obesidad actual. Más aún, el azúcar y alimentos dulces se usan frecuentemente en los protocolos de investigación para entrenar a los animales antes de la autoadministración de otra sustancia.

El presente trabajo representa una primera aproximación al estudio de los efectos de diferentes dosis de sacarosa sobre la actividad locomotora, expresada como la suma de movimientos horizontales, verticales y conductas estereotipadas, con el objetivo de reconocer el efecto que tiene la administración aguda de esta sustancia en ratas Wistar en un protocolo en campo abierto. La caracterización de los efectos resultantes de la administración de cada dosis posibilita su aplicación y el desarrollo de un protocolo de administración crónica enfocado en el estudio de la adicción a la sacarosa. Mayor conocimiento de los efectos de la sacarosa a nivel conductual, significaría reconocer sus similitudes biológicas con las drogas de abuso y, por lo tanto, su potencial adictivo. Esta información repercute en los efectos perniciosos de su consumo excesivo y ubicuidad en los alimentos que consumimos diariamente.

HIPÓTESIS

1.- Los efectos conductuales de la sacarosa en la rata Wistar dependen de la dosis. Mayores concentraciones de sacarosa inducirán mayor actividad locomotora. Por lo tanto, los animales tratados con dosis más altas tendrán mayor número de movimientos horizontales, movimientos verticales y conductas estereotipadas.

2.-Habrà una relación directa entre los efectos conductuales de las distintas dosis de sacarosa y etanol y los niveles de glucosa y alcohol en sangre.

3.-De ser una sustancia con potencial adictivo, el efecto de la sacarosa en la expresión de la actividad locomotora de ratas será semejante al del etanol.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es estudiar los efectos conductuales producidos por la administración aguda de distintas dosis de sacarosa en ratas Wistar.

Los objetivos particulares del trabajo son los siguientes:

- Estudiar el efecto de diferentes dosis de sacarosa sobre la expresión de movimientos horizontales, verticales y conductas estereotipadas en un campo abierto.
- Relacionar los efectos observados con los niveles de glucosa en sangre.
- Comparar las respuestas conductuales de la sacarosa con las de una droga de abuso (etanol).

MATERIAL Y MÉTODOS

I. Sujetos de estudio

Se utilizaron 150 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) macho (250-500g) alojadas en grupos de cinco, en jaulas de plástico (60 x 38 cm) en ciclo de luz-oscuridad normal de 12:12h (inicio del periodo de luz a las 7:00 AM). Los animales fueron alimentados con agua y alimento de roedor estándar (Agribrands Purina, México) con disponibilidad *ad libitum*.

En todos los casos, la eutanasia de los animales se realizó por decapitación al finalizar el registro conductual en el actímetro y la toma de las muestras de sangre para las determinaciones de glucosa o etanol. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación en animales del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

II. Análisis de la actividad locomotora

La actividad locomotora de las ratas se midió en un actímetro (Panlab, S.I., LE 811 Letica Scientific Instruments) formado de paredes de acrílico de 45 x 45 cm y 16 fotoceldas de rayos infrarrojos, ubicadas en un marco superior y uno inferior de 65.5 x 65.5 cm. El sistema está conectado a un monitor de actividad motora (LE 811, IR, LSi Letica Scientific Instruments) y un ordenador (DELL Optiplex GX520), con el programa para la adquisición de datos SeDaCom32 (Serial Data Communication para dispositivos LETICA versión 1.05, Panlab S.I.). Las evaluaciones conductuales se realizaron entre las 12:30 y las 15:30 horas.

Para evaluar los efectos de las diferentes dosis de sacarosa sobre la actividad locomotora se utilizó una prueba de campo abierto, la actividad se cuantificó como el número de veces que el rayo infrarrojo fue interrumpido. Se realizó el registro de tres conductas diferentes: movimientos horizontales (MOV HOR), movimientos verticales (MOV VER) y estereotipias (EST). Los movimientos horizontales se evaluaron a través del registro de las interrupciones de los rayos infrarrojos basales, es decir, cuando el animal se mueve simultáneamente sobre sus cuatro patas. La frecuencia de los movimientos verticales se mide cuando la rata se levanta sobre sus patas traseras,

interrumpiendo los rayos infrarrojos superiores. Las conductas estereotipadas corresponden a la interrupción de rayos contiguos en el marco inferior, estas se evaluaron como un único parámetro que abarca diferentes tipos de estereotipias tales como, el acicalamiento, lamida, olfateo, mordisqueo y rascado.

Inicialmente, se permitió la habituación de las ratas al cuarto de conducta con variables controladas (temperatura ambiente, ruido de fondo e iluminación estándar) durante media hora.

La prueba conductual consistió de tres fases: habituación, inyección del vehículo y la fase droga. Durante la fase de habituación se busca que el animal conozca el nuevo ambiente (actímetro); posteriormente, la fase de vehículo tiene como objetivo determinar una línea basal de estrés producido por la inyección, la cual sirve para descartar el efecto de la inyección en la última fase (fase droga), donde se evalúa el efecto de la sustancia de interés. Dado que las últimas dos fases implican la administración de sustancias vía intraperitoneal, se descartaron los últimos dos intervalos de la fase habituación y la fase de inyección del vehículo, ya que es en estos intervalos que el experimentador extrae a la rata del actímetro y puede producirse un sesgo en los registros.

La preparación de las soluciones se realizó el día previo a la evaluación conductual. Para la sacarosa (SIGMA) se prepararon disoluciones 0.115 M, 0.230 M, 0.460 M, 0.575 M y 0.805 M correspondientes a las dosis de 0.5, 1, 2, 2.5 y 3.5 g/Kg, respectivamente. Con etanol (MERCK) se prepararon disoluciones al 25% para la dosis de 2.5 g/Kg y al 9.9% para la dosis de 1 g/Kg. El volumen administrado se calculó de acuerdo al peso de cada rata (g/Kg).

El registro se llevó a cabo durante 45 intervalos de 2 min de duración cada uno (90 min totales). Los primeros 30 min corresponden a la fase habituación; una vez transcurrido este tiempo, se les administró una inyección intraperitoneal (i.p.) de agua (vehículo) y la actividad locomotora fue medida nuevamente durante otros 30 min (fase vehículo). Transcurrida una hora, las ratas fueron divididas aleatoriamente en los grupos experimentales de sacarosa 0.5 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 2.5 g/Kg y 3.5 g/Kg, los controles positivos de etanol 1.0 g/Kg y 2.5 g/Kg, y el control negativo de agua. Los últimos 30

minutos se registró la actividad resultante de la administración i.p. de las sustancias de interés (fase droga) (Figura 5).

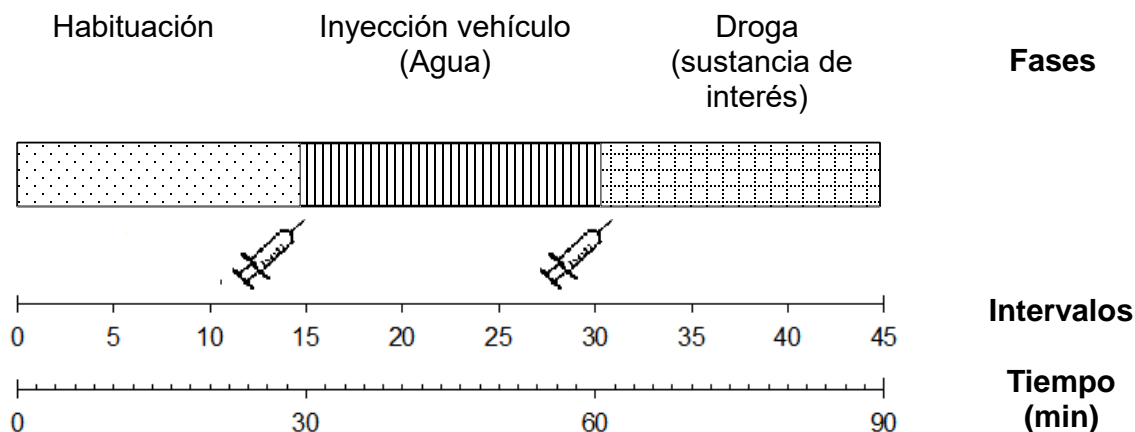


Figura 5. Fases de registro de la actividad locomotora en campo abierto.

Las dosis de sacarosa usadas en este estudio fueron seleccionadas con base en estudios previos de consumo crónico de etanol durante 4 semanas y un grupo isocalórico de sacarosa (Barbosa, 2012; Leriche & Méndez, 2010). Se encontró que una solución de etanol (7 kcal por gramo) al 10% equivale calóricamente a una solución de sacarosa (4 kcal por gramo) al 14.14%. A partir de esto la dosis máxima calculada para las ratas administradas con sacarosa fue de 4.375 g/Kg, por lo que se decidió hacer el análisis en un rango de dosis de 0.5 a 3.5 g/Kg.

III. Clasificación de los animales en alta y baja respuesta (HR-LR)

En una segunda etapa del proyecto, se investigó el comportamiento de los animales en función de su respuesta a la novedad. Se han reconocido dos clasificaciones conductuales en ratas basadas en correlaciones entre la reactividad a un estímulo estresante (un ambiente novedoso) y la sensibilidad (o vulnerabilidad) a los efectos de drogas adictivas. Los animales con mayor respuesta locomotora ante la exposición al ambiente novedoso se clasifican como animales de alta respuesta a la novedad (HR), mientras que los animales con menor respuesta locomotora se clasifican como de baja respuesta a la novedad (LR) (Calvo *et al.*, 2011). El modelo animal de vulnerabilidad al

abuso de drogas ha asociado la elevada actividad locomotora en un nuevo ambiente o alta respuesta (en inglés, *high response* “HR”) a mayor sensibilidad a las drogas de abuso y a mayor probabilidad de auto administración de drogas en comparación con animales de menor respuesta (en inglés, *low response* “LR”) (White *et al.*, 2007).

Con el objeto de determinar si la respuesta a la novedad modifica la conducta locomotora en las condiciones descritas, se clasificó a los animales en HR y LR. Para ello, se evaluó la actividad de movimientos horizontales durante los primeros 5 intervalos y se calculó la actividad total en ese tiempo (10 min) para cada animal. Posteriormente, de acuerdo a la actividad promedio, que en este caso fue de 1822 interrupciones. Las ratas que mostraron actividad locomotora por encima de 1822 fueron clasificadas como HR, mientras que los animales que exhibieron actividad locomotora por debajo de este número se clasificaron como LR (Dellu *et al.*, 1993; Hoshaw & Lewis, 2001).

IV. Concentración de glucosa en sangre

Un grupo independiente de ratas (n=25) fue utilizado para la cuantificación de glucosa en sangre. Este grupo fue mantenido en condiciones idénticas a las ratas en la prueba conductual. Las ratas se colocaron en cajas de plástico individuales (30 x 23 cm) y se permitió su habituación a las condiciones del laboratorio por una hora; durante este tiempo las ratas estuvieron restringidas de alimento. Todas las determinaciones de glucosa en sangre fueron realizadas de 10:30 a 12:30 horas.

Una vez transcurrido el periodo de habituación, las ratas fueron divididas en cinco grupos de cinco sujetos cada uno (sacarosa 0.5, 1, 2, 2.5 y 3.5 g/Kg). De acuerdo a protocolos similares, se administró la dosis de sacarosa vía intraperitoneal y se obtuvieron muestras de sangre de la punta de la cola de la rata inmediatamente después de la inyección (tiempo cero) (T0), y nuevamente a los 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20 y 30 min. Las muestras de sangre fueron analizadas utilizando un glucómetro ONETOUCH Ultra 2 y tiras reactivas ONETOUCH Ultra (Ayala *et al.*, 2010; Frazier *et al.*, 2008).

V. Determinación de alcohol en sangre

Otro grupo independiente de ratas (n=12) fue dividido en dos grupos con la misma cantidad de individuos. Uno fue administrado con de la dosis alta de etanol (2.5 g/Kg) y el otro con la dosis baja (1 g/Kg).

V a. Obtención de plasma. Los animales fueron decapitados y se colectó una muestra de sangre troncal en tubos Falcon que contenían un 0.5 ml de EDTA (12mM) por cada ml de sangre troncal. Posteriormente se agitó ligeramente el tubo por inversión, para evitar hemolizar la muestra. Los tubos se centrifugaron durante 15 min a 4°C a 3000 rpm. El sobrenadante se recuperó y se congeló a -70 °C.

V b. Desproteínización de las muestras. Una vez obtenidos los plasmas, se procedió a desproteínizar las muestras. En un tubo Eppendorf de 1.5 ml se añadieron 300 µL de plasma + 450 µL de TCA (ácido tricloroacético). El tubo se agitó y se dejó reposar durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó a 2000 rpm durante 5 min a una temperatura de 4°C. El sobrenadante se recuperó.

V c. Determinación de la concentración de alcohol en sangre (BAC). A 100 µL del sobrenadante (plasma) se le agregaron 100 µL de NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina), 100 µL de ADH (alcohol deshidrogenasa) y 2.8 mL de buffer de glicina-hidracina. El alcohol en las muestras de plasma se oxida a acetaldehído en presencia de ADH, con la reducción simultánea de NAD a NADH (Figura 6). La reacción resultante puede leerse a los 35 minutos en un espectrofotómetro (T70 UV/VIS Spectrometer Pg Instruments Ltd.) a 340 nm. Las soluciones fueron preparadas al momento de usarse (Anexo 1) (Abate *et al.*,2014; Poklis & Mackell, 1982 con modificaciones).

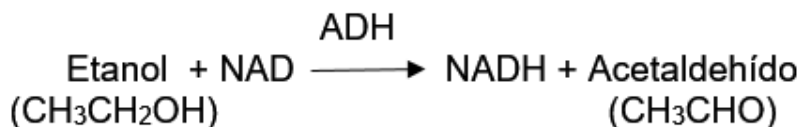


Figura 6. Oxidación del etanol

VI. Análisis estadísticos

Todos los datos fueron analizados utilizando el software Systat, Inc. SigmaPlot, versión 13 para Windows. Los datos fueron inicialmente analizados con ANOVA, de acuerdo al diseño experimental (*vide infra*). Para todos los casos se utilizó la prueba LSD de Fisher como prueba *post hoc*.

VI a. Actividad locomotora. Los últimos dos intervalos (cuatro min), de las primeras dos fases del experimento (habitación e inyección del vehículo) no se incluyeron en el análisis de datos, con el fin de evitar un sesgo por el movimiento captado por el sistema cuando el experimentador extrae la rata para inyectarla. Para el resto de los datos, se analizó cada uno de los parámetros conductuales (MOV, STE, REA) mediante un análisis de varianza para muestras repetidas de dos vías (“Two-way” ANOVA MR) (intervalos 1 a 45).

Después, utilizando la misma prueba, los datos fueron analizados por fases (habitación, inyección del vehículo y droga), correspondientes a bloques de 30 min cada una (15 intervalos).

VI b. Concentración de glucosa en sangre. La concentración de glucosa en sangre (mg/dL) como variable dependiente de la dosis administrada de sacarosa (0.5, 1, 2, 2.5 y 3.5 g/Kg) fue analizada mediante un análisis de varianza de una vía para medidas repetidas (“One-way” ANOVA MR). Para controlar las diferencias por grupo y evaluar el incremento en los niveles de glucosa en sangre de acuerdo a una línea base, los datos fueron normalizados de acuerdo al valor de la glucosa en sangre en el tiempo cero (T0).

VI c. Concentración de alcohol en sangre (BAC). Para obtener la concentración de etanol en plasma (mg/L) se construyó una curva estándar de etanol. Se tomó como referencia de 5 a 320 mg/dL en la que posteriormente se compararon las absorbancias obtenidas en las muestras de sangre.

RESULTADOS

I. Evaluación conductual

En el presente trabajo, se estudiaron los efectos de distintas dosis de sacarosa en comparación con los efectos de una droga de abuso como el alcohol. Se ha reportado que mientras dosis bajas-intermedias de alcohol producen un aumento en la actividad locomotora, las dosis altas tienen un efecto de sedación y disminuyen la actividad locomotora en ratas (Pohorecky, 1977).

El análisis de los datos obtenidos en la prueba de campo abierto muestra que existen cambios en la actividad locomotora de ratas Wistar como consecuencia de la administración de diferentes dosis de sacarosa. Se observó que el número de interrupciones de movimientos horizontales disminuye conforme el tiempo transcurrido de la prueba aumenta, es decir, la mayor actividad se presenta durante la fase de habituación. El ANOVA de dos vías para medidas repetidas de los datos registrados durante los 90 minutos de los movimientos horizontales (Figura 7) demostró diferencias significativas para el tratamiento ($F(7,142)=10.405$, $p<0.001$), el tiempo ($F(40,142)=606.613$, $p<0.001$) y la interacción entre ambos factores ($F(280,4672)=4.426$, $p<0.001$).

Movimientos horizontales

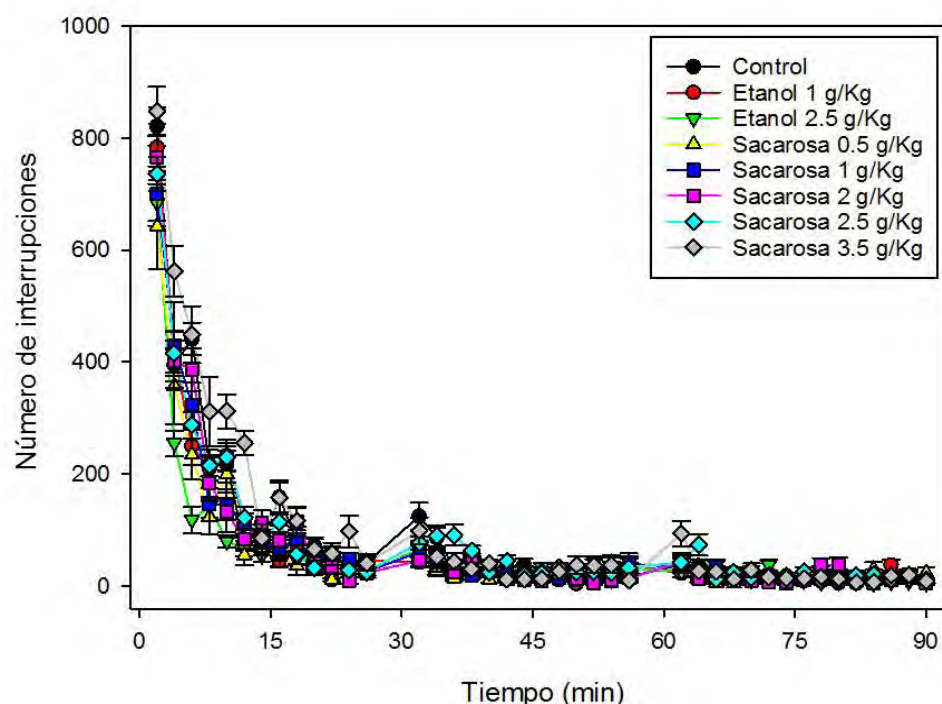


Figura 7. Curso temporal de los movimientos horizontales (MOV HOR) registrados durante las fases de habituación, inyección del vehículo y droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 17 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 15 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Asimismo, el registro de movimientos verticales demostró que la mayor actividad se registra durante la fase de habituación y disminuye con el paso del tiempo. Destaca el grupo de sacarosa 2.5 g/Kg; si bien durante la fase de habituación mantiene valores altos, a partir de la fase de inyección del vehículo se aleja del resto de los tratamientos, principalmente durante el inicio de dicha fase y en algunos puntos de la fase droga (Figura 8). El análisis estadístico arrojó diferencias significativas para el tratamiento ($F(7,139)=15.534$, $p<0.001$), el tiempo ($F(40,139)=94.098$, $p<0.001$) y la interacción entre tratamiento y tiempo ($F(280, 4694)=2.514$, $p<0.001$).

Movimientos verticales

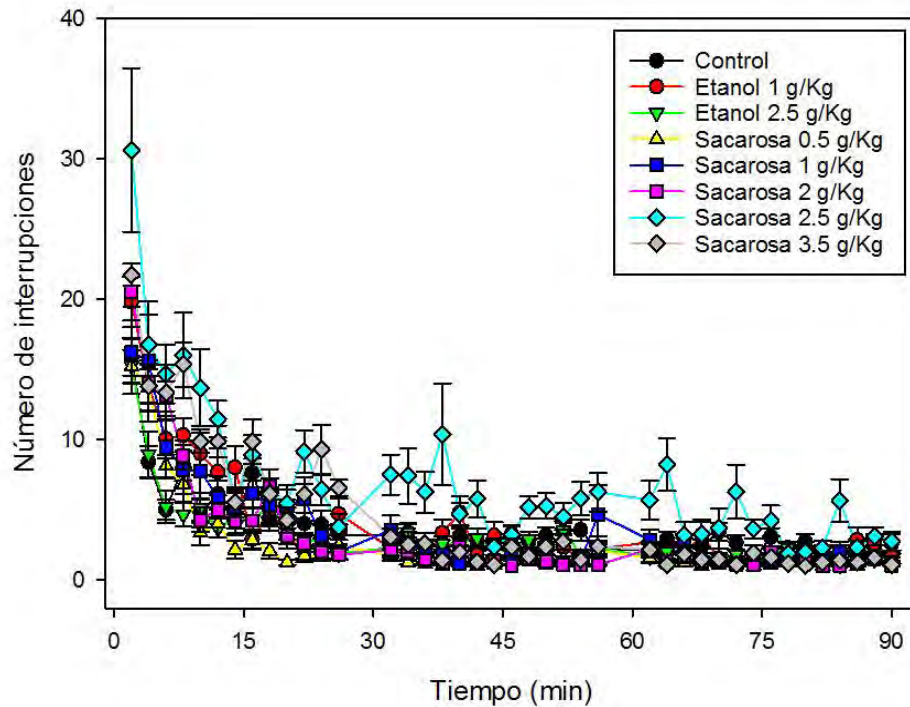


Figura 8. Curso temporal de los movimientos verticales (MOV VER) registrados durante las fases de habituación, inyección del vehículo y droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 21 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 16 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2 g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

El análisis de los datos registrados en el curso de 90 minutos correspondientes a la conductas estereotipadas también muestra diferencias significativas en el tratamiento ($F(7,135)= 16.867$, $p<0.001$), el tiempo ($F(40,135)=267.647$, $p<0.001$) y la interacción de ambos factores ($F(280, 3977)=3.608$, $p<0.001$). Al igual que con las conductas anteriormente descritas, en las conductas estereotipadas hay gran número de interrupciones de los rayos en la prueba de campo abierto durante la fase habituación; transcurridos los 15 min se observa la relativa estabilidad en estas interrupciones, lo que se mantiene a lo largo de la fase de inyección del vehículo y hasta la fase droga (Figura 9).

Estereotipias

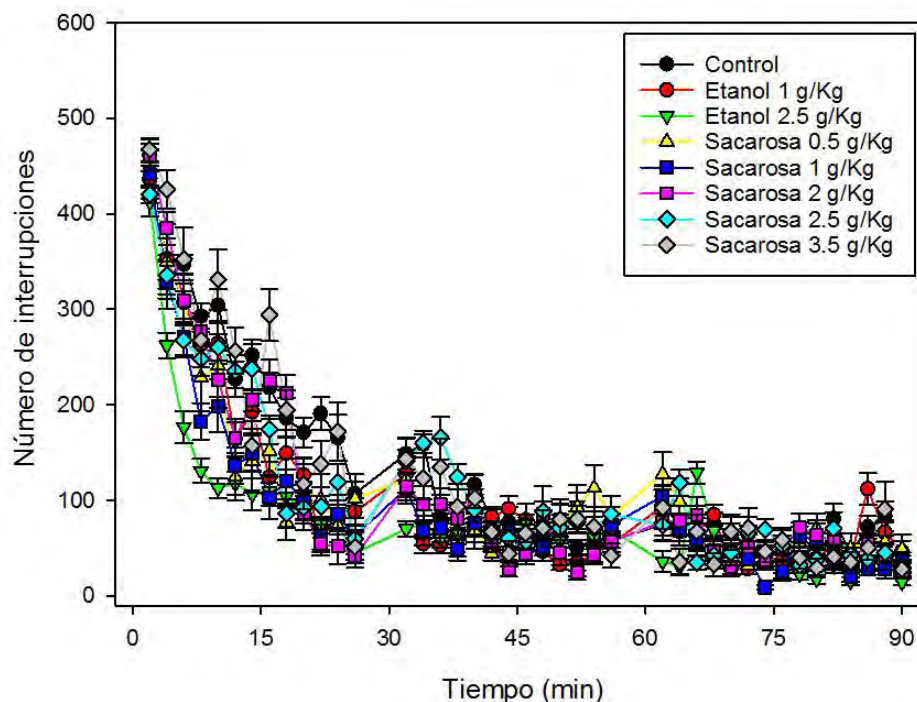


Figura 9. Curso temporal de conductas estereotipadas (EST) registradas durante las fases de habituación, inyección del vehículo y droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 25 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 20 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 14 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2 g/Kg), 17 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Con el fin de caracterizar las tendencias individuales de los tratamientos durante cada fase del experimento, se realizó el análisis de los parámetros en cada fase del registro (habituaación, inyección del vehículo y droga). Como se menciona en la metodología, durante la fase de habituación y la subsiguiente fase de inyección del vehículo los animales aún no han sido administrados con la sustancia de interés (etanol o sacarosa).

I a. MOVIMIENTOS HORIZONTALES (MOV-HOR)

El análisis de los datos de los movimientos horizontales durante la fase de habituación reveló diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento ($F(7,142)=10.885$, $p<0.001$), el tiempo ($F(12,142)= 585.691$, $p<0.001$) y la interacción entre los factores ($F(84, 1254)=3.379$, $p<0.001$).

En la gráfica del curso temporal de movimientos horizontales durante la fase de habituación (Figura 10) se observa la disminución en la actividad locomotora en el grupo de etanol 2.5 g/Kg con respecto al control. En contraste, la actividad del grupo de sacarosa 3.5 g/Kg aumentó de manera importante. Cabe recordar que en esta fase los animales no han recibido etanol o sacarosa. Estos resultados sugieren que los animales se comportan de manera distinta ante un estímulo novedoso (actímetro). Este aspecto se estudió en la segunda fase de este trabajo (ver más adelante).

MOV HOR - Fase habituación

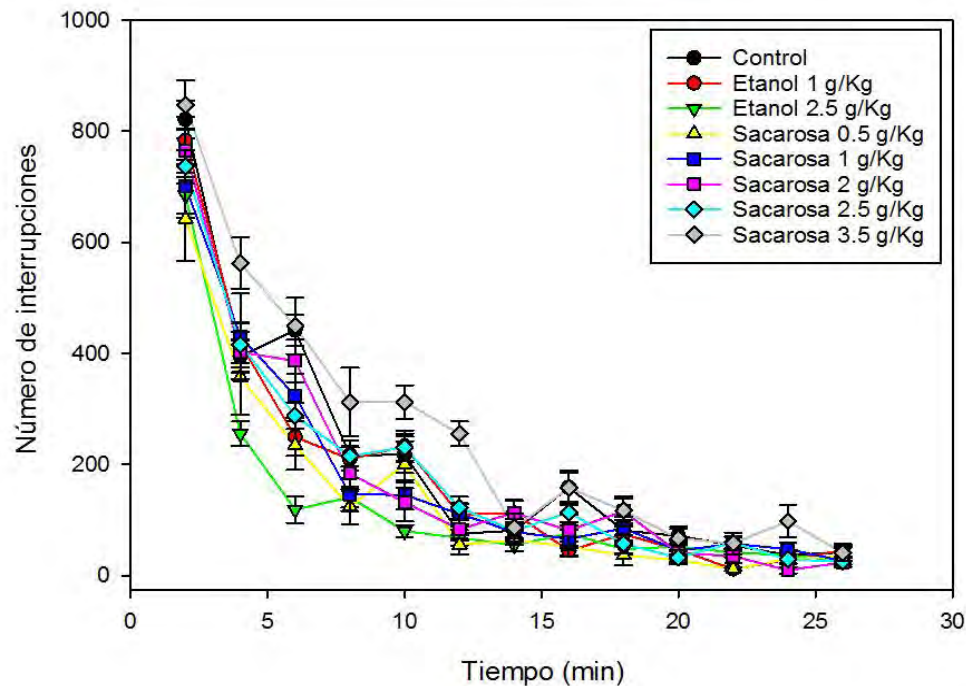


Figura 10. Curso temporal de los movimientos horizontales (MOV HOR) durante la fase de habituación. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 17 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 15 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Las diferencias en el número de interrupciones de los movimientos horizontales entre los sujetos a lo largo del tiempo se observan también durante la fase de inyección del vehículo, principalmente al inicio de la fase, donde el grupo que posteriormente recibirá la sacarosa 2.5 g/ Kg muestra el aumento en la conducta en comparación con el resto de los grupos (Figura 11). Se encontraron diferencias significativas para el tratamiento

($F(7,142)= 4.708$, $p<0.001$), el tiempo ($F(12,142)=18.834$, $p<0.001$) y la interacción ($F(84,1450)=2.429$, $p<0.001$).

MOV HOR - Fase inyección vehículo

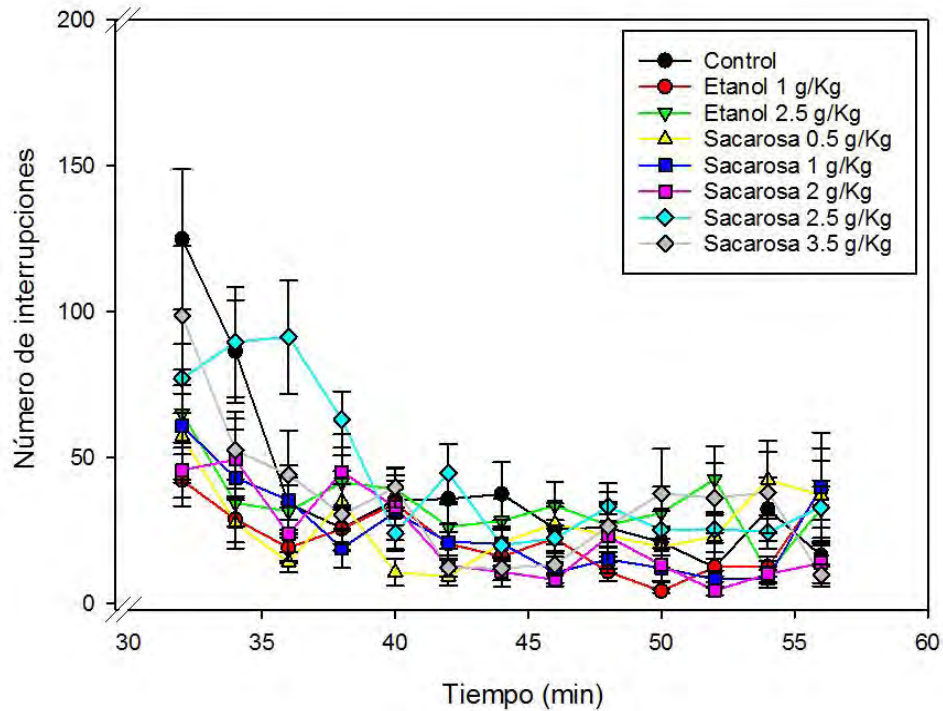


Figura 11. Curso temporal de los movimientos horizontales (MOV HOR) durante la fase de inyección del vehículo. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 17 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 15 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Una vez transcurrida la fase de exposición al estresor (fase de inyección del vehículo) y a la novedad del campo abierto (fase habituación), los animales recibieron la segunda inyección, ya sea agua (grupo control), etanol (1.0 y 2.5 g/Kg) o sacarosa (0.5, 1, 2, 2.5 y 3.5 g/Kg).

Contrario a las dos primeras fases, los resultados de la prueba de ANOVA de dos vías para medidas repetidas no muestran diferencias significativas para el tratamiento ($F(7,142)=0.622$, $p=0.737$) en la fase droga, aunque el tiempo ($F(14, 142)= 10.429$, $p<0.001$) y la interacción entre tratamiento y tiempo ($F(98, 1684)=2.305$, $p<0.001$) sí

tienen resultados estadísticamente significativos. Sin embargo, al igual que en el caso anterior (Figura 11), se observa la tendencia al aumento de los movimientos horizontales durante los primeros 5 minutos de la fase en los animales que recibieron sacarosa 2.5 y 3.5 g/Kg. De igual manera, se observa una tendencia a aumentar los movimientos horizontales en otros tratamientos, por ejemplo, etanol 2.5 g/Kg, sacarosa 2.0 y sacarosa 2.5 g/Kg hacia la mitad de la fase, y de sacarosa 0.5 g/Kg y etanol 1.0 g/Kg hacia el final de la fase (Figura 12).

MOV HOR - Fase droga

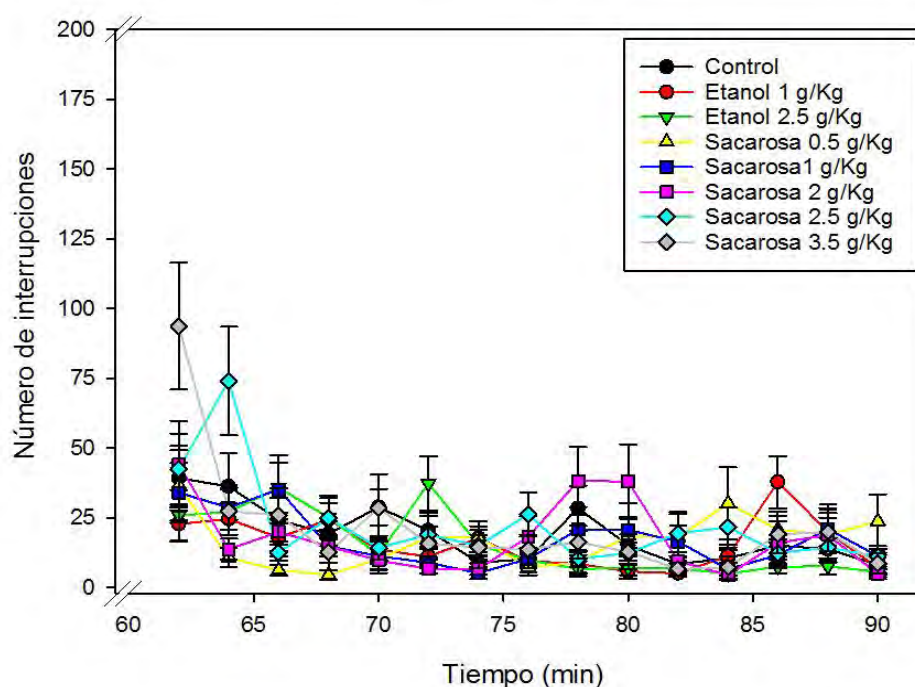


Figura 12. Curso temporal de los movimientos horizontales (MOV HOR) durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 17 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 15 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Con el fin de determinar si existían o no diferencias entre los tratamientos a lo largo del tiempo, se realizó un ANOVA de una vía para cada intervalo del registro de movimientos horizontales en la fase droga (Tabla 2).

Tabla 2. Diferencias significativas en MOV HOR durante la fase de droga.

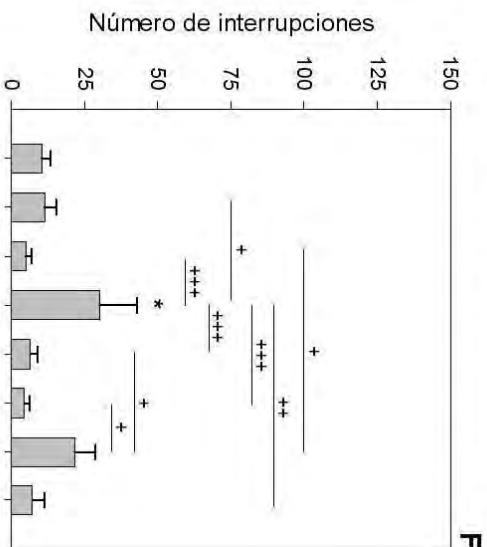
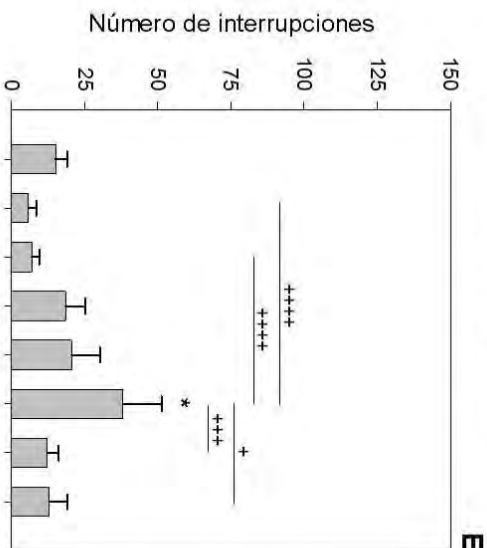
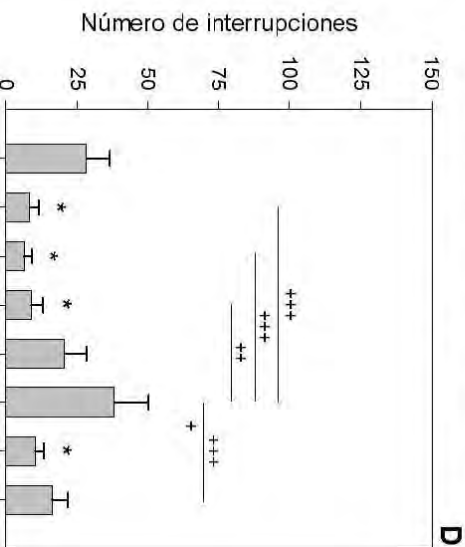
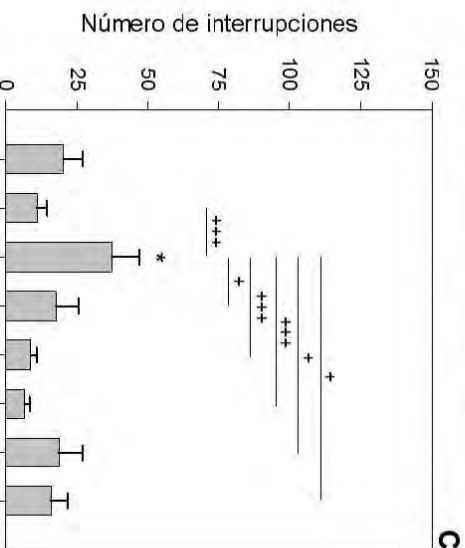
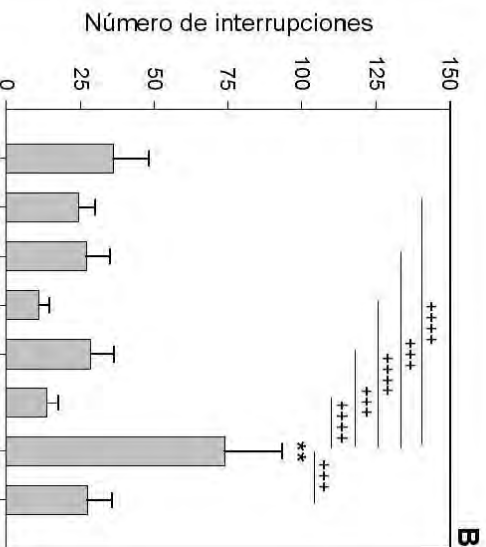
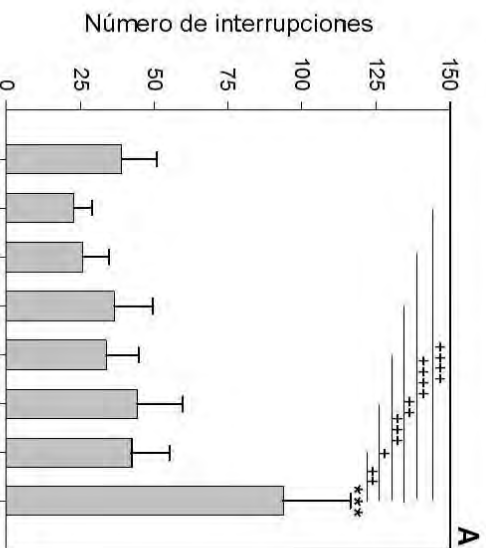
<i>Intervalo</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
31	F(7,116)=2.244	p<0.035
32	F(7,118)=3.220	p<0.004
36	F(7,124)=2.257	p<0.034
39	F(7,122)=2.689	p<0.013
40	F(7,123)=2.324	p<0.029
42	F(7,118)=2.552	p<0.018
43	F(7,125)=2.634	p<0.014

Se muestran los intervalos de tiempo que presentan diferencias significativas entre los grupos experimentales, para movimientos horizontales durante la fase droga.

Como se mencionó anteriormente, las comparaciones múltiples se realizaron con una prueba *post hoc* LSD de Fisher. Al respecto, aunque los tratamientos en el intervalo 45 no presentan diferencias estadísticamente significativas, el valor de la prueba es muy cercano a la significancia estadística (F(7,124)=2.038, p=0.055).

La administración de una dosis alta de sacarosa, como 3.5 g/Kg o 2.5 g/Kg, aumenta inmediatamente los movimientos horizontales respecto al grupo control y al resto de los tratamientos (Figura 13A y B). Conforme pasa el tiempo, estos efectos son reemplazado por la dosis intermedia de 2 g/ Kg (Figura 13D y E) y, posteriormente, por la dosis más baja de sacarosa de 0.5 g/Kg (Figura 13F).

En el caso de las ratas que recibieron etanol sólo se observaron diferencias significativas durante el transcurso del intervalo 39 y 43 para el etanol 1 g/Kg (Figura 13D y G), en este último intervalo el etanol presenta diferencias significativas con todos los grupos excepto sacarosa 0.5 g/Kg (Figura 13G); y en los intervalos 36 y 39 para el etanol 2.5 g/Kg (Figura 13C y D). Para ambas dosis se presenta el aumento y la disminución de las interrupciones respecto al control.



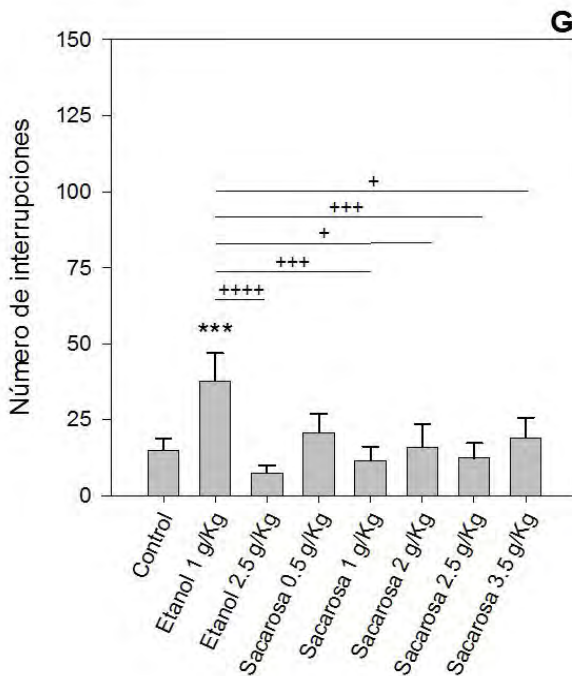


Figura 13. Comparación del efecto de diferentes dosis de sacarosa y etanol en MOV HOR. Se muestra el efecto durante los intervalos 31 (A), 32 (B), 36 (C), 39 (D), 40 (E), 42 (F) y 43 (G). Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 17 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 15 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales. Los cambios significativos contra el grupo control se indican con asteriscos (**** $p < 0.001$, *** $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$). Las diferencias entre tratamientos se indican con cruces (++++ $p < 0.001$, +++ $p < 0.005$, ++ $p < 0.01$, + $p < 0.05$).

De acuerdo a lo anterior podemos decir que la dosis alta de sacarosa tiene efectos inmediatos sobre los movimientos horizontales en la rata, mientras que el efecto de la dosis baja se observa hacia el final de la fase de exposición a la sacarosa. Si bien el efecto de la dosis baja no alcanza los niveles de incremento de la actividad vistos con dosis altas, sí logran ser lo suficientemente elevados como para tener diferencia significativa respecto al grupo control.

Por otro lado, la dosis alta de etanol muestra aumento en el inicio de la fase mientras que el incremento producto de la administración de etanol 1g/Kg se observa hasta el final. Estos aumentos son de corta duración.

A partir de los resultados obtenidos en la prueba de análisis de varianza de dos vías para medidas repetidas se calcularon también los efectos del alcohol y la sacarosa, los cuales se expresan como porcentaje del control en la fase droga (Anexo 2).

La dosis baja de etanol (1 g/Kg) disminuye los movimientos horizontales durante la mayor parte de la fase droga, con reducción significativa de 64% respecto al control en el intervalo 39; sin embargo, hacia el final de la fase se observa el aumento significativo

de 151% en la actividad de este grupo durante el intervalo 43, que se reduce 45% en el siguiente intervalo. Durante el intervalo 37 se observa el aumento del 99% respecto al control, a pesar de la magnitud de este incremento no presenta significancia estadística (Figura 14A).

De manera inversa, la dosis alta de etanol (2.5 g/Kg) aumenta la actividad de manera significativa hasta 82% durante la primera mitad de la fase droga; posteriormente, se presenta la reducción significativa de 71% en el intervalo 39; esta tendencia se mantiene hasta el final de la fase (Figura 14A).

La sacarosa 3.5 g/Kg alcanza su valor máximo en el intervalo 31, es decir, al principio de la fase. Esta dosis aumenta los movimientos horizontales hasta 139% respecto al control, aunque el efecto es de corta duración (Figura 14B).

De igual manera, la sacarosa 2.5 g/Kg aumenta la conducta hasta 104% en los primeros intervalos; sin embargo, esta dosis también disminuye los movimientos horizontales 56% en el intervalo 39. Además de estas diferencias, se observan otros que aunque no son estadísticamente significativos representan un incremento de 155% en el intervalo 38, y de 129% y 106% en los intervalos 41 y 42 respectivamente (Figura 14B).

Al contrario, la sacarosa en dosis bajas (0.5 y 1 g/Kg) aumenta los movimientos horizontales a partir del intervalo 40, es decir, a más de 20 minutos de que los animales han recibido la inyección de sacarosa. Si bien existe aumento de 104% en el intervalo 37, de 111% en el 41 y 188% en el último intervalo; la sacarosa 0.5 g/Kg presenta aumento significativo de 187% en el intervalo 42; dicho aumento es precedido por la reducción significativa de 62% de la conducta en el intervalo 39.

Otras reducciones se registran del intervalo 32 al 35 aunque éstos no son significativos. Mientras tanto, con la sacarosa 1g/Kg el mayor aumento se registra en el intervalo 41 (95%) y destaca la tendencia a reducir la actividad respecto al control durante los primeros intervalos (35 a 37), aunque no son diferencias significativas respecto al control (Figura 14B).

En este sentido, el efecto de la dosis de sacarosa de 2 g/Kg se asemeja más al de la dosis baja al incrementar la actividad de manera significativa en 151% hasta la segunda mitad de la fase droga (intervalo 40) (Figura 14B).

Es posible observar el desfase en el incremento de la conducta producto de la administración de sacarosa. Por ejemplo, mientras la dosis alta de 2.5 g/Kg tiene aumento en el intervalo 36 al 39 y nuevamente del 40 al 43, la dosis de 2g/Kg sólo presenta aumento preponderante, que destaca además por su duración de 12 minutos (del intervalo 36 hasta el 42). La dosis más baja de sacarosa presenta dos aumentos en el intervalo 35 al 38 (antes que las otras dosis de sacarosa), y posteriormente del intervalo 39 al 43 (Figura 14B).

Asimismo, hay diferencia en el tiempo en que los tratamientos de etanol tienen efecto sobre la actividad locomotora. La dosis alta antecede a la dosis baja hasta los últimos intervalos donde presentan un efecto opuesto (Figura 14A).

MOV HOR- Fase droga

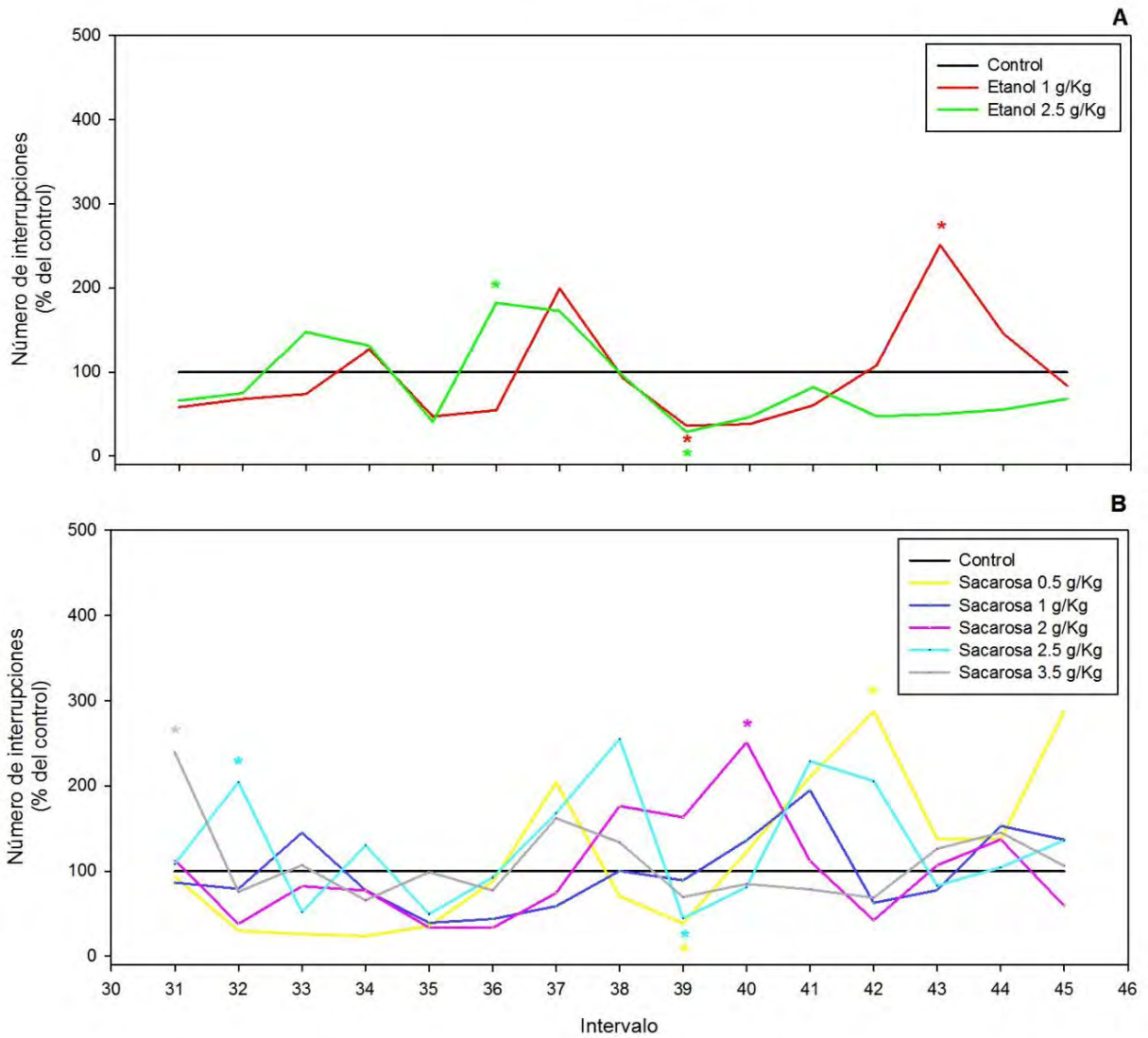


Figura 14. Efecto del etanol (A) y la sacarosa (B) sobre los movimientos horizontales durante la fase droga. Los datos se muestran como el porcentaje del control (* $p < 0.05$ vs control en el mismo intervalo de tiempo).

I b. MOVIMIENTOS VERTICALES (MOV-VER)

En la fase de habituación se observa la reducción de los movimientos verticales en el transcurso del tiempo. Aunque los animales aún no han recibido etanol o sacarosa, los grupos de sacarosa 2.5 y 3.5 g/Kg presentan valores altos en comparación con el resto de los grupos, mientras que los animales en el grupo de etanol 2.5 g/Kg y sacarosa 0.5 g/Kg tienen menor actividad (Figura 15). El ANOVA de dos vías para medidas repetidas arrojó diferencias significativas para el tratamiento ($F(7,139)=10.357, p<0.001$), el tiempo ($F(12,139)=77.863, p<0.001$) y la interacción ($F(84, 1327)=2.209, p<0.001$).

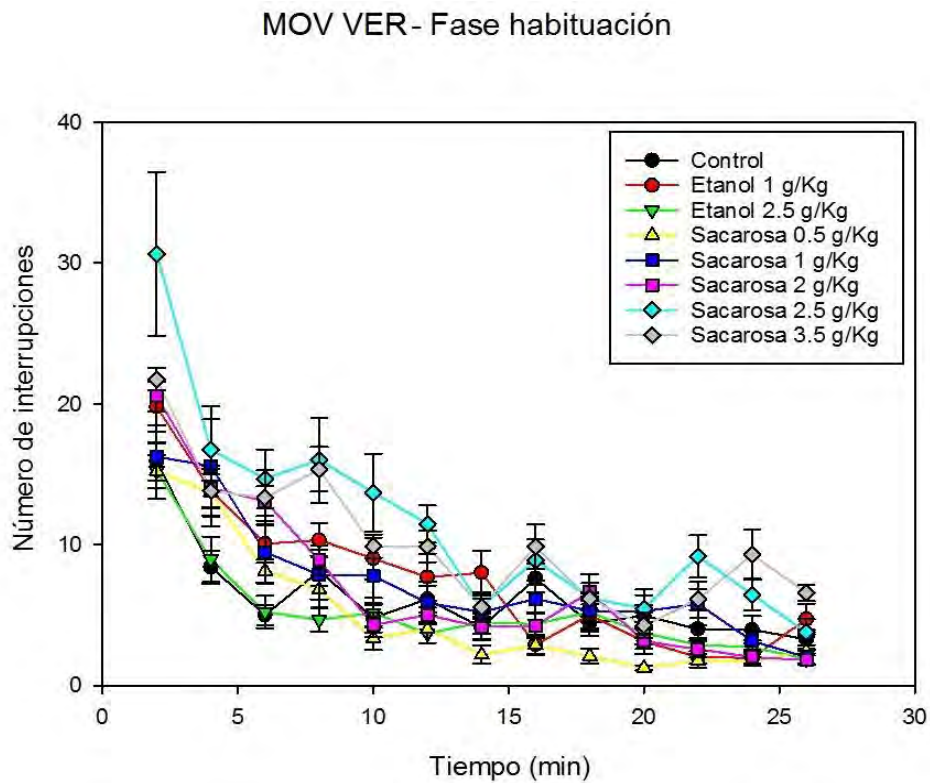


Figura 15. Curso temporal de los movimientos verticales (MOV VER) durante la fase de habituación. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 21 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 16 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Lo mismo ocurre en la fase de inyección del vehículo, donde el tratamiento ($F(7,139)=15.948, p<0.001$), el tiempo ($F(12,139)=1.904, p<0.030$) y la interacción de ambos factores ($F(84,1400)=1.529, p<0.002$) son significativos. En este caso, el grupo de sacarosa 2.5 g/Kg tiene una mayor actividad y se separa del resto de los grupos (Figura 16).

MOV VER- Fase inyección vehículo

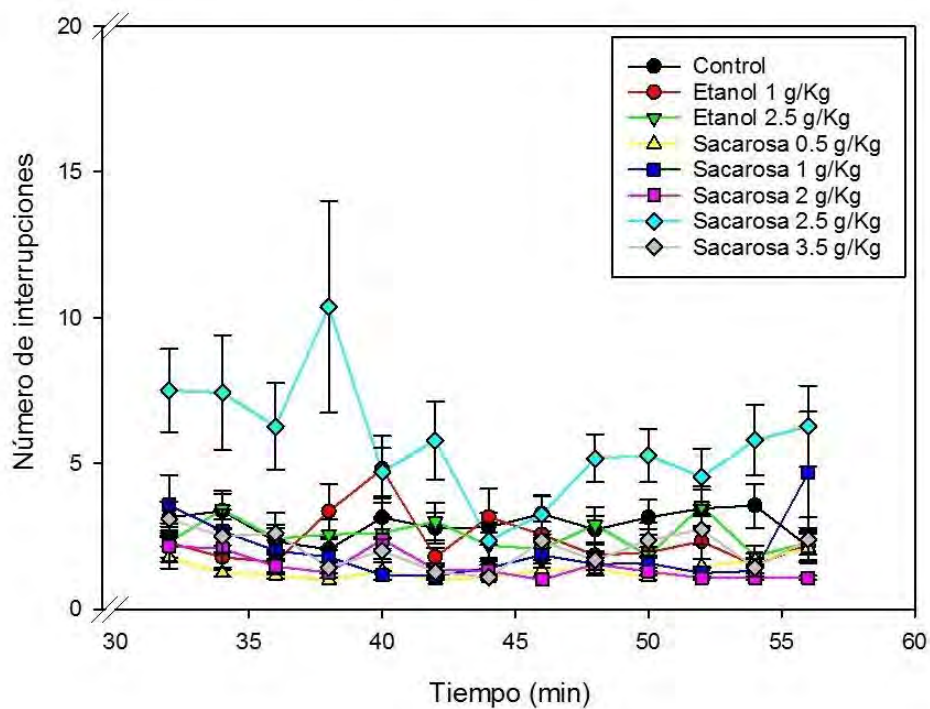


Figura 16. Curso temporal de los movimientos verticales (MOV VER) durante la fase de inyección del vehículo. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 21 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 16 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

También durante la fase droga de los movimientos verticales se encontraron diferencias significativas para el tratamiento ($F(7,139)=11.137$, $p<0.001$), el tiempo ($F(14,139)=2.359$, $p<0.003$) y la interacción ($F(98,1689)=1.896$, $p<0.001$). Los animales tratados con sacarosa 2.5 aumentan la conducta de manera importante haciendo más grande su distancia del resto de los tratamientos (Figura 17).

MOV VER- Fase droga

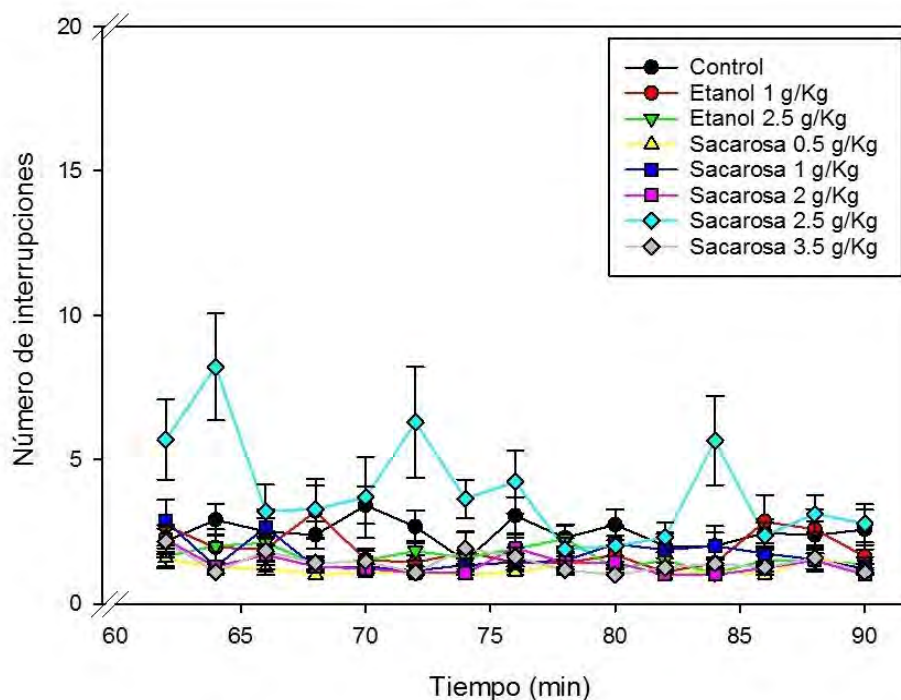


Figura 17. Curso temporal de los movimientos verticales (MOV VER) durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 21 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 16 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

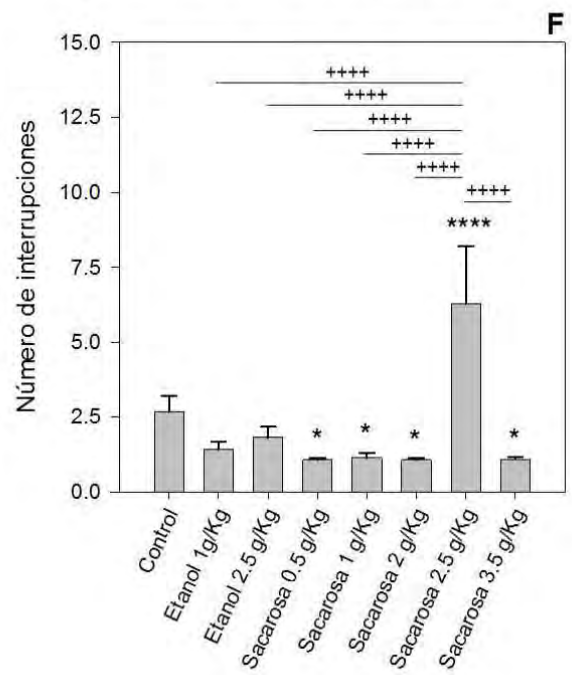
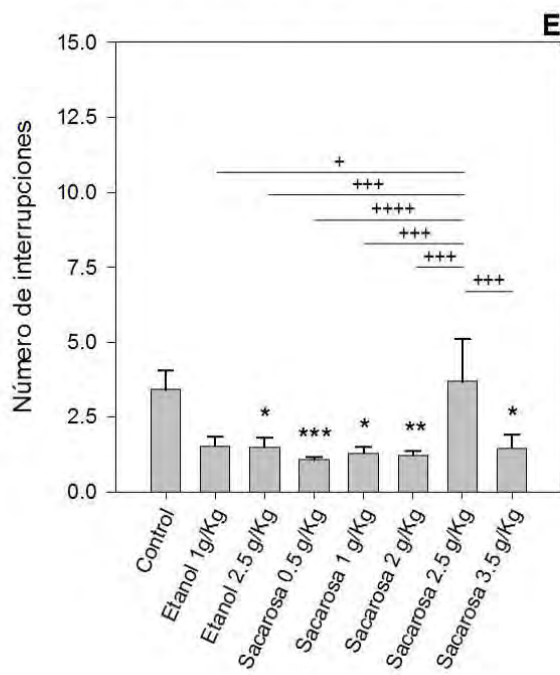
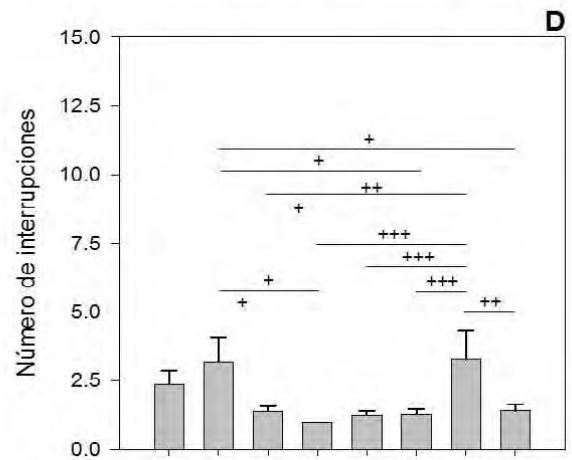
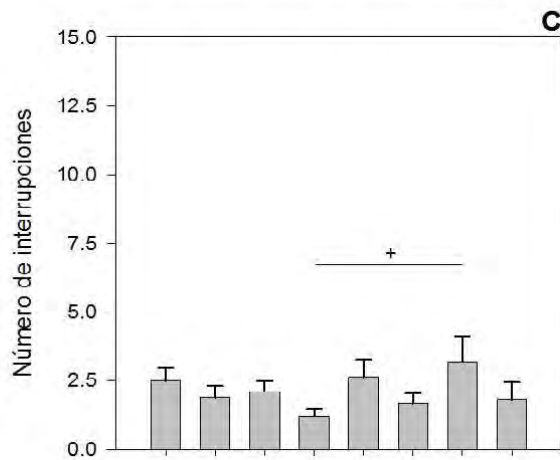
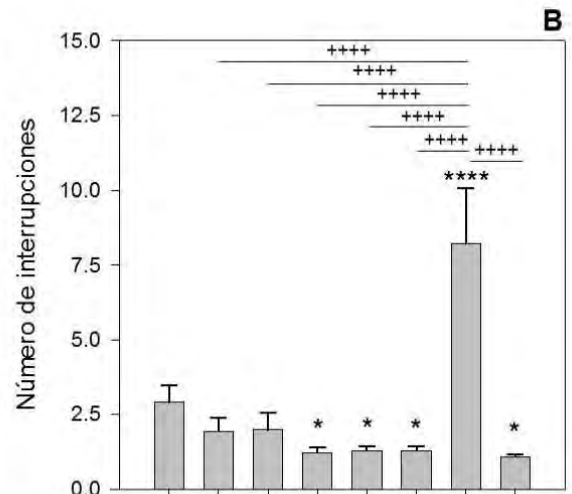
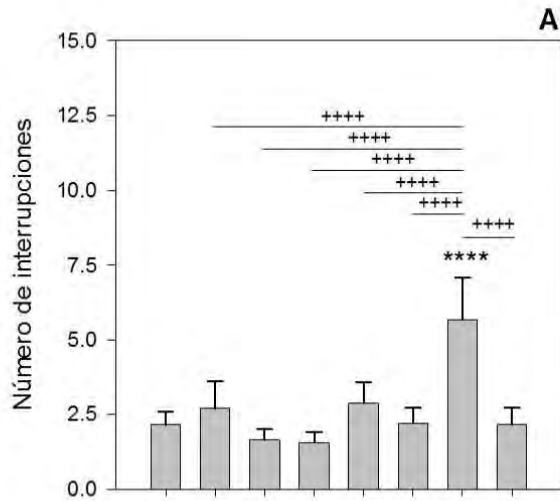
Las comparaciones múltiples durante la fase droga arrojaron los siguientes resultados (Figura 18). El tratamiento con etanol 1 g/Kg no presenta diferencias significativas respecto al grupo control durante ninguno de los intervalos de la fase droga; sin embargo, sí es diferente de otros tratamientos de sacarosa (Figura 18A, B, D-H, J, K) y del tratamiento de etanol 2.5 g/Kg (Figura 18D, K). Mientras tanto, el tratamiento de etanol 2.5 g/Kg sí presenta reducción significativa respecto al grupo control (Figura 18E, I), al igual que hacia otros tratamientos (Figura 18A, B, D-H, J).

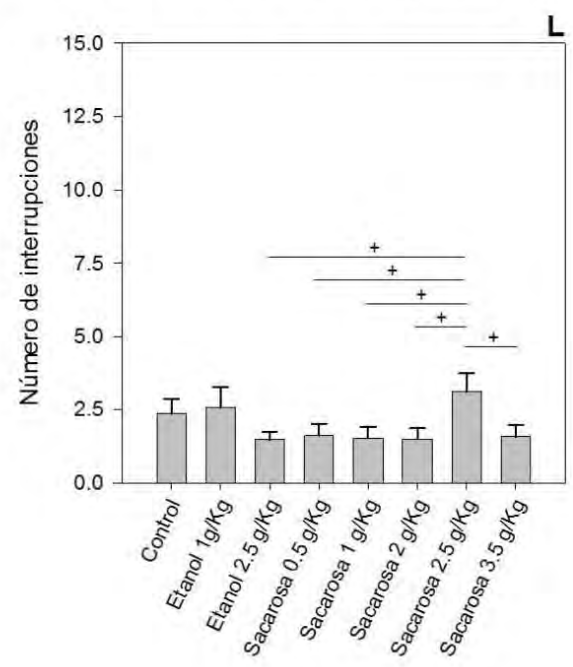
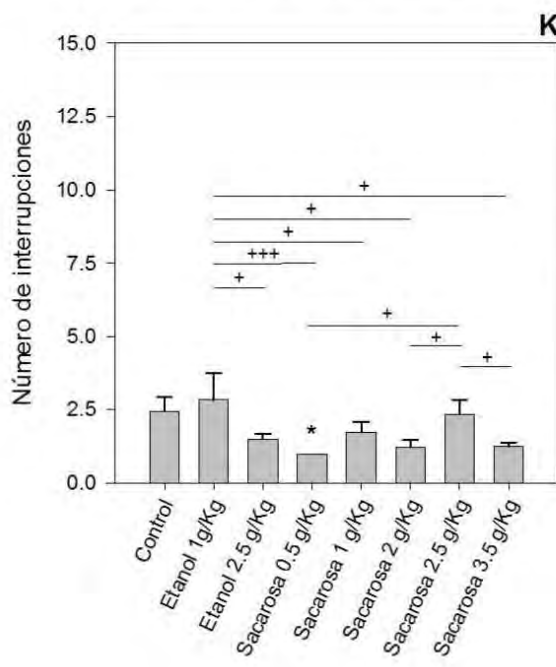
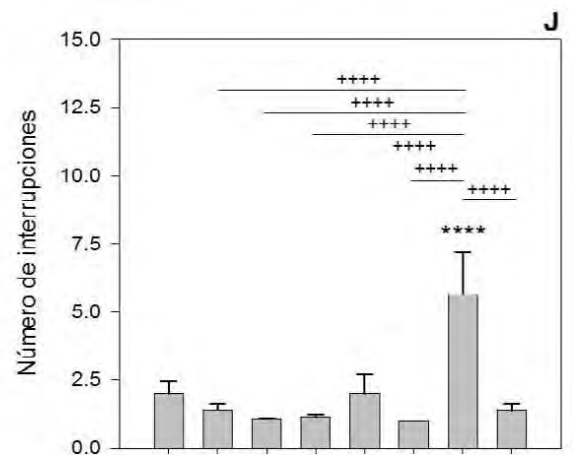
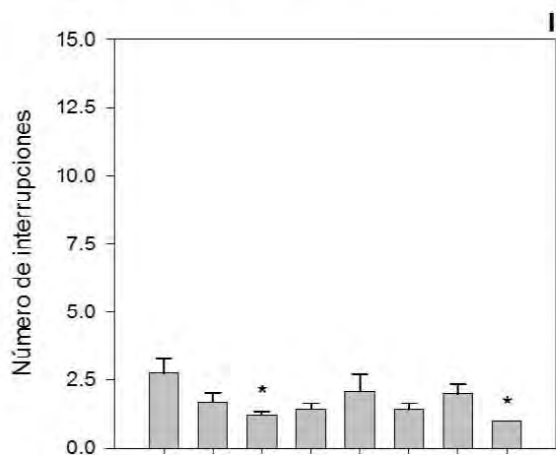
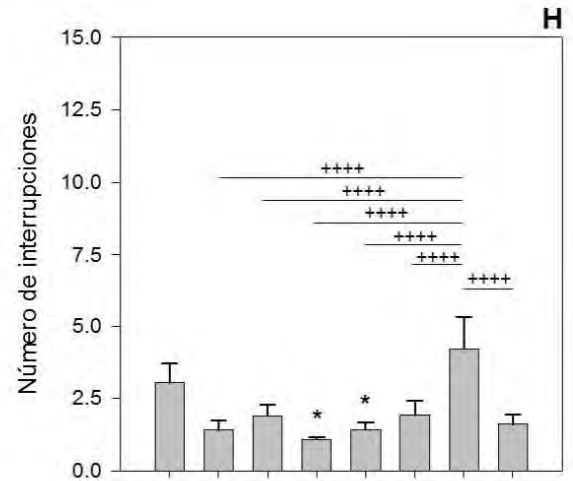
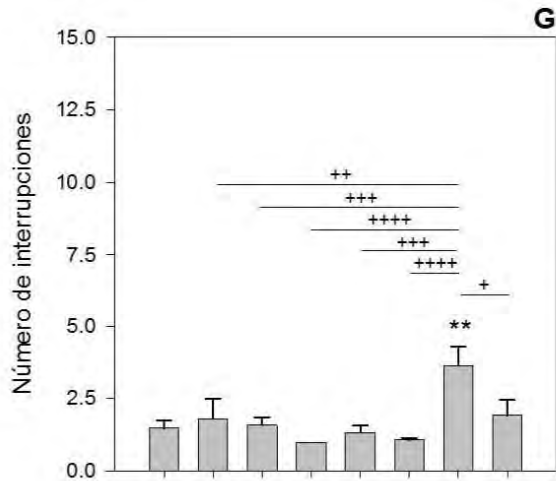
Estos datos también indican que la sacarosa 2.5 g/Kg aumenta los movimientos verticales a los pocos minutos de haberse administrado (Figura 18A, B), aunque el análisis de los intervalos subsecuentes no arroja diferencia significativa; en el intervalo 34, el valor es muy cercano a la significancia ($p=0.066$) (Figura 18D). En contraste, durante el inicio de la fase, el resto de las dosis de sacarosa disminuyen la conducta

respecto al control (Figura 18B, E, F). Nuevamente, hacia la mitad de la fase (Figura 18H) se presenta una segunda disminución, de breve duración y sólo se presenta en los tratamientos de sacarosa 0.5 g/Kg y 1 g/Kg.

Asimismo, durante el intervalo 40 las comparaciones *post hoc* arrojaron diferencias significativas únicamente para el grupo de sacarosa 3.5 g/Kg (Figura 18I). Sin embargo, la diferencia de la dosis más baja de sacarosa respecto al control es cercana a la significancia ($p=0.065$).

Hacia la segunda mitad de la fase droga, la sacarosa 2.5 g/Kg presenta dos nuevos incrementos (Figura 18G, J); este aumento no se mantiene hasta el final de la fase. Entretanto, la disminución de los movimientos verticales de sacarosa 2 y 3.5 g/Kg sí se presenta en el último intervalo de la fase (Figura 18M).





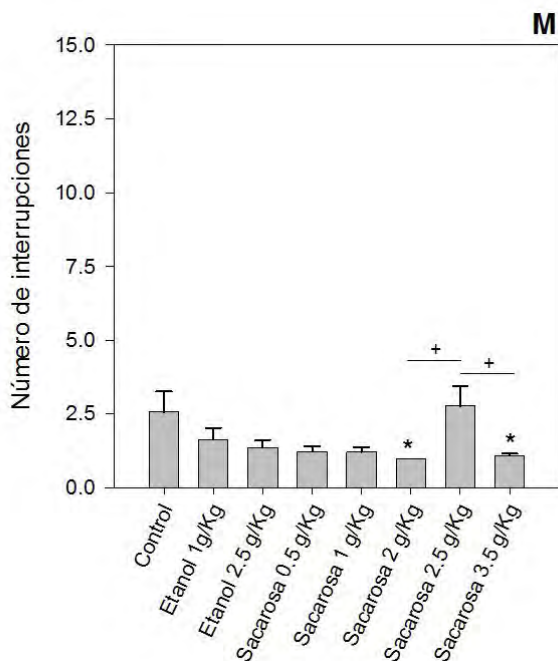


Figura 18. Comparación del efecto de diferentes dosis de sacarosa y etanol sobre MOV VER en los intervalos 31 (A), 32 (B), 33 (C), 34 (D), 35 (E), 36 (F), 37 (G), 38 (H), 40 (I), 42 (J), 43 (K), 44 (L) y 45 (M). Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 23 (control) 21 (etanol 1g/Kg), 21 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 16 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 21 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales. Los cambios significativos contra el control se indican con asteriscos (**** $p < 0.001$, *** $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$) y entre tratamientos se indican con cruces (++++ $p < 0.001$, +++ $p < 0.005$, ++ $p < 0.01$, + $p < 0.05$).

Con los resultados obtenidos se calcularon las tendencias de cada grupo a lo largo de la fase, considerando al grupo control de agua como 100% (Anexo 3).

Los tratamientos de etanol se mantienen por debajo del grupo control. El etanol 2.5 g/Kg disminuye en el intervalo 35 (56%) y nuevamente en el 40 (55%), mientras que la dosis de etanol más baja no registra diferencias significativas respecto al grupo control, aunque presenta descensos de hasta 55% (intervalo 35) (Figura 19A).

Sobresale el incremento de los movimientos verticales resultado de la administración de sacarosa 2.5 g/Kg, que se mantiene arriba del control y del resto de los tratamientos durante la mayor parte de la fase droga (Figura 19B), apreciándose tres picos de actividad importantes que corresponden al inicio de la fase (intervalos 30 a 33), la mitad (intervalos 36 a 38) y la segunda mitad de la fase (intervalos 41 a 43).

Mientras que la sacarosa 2.5 g/Kg presenta incrementos significativos en los intervalos 31 a 32, 36 a 37 y 42, que van de 135% (intervalo 36) hasta un máximo de 183% (intervalos 32 y 42), el resto de los tratamientos de sacarosa, excepto algunos intervalos que no presentan significancia estadística como el 34 para la sacarosa 1 g/Kg y el 37

para sacarosa 3.5 g/Kg (cuyo máximo aumento representa apenas un 34% y 30% respectivamente), se mantienen por debajo del nivel del control a lo largo de toda la fase.

En los intervalos 35 y 36 todos los grupos de sacarosa por debajo del control presentan descenso significativo de hasta 68% para sacarosa 0.5 g/Kg, 62% para sacarosa 1g/Kg, 64% para sacarosa 2 g/Kg y 59% para sacarosa 3.5 g/Kg. Posteriormente, se presentan nuevos descensos significativos en la actividad a lo largo de la segunda mitad de la fase de 63% y 58% (intervalo 40 y 45) en sacarosa 3.5 g/ Kg, 61% (intervalo 45) en sacarosa 2 g/Kg y 59% en sacarosa 0.5 g/Kg (Figura 19B).

MOV VER- Fase droga

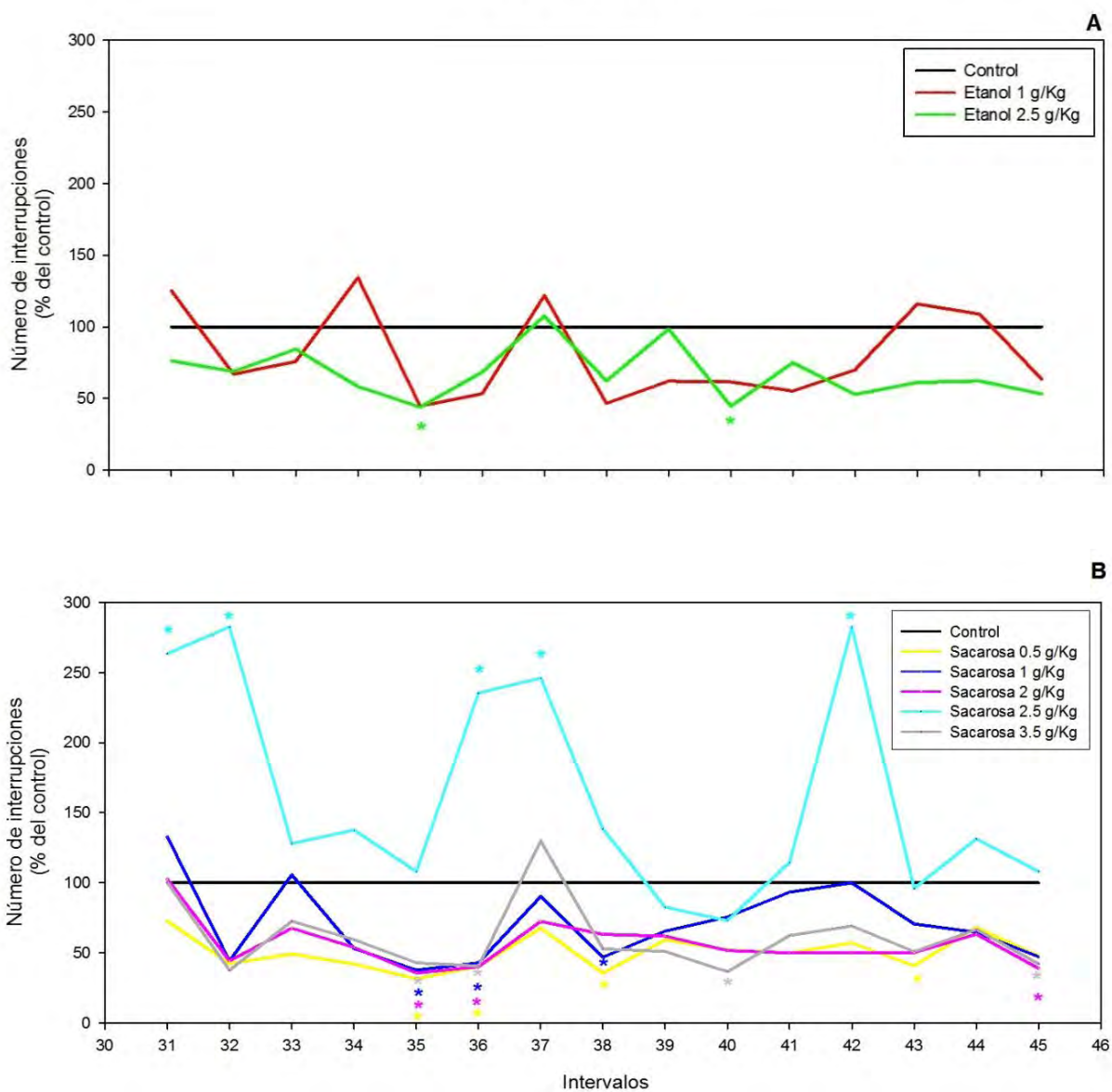


Figura 19. Efecto de etanol (A) y sacarosa (B) sobre los movimientos verticales durante la fase droga. Los datos se muestran como porcentaje del control (* $p < 0.05$ vs control en el mismo intervalo de tiempo).

I c. CONDUCTAS ESTEREOTIPADAS (EST)

La tercera conducta que se analizó fueron las conductas estereotipadas. Además de la reducción de las estereotipias conforme aumenta el tiempo, se observó que el grupo de etanol 2.5 g/Kg tuvo menor actividad que el resto de los grupos; esto es más evidente durante la primera mitad de la fase. El resto de los tratamientos presenta actividad similar, aunque destacan algunos picos de actividad de la sacarosa 3.5 g/Kg (Figura 20). Asimismo, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas durante la fase de habituación en el tratamiento ($F(7,135)=17$, $p<0.001$), el tiempo ($F(12,135)=283.524$, $p<0.001$) y la interacción de los factores ($F(84, 1082)=3.204$, $p<0.001$).

EST- Fase habituación

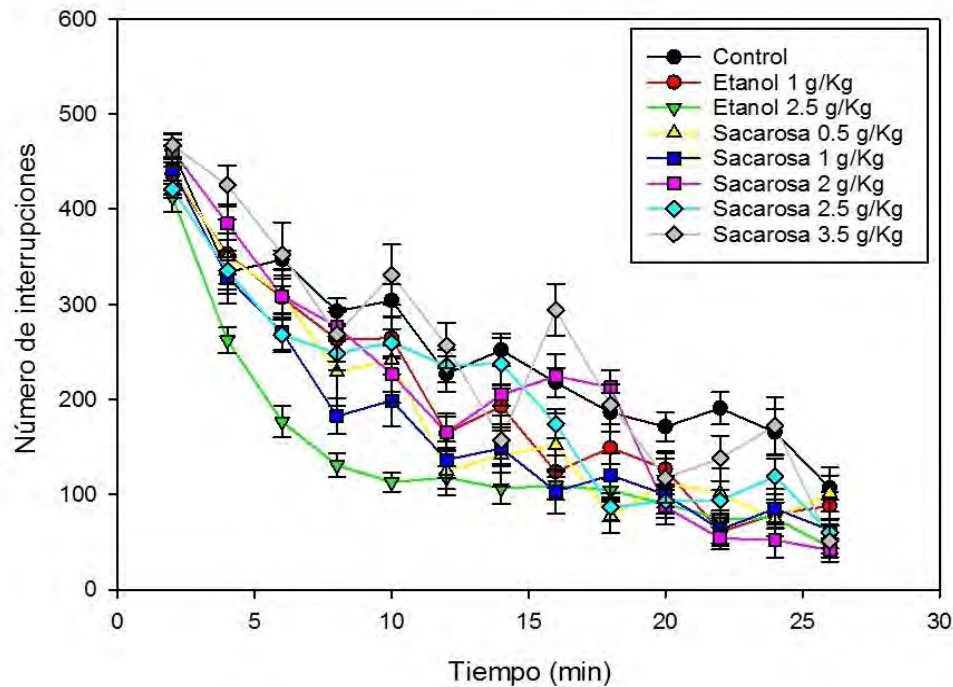


Figura 20. Curso temporal de conductas estereotipadas durante la fase de habituación. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 25 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 20 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 14 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 17 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Se encontraron resultados similares durante la fase de inyección del vehículo, donde se obtuvieron diferencias significativas en el tratamiento ($F(7,135)=5.634$, $p<0.001$), el

tiempo ($F(12,135)=13.825$, $p<0.001$) y la interacción de ambos ($F(84, 1161)=2.552$, $p<0.001$).

Durante esta fase se observa una distribución homogénea de los tratamientos donde a partir del minuto 40, la mayoría de los tratamientos exhiben el mismo comportamiento (Figura 21).

EST- Fase inyección vehículo

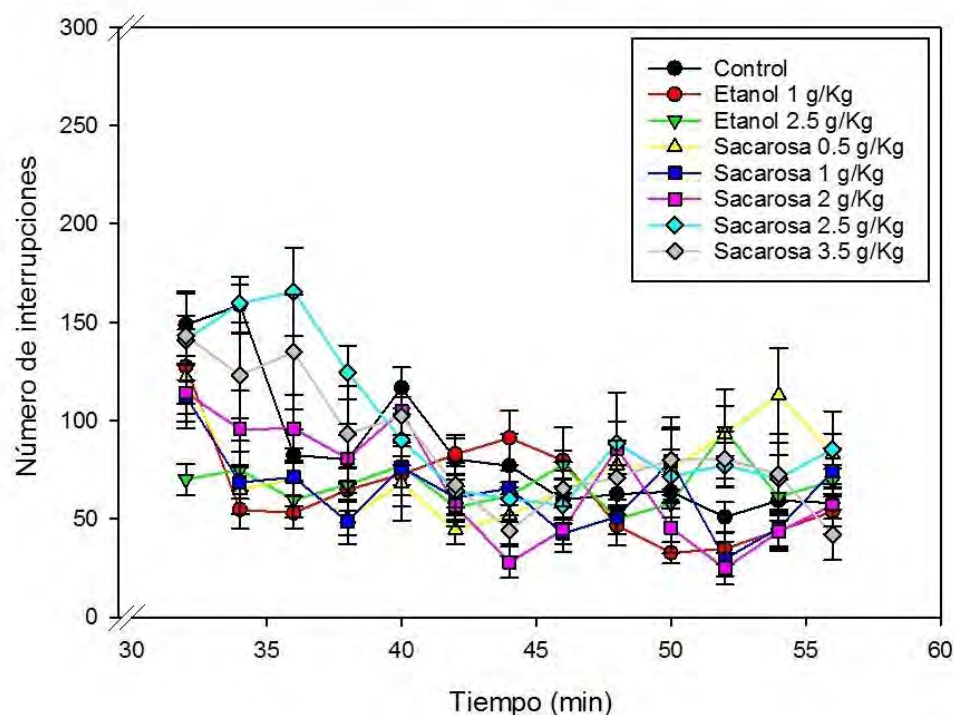


Figura 21. Curso temporal de conductas estereotipadas durante la fase de inyección del vehículo. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 25 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 20 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 14 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 17 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

Finalmente, la fase droga de las conductas estereotipadas también presenta la distribución homogénea de los grupos, salvo contadas excepciones, donde se logra ver una diferencia de los grupos de etanol y el tratamiento de sacarosa 1 g/Kg con respecto al resto de los grupos (Figura 22). El análisis estadístico arrojó diferencias significativas para tratamiento ($F(7,135)=2.630$, $p<0.014$), tiempo ($F(14,135)=10.002$, $p<0.001$) y la interacción entre tratamientos y tiempo ($F(98, 1464)=2.199$, $p<0.001$).

EST- Fase droga

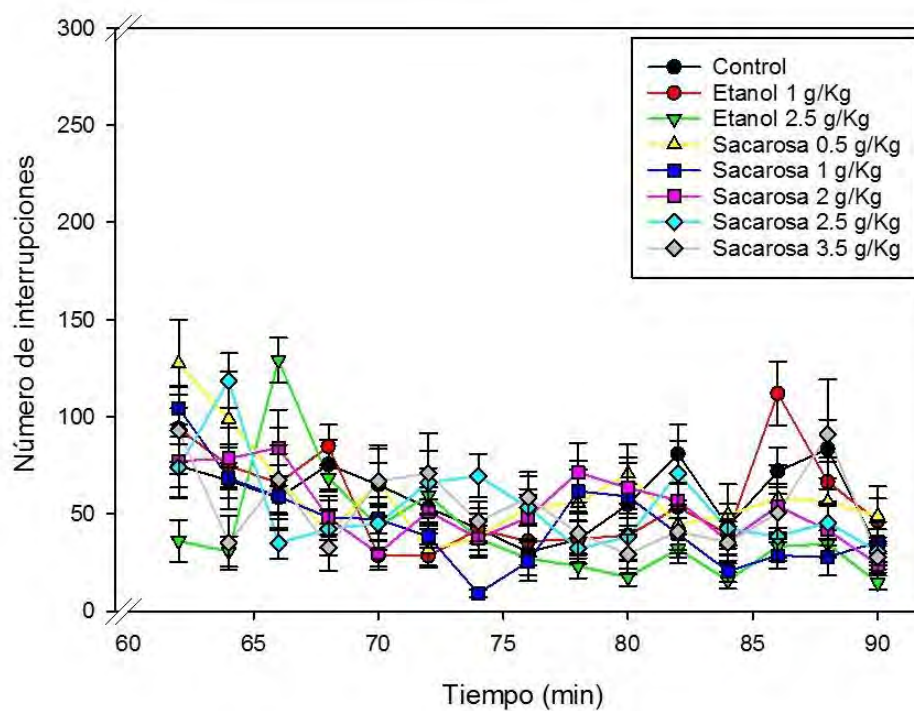


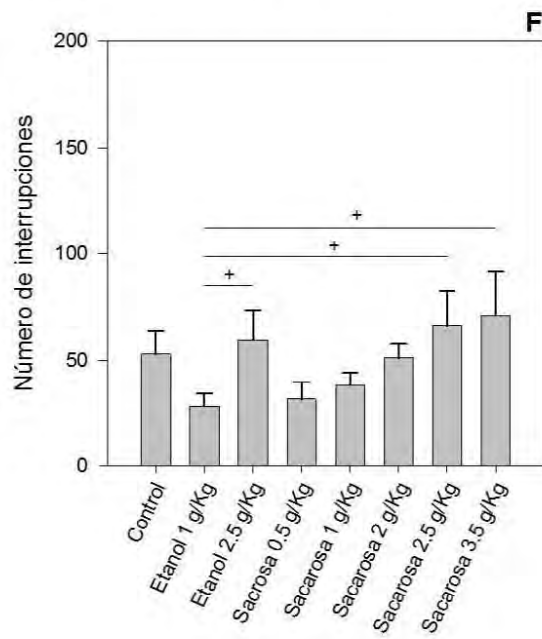
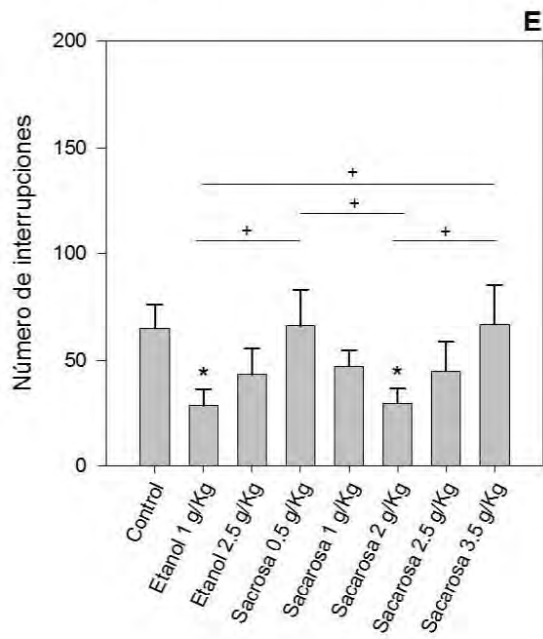
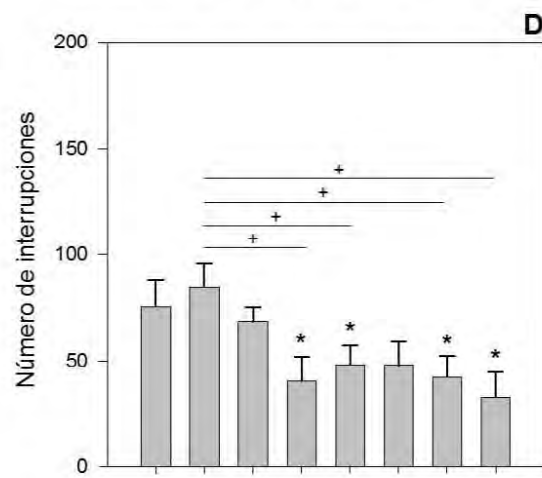
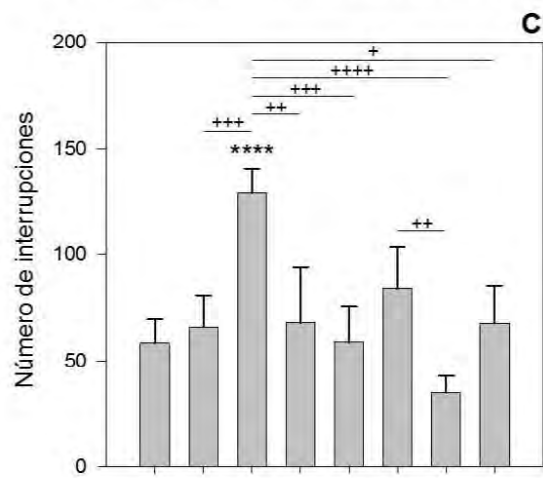
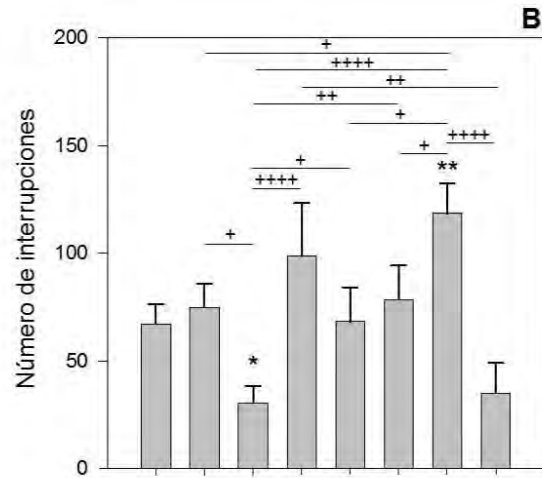
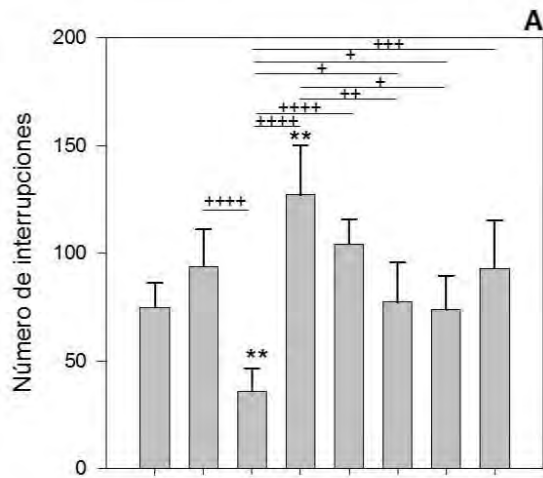
Figura 22. Curso temporal de conductas estereotipadas durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 25 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 20 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 14 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 17 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales.

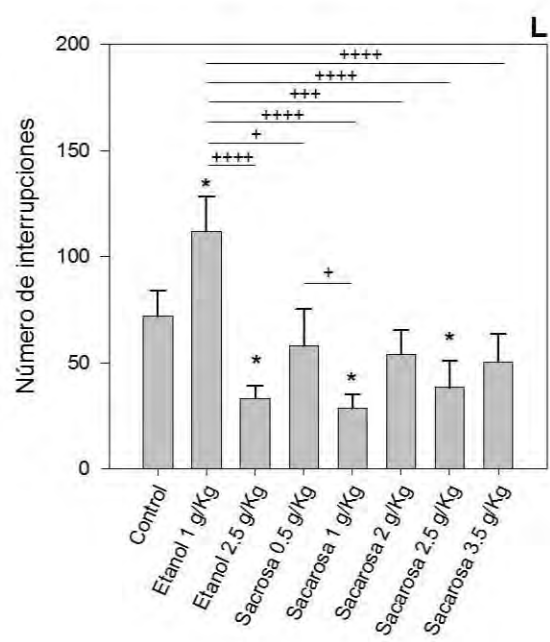
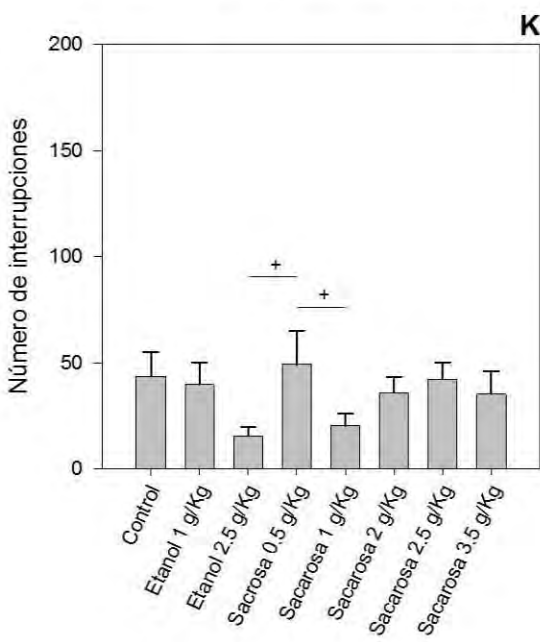
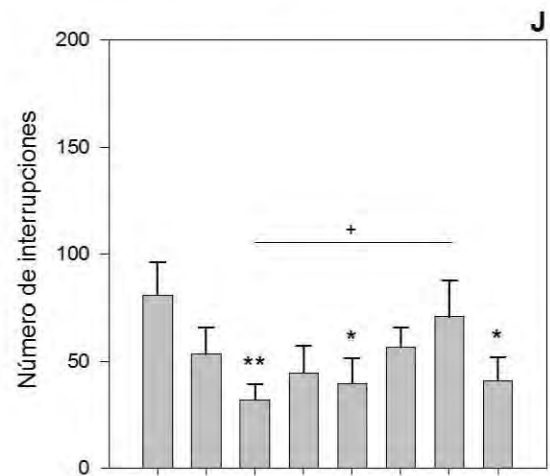
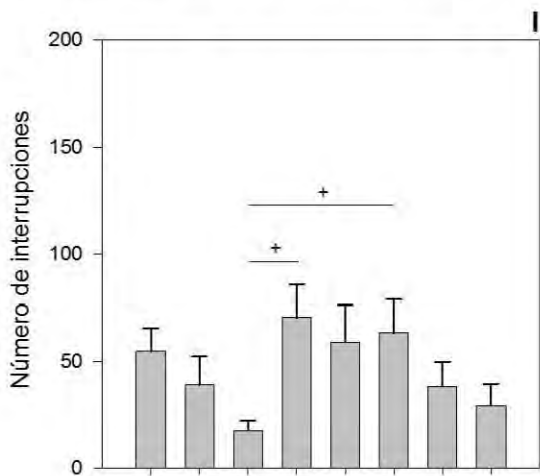
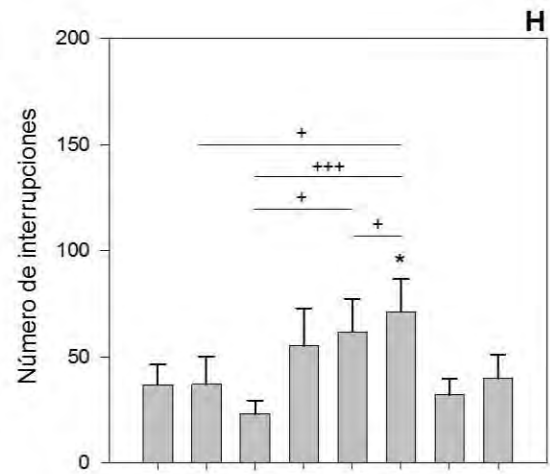
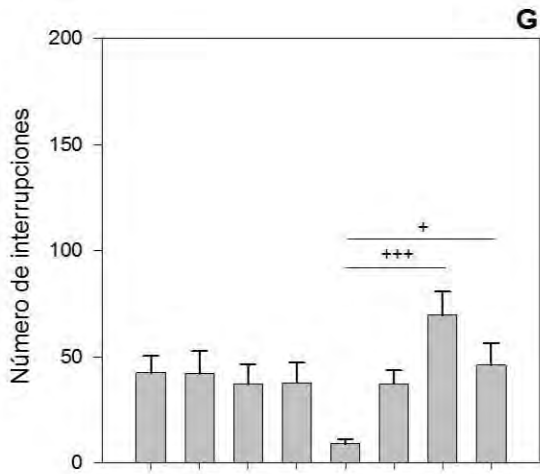
El análisis *post hoc* LSD de Fisher arrojó los siguientes resultados de acuerdo a las comparaciones múltiples en diversos intervalos de la fase droga (Figura 23). Las comparaciones indican que una dosis baja como sacarosa 0.5 g/Kg aumenta la expresión de la conducta durante los primeros minutos de la fase (Figura 23A, B). En el intervalo 32 (Figura 23B) destaca también el tratamiento de sacarosa 2.5 g/Kg, que alcanza sus valores más altos en este intervalo y decae rápidamente hasta valores por debajo del control en el intervalo 34, sólo cuatro minutos después (Figura 23D).

A los 8 minutos de iniciada la fase se registra la mayor cantidad de grupos significativamente diferentes al control; todos reducen la conducta y corresponden a los tratamientos de sacarosa (excepto sacarosa 2 g/Kg, $p=0.055$) (Figura 23D).

Una vez transcurrida la mitad de la fase, la sacarosa 2 g/Kg (Figura 23H) aumenta las estereotipias, mientras que el resto de los grupos las disminuyen, como lo ejemplifican los intervalos 41 (Fig. 23J), 43 (Fig. 23L) y 44 (Fig. 23M).

Por otro lado, los tratamientos de etanol disminuyen las estereotipias en dosis altas durante los primeros minutos de la fase (Figura 23A, B). Posteriormente, la misma dosis presenta un aumento de baja duración (Figura 23C) para finalmente mantener valores por debajo del control durante el resto de la fase (Figura 23J, L, M). El etanol en dosis bajas parece tener un efecto contrario, pues aumenta las estereotipias al inicio (Figura 23A) y después de la mitad de la fase (Figura 23L), con sólo un intervalo (Figura 23E) por debajo del valor del control.





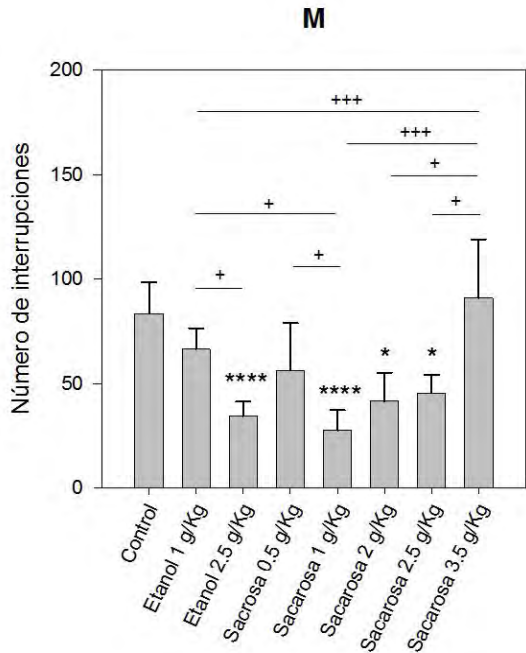


Figura 23. Comparación del efecto de diferentes dosis de sacarosa y etanol sobre las conductas estereotipadas en los intervalos 31 (A), 32 (B), 33 (C), 34 (D), 35 (E), 36 (F), 37 (G), 39 (H), 40 (I), 41 (J), 42 (K), 43 (L) y 44 (M). Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 25 (control) 22 (etanol 1g/Kg), 20 (etanol 2.5 g/Kg), 15 (sacarosa 0.5 g/Kg), 14 (sacarosa 1 g/Kg), 16 (sacarosa 2g/Kg), 17 (sacarosa 2.5 g/Kg) y 14 (sacarosa 3.5 g/Kg) animales. Los cambios significativos contra el control se indican con asteriscos (**** $p < 0.001$, *** $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$) y entre tratamientos se indican con cruces (++++ $p < 0.001$, +++ $p < 0.005$, ++ $p < 0.01$, + $p < 0.05$).

Posteriormente, se utilizaron los resultados obtenidos en el análisis *post hoc* para calcular el efecto de los tratamientos respecto al control (Anexo 4).

Si bien la administración de una dosis alta de etanol provoca la reducción inmediata de las estereotipias de 52% y 54% (intervalos 31 y 32), también se observa el aumento significativo de la conducta de 121% en el intervalo 33, para después retomar la tendencia a reducir la conducta por el resto de la fase, con diferencias significativas de 60% en el intervalo 40, 54% en el intervalo 43 y 44% en el intervalo 44 y reducciones no significativas de 68%, 64% y 54% en los intervalos 40, 42 y 45 (Figura 24A).

De manera opuesta, la dosis baja de etanol presenta una reducción de la conducta (de hasta 56%) durante la primera mitad de la fase (intervalo 35), y el aumento de ésta en la segunda mitad en el intervalo 43 (hasta 56%) (Figura 24A).

En el caso de los tratamientos de sacarosa sólo se muestran incrementos significativos de 70% en sacarosa 0.5 g/Kg, aunque esta misma dosis presenta un aumento de 76% en el intervalo 38 esto no es significativo; de 77% en sacarosa 2.5 g/Kg durante el intervalo 32, y un aumento máximo de 93% producto de la administración de sacarosa 2g/Kg una vez transcurridos 18 minutos (Figura 24B).

Aunque la figura anterior (Figura 24B) nos muestra el aumento de la mayoría de los grupos de sacarosa hacia la mitad de la fase, el aumento de la conducta por sacarosa 2.5 g/Kg comienza desde el intervalo 35 y se mantiene hasta el 39; el de la sacarosa 3.5 g/Kg comienza en el 37 y continúa hasta el 40. Ambos tratamientos tienen un aumento máximo en el intervalo 38 de 76% y 93%, respectivamente, aunque no alcanzan la significancia.

También la sacarosa 0.5 g/Kg alcanza su incremento máximo (76%) en el intervalo 38; este aumento comienza desde el intervalo 36 y llega hasta el 41, con una duración de 10 minutos. La sacarosa 1 g/Kg y la sacarosa 2 g/Kg alcanzan su valor máximo un intervalo después (Figura 24B).

Cuando observamos los casos en que el registro de la conducta disminuye, existe mayor número de diferencias significativas respecto al control. En la primera mitad de la fase (intervalo 34) todos los grupos de sacarosa, excepto la dosis de 2 g/Kg, disminuyen la actividad hasta un 57% (sacarosa 3.5 g/Kg) y en la segunda mitad (intervalo 44) las dosis de sacarosa 1, 2 y 2.5 g/Kg coinciden con reducciones de 67%, 50% y 45%, respectivamente.

Igualmente existen diferencias significativas de 51 a 60% en los intervalos 41 y 43 para sacarosa 1g/Kg, de 54% en el intervalo 35 para sacarosa 2 g/Kg y de 47% en el intervalo 43 en sacarosa 2.5 (Figura 24B).

EST- Fase droga

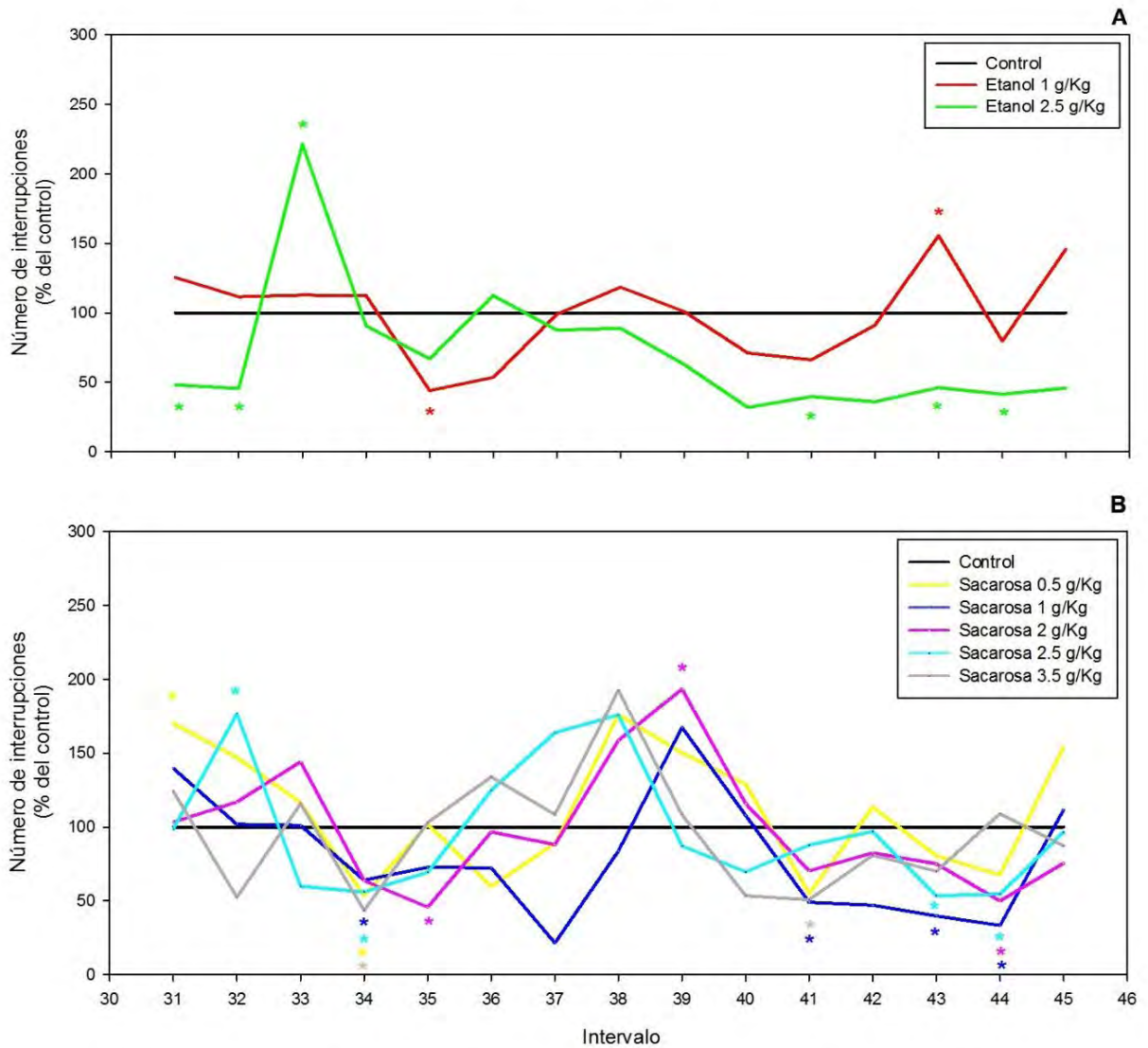


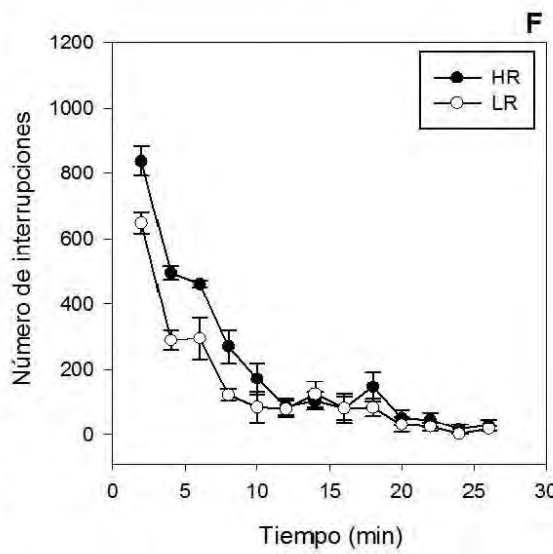
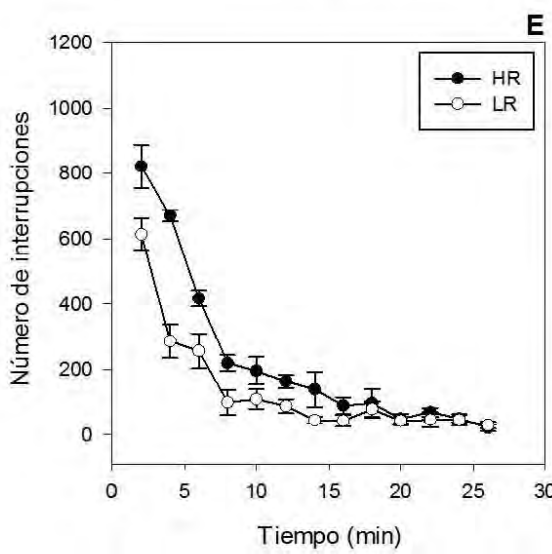
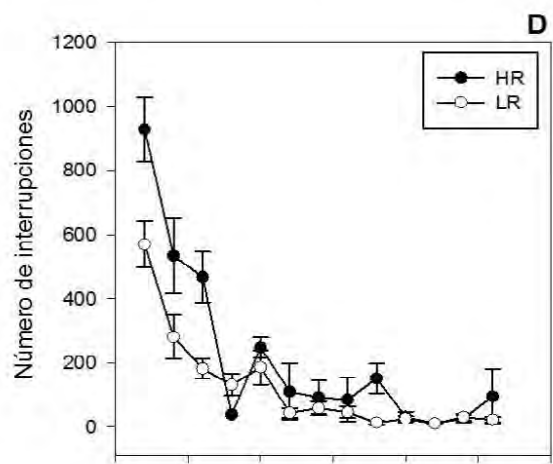
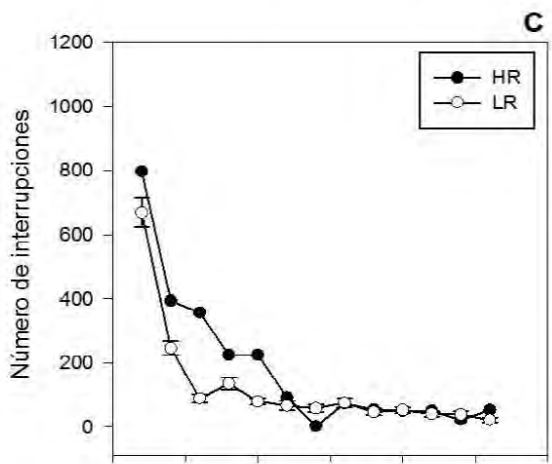
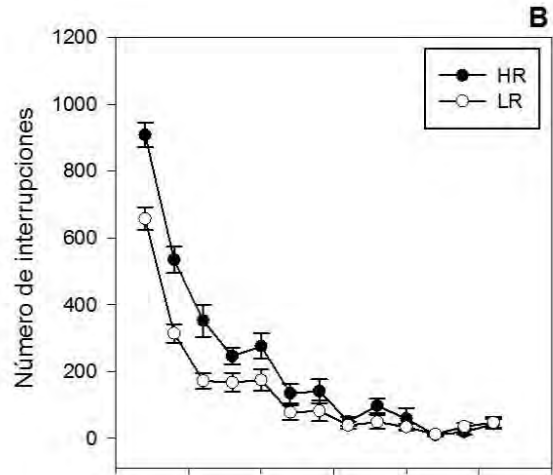
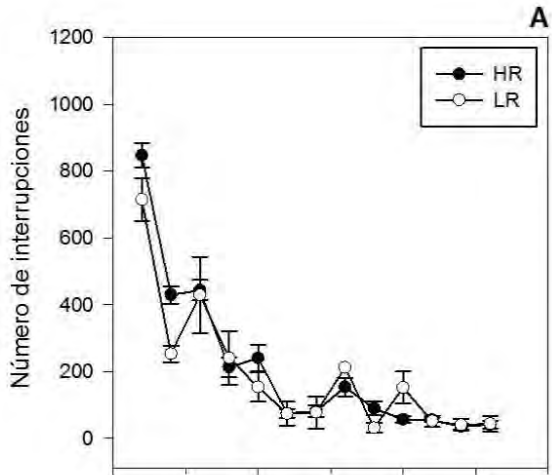
Figura 24. Efecto de etanol (A) y sacarosa (B) sobre las conductas estereotipadas durante la fase droga. Los datos se muestran como porcentaje del control (* $p < 0.05$ vs control en el mismo intervalo de tiempo).

II. RESPUESTA A LA NOVEDAD

Como se mencionó en los métodos, la respuesta a la novedad está altamente relacionada con la vulnerabilidad al desarrollo de la adicción. En este estudio se realizó la clasificación de los sujetos en animales con alta respuesta a la novedad (HR) y con baja respuesta a la novedad (LR). La clasificación se hizo de acuerdo a la actividad de movimientos horizontales durante los primeros 5 min del registro.

Con el fin discernir si la clasificación de los animales como HR y LR explica las diferencias observadas durante la fase de habituación de los parámetros estudiados en el presente trabajo (Figuras 10, 15 y 20), previo a la administración de las sustancias de interés, se realizó un ANOVA de dos vías de medidas repetidas para cada conducta.

En el caso de los movimientos horizontales el análisis estadístico arrojó diferencias significativas para la clasificación HR-LR ($F(1, 148)=185.076, p<0.001$), el tiempo ($F(12, 148)=701.118, p<0.001$) y la interacción entre ambos factores ($F(12, 1326)=28.406, p<0.001$). Durante la fase de habituación, las ratas HR realizan mayor actividad en comparación con las ratas LR; esta diferencia es más evidente en los grupos de etanol 1 y 2.5 g/Kg y en los de sacarosa 0.5 y 3.5 g/Kg (Figura 25).



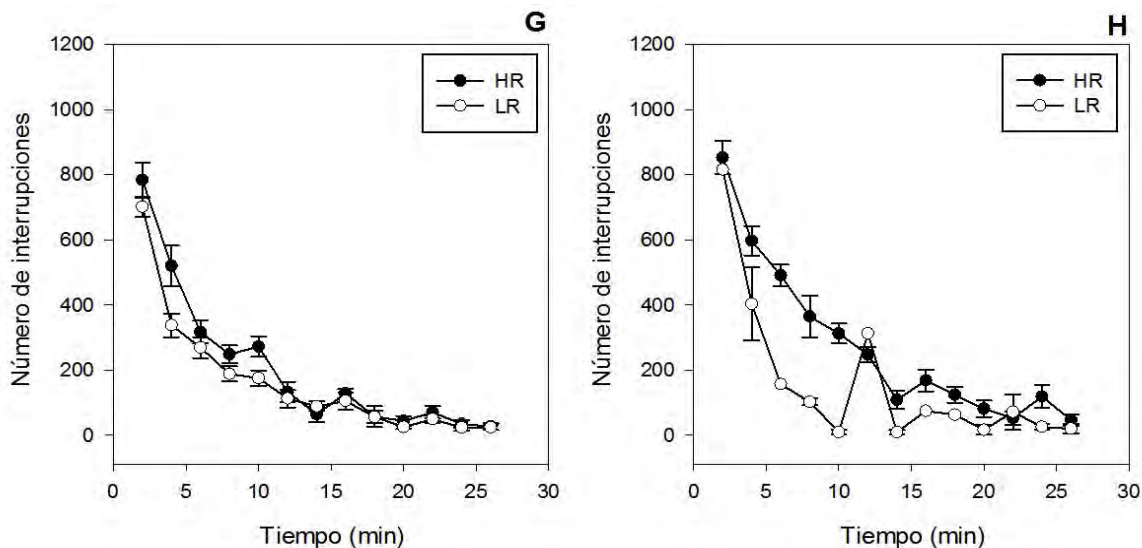
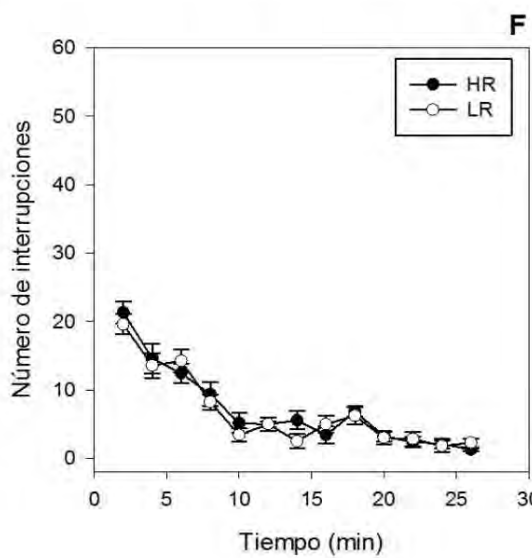
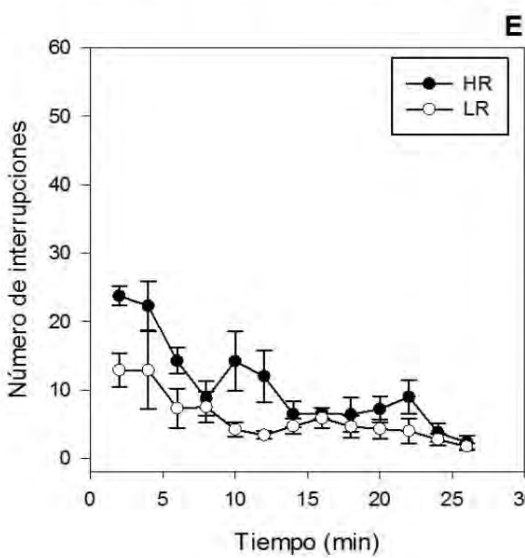
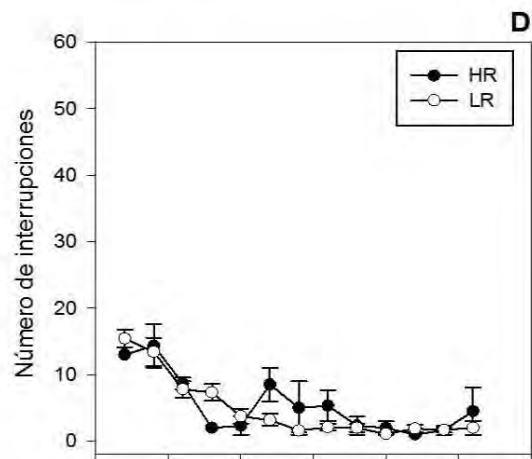
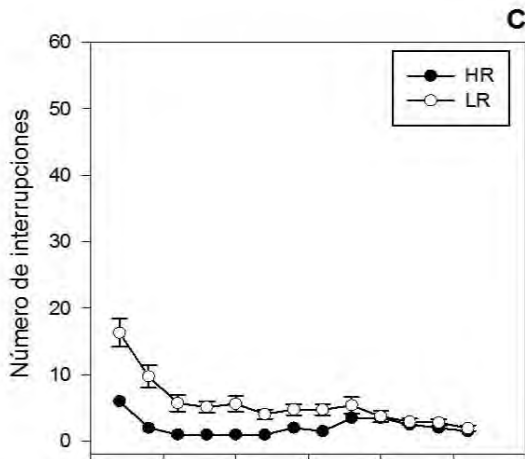
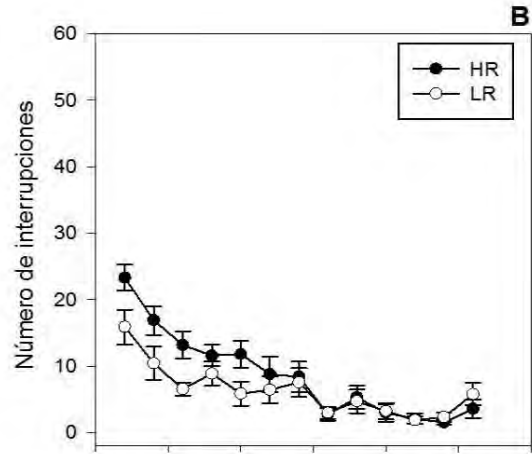
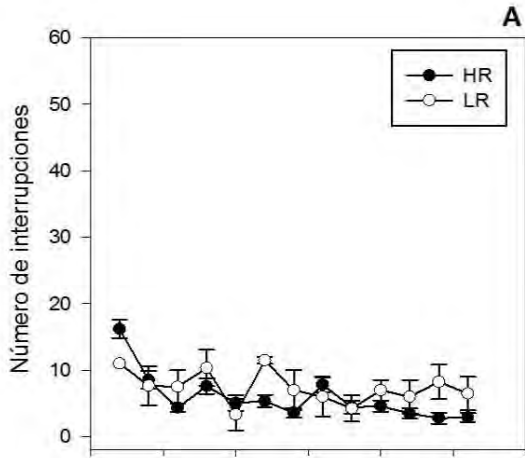


Figura 25. Curso temporal de los movimientos horizontales (MOV HOR) durante la fase de habituación para ratas clasificadas como de alta (HR) o baja (LR) respuesta a la novedad. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de A) 19 (control HR), 4 (control LR), B) 11 (etanol 1g/Kg HR), 11 (etanol 1g/Kg LR), C) 2 (etanol 2.5 g/Kg HR), 19 (etanol 2.5 g/Kg LR), D) 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), E) 7 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), F) 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), G) 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), H) 12 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

De igual manera, hay un efecto de la clasificación de las ratas durante la fase de habituación en movimientos verticales. A diferencia de la conducta de movimientos horizontales, en algunos grupos, como etanol 2.5 y sacarosa 0.5 g/Kg, los animales LR tienen ligero aumento en la actividad en comparación con los HR, mientras que otros como sacarosa 2 y 2.5 no presentan una diferencia clara en el curso temporal de HR y LR (Figura 26).

El ANOVA de dos vías para medidas repetidas de los datos demostró diferencias significativas tanto para la clasificación HR-LR ($F(1,145)=6.343$, $p<0.013$), como para el tiempo ($F(12,145)=81.432$, $p<0.001$), pero no para la interacción entre ambos factores ($F(12,1399)=1.245$, $p=0.246$).



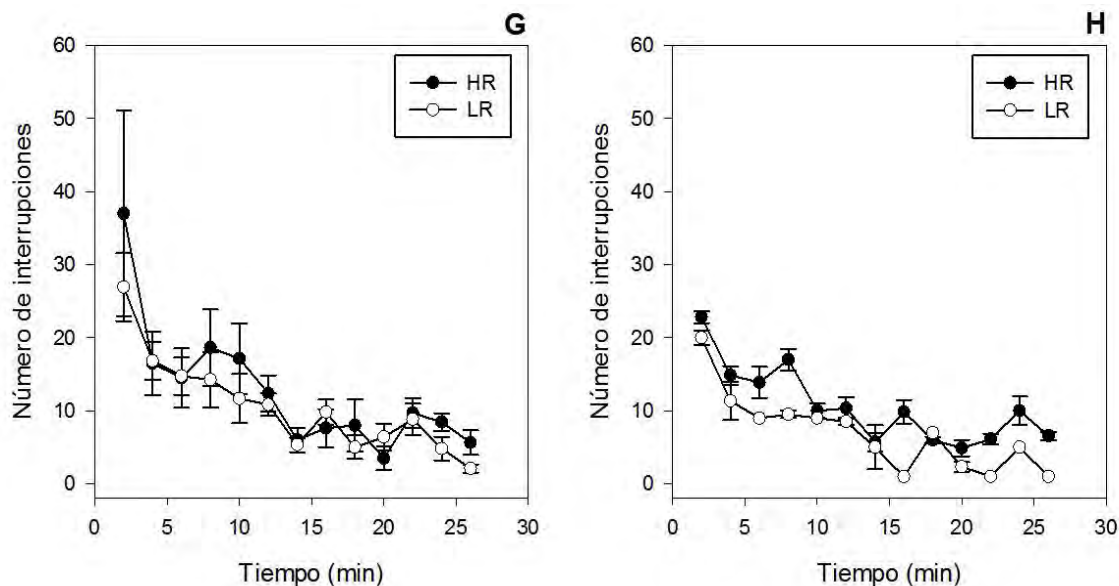
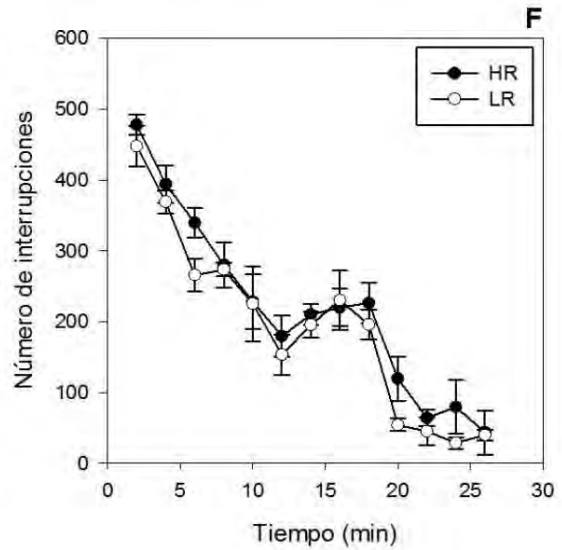
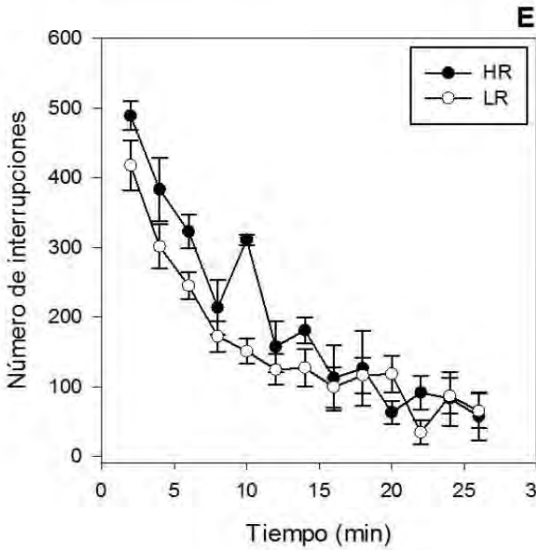
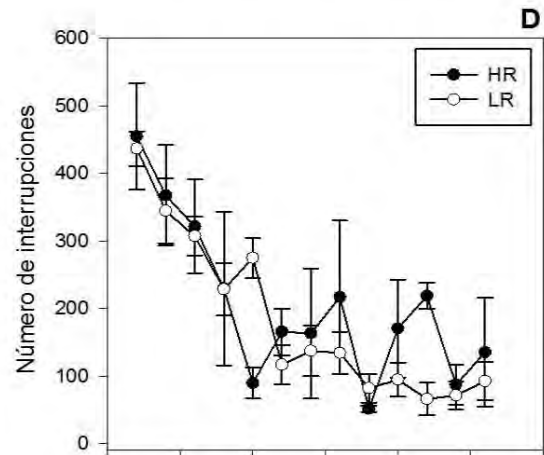
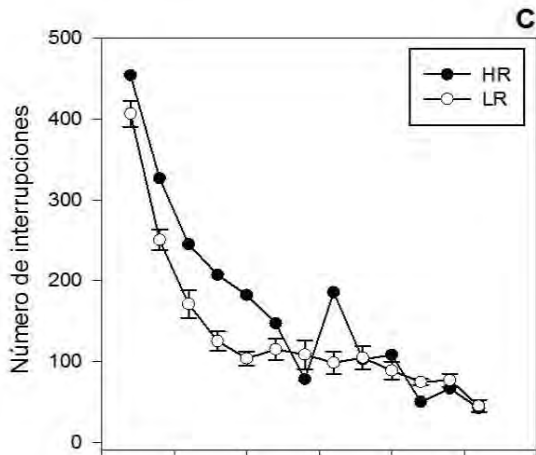
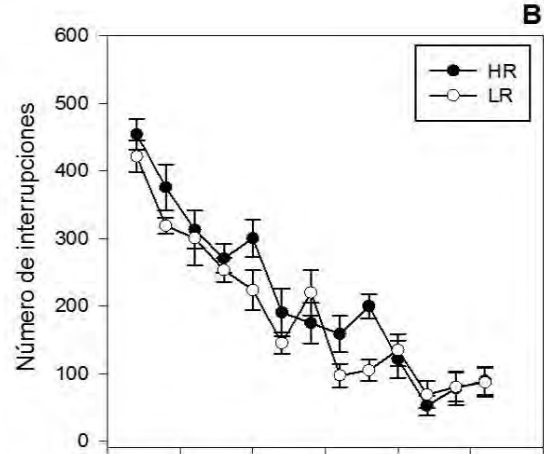
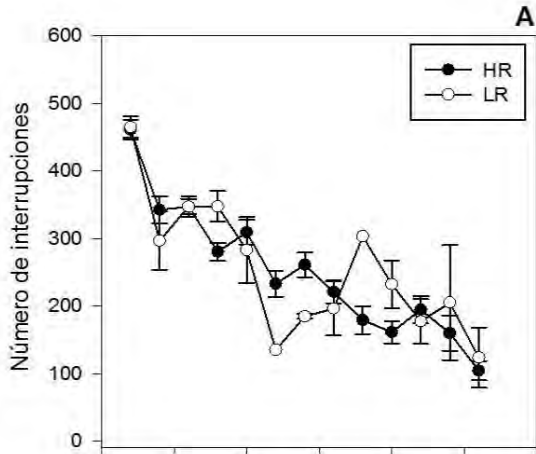


Figura 26. Curso temporal de los movimientos verticales (MOV VER) durante la fase habituación para ratas clasificadas como de alta (HR) o baja (LR) respuesta a la novedad. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 10 (etanol 1g/Kg LR), 2 (etanol 2.5 g/Kg HR), 19 (etanol 2.5 g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), , 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 6 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Por último, también en la conducta de estereotipias se confirman los resultados obtenidos en el análisis de la actividad locomotora y se observan las diferencias entre los animales HR y LR, donde la mayoría de los grupos muestra que los animales HR tienen mayor frecuencia de la conducta en comparación con los LR. De nueva cuenta, los animales de los grupos de sacarosa 2 y 2.5 g/Kg presentan un curso temporal para HR muy semejante al de LR (Figura 27).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la clasificación de respuesta a la novedad ($F(1,141)=60.718$, $p<0.001$), el tiempo ($F(12,141)=252.975$, $p<0.001$) y para la interacción entre el tiempo y la clasificación de los animales ($F(12,1154)=2.310$, $p=0.007$).



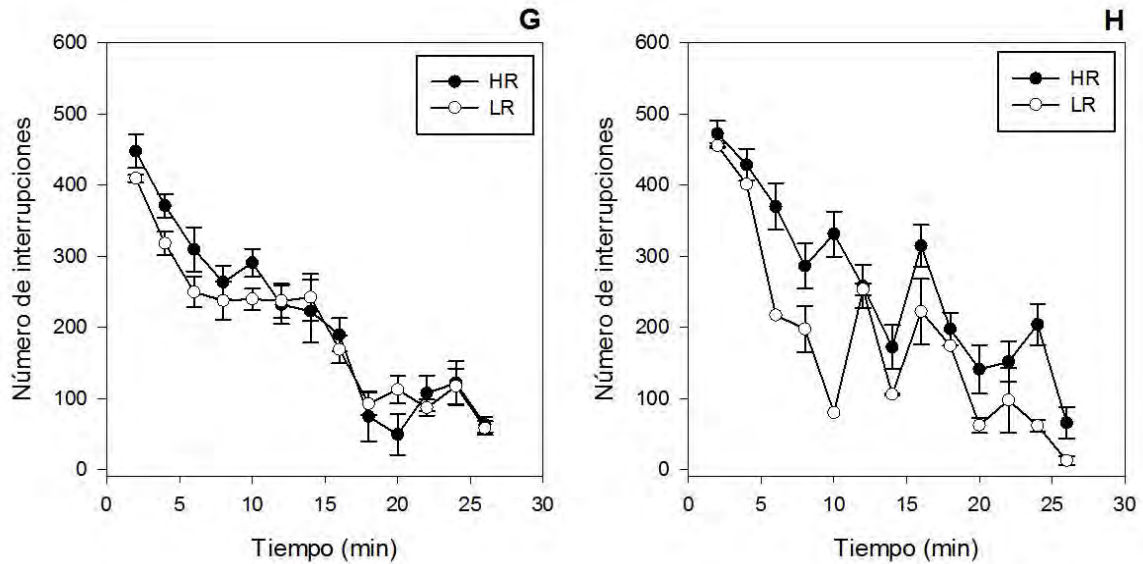


Figura 27. Curso temporal de estereotipias (EST) durante la fase habituación para ratas clasificadas como de alta (HR) o baja (LR) respuesta a la novedad. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 21 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 11 (etanol 1g/Kg LR), 2 (etanol 2.5 g/Kg HR), 18 (etanol 2.5 g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), , 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 5 (sacarosa 1 g/Kg HR), 9 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 6 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Posteriormente se analizó el efecto de la clasificación de los animales en su comportamiento durante la fase droga, donde se administraron los diversos tratamientos. Dado que para el grupo tratado con etanol 2.5 g/Kg la clasificación de los animales reveló una cantidad en extremo diferente entre el número de animales HR en comparación con el número de animales LR no se incluyó en los análisis estadísticos posteriores.

La prueba de análisis de varianza de dos vías mostró que no existen diferencias significativas a nivel de tratamiento ($F(6,115)=1.316, p=0.256$), ni a nivel del clasificación HR-LR ($F(1,115)=3.067, p=0.083$) en la fase droga para MOV HOR. El resultado de la interacción entre ambos factores tampoco arrojó resultados significativos ($F(6, 115)=1.763, p=0.113$).

A pesar de que el análisis estadístico no presenta diferencias estadísticamente significativas entre animales de alta respuesta y aquellos de baja respuesta, en la figura anterior se observa que los animales del grupo de alta respuesta de la dosis más baja

de sacarosa (0.5 g/Kg) tienden a aumentar el número de interrupciones (MOV HOR) en comparación con los animales de baja respuesta tratados con la misma dosis. Lo mismo sucede con las dosis de sacarosa 1 g/Kg y 2.5 g/Kg, donde existe la tendencia al aumento de la conducta por parte del grupo clasificado como de alta respuesta (Figura 28).

En contraste, la dosis de sacarosa 2 g/Kg podría tener efecto de disminución en el número de interrupciones que presentan los animales de alta respuesta en relación con los animales clasificados como baja respuesta, lo que podría indicar que la dosis usada como intermedia es más semejante a las dosis bajas utilizadas (Figura 28).

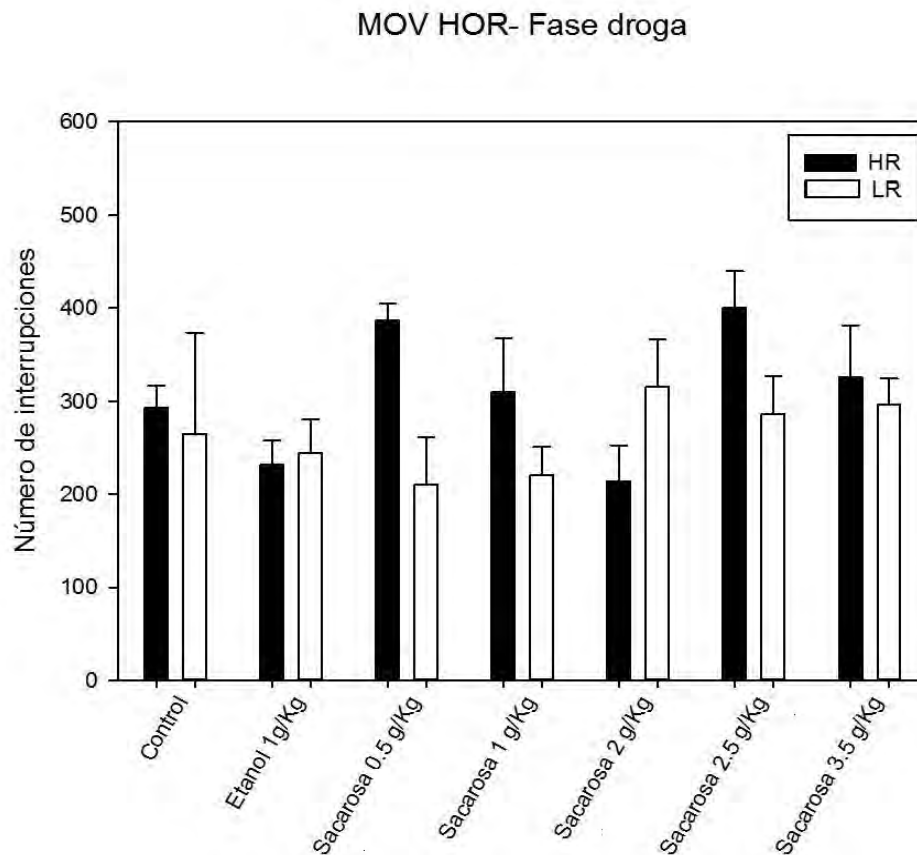


Figura 28. Efecto de la respuesta a la novedad sobre la conducta de movimientos horizontales durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 11 (etanol 1g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 7 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 12 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

A diferencia de los movimientos horizontales, el análisis de la conducta de movimientos verticales sí arroja diferencias significativas para el tratamiento ($F(6,112)=14.793$, $p<0.001$), no así para la clasificación de los animales en HR o LR ($F(1,112)=0.658$, $p=0.419$) o la interacción entre los factores ($F(6, 112)= 1.169$, $p=0.328$). De nueva cuenta, se confirma la diferencia entre los tratamientos, donde destaca el tratamiento de sacarosa 2.5 g/Kg (Figura 29). A diferencia de la conducta de MOV HOR, se observa que en todos los tratamientos, excepto sacarosa 2.5 g/Kg, existe una tendencia del grupo LR a aumentar la frecuencia de la conducta; esto es más evidente en el tratamiento de sacarosa 0.5g/Kg.

MOV VER- Fase droga

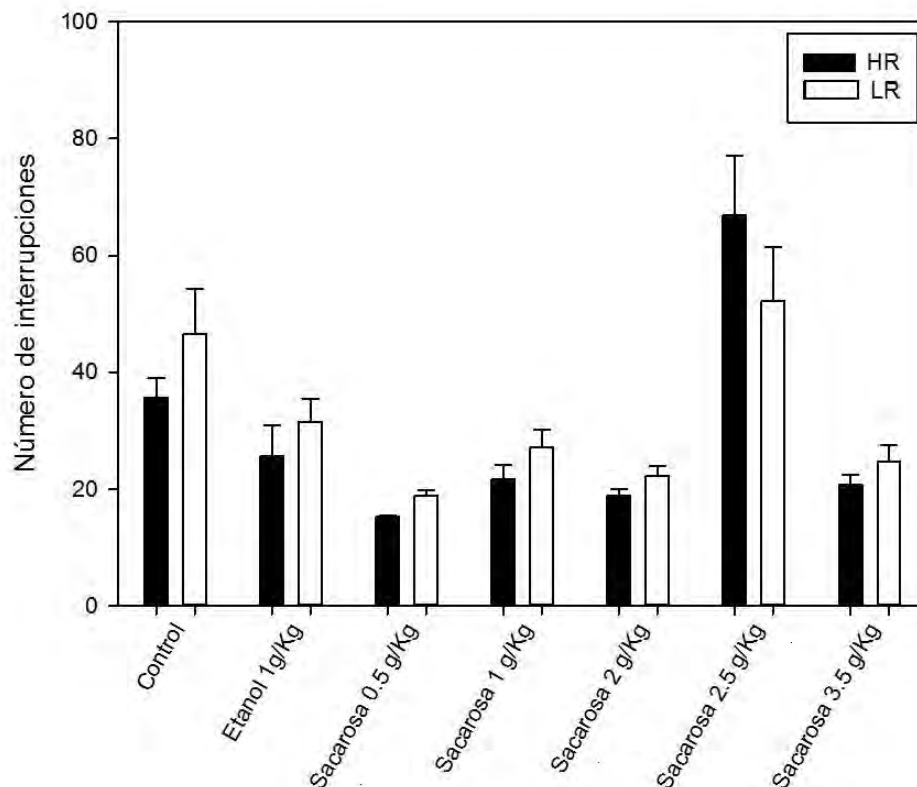


Figura 29. Efecto de la respuesta a la novedad sobre la conducta de movimientos verticales durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 10 (etanol 1g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 6 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Para las estereotipias nuevamente no existen diferencias entre tratamientos ($F(6, 109)=1.338, p=0.247$), clasificación de animales ($F(1, 109)=0.029, p=0.865$) o la interacción entre los factores ($FF(6, 109)=1.019, p=0.417$).

Se observa una tendencia de los animales LR a aumentar el número de interrupciones respecto a los HR al ser tratados con sacarosa 0.5 g/Kg, mientras que con una dosis más alta, como sacarosa 2.5 g/Kg, la tendencia es inversa, ya que los animales HR aventajan a los LR en el número de interrupciones que presentan.

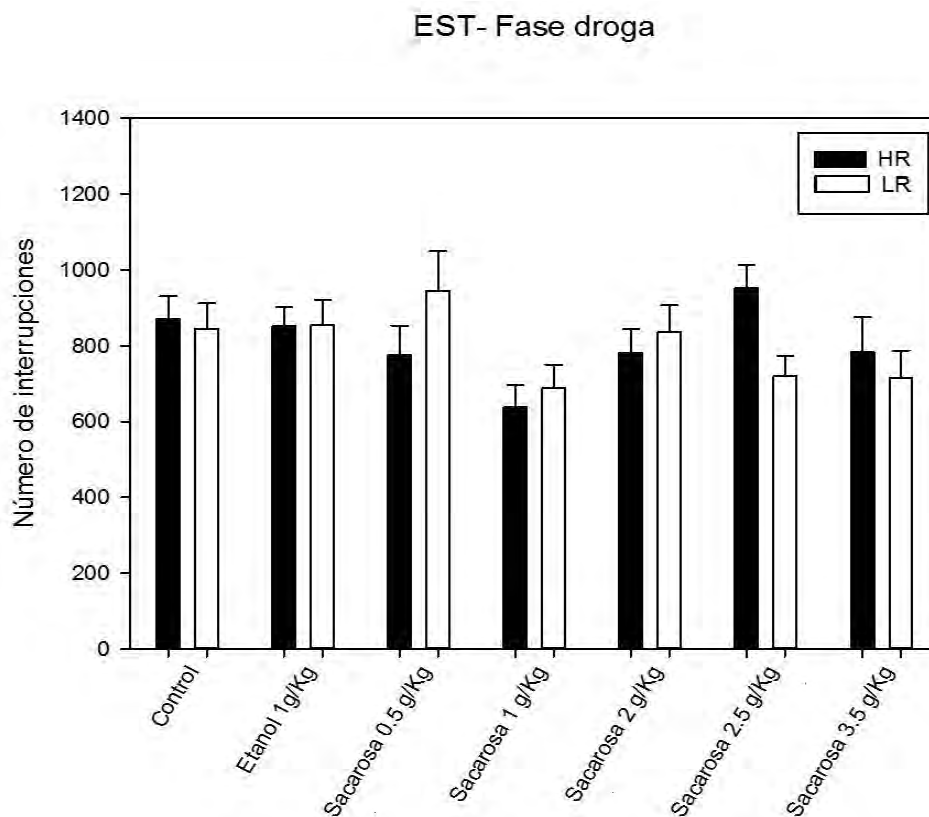


Figura 30. Efecto de la respuesta a la novedad sobre las estereotipias durante la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 10 (etanol 1g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 6 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Por último, con el fin de investigar si la respuesta de los animales a la novedad influía en la actividad observada previamente (Figuras 20, 25 y 30), se dividió la fase droga en

bloques de cinco intervalos y se realizó el análisis estadístico del principio, la mitad y el final de la fase.

Para los movimientos horizontales (Anexo 5) se encontró que al principio de la fase (intervalos 1 a 5) existen diferencias significativas entre los tratamientos ($F(6, 115)=3.074$, $p<0.008$), pero no para la clasificación de los animales ($F(1,115)=0.446$, $p=0.506$) o la interacción de los factores ($F(6,115)=0.913$, $p<0.489$). A la mitad de la fase (intervalos 6 a 10), el efecto del tratamiento deja de ser estadísticamente significativo ($F(6,115)=1.196$, $p=0.313$), como en el caso de la clasificación ($F(1, 115)=2.505$), $p=0.116$) y la interacción ($F(6,115)=0.662$, $p=0.680$).

En el último tercio de la fase (intervalos 11 a 15) las diferencias entre los tratamientos son estadísticamente significativas ($F(6,115)=2.846$, $p<0.013$), no así con la clasificación ($F(1,115)=1.613$, $p=0.207$) o la interacción entre ambos factores ($F(6,115)=1.942$), $p=0.080$).

Los animales clasificados como HR presentan una tendencia a aumentar los movimientos horizontales (Anexo 5) con tratamiento de baja concentración de sacarosa (sacarosa 0.5 g/Kg). Dicha tendencia se observa a lo largo de toda la fase droga, pero la diferencia más evidente respecto al grupo LR se ve durante los últimos cinco intervalos de la fase (Anexo 5C).

Por el contrario, el tratamiento de sacarosa 2 g/Kg muestra una tendencia de los animales clasificados como LR a aumentar los movimientos horizontales (Anexo 5A). Nuevamente, la diferencia entre los animales HR-LR es más evidente hacia el final de la fase (Anexo 5C).

Asimismo, en los movimientos verticales (Anexo 6) durante el intervalo 1 a 5 el tratamiento es estadísticamente significativo ($F(6,112)=9.062$, $p<0.001$), pero no la clasificación ($F(1,112)=0.0434$, $p=0.835$) o la interacción entre la clasificación y los tratamientos ($F(6,112)=1.870$, $p=0.092$). Sin embargo, a diferencia de los movimientos horizontales, la significancia estadística del tratamiento se mantiene del intervalo 6 hasta el 10 ($F(6, 112)=8.608$, $p<0.001$) y del 11 al 15 ($F(6,112)=8.676$, $p<0.001$).

Aunque la clasificación HR-LR para los movimientos verticales no es significativa en los intervalos 6 a 10 ($F(1,112)=0.0996$, $p=0.753$), sí lo es en los intervalos 11 a 15 ($F(6,112)=5.799$, $p<0.018$). La interacción entre los factores no es significativa ni en el segundo ($F(6,112)=0.415$, $p=0.868$) ni en el último tercio de la fase droga ($F(6,112)=0.571$, $p=0.752$).

Pese a los resultados estadísticos, se observa que en los primeros cinco intervalos de la fase droga para movimientos verticales existe una tendencia de los animales clasificados como LR a aumentar la conducta cuando son tratados con sacarosa 0.5 g/Kg (Anexo 6A). En la mitad de la fase (intervalos 6 a 10) se observa una tendencia similar para el tratamiento de sacarosa 3.5 g/Kg y además destaca el tratamiento de sacarosa 2.5 g/Kg al presentar mayor número de movimientos verticales que el resto de los grupos (Anexo 6B).

Hacia el final de la fase, los animales clasificados como HR presentan la tendencia a aumentar los movimientos verticales en los tratamientos de etanol 1g/Kg y sacarosa 0.5, 1, 2 y 3.5 g/Kg (Anexo 6C).

En el caso de las estereotipias (Anexo 7) no existen diferencias significativas para el tratamiento durante los intervalos 1 a 5 ($F(6,109)=1.336$, $p=0.247$), la clasificación ($F(1, 109)=1.871$, $p=0.174$) o la interacción ($F(6,109)=0.917$, $p=0.486$). Aun así, se observa la tendencia de los animales HR de los tratamientos de etanol 1 g/Kg y de las concentraciones altas de sacarosa (2.5 y 3.5 g/Kg) de aumentar las estereotipias (Anexo 7A).

En la mitad de la fase el factor del tratamiento es significativo ($F(6,109)=3.596$, $p<0.003$) pero la clasificación ($F(1, 109)=0.00941$, $p=0.923$) y la interacción entre ambos ($F(6, 109)=1.098$, $p=0.368$) no lo son. De manera contraria a lo que ocurre al inicio de la fase, en los intervalos 6 a 10 los animales LR presentan mayor número de estereotipias que los HR en el caso del tratamiento de etanol 1g/Kg y de sacarosa 0.5 g/Kg (Anexo 7B).

En los últimos cinco intervalos de la fase droga de estereotipias no existen diferencias significativas en el tratamiento ($F(6,109)=1.795$, $p=0.107$), la clasificación ($F(1,109)=1.712$, $p=0.193$) o la interacción entre los factores ($F(6,109)=1.013$, $p=0.421$). Sin embargo, se observa la tendencia de los animales clasificados como LR a aumentar el número de estereotipias en el tratamiento de sacarosa 0.5g/Kg y de los animales HR a aumentar las estereotipias en el tratamiento de sacarosa 2.5 g/Kg (Anexo 7C).

III. Concentración de glucosa en sangre

Existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa en sangre (mg/dL), resultado de la administración de dosis bajas de sacarosa, como 0.5 g/Kg ($F(8,32)=3.421$, $p<0.006$) y 1 g/Kg ($F(8,32)=3.159$, $p<0.009$), y de dosis altas como 2.5 g/Kg ($F(8,32)=3.432$, $p<0.006$) y 3.5 g/Kg ($F(8,32)=4.924$, $p<0.001$).

La dosis más baja de sacarosa (0.5g/Kg) provoca el incremento significativo en los niveles de glucosa una vez transcurridos 5 min; esta diferencia respecto al valor basal se mantiene hasta el final de los 30 min, y alcanza su valor máximo a los 12.5 min después de la inyección (Figura 31A). Mientras tanto, la dosis de 1 g/ Kg, alcanza una diferencia significativa respecto al valor basal hasta los 10 minutos, y al igual que en el caso anterior esta diferencia se mantiene hasta los treinta min correspondientes a la duración del ensayo (Figura 31B).

La administración de una dosis intermedia de sacarosa, 2 g/Kg ($F(8,32)=2.141$, $p=0.061$) no muestra tener efectos significativos en los niveles de glucosa.

El nivel de glucosa en los animales que recibieron sacarosa 2.5 g/Kg aumentó de inmediato a partir de los 2.5 min, alcanzando su valor máximo al min 15 y se mantiene hasta el min 30 (Figura 31D).

Por último, el perfil de incremento de glucosa en sangre para la dosis de 3.5 g/Kg de sacarosa, la más alta, muestra el aumento significativo a partir de los 5 min. Dicha elevación parece de magnitud similar a la que se observa a los 15 min, es decir, esta dosis presenta dos grandes incrementos, uno al principio y otro hacia la mitad del registro (Figura 31E).

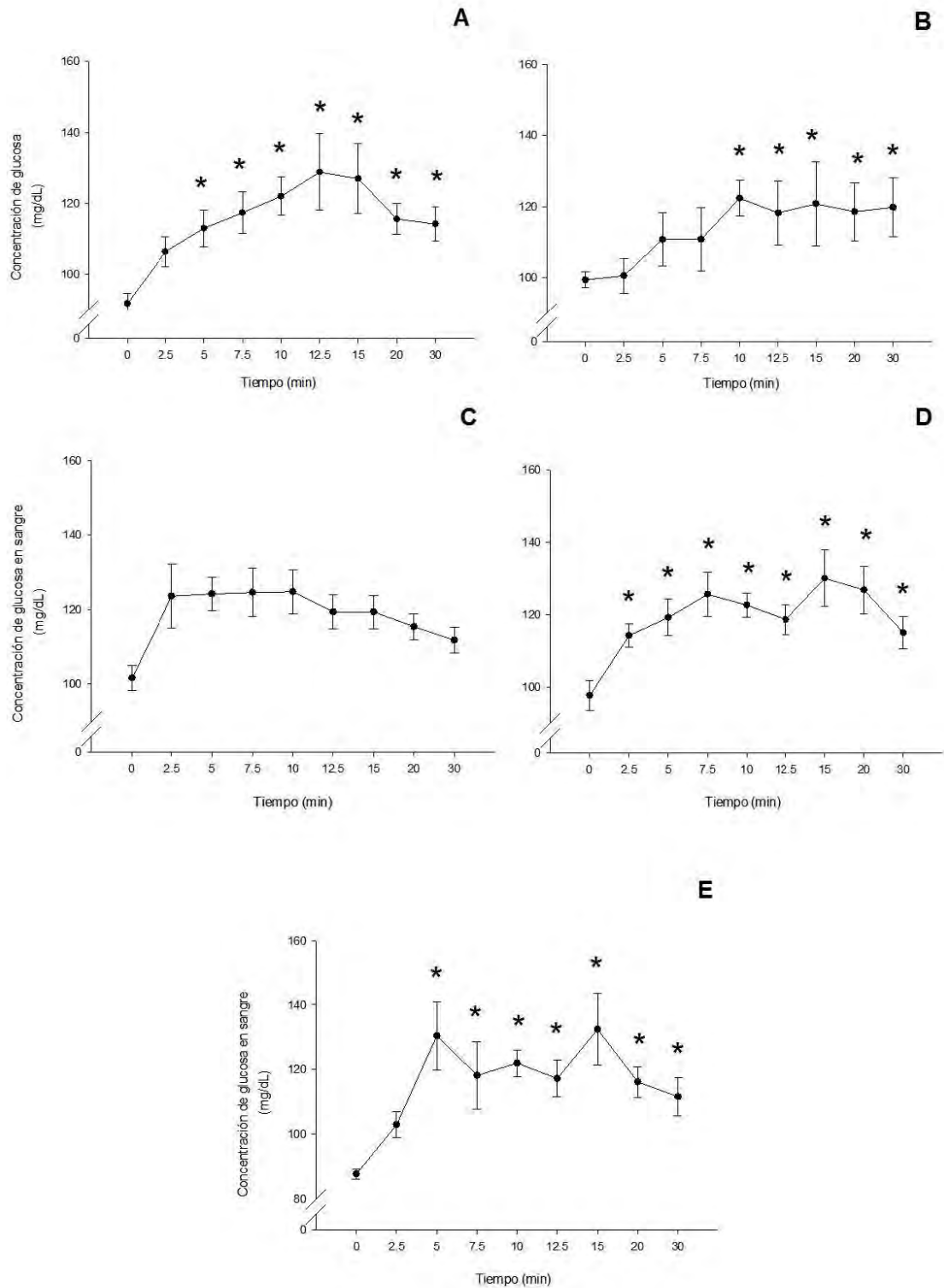


Figura 31. Concentración de glucosa en sangre en ratas administradas con sacarosa a dosis de 0.5g/Kg (A), 1 g/Kg (B), 2 g/Kg (C), 2.5 g/Kg (D) y 3.5 g/ Kg. Los datos se expresan como el promedio \pm EEM (n=25). Los cambios significativos vs el nivel de glucosa basal se indican con asteriscos (* $p < 0.05$).

En la siguiente tabla se muestra el máximo aumento registrado en los niveles de glucosa para cada dosis administrada.

Tabla 3. Concentración máxima de glucosa en sangre alcanzada		
Dosis de sacarosa (g/Kg)	Tiempo (min)	Concentración de glucosa (mg/dL)
0.5	12.5	128.8 ± 10.8
1	10	122.4 ± 5
2	10	124.8 ± 6
2.5	15	130 ± 7.8
3.5	15	132.4 ± 11.1

La tabla anterior (Tabla 3) demuestra que no hay un efecto dosis respuesta, aunque hay diferencias en el tiempo en que se alcanza la máxima concentración de glucosa en sangre.

IV. Determinación de alcohol en sangre

El contenido de etanol en plasma demostró que las ratas tratadas con una dosis mayor de etanol (etanol 2.5 g/Kg) presentan mayor concentración de alcohol en plasma que aquellas tratadas con una dosis más baja (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración de etanol en plasma de ratas tratadas con etanol 1 y 2.5 g/Kg	
Etanol 1 g/Kg	Etanol 2.5 g/Kg
275.16 ± 77.48 mg/L	950.94± 134.16 mg/L

DISCUSIÓN

Por su relevancia en la epidemia de obesidad actual y su omnipresencia en los alimentos que consumimos, la sacarosa se ha usado anteriormente como sustancia de estudio en investigaciones relacionadas a la dependencia. Sin embargo, la mayoría de estos experimentos se realizan bajo consumo *ad libitum* de la sustancia en forma de alimento de roedor adicionado con sacarosa o soluciones que van del 10% (Frazier *et al.*, 2008; Mitra *et al.*, 2016) al 30% (Gaysinskaya *et al.*, 2011). Al día de hoy, no existen modelos animales que estudien el efecto que tiene la administración aguda de diferentes carbohidratos sobre la actividad motora. Hasta donde sabemos, éste es el primer estudio que revela los efectos de dosis específicas de sacarosa sobre la conducta motora en ratas.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el efecto de la sacarosa en la conducta de ratas Wistar, estudiada como la expresión de movimientos horizontales, verticales y estereotipias, depende de la dosis de sacarosa administrada. Además, este efecto puede ser potenciado o disminuido por la respuesta intrínseca a la novedad de cada individuo.

La hipótesis de que dosis mayores de sacarosa alcanzarían mayor efecto que dosis bajas no fue confirmada. Se encontró que la dosis de 0.5 g/Kg de sacarosa no sólo es suficiente para aumentar de manera importante los movimientos horizontales en ratas Wistar, sino que dosis bajas alcanzan niveles de actividad máxima más altos que los de dosis mayores. En general, se observa el desfase del efecto que tienen los diferentes tratamientos de sacarosa sobre los movimientos horizontales, es decir, las dosis ejercen sus efectos en tiempos diferentes donde dosis altas exacerban la actividad al principio y las dosis bajas hacia la mitad de la fase droga. Al respecto, la dosis de sacarosa de 2 g/Kg, considerada como dosis intermedia en este protocolo, presenta un perfil de acción semejante al de la dosis bajas de sacarosa, al tener un efecto sobre la conducta hasta la segunda mitad de la fase droga.

Los efectos más importantes sobre los movimientos verticales sólo se observan con la administración de una dosis alta de sacarosa. La dosis de sacarosa de 2.5 g/Kg aumenta

la frecuencia de la conducta con tres picos de actividad correspondientes al inicio, mitad y final de la fase droga. El resto de los tratamientos de sacarosa se mantienen por debajo del nivel del control a lo largo de toda la fase y presentan reducciones significativas en diferentes puntos. Cabe mencionar que la dosis de sacarosa de 2.5 g/Kg muestra tendencia al aumento en el registro de movimientos verticales desde la fase de habituación y posteriormente se destaca del resto de los grupos durante la fase de inyección del vehículo, es decir de manera independiente a la administración de sacarosa lo que podría implicar que este grupo en particular contiene ratas más sensibles al efecto de un ambiente novedoso y es por ello que tienen mayor respuesta a la administración de la sacarosa durante la última fase.

Por otro lado, el efecto de los tratamientos con sacarosa sobre las conductas estereotipadas se observa predominantemente durante la mitad de la fase droga. Al inicio de la fase una dosis baja (0.5g/Kg) y una dosis alta (2.5g/Kg) aumentan las estereotipias de manera breve. En general, el registro de esta conducta es muy similar a lo que se observa en los movimientos horizontales a excepción de que la frecuencia de estereotipias disminuye antes, a partir del intervalo 41, en todos los grupos. Estudios futuros que busquen elucidar los cambios específicos que ocurren en las conductas estereotipadas son importantes, ya que podría haber diferencias en la ejecución individual del acicalamiento, el olfateo, el masticado y la lamida de las extremidades, conductas que son tomadas aquí como un conjunto. Por ejemplo, la d-anfetamina y el metilfenidato (MFD) han probado desencadenar estereotipias diferentes sobre las ratas, la primera promueve olfatear y la segunda roer (Roffman & Raskin, 1997)

Estas diferencias entre las propiedades de las dosis bajas de sacarosa y las dosis altas son importantes, especialmente al considerar que el consumo de sacarosa aumenta con el tiempo (Colantuoni *et al.*, 2001) o después de periodos de restricción (Avena *et al.*, 2005), lo que puede llevar el consumo compulsivo de la sustancia. Los hallazgos del presente estudio sugieren entonces que la expresión de la actividad motora será diferente conforme progresa el escalamiento del consumo de sacarosa en ratas en un protocolo de administración crónica. Por ejemplo, en el inicio (dosis bajas) las ratas podrían exhibir principalmente conducta exploratoria; después, conforme el consumo

aumenta (dosis altas), la conducta exploratoria podría ser reemplazada por el aumento en las estereotipias y los movimientos verticales.

En cuanto al etanol, tanto la dosis de 1 g/Kg como la de 2.5 g/Kg aumentaron los movimientos horizontales de las ratas en la primera mitad de la fase droga; sin embargo, hacia la segunda mitad, el etanol en dosis altas disminuye los movimientos horizontales mientras que la dosis baja los aumenta. Durante los movimientos verticales, los tratamientos de etanol tienen actividad semejante y aunque el grupo de 1 g/Kg no presenta diferencias significativas respecto al grupo control, tiene tendencia a aumentar la conducta. Entretanto, el etanol 2.5 g/Kg genera la reducción significativa de la conducta. Finalmente, se observó que el etanol en dosis altas disminuye las estereotipias mientras que en dosis bajas aumenta ligeramente la conducta. Estos resultados son consistentes con la literatura publicada sobre los efectos bifásicos del etanol, es decir, esta sustancia induce efectos estimulantes y depresores en la conducta dependiendo de la dosis. La inyección i.p. de etanol en dosis altas (2.5 g/Kg) suprime la actividad exploratoria en ratas adultas que muestran señales físicas de sedación inducida por etanol, mientras que la administración aguda de alcohol en dosis bajas (0.5 o 1 g/Kg) resulta en el incremento de la actividad, este aumento de la actividad locomotora declina con el tiempo (Acevedo *et al.*, 2014; Gingras & Cools, 1996; Hernández-Vázquez & Méndez, 2006; Holdstock & de Wit, 1998; Karlsson & Roman, 2016).

Como se mencionó anteriormente, otro factor importante a lo largo del experimento fue la actividad de los animales previo a la fase droga, ya que en ese momento no debería haber diferencias entre los grupos debido a que aún no se les ha administrado ninguna sustancia. Durante la fase de habituación, en los movimientos horizontales se encontró que el grupo de sacarosa 3.5 g/Kg presenta una mayor actividad que el resto de los grupos, mientras que el grupo de etanol 2.5 g/Kg tiene una reducción en su actividad. De manera similar, en los movimientos verticales se observó una disminución en la actividad del grupo de etanol 2.5 g/Kg; sin embargo, la tendencia del grupo de animales de sacarosa 3.5 g/Kg a presentar una mayor actividad que el resto de los grupos fue menos evidente para el registro de esta conducta. De nueva cuenta, durante la fase de habituación de las conductas estereotipadas se conserva la tendencia del grupo de

etanol 2.5 g/Kg a presentar menor actividad motora que el resto de los grupos. Estas conductas en la fase de habituación podrían deberse a la influencia de varios factores, entre los que destacan las diferencias intrínsecas de los animales en respuesta a un ambiente novedoso.

A pesar de la distribución y selección aleatoria de los animales, la clasificación en alta (HR) y baja respuesta (LR) a la novedad reveló que en el grupo de etanol 2.5 g/Kg predominaban los animales LR (19) sobre los HR (2); en cambio, en el grupo de sacarosa 3.5 g/Kg predominaban los animales HR (11) sobre los LR (3). Esto sugiere que la causa de las diferencias en la actividad motora en las fases previas a la administración de las sustancias de interés se debe a que los animales tienen una respuesta distinta al ambiente novedoso. Este concepto ha sido demostrado previamente por diversos investigadores. Dichos estudios han relacionado la respuesta a la novedad con la preferencia a nuevas sensaciones o búsqueda de novedad y la proclividad hacia el uso de drogas de abuso. De acuerdo a estas investigaciones, los animales con mayor respuesta motora a un ambiente novedoso (HR) son más vulnerables a los efectos de estimulación locomotora de sustancias como cocaína (Belin *et al.*, 2011) y anfetamina (Piazza *et al.*, 1990).

Al respecto, en este estudio las ratas clasificadas como HR tienen mayor número de movimientos horizontales en comparación con los animales de baja respuesta durante la fase de habituación. La actividad de los animales HR-LR influye de manera diferente en la conducta de movimientos verticales y las estereotipias. La baja respuesta a la novedad parece favorecer el aumento de movimientos verticales en la mayoría de los tratamientos, excepto sacarosa 2.5 g/Kg. Cabe recordar que dicha dosis fue la única que se destacó por aumentar dicha conducta durante la fase droga. En el caso de las estereotipias, la tendencia general es al aumento de la conducta por los animales LR al ser tratados con dosis bajas de sacarosa (0.5 g/Kg), mientras que en dosis altas la tendencia es inversa.

El efecto de la respuesta a la novedad sobre la actividad motora no es suficiente para predecir la respuesta motora de las ratas ante cada tratamiento. La actividad también depende del tiempo en el que se observa la conducta. Por ejemplo, al dividir la fase

droga de movimientos verticales los animales clasificados como de baja respuesta a la novedad, aumentan la conducta en las ratas tratadas con sacarosa 0.5 g/Kg durante los primeros cinco intervalos; en la mitad de la fase, la tendencia es similar en sacarosa 3.5 g/Kg. Hacia el final de la fase, los animales clasificados como HR son quienes tienden al aumento de movimientos verticales en los tratamientos de etanol 1g/Kg y sacarosa 0.5, 1, 2 y 3.5 g/Kg. Se recomienda un estudio posterior con distribución más equitativa de los animales HR-LR en cada grupo de tratamientos para esclarecer si en nuestro caso existe relación entre la respuesta a la novedad y la respuesta a la dosis de las sustancias.

Finalmente, en este trabajo se observó una clara relación entre los niveles de alcohol en sangre con la cantidad de etanol administrada, pero no sucede lo mismo con la sacarosa donde las dosis no corresponden con el aumento de glucosa en sangre registrado. Esto podría deberse a diferencias en el metabolismo de la sacarosa y la vía de administración usada en este protocolo. Al respecto, Hara & Saito (1981), demostraron que la solución de 1 g de sacarosa administrada por vía oral tiene la misma respuesta sobre la concentración de glucosa en sangre que una solución de 2 g, es decir que tampoco hay evidencia de que exista efecto dosis-respuesta por esta vía. También, se ha demostrado que la administración oral de sacarosa, glucosa, y una mezcla de glucosa y fructosa ejercen la misma respuesta sobre la concentración de glucosa en plasma (Eiko & Masayuki, 1981).

En roedores, uno de los exámenes más usados para identificar individuos con diabetes es la prueba de tolerancia a glucosa. En ratones, esta prueba se realiza administrando glucosa por vía intraperitoneal; aunque no hay consenso en la cantidad de glucosa administrada, el rango de dosis va de 0.5 a 2 g/Kg. Andrikopoulos *et al.* (2008), estudiaron la dinámica de la glucosa en plasma resultante de la administración de glucosa 2g/Kg vía oral vs vía intraperitoneal y demostraron que los niveles de glucosa en plasma resultado de la administración vía oral eran menores al compararlos con la administración intraperitoneal.

Es importante considerar que la administración de sustancias se realizó por vía intraperitoneal en todos los tratamientos del presente estudio. De acuerdo a la literatura,

la farmacocinética de sustancias administradas vía i.p. es similar a la vía de administración oral, la ruta primaria de absorción es en vasos mesentéricos que dirigen las sustancias hacia la vena porta y a través del hígado antes de alcanzar la circulación sistémica. Una pequeña cantidad puede también pasar directamente a través del diafragma (Turner, 2011).

La sacarosa es un disacárido compuesto de glucosa y fructosa. La hidrólisis de los disacáridos a monosacáridos se realiza por enzimas localizadas en las superficies lumenales de las células que revisten las microvellosidades del intestino delgado. En el intestino, la sacarosa es hidrolizada por la sacarasa, una enzima invertasa, en glucosa y fructosa antes de ser absorbida en la sangre de la circulación portal hepática. Después, la fructosa y la glucosa tienen destinos metabólicos diferentes. La fructosa es transportada dentro de células hepáticas, una vez dentro de las células es convertida a fructosa-1-fosfato y a gliceraldehído-fosfato por enzimas específicas (fructocinasa y aldolasa B). Los pasos iniciales del metabolismo de la fructosa no requieren insulina. Por el contrario, la glucosa es absorbida en el hígado y convertida a glucosa-6-fosfato por la enzima glucocinasa, la expresión de dicha enzima es dependiente de insulina (Tappy & Lê, 2010).

Aunque aún es poco lo que se sabe sobre el metabolismo de la sacarosa en el sistema nervioso central (SNC), de manera general podemos proponer dos posibles mecanismos por los que la sacarosa ejerce sus efectos centrales. El primero, involucra el efecto individual de los monosacáridos que la componen y el segundo, considera la acción directa de la molécula de sacarosa.

Del 50 al 75% de la glucosa consumida se usa para mantener los requerimientos energéticos del SNC. La disponibilidad de glucosa para glia y neuronas requiere del transporte a través de la barrera hematoencefálica (BHE) compuesta de células endoteliales conectadas por uniones estrechas que previenen la difusión de glucosa y otros nutrientes. El transporte de glucosa está mediado por los miembros de la familia de transportadores GLUT. La presencia de GLUT1 y GLUT3 es crítica para la homeostasis de glucosa en el cerebro. GLUT1 es el principal transportador en la barrera hematoencefálica y también media la absorción de sacarosa del fluido extracelular a las

células de la glia, mientras GLUT3 es el transportador responsable de la entrada de glucosa en las neuronas (Cura & Carruthers, 2012; Mergenthaler *et al.*, 2013; Xiuli *et al.*, 2005).

Dado que la glucosa entra en el cerebro vía la BHE, generalmente se asume que los efectos de la fructosa en el SNC están regulados por la entrada de fructosa por la misma vía. Sin embargo, la fructosa se metaboliza rápidamente en el hígado por lo que los niveles de fructosa fuera del hígado, en circulación, son bajos. Recientemente, se realizó un estudio donde se demostró que la fructosa es producida de manera endógena en el cerebro a partir de la glucosa por la vía de sorbitol-aldosa reductasa o la vía poliol que convierte la glucosa a sorbitol y éste a fructosa (Hwang, 2017).

Aunque es posible que la fructosa cruce la BHE, es poco probable que sea la vía que contribuye mayoritariamente a la concentración de fructosa en el SNC. El aumento de fructosa intracerebral ocurre antes (a los 20 minutos) de que se perciba aumento en los niveles de fructosa periférica (a los 180 minutos) en individuos que han consumido glucosa (Hwang, 2017). Estos hallazgos sugieren que el consumo de cualquier azúcar que aumente el nivel de glucosa en sangre puede entonces mediar la producción de fructosa en el cerebro. Esto es relevante para nuestro estudio ya que la glucosa en sangre incrementó al inyectar a las ratas con sacarosa.

En cuanto a la acción directa de la sacarosa en el cerebro, la sacarosa marcada radioactivamente ($[^{14}\text{C}]$ -sacarosa) ha sido considerada como un marcador confiable para el análisis cuantitativo de la integridad de la BHE. Esto se debe a que es una molécula sin carga, que no está sujeta a la unión a proteínas, con bajo peso molecular, hidrofílica y, hasta la fecha, sin mecanismos medibles de transporte activo o facilitado a través de membranas (Miah *et al.*, 2016). Aunque podría pensarse que la sacarosa no entra en las células a menos que sea metabolizada en el intestino, existe la posibilidad de que sea procesada en el hígado por una sacarasa de muy baja actividad (Horvat, 1973). Adicionalmente, otras investigaciones han demostrado que la actividad de α -glucosidasa, que rompe almidón y disacáridos a glucosa está presente en tejido cerebral (Saul *et al.*, 1985).

Al respecto, Miah *et al.* (2016, 2017) estudiaron la permeabilidad de la BHE con [14C]-sacarosa y [13C]-sacarosa. Encontraron que la mayoría de la radioactividad observada en el cerebro después de la administración in vivo de sacarosa se puede atribuir a compuestos diferentes a la molécula de sacarosa intacta. Además, la concentración de sacarosa es muy baja en el cerebro.

Dichos estudios son muy recientes e indican una relativa impermeabilidad para la sacarosa en la BHE intacta por lo que el metabolismo del disacárido en el cerebro es poco probable. Sin embargo, es evidente que aún hacen falta estudios que contrasten el efecto de la sacarosa, la glucosa y la fructosa a nivel del SNC, tanto en las vías asociadas a la recompensa como sobre los mecanismos de absorción.

PERSPECTIVAS

Sería importante estudiar los cerebros de las ratas utilizadas en este estudio con el objetivo de determinar si la administración i.p. de sacarosa modifica la transmisión de algún neurotransmisor o neuromodulador, o bien si este azúcar induce activación neuronal. En estos cerebros extraídos y almacenados por congelación, se sugiere la comparación con cerebros obtenidos de ratas sometidas a un protocolo de administración crónica en estudios posteriores que emplee las dosis que mostraron mayores efectos conductuales, o a un protocolo agudo similar al que aquí se presenta pero donde la vía de administración sea oral.

Por ejemplo, varios laboratorios han publicado datos que sugieren que la ingesta de sacarosa resulta en cambios neuroquímicos que indican que la respuesta está mediada por el cambio en opioides o dopamina. Pomonis *et al* (2000), mantuvieron a ratas con acceso *ad libitum* a una solución de sacarosa al 10% durante 3 semanas y posteriormente les inyectaron 10 mg de naloxona. Los cerebros fueron analizados para inmunoreactividad de c-Fos en regiones del cerebro anterior y posterior ya que el incremento en la concentración de dicho factor es reflejo de activación neural. Se encontró que las concentraciones de c-Fos en el núcleo central de la amígdala aumentaron en ratas expuestas a sacarosa. Esto podría realizarse en las ratas empleadas para este estudio, con el fin de estudiar si se activa c-Fos cuando se inyecta la sacarosa o si la respuesta está asociada únicamente a mecanismos de palatabilidad.

Otra opción sería llevar a cabo un estudio similar al realizado por Colantuoni *et al* (2001) que estudiaron animales expuestos a glucosa 25% por 30 días y encontraron que la unión del ligando [³H]SCH 23390 a D1 incremento significativamente en el NAc, mientras que la unión del ligando [¹²⁵I]RTI-121 al receptor D2 disminuyó en el estriado dorsal. De igual manera, la unión al receptor opioide μ -1 del ligando [¹²⁵I] DAMGO incrementó de manera significativa en el hipocampo, el locus cerúleo y el NAc.

No hay que perder de vista los efectos que tiene el consumo de alimentos palatables. Investigaciones recientes sugieren que la obesidad afecta no sólo a la generación presente sino también a la descendencia. De acuerdo a esto, cuando ratas embarazadas

se mantienen con dieta altamente palatable, la descendencia muestra aumento en la expresión del transportador de dopamina (DAT) en el ATV, el NAc y la PFC, así como incremento en los niveles de preproencefalina y receptores mu en el NAc y la PFC, regiones cerebrales implicadas en la recompensa (Vucetic *et al.*, 2010). Más aún, la descendencia exhibe incremento en la preferencia por azúcar y grasa. Estos resultados podrían tener implicaciones sobre la naturaleza epigenética de la adicción a la comida (Avena *et al.*, 2012).

La sugerencia de que comidas altamente palatables *in utero* pueden sensibilizar sistemas cerebrales relacionados a la recompensa es muy importante ya que la obesidad y el sobrepeso son condiciones preexistentes en aproximadamente el 40% de las mujeres que inician el embarazo (Kim *et al.*, 2007). En la mayoría de los casos este sobrepeso se relaciona al sobreconsumo de comida palatable y alta en calorías, el tipo de comidas que más buscan las mujeres durante el embarazo en forma de “antojos”. Al respecto, Bocarsly y colegas (Bocarsly *et al.*, 2012) realizaron un experimento donde analizaron los posibles efectos de la exposición a una dieta palatable durante la etapa gestacional *versus* el periodo de lactancia. En ratas embarazadas probaron el efecto de la exposición *in utero* a una solución de sacarosa (10%) contra jarabe de maíz alto en fructosa (HFCS) (16%), seleccionado por tener valor calórico y palatabilidad similares a la sacarosa. Las ratas expuestas prenatalmente a sacarosa o HFCS pesan más y exhiben aumento en el consumo de alcohol y en la actividad motora, lo que sugiere que el acceso a comidas altamente palatables durante periodos críticos del desarrollo puede tener efectos a largo plazo en el comportamiento de ingesta de la descendencia.

CONCLUSIONES

Los resultados que se presentan en este estudio aportan nueva información al estudio del concepto de adicción a la comida.

La sacarosa modifica los movimientos verticales, movimientos horizontales y las estereotipias en ratas Wistar. La duración, intensidad y tiempo en que se presentan las conductas dependen de la dosis. El efecto sobre los movimientos horizontales de una dosis de 0.5 g/Kg puede sobrepasar al de dosis altas. Sólo la administración de 2.5g/Kg de sacarosa genera cambios en los movimientos verticales. A excepción de los movimientos verticales, las dosis altas actúan en periodos temporales diferentes a los de dosis bajas.

La respuesta a la novedad varía entre diferentes dosis de sacarosa. A pesar de la distribución desigual de ratas HR y LR en los tratamientos, existen tendencias de acuerdo a la conducta estudiada y al intervalo de tiempo. Ratas clasificadas como LR pueden presentar mayor frecuencia de movimientos verticales que ratas HR. Ratas LR tratadas con la dosis de 2g/Kg tienden a la reducción de movimientos verticales mientras que el resto de las dosis parece aumentarla. Lo contrario sucede en las conductas estereotipadas donde ratas HR tratadas con sacarosa 2.5 g/Kg aumentan la conducta mientras que en el resto de los tratamientos tiende a disminuir.

La inyección intraperitoneal de sacarosa y etanol aumentan la glucosa y el alcohol en sangre, respectivamente. Con sacarosa no se observa un efecto dosis dependiente.

En conjunto, estos datos demuestran la importancia de un estudio más profundo de los aspectos conductuales que podrían contribuir al reforzamiento de la sacarosa a través de la exacerbación de la conducta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abate P., Hernández-Fonseca K, Reyes-Guzmán C., Barbosa-Luna I.G. and Méndez M. (2014). Prenatal ethanol exposure alters met-enkephalin expression in brain regions related with reinforcement: possible mechanism for ethanol consumption in offspring. *Behavioural Brain Research*, 274, 194–204.
2. Acevedo, M. B., Nizhnikov, M. E., Molina, J. C., & Pautassi, R. M. (2014). Relationship between ethanol-induced activity and anxiolysis in the open field, elevated plus maze, light-dark box, and ethanol intake in adolescent rats. *Behavioural Brain Research*, 265, 203–215.
3. Ahmed, S. H., Guillem, K., & Vandaele, Y. (2013). Sugar addiction: pushing the drug-sugar analogy to the limit. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(4), 434–9.
4. Alcaro, A., Huber, R., & Panksepp, J. (2007). Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: An affective neuroethological perspective. *Brain Research Reviews*, 56, 283–321.
5. Andrikopoulos, S., Blair, A.R., Deluca, N., Fam, B.C., Proietto, J. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 295, 1323–1332.
6. Alsiö, J., Olszewski, P. K., Levine, A. S., & Schiöth, H. B. (2012). Feed-forward mechanisms: addiction-like behavioral and molecular adaptations in overeating. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 33(2), 127–39.
7. Alsiö, J., Pickering, C., Roman, E., Hulting, A. L., Lindblom, J., & Schiöth, H.B. (2009). Motivation for sucrose in sated rats is predicted by low anxiety-like behavior. *Neuroscience Letters*, 454(3), 193-7.
8. American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.) Washington, DC, 5-355.
9. Anselme, P. (2009). The effect of exposure to drugs on the processing of natural rewards. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33, 314–335.
10. Avena, N. M. (2007). Examining the addictive-like properties of binge eating using an animal model of sugar dependence. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 15(5), 481–91.
11. Avena, N. M. (2010). The study of food addiction using animal models of binge eating. *Appetite*, 55(3), 734–737.
12. Avena, N. M., & Bocarsly, M. E. (2012). Dysregulation of brain reward systems in eating disorders: neurochemical information from animal models of binge eating, bulimia nervosa, and anorexia nervosa. *Neuropharmacology*, 63(1), 87–96.
13. Avena, N. M., Bocarsly, M. E., Rada, P., Kim, A., & Hoebel, B. G. (2008a). After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior*, 94(3), 309–15.
14. Avena, N. M., Carrillo, C., Needham, L., Leibowitz, S. F., & Hoebel, B. G. (2004). Sugar-dependent rats show enhanced intake of unsweetened ethanol. *Alcohol*, 34(2–3), 203–209.
15. Avena, N. M., Gold, J. a, Kroll, C., & Gold, M. S. (2012). Further developments in the neurobiology of food and addiction: update on the state of the science. *Nutrition*, 28(4), 341–3.

16. Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2003a). A diet promoting sugar dependency causes behavioral cross-sensitization to a low dose of amphetamine. *Neuroscience*, *122*(1), 17–20.
17. Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2003b). Amphetamine-sensitized rats show sugar-induced hyperactivity (cross-sensitization) and sugar hyperphagia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *74*(3), 635–639.
18. Avena, N. M., Long, K. A., & Hoebel, B. G. (2005). Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: Evidence of a sugar deprivation effect. *Physiology & Behavior*, *84*, 359–362.
19. Avena, N. M., & Rada, P. V. (2012). Cholinergic modulation of food and drug satiety and withdrawal. *Physiology & Behavior*, *106*(3), 332–6.
20. Avena, N. M., Rada, P., & Hoebel, B. G. (2008b). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *32*(1), 20–39.
21. Avena, N. M., Rada, P., & Hoebel, B. G. (2009). Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. *The Journal of Nutrition*, *139*(3), 623–8.
22. Avena, N. M., Rada, P., Moise, N., & Hoebel, B. G. (2006). Sucrose sham feeding on a binge schedule releases accumbens dopamine repeatedly and eliminates the acetylcholine satiety response. *Neuroscience*, *139*(3), 813–820.
23. Ayala, J. E., Samuel, V. T., Morton, G. J., Obici, S., Croniger, C. M., Shulman, G. I., McGuinness, O. P. (2010). Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Disease Models & Mechanisms*, *3*(9-10), 525–534.
24. Barbano, M. F., & Cador, M. (2007). Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology*, *191*(3), 497–506.
25. Barbosa, I. G. (2012). Participación de las encefalinas en los mecanismos de neuroadaptación al alcohol en la vía mesocorticolímbica de la rata (tesis de maestría). UNAM, Ciudad de México.
26. Barquera, S., Campos, I., & Rivera, J. A. (2013). Mexico attempts to tackle obesity: the process, results, push backs and future challenges. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, *14*, 69–78.
27. Bassareo, V., & Di Chiara, G. (1997). Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *Journal of Neuroscience*, *17*(2), 851–861.
28. Belin, D., Berson, N., Balado, E., Piazza, P. V., & Deroche-Gamonet, V. (2011). High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *36*(3), 569–79.
29. Berridge, K. C. (2007). Brain reward systems for food incentives and hedonics in normal appetite and eating disorders. *Appetite and Body Weight*, 191–215.
30. Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2015). Pleasure Systems in the Brain. *Neuron*, *86*(3), 646–664.
31. Bocarsly, M. E., Barson, J. R., Hauca, J. M., Hoebel, B. G., Leibowitz, S. F., & Avena, N. M. (2012). Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiology & Behavior*, *107*(4), 568–75.

32. Broderick, P. A., Ho, H., Wat, K., & Murthy, V. (2008). Laurate biosensors image brain neurotransmitters in vivo: Can an antihypertensive medication alter psychostimulant behavior? *Sensors*, *8*(7), 4033–4061.
33. Calvo, N., Cecchi, M., Kabbaj, M., Watson, S., & Akil, H. (2011). Differential effects of social defeat in rats with high and low locomotor response to novelty. *Neuroscience*, *183*, 81–89.
34. Colantuoni, C., Rada, P., McCarthy, J., Patten, C., Avena, N. M., Chadeayne, A., & Hoebel, B. G. (2002). Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obesity Research*, *10*(6), 478–488.
35. Colantuoni C., Schwenker J., McCarthy J., Rada P., Ladenheim B., Cadet J. L., Schwartz, G.J., Moran, T.H., & Hoebel, B.G. (2001). Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. *Neuroreport*, *12*, 3549–3552.
36. Corsica, J. a, & Pelchat, M. L. (2010). Food addiction: true or false?. *Current Opinion in Gastroenterology*, *26*(2), 165–9.
37. Cura, A. J. & Carruthers, A. (2012). The role of Monosaccharide Transport Proteins in carbohydrate assimilation, distribution, metabolism and homeostasis. *Comprehensive Physiology*, *2*(2), 863–914.
38. Dellu, F., Mayo, W., Piazza, P.V., Le Moal, M., Simon, H. (1993). Individual differences in behavioral responses to novelty in rats. Possible relationship with the sensation-seeking trait in man. *Personality and Individual Differences*, *15*, 411–418.
39. Eiko H. & Masayuki S. (1981). Impaired Insulin Secretion after Oral Sucrose and Fructose in Rats. *Endocrinology*, *109*(3), 966-970.
40. Fortuna, J. L. (2010). Sweet preference, sugar addiction and the familial history of alcohol dependence: shared neural pathways and genes. *Journal of Psychoactive Drugs*, *42*(2), 147–51.
41. Frazier, C.R.M., Mason, P., Zhuang, X., Beeler, J.A. (2008). Sucrose Exposure in Early Life Alters Adult Motivation and Weight Gain. *PLoS ONE*, *3*(9), 3221.
42. Galic MA, & Persinger MA. (2002). Voluminous sucrose consumption in female rats: increased “nippiness” during periods of sucrose removal and possible oestrus periodicity. *Psychological Reports*, *90*, 58–60.
43. Gass, J. T., & Olive, M. F. (2008). Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochemical Pharmacology*, *75*(1), 218–65.
44. Gaysinskaya, V. A., Karatayev, O., Shuluk, J., & Leibowitz, S. F. (2011). Hyperphagia induced by sucrose: relation to circulating and CSF glucose and corticosterone and orexigenic peptides in the arcuate nucleus. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *97*(3), 521–530.
45. Gingras, M.A. & Cools, A.R. (1996). Analysis of the biphasic locomotor response to ethanol in high and low responders to novelty: a study in Nijmegen Wistar rats. *Psychopharmacology*, *125*(3), 258–264.
46. Gosnell, B. a. (2005). Sucrose intake enhances behavioral sensitization produced by cocaine. *Brain Research*, *1031*(2), 194–201.
47. Gutiérrez, J., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Hernández-Ávila, M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública: Cuernavaca, México.
48. Hajnal, A., & Norgren, R. (2001). Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake. *Brain Research*, *904*, 76–84.

49. Hall, H., Sedvall, G., Magnusson, O., Kopp, J., Halldin, C., & Farde, L. (1994). Distribution of D1- and D2-dopamine receptors, and dopamine and its metabolites in the human brain. *Neuropsychopharmacology*, *11*(4), 245-5.
50. Hara, E., & Saito, M. (1981). Impaired insulin secretion after oral sucrose and fructose in rats. *Endocrinology*, *109*(3), 966–970.
51. Hernández-Vázquez, F., & Méndez, M. (2006). Stimulant and depressant behavioral actions of alcohol in non-selected Wistar rats. *New Trends in Brain Research* (ISBN 1-59454-834-X) (F. J. Chen, ed.), Nova Science Publishers, Inc., New York, 127-142.
52. Heyne, A., Kiesselbach, C., Sahún, I., McDonald, J., Gaiffi, M., Dierssen, M., & Wolffgramm, J. (2009). An animal model of compulsive food-taking behaviour. *Addiction Biology*, *14*, 373-383.
53. Hoebel, B. G., Avena, N. M., & Rada, P. (2007). Accumbens dopamine-acetylcholine balance in approach and avoidance. *Current Opinion in Pharmacology*, *7*(6), 617–27.
54. Holdstock, L. & de Wit, H. (1998), Individual Differences in the Biphasic Effects of Ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *22*, 1903–1911.
55. Hone-Blanchet, A., & Fecteau, S. (2014). Overlap of food addiction and substance use disorders definitions: Analysis of animal and human studies. *Neuropharmacology*, *85*, 81–90.
56. Horvat A. (1973). The occurrence and intracellular localization of sucrase activity in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, *297*, 413-422.
57. Hoshaw, B.A. & Lewis, M.J. (2001). Behavioral sensitization to ethanol in rats: evidence from the Sprague- Dawley strain. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; *68*, 685–690.
58. Hwang, J. J., Jiang, L., Hamza, M., Dai, F., Belfort-DeAguiar, R., Cline, G, Rothman, D. L., Mason, G., Sherwin, R. S. (2017). The human brain produces fructose from glucose. *JCI Insight*, *2*(4), 1–6.
59. Iemolo, A., Valenza, M., Tozier, L., Knapp, C. M., Kornetsky, C., Steardo, L., Sabino, V., & Cottone, P. (2012). Withdrawal from chronic, intermittent access to a highly palatable food induces depressive-like behavior in compulsive eating rats. *Behavioural Pharmacology*, *23*(5-6), 593–602.
60. Kanarek, R. B., Mathes, W. F., & Przypek, J. (1996). Intake of dietary sucrose or fat reduces amphetamine drinking in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *54*(4), 719-723.
61. Karlsson, O., & Roman, E. (2016). Dose-dependent effects of alcohol administration on behavioral profiles in the MCSF test. *Alcohol*, *50*, 51–56.
62. Katsuura, Y., & Taha, S. a. (2014). Mu opioid receptor antagonism in the nucleus accumbens shell blocks consumption of a preferred sucrose solution in an anticipatory contrast paradigm. *Neuroscience*, *261*, 144–152.
63. Kim, S.Y., Dietz, P.M., England, L., Morrow, B., & Callaghan, W.M. (2007). Trends in pre-pregnancy obesity in nine states, 1993–2003. *Obesity*, *15*(4), 986–93.
64. Le Merrer, J., & Stephens, D. N. (2006). Food-Induced Behavioral Sensitization, Its Cross-Sensitization to Cocaine and Morphine, Pharmacological Blockade, and Effect on Food Intake. *Journal of Neuroscience*, *26*(27), 7163–7171.
65. Lenoir, M., Serre, F., Cantin, L., & Ahmed, S. H. (2007). Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS ONE*, *2*(8), e698.

66. Leriche, M., & Méndez, M. (2010). Ethanol exposure selectively alters β -endorphin content but not [^3H]-DAMGO binding in discrete regions of the rat brain. *Neuropeptides*, 44(1), 9–16.
67. Lesage, M.G. (2009). Toward a nonhuman model of contingency management: effects of reinforcing abstinence from nicotine self-administration in rats with an alternative nondrug reinforcer. *Psychopharmacology*, 203, 13–22.
68. Ludwig, D. S. (2001). Relation between consumption of sugar sweetened drinks and childhood obesity: a prospective observational analysis. *Lancet*, 357(9255), 505–508.
69. MacDonald, A. F., Billington, C. J., & Levine, A. S. (2004). Alterations in food intake by opioid and dopamine signaling pathways between the ventral tegmental area and the shell of the nucleus accumbens. *Brain Research*, 1018, 78–85.
70. Méndez, M. (2013). Participación de los sistemas endógenos de péptidos opioides en los mecanismos de reforzamiento y dependencia al alcohol. *Salud mental*, 36(3), 211-218.
71. Mergenthaler, P., Lindauer, U., Dienel, G. A., & Meisel, A. (2013). Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences*, 36(10), 587–597.
72. Miah, M. K., Bickel, U., & Mehvar, R. (2016). Development and validation of a sensitive UPLC-MS/MS method for the quantitation of [^{13}C]sucrose in rat plasma, blood, and brain: Its application to the measurement of blood-brain barrier permeability. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1015–1016, 105–110.
73. Miah, M. K., Chowdhury, E. A., Bickel, U., & Mehvar, R. (2017). Evaluation of [^{14}C] and [^{13}C]Sucrose as Blood–Brain Barrier Permeability Markers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3549(17), 30083-7.
74. Mitra, A., Guèvremont, G., Timofeeva, E. (2016). Stress and Sucrose Intake Modulate Neuronal Activity in the Anterior Hypothalamic Area in Rats. *PLoS ONE*, 11(5), e0156563.
75. Morton, G. J., Meek, T. H., & Schwartz, M. W. (2014). Neurobiology of food intake in health and disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, 15(6), 367–378.
76. Piazza, P.V., Deminière, J.M., Le Moal, M., & Simon, H. (1990). Stress and pharmacologically-induced behavioral sensitization increases vulnerability to acquisition of amphetamine self-administration. *Brain Research*, 514, 22-26.
77. Pohorecky, L. A. (1977). Biphasic action of ethanol. *Biobehavioral Reviews*, 1, 231-240
78. Poklis, A., Mackell, M. A. (1982). Evaluation of a modified alcohol dehydrogenase assay for the determination of ethanol in blood. *Clinical Chemistry*, 2125-7.
79. Pomonis, J.D., Jewett, D.C., Kotz, C.M., Briggs, J.E., Billington, C.J., Levine, A.S. (2000). Sucrose consumption increases naloxone-induced c-Fos immunore- activity in limbic forebrain. *American Journal of Physiology*, 278, 712–9.
80. Rada, P., & Avena, N. M. (2005). “Adicción ” al azúcar: ¿mito o realidad?, *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 3(2), 02-12.
81. Rada, P., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2005). Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience*, 134(3), 737–744.

82. Rivera, J., Barquera, S., Campirano, F., Campos, I., Safdie, M., & Tovar, V. (2002). Epidemiological and nutritional transition in Mexico: rapid increase of non-communicable chronic diseases and obesity. *Public Health Nutrition*, *14*, 113–122.
83. Rivera, J., Barquera, S., González-Cossío, T., Olaiz, G., & Sepúlveda, J. (2004). Nutrition transition in Mexico and in other Latin American countries. *Nutrition Reviews*, *62*, 149–157.
84. Roffman, J.L. & Raskin, L.A. (1997). Stereotyped behavior: Effects of d-amphetamine and methylphenidate in the young rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *58*, 1095–1102.
85. Rtveladze, K., Marsh, T., Barquera, S., Sanchez Romero, L. M., Levy, D., Melendez, G., Webber, L., Kilpi, L., McPherson, K., & Brown, M. (2014). Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutrition*, *17*(5), 233–9.
86. Saul, R., Ghidoni, J. J., Molyneux, R. J., & Elbein, A. D. (1985). Castanospermine inhibits alpha-glucosidase activities and alters glycogen distribution in animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *82*(1), 93–97.
87. Self, D. W. (2004). Regulation of drug-taking and -seeking behaviors by neuroadaptations in the mesolimbic dopamine system. *Neuropharmacology*, *47*, 242–255.
88. Stevens, B., Yamada, J., & Ohlsson, A. (2004). Sucrose for analgesia in newborns undergoing painful procedures. *Cochrane Database System Review*, *3*, 1069.
89. Tappy, L. & Lê, K.-A. (2010). Metabolic effects of sweetened beverages: pathophysiology and mechanistic insights. *CMR (Official Journal of the International Chair on Cardiometabolic Risk)*, *3*(3), 13–18.
90. Tulloch, A. J., Murray, S., Vaicekonyte, R., & Avena, N. M. (2015). Neural Responses to Macronutrients: Hedonic and Homeostatic Mechanisms. *Gastroenterology*, *148*(6), 1205–1218.
91. Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, *50*(5), 600–613.
92. Vucetic, Z., Kimmel, J., Totoki, K., Hollenbeck, E., & Reyes, T. M. (2010). Maternal High-Fat Diet Alters Methylation and Gene Expression of Dopamine and Opioid-Related Genes. *Endocrinology*, *151*(10), 4756–4764.
93. Whitaker, R. C., Wright, J. A., Pepe, M. S., Seidel, K. D., & Dietz, W. H. (1997). Predicting Obesity in Young Adulthood from Childhood and Parental Obesity. *New England Journal of Medicine*, *337*(13), 869–873.
94. White, D. A., Kalinichev, M., & Holtzman, S. G. (2007). Locomotor Response to Novelty as a Predictor of Reactivity to Aversive Stimuli in the rat. *Brain Research*, *1149*, 141–148.
95. Wideman, C.H., Nadzam, G.R., Murphy, H.M. (2005). Implications of an animal model of sugar addiction, withdrawal and relapse for human health. *Nutritional Neuroscience*, 269–76.
96. Xiuli, G., Meiyu, G. & Guanhua, D. Biochem Genet (2005). Glucose Transporter 1, Distribution in the Brain and in Neural Disorders: Its Relationship With

Transport of Neuroactive Drugs Through the Blood-Brain Barrier. *Biochemical Genetics*, 43, 175–187.

ANEXOS

Anexo 1. Preparación de soluciones

1. Buffer de glicina-hidrazina 1:1 pH 8.8

Para 1L

37.5 g de glicina + 24.8 mL de hidracina (en campana de extracción). Aforar a 1000 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 8.8 con HCl 1:1.

2. NADH⁺

Para 1 reacción

1.19412 mg en 100 μ L de buffer glicina-hidrazina pH 8.8

3. ADH

Para 1 reacción

0.3 mg en 100 μ L de buffer glicina-hidrazina pH 8.8

4. EtOH 0.08%

5 μ L de etanol absoluto en 5 mL de agua destilada.

Anexo 2. Efecto de los tratamientos durante la fase droga en movimientos horizontales.

MOV HOR

Tratamientos	Intervalos														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Etanol 1g/Kg	42%↓	32%↓	26%↓	27%↑	53%↓	46%↓	99%↑	-	64%↓	62%↓	40%↓	-	151%↑	45%↑	-
Etanol 2.5 g/Kg	34%↓	-	48%↑	31%↑	59%↓	82%↑	73%↑	-	71%↓	54%↓	-	53%↓	50%↓	45%↓	32%↓
Sacarosa 0.5 g/Kg	-	70%↓	74%↓	77%↓	64%↓	-	104%↑	30%↓	62%↓	-	111%↑	187%↑	38%↑	37%↑	188%↑
Sacarosa 1 g/Kg	-	-	45%↑	-	61%↓	56%↓	41%↓	-	-	36%↑	95%↑	37%↓	-	53%↑	37%↑
Sacarosa 2 g/Kg	-	62%↓	-	-	66%↓	67%↓	26%↓	76%↑	63%↑	151%↑	-	58%↓	-	37%↑	41%↓
Sacarosa 2.5 g/Kg	-	104%↑	48%↓	30%↑	51%↓	-	68%↑	155%↑	56%↓	-	129%↑	106%↑	-	-	36%↑
Sacarosa 3.5 g/Kg	139%*↑	-	-	34%↓	-	-	62%↑	34%↑	31%↓	-	-	31%↓	26%↑	45%↑	-

Los porcentajes se calcularon respecto al control (100%). En rojo se muestran los resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$), no se muestran aquellos valores por debajo del 25%.

Anexo 3. Efecto de los tratamientos durante la fase droga en movimientos verticales.

MOV VER

<i>Tratamientos</i>	<i>Intervalos</i>														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
<i>Etanol 1g/Kg</i>	-	33%↓	-	34%↑	55%↓	47%↓	-	53%↓	38%↓	38%↓	45%↓	30%↓	-	-	37%↓
<i>Etanol 2.5 g/Kg</i>	-	31%↓	-	42%↓	56%↓	32%↓	-	38%↓	-	55%↓	-	47%↓	39%↓	38%↓	47%↓
<i>Sacarosa 0.5 g/Kg</i>	27%↓	58%↓	51%↓	58%↓	68%↓	60%↓	32%↓	64%↓	41%↓	48%↓	50%↓	43%↓	59%↓	32%↓	52%↓
<i>Sacarosa 1 g/Kg</i>	33%↑	56%↓	-	47%↓	62%↓	57%↓	-	53%↓	34%↓	-	-	-	29%↓	35%↓	53%↓
<i>Sacarosa 2 g/Kg</i>	-	56%↓	32%↓	46%↓	64%↓	60%↓	27%↓	37%↓	38%↓	48%↓	50%↓	50%↓	50%↓	37%↓	61%↓
<i>Sacarosa 2.5 g/Kg</i>	163%↑	183%↑	28%↑	38%↑	-	135%↑	146%↑	39%↑	-	27%↓	-	183%↑	-	31%↑	-
<i>Sacarosa 3.5 g/Kg</i>	-	62%↓	27%↓	40%↓	57%↓	59%↓	30%↑	47%↓	49%↓	63%↓	37%↓	31%↓	49%↓	33%↓	58%↓

Los porcentajes se calcularon respecto al control (100%). En rojo se muestran los resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$), no se muestran aquellos valores por debajo del 25%.

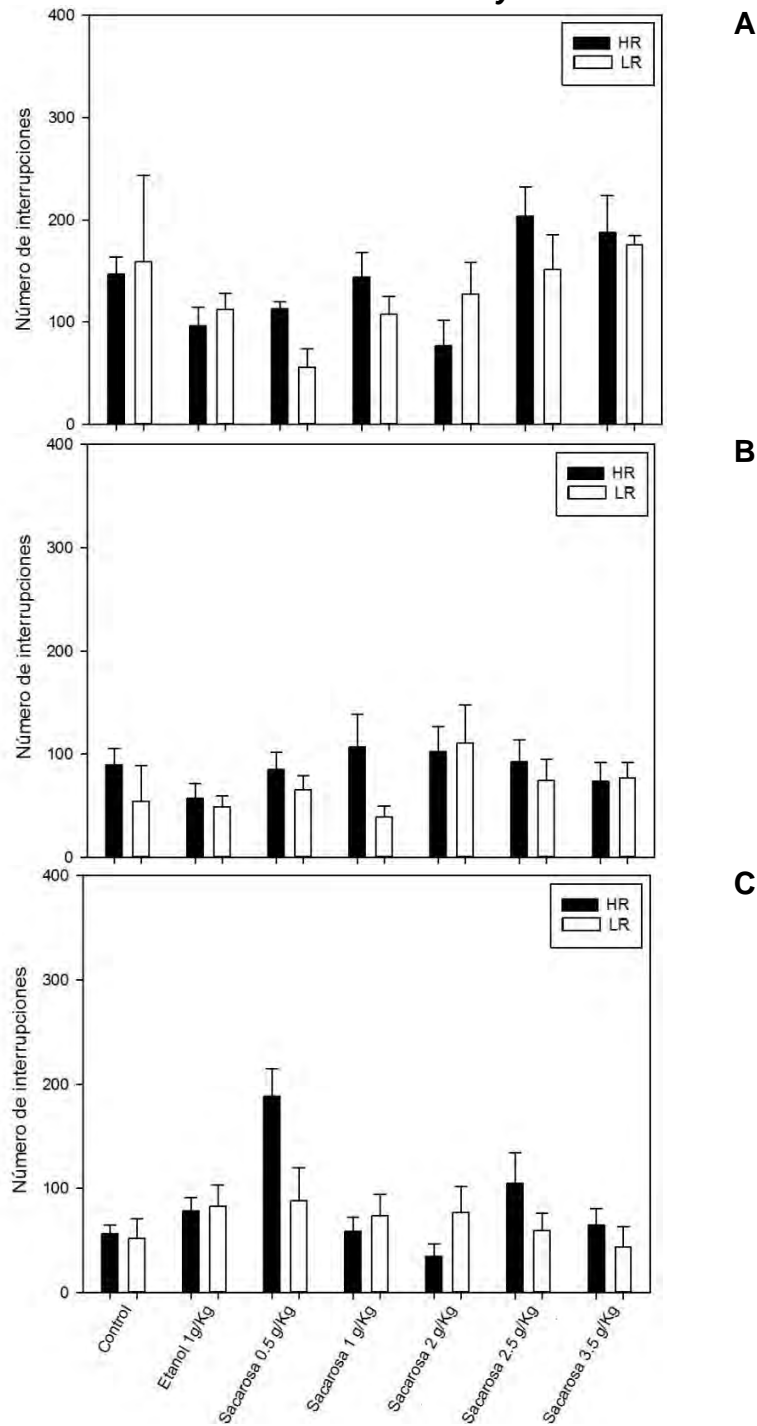
Anexo 4. Efecto de los tratamientos durante la fase droga en conductas estereotipadas.

EST

Tratamientos	Intervalos														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Etanol 1g/Kg	26%↑	-	-	-	56%↓	46%↓	-	-	-	29%↓	34%↓	-	56%↑	-	46%↑
Etanol 2.5 g/Kg	52%↓	54%↓	121%↑	-	33%↓	-	-	-	37%↓	68%↓	60%↓	64%↓	54%↓	59%↓	54%↓
Sacarosa 0.5 g/Kg	70%↑	47%↑	-	47%↓	-	40%↓	-	76%↑	50%↑	29%↑	45%↓	-	-	33%↓	54%↑
Sacarosa 1 g/Kg	40%↑	-	-	36%↓	27%↓	28%↓	79%↓	-	67%↑	-	51%↓	53%↓	60%↓	67%↓	-
Sacarosa 2 g/Kg	-	-	44%↑	36%↓	54%↓	-	-	59%↑	93%↑	-	30%↓	-	-	50%↓	-
Sacarosa 2.5 g/Kg	-	77%↑	40%↓	44%↓	31%↓	-	64%↑	76%↑	-	30%↓	-	-	47%↓	45%↓	-
Sacarosa 3.5 g/Kg	-	48%↓	-	57%↓	-	34%↑	-	93%↑	-	47%↓	49%↓	-	30%↓	-	-

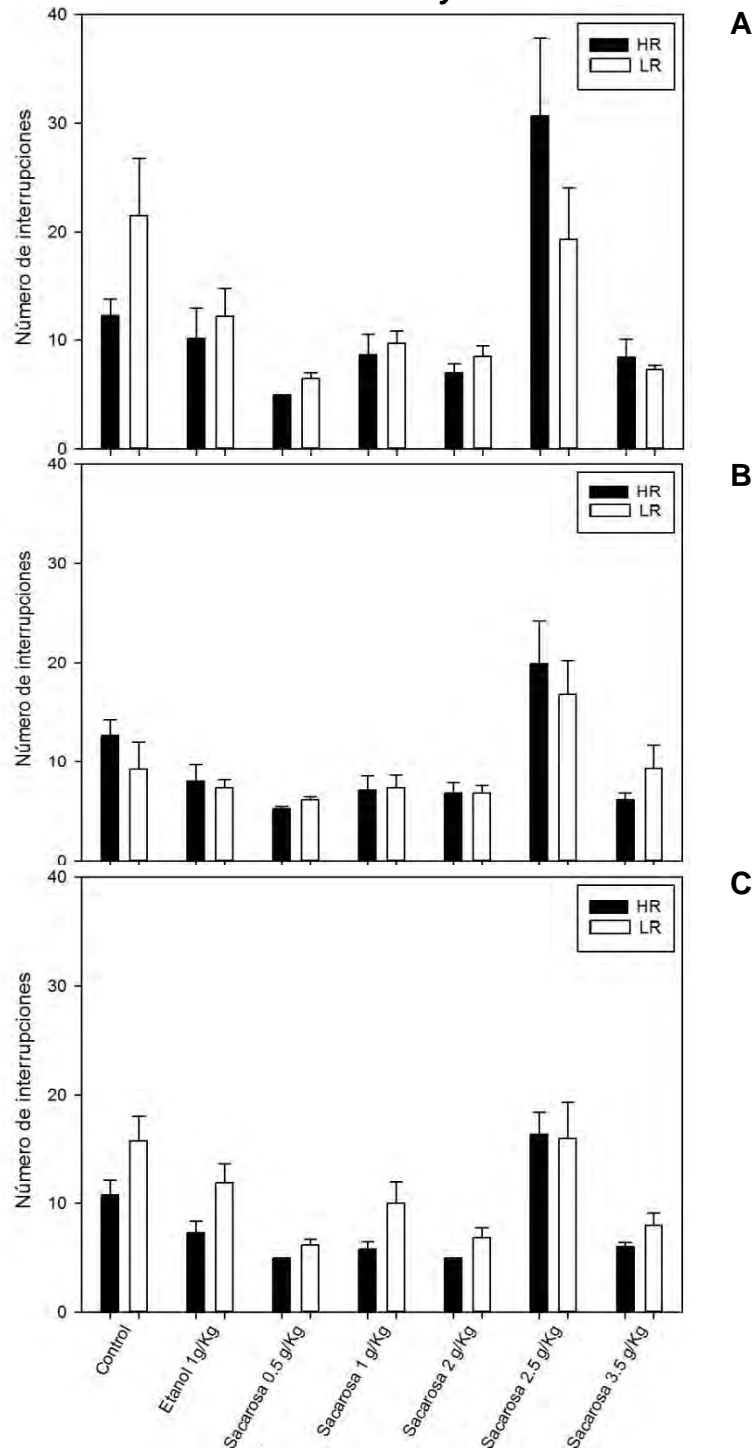
Los porcentajes se calcularon respecto al control (100%). En rojo se muestran los resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$), no se muestran aquellos valores por debajo del 25%.

Anexo 5. Movimientos horizontales en animales HR y LR.



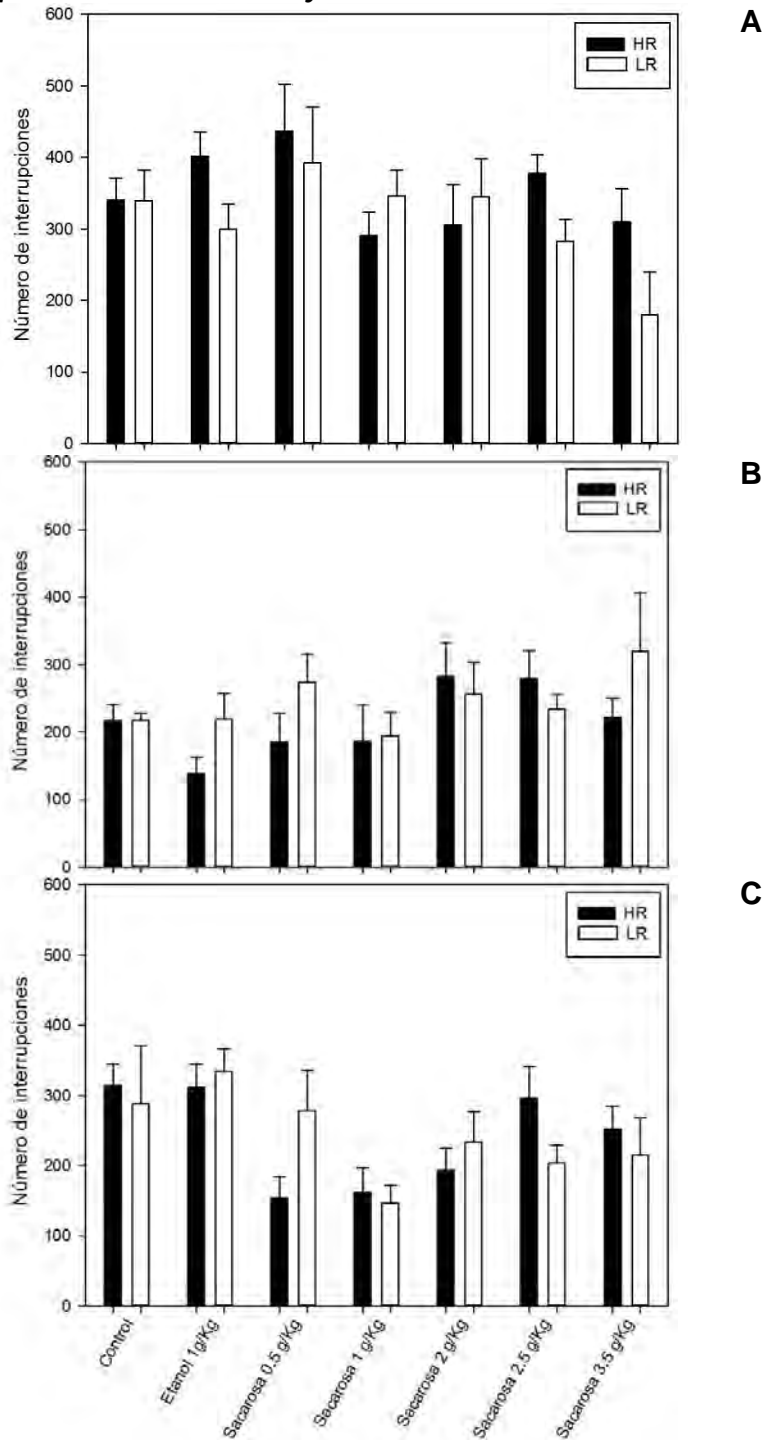
Se muestra la frecuencia de interrupciones para movimientos horizontales de acuerdo a la clasificación HR LR en los intervalos 1 a 5 (A) 6 a 10 (B) y 11 a 15 (C) de la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEM de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 11 (etanol 1g/Kg LR) 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 7 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 12 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Anexo 6. Movimientos verticales en animales HR y LR.



Se muestra la frecuencia de interrupciones para movimientos verticales de acuerdo a la clasificación HR LR en los intervalos 1 a 5 (A) 6 a 10 (B) y 11 a 15 (C) de la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEP de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 10 (etanol 1g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 6 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.

Anexo 7. Estereotipias en animales HR y LR.



Se muestra la frecuencia de interrupciones para estereotipias de acuerdo a la clasificación HR LR en los intervalos 1 a 5 (A) 6 a 10 (B) y 11 a 15 (C) de la fase droga. Los datos representan el promedio de interrupciones \pm EEP de 19 (control HR), 4 (control LR), 11 (etanol 1g/Kg HR), 10 (etanol 1g/Kg LR), 4 (sacarosa 0.5 g/Kg HR), 11 (sacarosa 0.5 g/Kg LR), 6 (sacarosa 1 g/Kg HR), 10 (sacarosa 1 g/Kg LR), 8 (sacarosa 2g/Kg HR), 8 (sacarosa 2g/Kg LR), 9 (sacarosa 2.5 g/Kg HR), 12 (sacarosa 2.5 g/Kg LR), 11 (sacarosa 3.5 g/Kg HR) y 3 (sacarosa 3.5 g/Kg LR) animales.