



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

“EFECTO DE FÁRMACOS SEROTONÉRGICOS SOBRE LA DISCRIMINACIÓN DE SEÑALES INTEROCEPTIVAS PRODUCIDAS POR 2 Y 22 H DE PRIVACIÓN DE ALIMENTO EN RATAS”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTAN:

NADYA GABRIELA LANGUREN RAMÍREZ

ELVIA NOEMÍ LEVARIO RAMÍREZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. DAVID N. VELÁZQUEZ MARTÍNEZ

ASESOR: DR. CÉSAR CASASOLA CASTRO

SINODALES: DR. FLORENCIO MIRANDA HERRERA

DR. OSCAR ZAMORA ARÉVALO

DR. GUSTAVO BACHÁ MÉNDEZ

Tesis apoyada por PAPIIT-IN303209 y CONACYT 46066-H





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.

AGRADECIMIENTOS:

En especial, quiero dedicar este trabajo a mi familia:

A mis padres, por todo su amor, apoyo incondicional y por creer siempre en mí. Gracias por su esfuerzo y por alegrar cada instante de mi vida, los amo.

A mis hermanos Octavio y Gerardo, por acompañarme siempre, por hacerme sonreír y confiar en mí. Los quiero mucho!

Familia Bernal Cardona: Por su cariño y apoyo.

Elvia: Por ser mi amiga, por escucharme, apoyarme incondicionalmente, por aprender juntas, compartir alegrías y por este logro, te quiero mucho!

Esme, Aridahi, Nancy y Danelita: Gracias por todo niñas, por ser personas auténticas y especiales, por estar conmigo en los buenos y malos momentos, por confiar en mí, apoyarme, compartir alegrías, cafés y pláticas que nos hacen reflexionar y aprender mucho, por enseñarme cada día que una amistad verdadera es invaluable, las quiero muchooo!

Diana, Monse, Liz, Fab y Sandra: Por su valiosa amistad, por apoyarme y estar siempre, a pesar de la distancia.

Lic. Olga Rojas: Muchas gracias por tu inmensa ayuda para concluir este trabajo, por tus consejos y enseñanzas.

Dr. David Velázquez: Gracias por guiar este proyecto, sus invaluable aportaciones y sugerencias que fueron el pilar de este trabajo.

Al Dr. Casasola, Dr. Bachá, Dr. Zamora y Dr. Miranda: Por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, sus valiosas aportaciones, consejos y ayuda para enriquecerlo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme ser parte de ella. En esta casa de estudios he vivido gratos momentos, crecí, conocí amigos y aprendí cada día. Gracias por todo!!!

Gaby.

AGRADECIMIENTOS:

A mi familia: Mi motor para seguir adelante!!!!!!

Papá (“Pa”): Lo prometido es deuda, finalmente aquí está la tesis!!! gracias por tu paciencia, yo sé que te hice esperar mucho pero sabes que no fue nada fácil llegar hasta este punto, gracias por tu apoyo, por tu comprensión y sobre todo por tu cariño!!!! Te quiero muchísimo!! Gracias por hacer de mí una buena hija, una buena estudiante y por enseñarme a superarme cada día, porque es lo que he aprendido de ti, porque me has demostrado que sí se puede!!!.

Mamá (“Ma”): He aquí la razón por la que no pude ayudarte a las labores del hogar (jajajaja) y por la cual sacrifiqué el tiempo para estar contigo, gracias por apoyarme en todo a cada momento, por comprenderme, por quererme, por procurarme siempre. Gracias por hacer de mí una buena hija, porque sin tu ayuda y sin tu apoyo incondicional de madre nunca hubiera llegado hasta este punto. Te quiero y te valoro mucho!.

A mis hermanas: Tanya y Etna gracias por creer y por confiar en mí, las quiero mucho!!!. A mis sobrinos: Ian y Azul por llenar mi vida de alegría y de dulces momentos.

Gaby: Por ser una gran amiga que ha estado conmigo en las buenas y en las malas. Por los momentos felices, por los momentos malos, por reírnos hasta de lo más banal, por siempre estar ahí, porque siempre me has sabido escuchar, por brindarme tu apoyo incondicional, por ser tan noble, por ser como eres: una gran amiga y una gran colega, porque siempre aprendo mucho de ti y porque sin tu ayuda esta tesis no hubiera salido.

Esmeralda: Por tus sabios consejos, por ser también una buena amiga, por darnos ánimos para seguir adelante, por tu gran humor, por tu bella, valiosa y loca amistad jajaja, por ser más que una compañera de laboratorio, por echarnos la mano con los experimentos día a día y por compartir grandes y buenos momentos, por tu compañía en los congresos, porque sin tu ayuda también esta tesis no hubiera salido. “Chócalas” huu!!!!!!!.

A la comadre (Aridahí): Sabes que te quiero mucho!! gracias por ser una GRAN AMIGA, por siempre brindarme tu apoyo, por las asesorías con los carteles para los congresos, por contestarme las llamadas telefónicas a tan altas horas de la noche sólo para darme una palabra de aliento cuando más lo necesitaba, por los

tacos de canasta, por los “chetos”, por las coca-colas, por “la viuda”, por ser buena influencia (aunque digas lo contrario), porque siempre aprendo mucho de ti, por las visitas al laboratorio, gracias por todo, te admiro, te valoro y te aprecio mucho!!

Nancy, Danelita, Fab y Sandra: Otras personitas tan especiales y maravillosas!! Gracias por su bella y valiosa amistad, por los buenos y felices momentos que hemos compartido juntas!!

A los de “la secu”: Chicos ¡Qué grato poder reunirnos de nuevo después de tanto tiempo! A Kris, a Choche, a Luis los quiero mucho!! Gracias por tan buenos momentos que he vivido con ustedes, espero que sigan siendo muchos más. Gracias por brindarme su apoyo tanto en las buenas como en las malas, por darme ánimos para seguir adelante. Gracias por su amistad!!! Y, ¿qué creen? “*Ya están peinados pa atrás*”.

A la Lic. Olga Rojas y futura Doctora: Mil gracias por tus sabios consejos y por tu gran apoyo para la realización de esta tesis, por que sin tu ayuda no lo habiéramos logrado.

Al Dr. David Velázquez por sus pertinentes correcciones para la tesis, por compartir su gran conocimiento en los seminarios, por permitirme trabajar y aprender en su laboratorio, por enseñarme a hacer las cosas bien y por corregirlas cuando salen mal y a todos los demás sinodales: el Dr. Bachá, el Dr. Miranda, el Dr. Zamora y al Dr. Casasola, gracias por sus pertinentes correcciones.

A la UNAM: Mi segundo hogar!! orgullosa de pertenecer a ella y estudiar en ella.

ELVIA.

ÍNDICE

RESUMEN	1
Glosario	2
Introducción	6

Capítulo 1. MECANISMOS FISIOLÓGICOS QUE REGULAN LAS SEÑALES DE HAMBRE Y SACIEDAD.

1.1. Factores que determinan la ingesta de alimentos	9
1.2. Hormonas gastrointestinales como señalizadoras de hambre	9
1.2.1. Ghrelina	9
1.3. Hormonas gastrointestinales como señalizadoras de la saciedad	10
1.3.1 Leptina.....	10
1.3.2 Insulina	11
1.3.3. Colecistocinina (CCK)	11
1.4. Blancos de acción en el Sistema Nervioso Central: Integración de las señales periféricas.....	13
1.4.1. El Hipotálamo: Integración de información metabólica.....	13
1.5. Hipotálamo Lateral (HL) e Hipotálamo Ventromedial (VMH) como “centros del hambre y la saciedad”	13
1.6. Núcleo Arcuato del Hipotálamo (ARC): sitio clave para la regulación del balance de energía	14
1.6.1. Neuronas de primer orden	14
1.6.1.2. Neuronas NPY/AGRP	15
1.6.1.3. Neuronas POMC/CART	15
1.6.2. Neuronas de segundo orden	16
1.7. Neurotransmisores clásicos que regulan la ingesta de alimento	18

Capítulo 2. REGULACIÓN SEROTONÉRGICA DE LA INGESTA DE ALIMENTOS.

2.1. Serotonina (5-HT)	19
2.2. Síntesis de 5-HT	20
2.3. Receptores de 5-HT.	21
2.4. Papel de la serotonina en la ingesta de alimento	23
2.5. Receptores de serotonina implicados en la ingesta de alimento	24
2.6. Fármacos serotoninérgicos con acción anoréxica	26
2.6.1. Agonistas 5-HT	26
2.6.1.1. Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (ISRS)	28
2.6.2. Fármacos serotoninérgicos con acción orexigénica.....	29
2.7. Fluoxetina: Inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina (ISRS).....	31
2.7.1. Efecto de la fluoxetina sobre la ingesta de alimentos	32
2.8. Ciproheptadina	34
2.8.1. Efecto de la Ciproheptadina sobre la ingesta de alimentos.	34

Capítulo 3. CONTROL DE LA CONDUCTA POR ESTÍMULOS.

3.1. El control de estímulos	36
3.2. Discriminación y Generalización	37
3.3. Paradigma de discriminación de drogas (DD) ó Discriminación de la Intensidad de Privación de Alimento (DIPA).	38
3.3. 1. En qué consiste el paradigma de DD ó DIPA?	39
3.3.1.2 Qué evalúa el paradigma de DD ó DIPA?	40
3.4. Generalización de neuropéptidos y agentes farmacológicos implicados en la ingesta de alimentos a las señales fisiológicas de hambre y saciedad.....	42
JUSTIFICACIÓN	46
OBJETIVOS	47
Objetivo general.....	47
Objetivos particulares	47
HIPÓTESIS	47
Hipótesis general.....	47
Hipótesis particulares.....	48

Capítulo 4. MÉTODO

4.1. Sujetos	48
4.2. Aparatos	49
4.2.1. Fármacos	49
4.3. Procedimiento.....	49
4.3.1. Fase de moldeamiento.....	49
4.3.2. Fase de entrenamiento	50
4.3.2.1. Entrenamiento de discriminación de 2 estados alternos de privación de alimento	50
4.3.3. Fase de generalización	51
4.3.3.1. Fase de generalización sin fármaco.....	51
4.3.3.2. Fase de generalización con fármaco.....	51
4.4. Registro de consumo de agua y alimento	52
4.5. Análisis estadístico	52

Capítulo 5. RESULTADOS

5.1. Entrenamiento de discriminación de 2 y 22 h de privación de alimento	54
5.2. Generalización sin fármaco (Horas intermedias de privación de alimento)	56
5.3. Generalización con fármaco: Fluoxetina.....	58
5.4. Generalización con fármaco: Ciproheptadina	60
5.5. Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento y agua bajo 2 y 22 h de privación de alimento.....	62
5.6. Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento y agua bajo 2 y 22 h de privación de alimento.....	65

Capítulo 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....

Referencias.....	75
------------------	----

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), fluoxetina y un antagonista a los receptores 5-HT₂, ciproheptadina, sobre la discriminación de estados interoceptivos (también conocida como Discriminación de Drogas, DD ó Discriminación de la Intensidad de Privación de Alimento, DIPA) producidos por 2 h (“saciedad”) y 22 h (“hambre”) de privación de alimento. Diez ratas macho de la cepa Wistar fueron entrenadas a emitir respuestas diferenciales bajo 2 y 22 horas de privación de alimento en cajas de condicionamiento operante. Una vez alcanzado el criterio de discriminación se realizó la fase de generalización cuantitativa. En esta fase se evaluaron horas intermedias de privación de alimento (2, 5, 6.20, 11.10 y 22h). En la fase de generalización cualitativa se evaluó el efecto de la fluoxetina (0.1, 1.0, 3.0, 5.0 y 10.0 mg/kg, i.p.) y ciproheptadina (0.1, 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg, i.p) bajo 2 y 22 h de privación de alimento. Los animales fueron capaces de discriminar las señales fisiológicas de hambre y saciedad y la selección de la palanca asociada a “hambre” fue una función directa de las horas de privación. Bajo dos horas de privación de alimento, la fluoxetina (independientemente de la dosis) y la ciproheptadina (0.1 y 1.0 mg/kg) produjeron un estado interoceptivo similar al de “saciedad”, mientras que las dosis más altas de ciproheptadina (3.0 y 10.0 mg/kg) produjeron una generalización parcial hacia el estado de “hambre”. Bajo 22 horas de privación de alimento la fluoxetina (0.1 y 1.0 mg/kg) produjo un estado similar a “hambre”, mientras que las dosis más altas (3.0, 5.0 y 10.0 mg/kg) produjeron una generalización parcial a “saciedad”. En el caso de la ciproheptadina, ninguna de las dosis alteró el estado interoceptivo producido por la condición de “hambre”. Se confirmó el efecto anoréxico de la fluoxetina al reducir el consumo de alimento en ratas después de 2 y 22 h de acceso a la comida y el efecto orexigénico de la ciproheptadina al incrementar el consumo de alimento después de 2 y 22 horas de acceso a la comida. Resultados interesantes fueron encontrados en lo que respecta al consumo de agua después de la administración de fluoxetina y ciproheptadina. Estos resultados sugieren que los estados interoceptivos producidos por fluoxetina y ciproheptadina pueden mimetizar los estados de “hambre” y “saciedad”. Por lo tanto, el papel de la serotonina en la discriminación de señales interoceptivas de hambre y saciedad es fundamental. Investigaciones futuras en DD ó DIPA son requeridas para evaluar otros fármacos que alteren distintos sistemas de neurotransmisión implicados en la regulación de la conducta alimenticia.

Glosario de abreviaciones

α -HSM. Hormona α -melanocito estimulante

2-DG. 2- desoxy-glucosa

5-HT. 5-hidroxitriptamina

5-HTP. 5-hidroxitriptofano

5-HT1. Receptor a serotonina tipo 1

5-HT2. Receptor a serotonina tipo 2

5-HT3. Receptor a serotonina tipo 3

5-HT4. Receptor a serotonina tipo 4

5-HT5. Receptor a serotonina tipo 5

5-HT6. Receptor a serotonina tipo 6

5-HT7. Receptor a serotonina tipo 7

8-OHDPAT. (\pm)-8-Hydroxy-2-dipropylaminotetralin hydrobromide

AADC. Aminoácido aromático descarboxilasa

Acc. Núcleo acumbens

AGRP. Péptido relacionado al gen agouti

ARC. Núcleo Arcuato del hipotálamo

ARNm. Ácido ribonucleico mensajero

AVT. Área ventral tegmental

BW 723C86. a-methyl-5-(2-thienylmethoxy)-1H-indole-3-ethanamine hydrochloride

CART. Transcripción regulada por anfetamina y cocaína

CCK. Colecistocinina

CCK-8. Colecistocinina octapéptido

CCK-1. Receptor para colecistocinina tipo 1

CCK-2. Receptor para colecistocinina tipo 2

CCK-A. Receptor para colecistocinina tipo A

CCK-B. Receptor para colecistocinina tipo B

CPu. Caudado-putamen

CP 93129. 1,4-Dihydro-3-(1,2, 3,6-tetrahydro-4-pyridinyl)-5H-pyrro l[3,2-b]pyridin-5-one dihydrochloride

CP 94253. 5-Propoxy-3-(1,2, 3,6-tetrahydro-4-pyridinyl)-1H-pyrrolo [3,2-b]pyridine hydrochloride

CRH. Hormona liberadora de corticotrofinas

DA. Dopamina

D₁. Subtipo de receptor 1 a dopamina.

D₂. Subtipo de receptor 2 a dopamina

DD. Discriminación de drogas

DIPA. Discriminación de la Intensidad de la Privación de Alimento.

DEP. Hambre

DMH. Núcleo dorsomedial del hipotálamo

EEG. Electroencefalograma

GHSR. Receptor secretagogo de la hormona de crecimiento

GHS-R1a. Subtipo de receptor secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1a

GHS-R1b. Subtipo de receptor secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1b

GI. Tracto gastrointestinal

GR127935. N-[4-Methoxy-3-(4-methyl-1-piperazinyl) phenyl]-2'-methy l-4'-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,1'-biphenyl-4-ca rboxamide hydrochloride

HCM. Hormona concentradora de melanina

HL. Hipotálamo Lateral

HVM. Hipotálamo ventromedial

i.c.v. intracerebroventricular

ID. Índice de Discriminación

INDO. Indorrenato

i.p. intraperitoneal

ISRS. Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina

i.v. vía de administración intravenosa

m-CPP. 1-(3-Chlorophenyl)piperazine hydrochloride

MCR1. Receptor a melanocortinas tipo 1

MCR3. Receptor a melanocortinas tipo 3

MCR4. Receptor a melanocortinas tipo 4

NA. Noradrenalina

NPY. Neuropeptido Y

NPY-Y1. Receptor para neuropeptido Y tipo 1

NPY-Y2. Receptor para neuropeptido Y tipo 2

NPY-Y3. Receptor para neuropeptido Y tipo 3

NPY-Y4. Receptor para neuropeptido Y tipo 4

NPY-Y5. Receptor para neuropeptido Y tipo 5

NPY-Y6. Receptor para neuropeptido Y tipo 6

NTS. Núcleo del tracto solitario

OX-R1. Receptor para orexinas tipo 1

OX-R2. Receptor para orexinas tipo 2

PFA. Área perifornical

PYY. Péptido YY

POMC. Pro-opiomelanocortinas

PVN. Núcleo paraventricular del hipotálamo

RU 24964. 5-Methoxy-3-(1,2,5,6-tetrahydro-4-pyridinyl)-1H-indole hemisuccinate

SAT. Saciedad

SB 200646. N-(1-Methyl-1H-indol-5-yl)-N'-3-pyridinylurea

SB 206553. 3,5-Dihydro-5-methyl-N-3-pyridinylbenzo[1,2-b:4,5-b']di pyrrole-1(2H)-carboxamide hydrochloride

SB 224289. 1'-Methyl-5-[[2'-methyl-4'-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)biphenyl-4-yl]carbonyl]-2,3,6,7-tetrahydrospiro[furo [2,3-f]indole-3,4'-piperidine hydrochloride

SB 242084. 6-Chloro-2,3-dihydro-5-methyl-N-[6-[(2-methyl-3-pyridinyl)oxy]-3-pyridinyl]-1H-indole-1-carboxamide dihydrochloride

s.c. subcutánea

SNC. Sistema Nervioso Central

TFMPP. 1-(α,α,α -Trifluoro-*m*-tolyl)piperazine hydrochloride

TR. Tasa de respuesta

TRH. Hormona liberadora de tirotrifinas

VGAT. Transportador vesicular para GABA

VGLUT2. Transportador vesicular para glutamato

INTRODUCCIÓN

La ingesta de alimentos es una conducta filogenéticamente relevante, ya que permite la supervivencia de los organismos. Sin embargo, al ser una de las conductas más antiguas filogenéticamente, el grado de complejidad para llevar a cabo los procesos que la regulan es muy amplio. La conducta de alimentación va más allá del consumir nutrientes ya que hay factores sociales, fisiológicos y neurales que inician o detienen el acto de comer. Dentro de estos factores se encuentran el olor y el sabor de las comidas, el número de comensales, la hora del día, estados fisiológicos como el hambre y saciedad. Los estados de hambre y saciedad son modulados desde la periferia mediante la secreción de hormonas gastrointestinales liberadas antes o después de una comida. La señalización de estas hormonas gastrointestinales son integradas en el SNC, mediante aferentes vagales enviando proyecciones al tallo cerebral y finalmente a los núcleos hipotalámicos, principalmente a poblaciones neuronales localizadas en el núcleo arcuato del hipotálamo, las cuales a su vez liberan una serie de neuropéptidos que se encargarán de controlar de manera diferencial la homeostasis energética bajo la modulación de sistemas de neurotransmisión como la serotonina (5-HT). La importancia de comprender adecuadamente los mecanismos de la conducta de ingesta (que permite a los organismos mantener un balance de energía para estar en óptimas condiciones) permitirá, en el mediano plazo ayudar a los organismos cuando aparece una falla o un desajuste en la homeostasis energética que conllevan a la aparición de trastornos alimenticios como la anorexia, bulimia y obesidad.

De los trastornos alimenticios arriba mencionados, deriva la preocupación por investigar aún más los mecanismos fisiológicos que subyacen a la ingesta de alimentos. La investigación en este campo se ha centrado principalmente en la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos eficaces para el tratamiento de desórdenes alimenticios.

Mediciones simples en el consumo de alimento han sido llevadas a cabo y el efecto de agentes farmacológicos que inhiben o incrementan el consumo de alimento ha sido evaluado. Sin embargo, se desconoce si el efecto de estos agentes farmacológicos sobre el consumo de alimento en ratas es producido por una señal de hambre o saciedad.

Mediante un reporte verbal, podemos obtener un indicador acerca del estado energético de una persona (si se encuentra hambrienta o saciada), pero en el caso de los animales como las ratas, medidas simples en el consumo de alimento no nos dan un indicador acerca de su estado energético, ya que un incremento o decremento en el consumo de alimento podría deberse a otros factores distintos a los estados de hambre o saciedad. Para poder resolver ésta cuestión se recurrió a los procedimientos empleados en el área de la farmacología conductual, específicamente el paradigma de discriminación de drogas, el cual ha permitido caracterizar los mecanismos fisiológicos que subyacen a los efectos subjetivos producidos por los fármacos (Colpaert, 1999). Uno de los primeros experimentos diseñados para resolver tal cuestión fue realizado en la década de los 90's por Schechter y más adelante nuevos investigadores centraron su atención en DD para utilizarlo como una herramienta eficaz en la evaluación de señales fisiológicas utilizando horas de privación de alimento para evaluar los estados interoceptivos de hambre y saciedad.

Hasta el momento los resultados obtenidos de la investigación de las señales de hambre y saciedad han resultado dicotómicos; es decir, en los experimentos en los que se evaluaron agentes implicados en la ingesta de alimentos como NPY, ghrelina y 2-desoxy-glucosa (2-DG) en algunos casos la respuesta de los animales no se generalizaba hacia las señales de hambre y saciedad, lo que sugería que el efecto producido por los fármacos no era igual o semejante al producido por los estados de hambre y saciedad producidos por las horas de privación de alimento. Sin embargo hubo otros experimentos en los que si se lograba en primer lugar la discriminación de las señales y posteriormente la generalización.

Debido a que hay una gran cantidad de fármacos que son prescritos para tratar los desórdenes alimenticios es importante conocer los mecanismos fisiológicos que los subyacen. La mayoría de los fármacos que están actualmente en el mercado han sido evaluados en modelos animales y clínicos, pero a pesar de que se ha mostrado su eficacia para reducir o aumentar la ingesta de alimentos y por ende el peso corporal, muchas veces no se posee información de las señales fisiológicas de las que deriva su efecto.

Para tener un mejor conocimiento sobre el efecto que producen los fármacos en animales y humanos, en esta investigación se pretende evaluar el efecto que tiene la fluoxetina (Prozac) que es un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina y, el efecto de un antagonista a los receptores 5-HT₂, ciproheptadina, sobre las señales de hambre y saciedad producidas por privación de alimento.

Al utilizar el paradigma de DD podremos obtener información referente al estado fisiológico que mimetizan ambos fármacos, además de conocer un poco más sobre la participación del sistema de neurotransmisión 5-HT en la conducta de alimentación.

CAPÍTULO 1. MECANISMOS FISIOLÓGICOS QUE REGULAN LAS SEÑALES DE HAMBRE Y SACIEDAD.

1.1. Factores que determinan la ingesta de alimento

Una de las conductas más importantes para la supervivencia, es la ingesta de alimentos. Ésta conducta es una de las más complejas de entender, debido a la interacción de múltiples factores que la regulan, como la hora del día, el número de comensales presentes a la hora de comer (de Castro y de Castro, 1989), estados emocionales, la disponibilidad del alimento, la atracción percibida de la comida y el sabor agradable de la misma (Schwartz, Woods, Porte, Seeley y Baskin, 2000). La ingesta de alimentos va más allá del abastecimiento de nutrientes, implica procesos metabólicos a corto y a largo plazo; interacción de diferentes péptidos gastrointestinales, neuropéptidos, sistemas de neurotransmisión y áreas específicas del cerebro y tallo cerebral que orquestan los mecanismos de hambre y saciedad (Benoit et al., 2001; Berridge, 1996; Benoit y Tracy, 2008).

El “hambre” es definida como un fuerte deseo o necesidad de ingerir alimento, mientras que la “saciedad” se refiere al proceso que actúa para inhibir o reducir el consumo de alimento en comidas posteriores (Maljaars, Peters y Masclee, 2007; Smith y Ferguson, 2008). Los estados de hambre y saciedad son regulados a nivel periférico, específicamente desde el tracto gastrointestinal (GI) mediante la presencia de nutrientes en el estómago y la secreción de ciertas hormonas peptídicas en el intestino delgado (Maljaars et al., 2007).

1.2. Hormonas gastrointestinales como señalizadoras del hambre

1.2.1. Ghrelina

La ghrelina ha sido la única hormona peptídica descrita actualmente como la señalizadora del hambre (Hameed, Dhillon y Bloom, 2009). Es secretada en el estómago e incrementa sus niveles en sangre cuando el organismo se encuentra

bajo un estado energético negativo (privación de alimento) y decrecienta después del término de una comida, por lo que se le considera como la molécula iniciadora de la toma de alimentos tanto en humanos como en roedores (Small y Bloom, 2004; Carlson, 2006). La ghrelina es un ligando endógeno del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR) y han sido identificados dos subtipos de receptores: el GHS-R1a y GHS-R1b (Olszewsky, Schiöt y Levine, 2008). Sin embargo, la mayoría de las funciones de la ghrelina son mediadas por el receptor GHS-R1a (Milke-García, 2005). Neuronas que expresan a ambos receptores son localizadas en varios núcleos hipotálamicos como el arcuato (ARC), paraventricular (PVN), el hipotálamo lateral (HL) e hipotálamo dorsomedial (DMH) (Guan et al., 1997).

1.3. Hormonas gastrointestinales como señalizadoras de la saciedad

1.3.1. Leptina.

La leptina es una de las hormonas señalizadoras de la saciedad ya que inhibe el consumo de alimento, aumenta el gasto energético y circula en la sangre en niveles proporcionales al contenido de grasa corporal (Campfield, Smith, Guisez, Devos, y Burn, 1995; Williams y Mobarhan, 2003), por lo que se le considera una hormona señalizadora de la adiposidad (Schwartz et al., 2000). La leptina, es secretada en el tejido adiposo y es codificada por el gen *lep*. Las investigaciones realizadas utilizando ratones con mutaciones en el gen que codifica para leptina o con una falla en los receptores para la misma, son hiperfágicos y severamente obesos (Williams y Mobarhan, 2003). A estos ratones se les denomina ratones *ob/ob* o *db/db* respectivamente (Schwartz et al., 2000; Williams et al., 2001). Los receptores para leptina están localizados en núcleos hipotálamicos, principalmente el arcuato (ARC), Ventromedial (VMN), Paraventricular (PVN) y Dorsomedial (DMH) (Gao y Horvath, 2007; Small y Bloom, 2004). La administración de leptina ya sea por vía central o sistémica, provoca una reducción en el consumo de alimento al incrementar el gasto energético en animales y humanos (Pelleymounter et al., 1995).

1.3.2. Insulina

Otra hormona periférica de gran relevancia en la regulación del balance de energía es la insulina, una hormona peptídica secretada por el páncreas que al igual que la leptina, detecta los niveles de energía y actúa enviando señales de saciedad al SNC (Schwartz et al., 2000). Cuando los animales y humanos consumimos nutrientes, los niveles de glucosa en sangre son elevados y de inmediato la insulina es secretada, facilitando la captura de glucosa en varios tejidos periféricos donde puede ser utilizada o almacenada. La insulina actúa durante la fase de absorción de nutrientes y, al igual que la leptina, los niveles circulantes de insulina reflejan la cantidad de grasa corporal almacenada, actuando también como señalizadora de la adiposidad. Los receptores para insulina a nivel central son localizados principalmente en el área de la eminencia media del núcleo arcuato (Unger, Livingston y Moss, 1991). La administración central de insulina puede producir un decremento en el peso corporal. En contraste, a nivel periférico produce un incremento en el peso corporal (Brüning, Gautam y Burks, 2000).

1.3.3. Colecistocinina (CCK)

Una de las hormonas peptídicas señalizadoras de la saciedad es la colecistocinina (CCK), la más estudiada y extensamente revisada (Näslund y Hellström, 2007). La CCK es secretada por las células "I" del intestino delgado en respuesta a una comida (Chaudhri, Salem, Murphy y Bloom, 2008). Se han identificado dos tipos de receptores para la colecistocinina: el CCK-1 y el CCK-2, antes conocidos como CCK-A y CCK-B (Maljaars et al., 2007; Näslund y Hellström, 2007; Chaudhri et al., 2008). Estudios realizados por Gibbs y cols. (1973, en Maljaars et al., 2007) permitieron determinar que esta hormona posee un efecto inhibitorio en la conducta de ingesta, pues su administración sistémica en roedores reduce el

consumo de alimento de manera dosis-dependiente. En humanos (Kissileff, Pi-Sunyer, Thornton y Smith, 1981) la administración intravenosa (i.v.) de CCK-8 redujo el consumo de alimento y el estado de hambre. Existen reportes de que el efecto de saciedad producido por CCK se debe al efecto inhibitorio sobre la motilidad del GI y vaciado gástrico (Chaudhri et al., 2008). La señal de saciedad producida por la CCK es transmitida al hipotálamo a través del nervio vago, pasando por núcleo del tracto solitario (NTS) y área postrema del tallo cerebral (Schwartz et al., 2000; Maljaars et al., 2007).

Otras hormonas implicadas en la señalización de la saciedad son descritas en la Tabla 1.

Péptido	¿Dónde se libera?	Consumo de alimento
Péptido 1 similar al glucagón (GLP-1)	Células "L" del intestino	↓
PYY	Células "L" del intestino	↓
Oxyntomodulina	Células "L" del intestino	↓
Enterostatina	Páncreas exócrino	↓
Apolipoproteína A-IV	Epitelio Intestinal	↓
Péptido Pancreático	Células "F" pancreáticas	↓
Amylina	Células "β" pancreáticas	↓
GRP (Péptido liberador de gastrina), NMB (Neuromedina B)	Plexo mientérico gástrico	↓

Tabla 1. Péptidos entéricos implicados en la señal de saciedad. Las flechas hacia abajo indican una reducción en el consumo de alimento. Imagen traducida de: Maljaars et al., 2007.

1.4. Blancos de acción en el Sistema Nervioso Central: Integración de las señales periféricas.

1.4.1. El Hipotálamo: Integración de información metabólica.

La investigación sobre las estructuras cerebrales que controlan la homeostasis energética se centró principalmente en el Hipotálamo, un área cerebral que se encarga de regular funciones básicas relevantes como la temperatura, reproducción, procesos hormonales y ritmos biológicos (Meister, 2007; Gao y Horvath, 2007). El hipotálamo se encarga de integrar la información de las señales de hambre y saciedad originadas desde el tracto gastrointestinal, a través de aferentes vagales y estructuras del tallo cerebral para poder controlar el consumo de alimento y la homeostasis energética (Gao y Horvath, 2007; Proulx y Seeley, 2005).

1.5. Hipotálamo Lateral (HL) e Hipotálamo Ventromedial (VMH) como “centros del hambre y la saciedad”.

Desde los años cuarenta del siglo pasado se había propuesto que los centros del “hambre” y la “saciedad” eran el Hipotálamo Lateral (HL) e Hipotálamo Ventromedial (HVM). En estudios realizados por Hetherington y Ranson (1940, en Gao y Horvath, 2007; Smith y Ferguson, 2008) se observó que posterior a la lesión del HL, las ratas se volvían hipofágicas, mientras que lesiones del HVM resultaban en animales hiperfágicos (Schwartz et al., 2000; Williams, Harrold y Cutler, 2000; Williams et al., 2001; Carlson, 2006; Gao y Horvath, 2007). Esta noción fue reemplazada por la evidencia de que existen poblaciones neuronales localizadas en el ARC las cuales liberan una serie de neuropéptidos encargados de controlar de manera diferencial la homeostasis energética.

1.6. Núcleo Arcuato del Hipotálamo (ARC): Sitio clave para la regulación del balance de energía.

1.6.1. Neuronas de primer orden

Dentro del núcleo arcuato del hipotálamo (ARC), se han identificado dos poblaciones neuronales encargadas de controlar de manera diferencial la homeostasis energética actuando como moléculas de señalización anabólica o catabólica; es decir mediante el incremento del consumo de alimento y del decremento del gasto energético o viceversa (Schwartz et al., 2000). La primera contiene a las neuronas que liberan neuropéptidos orexigénicos conocidos como neuropéptido Y (NPY) y proteína relacionada al gen agouti (AGRP) (ambas inhibidas por leptina), mientras que la segunda clase de neuronas liberan péptidos anorexigénicos conocidos como pro-opiomelanocortinas (POMC) y hormona concentradora de melanina (HMC) (ambas estimuladas por leptina) Ver figura 1.

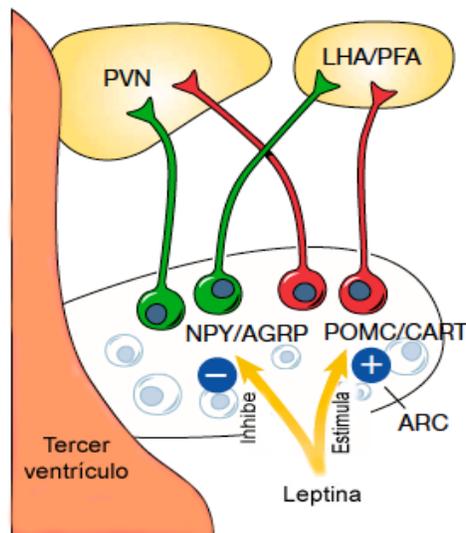


Figura 1. Poblaciones neuronales localizadas en el Núcleo Arcuato del hipotálamo. Neuronas que liberan NPY/AGRP (en verde) son orexigénicas e inhibidas por leptina, mientras que neuronas que liberan POMC/CART (en rojo) funcionan como anorexigénicas y son estimuladas por leptina. Ambas poblaciones neuronales envían proyecciones al PVN, e HL. Imagen traducida de Schwartz et al., 2000.

1.6.1.1. Neuronas NPY/AGRP

El sistema de neuronas que se localizan en el Núcleo Arcuato y que regulan el balance de energía son la proteína relacionada al gen agouti (ó AGRP) y el Neuropeptido Y (ó NPY) (Cummings y Overduin, 2007; Adan, Vanderschuren y La Fleur, 2008). Ambos péptidos estimulan de manera robusta la alimentación y el gasto de energía (Gao y Horvarth, 2007) por lo que se les considera como moléculas de señalización anabólica (Schwartz et al., 2000). La AGRP es el único péptido que actúa como un antagonista/agonista inverso cuando se encuentra en presencia de la hormona con acción anorexigénica, alfa melanocito estimulante (α -MSH) y puede disminuir la actividad del receptor para melanocortinas (el receptor MCR4), sugiriendo que la actividad de este receptor es modulada por dos neuropeptidos con acción opuesta (Proulx et al., 2005). La administración de AGRP produce un incremento en el consumo de alimento y peso corporal (Rossi et al., 1998).

El Neuropeptido Y (NPY) es un péptido compuesto por 36 aminoácidos, es co-localizado en neuronas que expresan AGRP del ARC. Al ser administrado centralmente, el NPY incrementa de manera robusta el apetito, produciendo Hiperfagia y un "Hambre Voraz" (Clarck, Kalra, Crowley y Kalra, 1984; Stanley y Lebowitz, 1984). El NPY intereractúa con al menos 5 tipos de receptores (NPY-Y1, Y2, Y4, Y5 y Y6) para mediar una vasta cantidad de acciones a nivel periférico y central, pero los receptores NPY-Y1 y NPY-Y5 son los que median el efecto estimulante del NPY sobre la alimentación (Xu, Li, Rowland y Kalral, 1995).

1.6.1.2. Neuronas POMC/CART

El segundo sistema de neuronas sintetiza al péptido precursor de las pro-opiomelanocortinas (POMC) y al péptido CART (por sus siglas en inglés de transcripción regulada por anfetamina y cocaína) (Carlson, 2006; Gao y Horvath,

2007). Cuando estos neuropéptidos son estimulados producen efectos anorexigénicos (decremento en el consumo de alimento) (Boston et al., 1997; Ellacott y Cone, 2004; Berthoud y Morrison, 2008).

Uno de los ligandos importantes de las células POMC es la α -MSH, la cual actúa como un agonista a los receptores de melanocortinas MCR1. En el SNC la α -MSH actúa como agonista a los receptores MCR3 y MCR4 y varios análogos sintéticos pueden reducir el consumo de alimento y el peso corporal. El efecto que produce en la ingesta de alimentos es mediado por el receptor MCR4 (Proulx et al., 2005).

Las células POMC del núcleo arcuato proyectan hacia la columna torácica interomedial de la médula espinal, además se ha identificado la expresión de ARNm del receptor MC4 en la médula espinal y en núcleo dorsal del nervio vago. Estos datos sugieren que la α MSH y neuronas AGRP regulan el gasto de energía a través de nervios simpáticos que inervan al tejido adiposo (Yasuda, Masaky y Kakuma, 2004). Ambas poblaciones neuronales (NPY/AGRP y POMC/CART) son consideradas como neuronas de primer orden y envían sus proyecciones a neuronas de segundo orden localizadas en otros núcleos hipotálamicos como el PVN, área perifornical del HL y DMH (Williams et al., 2000; Williams et al., 2001; Gao y Horvath, 2007; Gao y Horvath, 2008).

1.6.2. Neuronas de segundo orden:

Las neuronas de segundo orden son localizadas en el HL y PVN mismas que liberan otro tipo de neuropéptidos conocidos como hipocretinas u orexinas y la hormona concentradora de melanina (HCM). Ambos neuropéptidos funcionan como orexigénicos ya que estimulan la toma de alimentos. Aunque ambas poblaciones de neuronas se sobrelapan, el papel que juegan en el control de la homeostasis energética es independiente una de otra. La señalización anabólica de las orexinas o hipocretinas es modulada por las neuronas que liberan NPY. Las orexinas interactúan con receptores acoplados a proteínas G conocidos como

receptor 1 de orexina (OX-R1 ó receptor 1 para hipocretinas) y receptor 2 para orexinas (OX-R2 ó receptor 2 para hipocretinas). Las neuronas que liberan orexinas y HCM están relacionadas con el sistema de neuronas POMC y NPY del Núcleo Arcuato (Qu et al., 1996; Elias et al., 1998), es por ello que el efecto de ambos neuropéptidos puede ejercer su acción a través del sistema de melanocortinas. La actividad de ambos grupos de neuronas es regulada por numerosas hormonas incluyendo a la leptina y ghrelina y prácticamente por cada neurotransmisor (Elias et al., 1998) Ver figura 2.

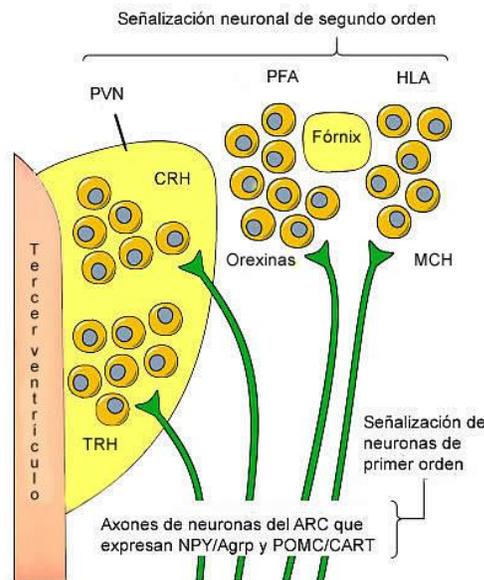


Figura 2. Neuronas del ARC que expresan NPY/AGRP y POMC/CART son neuronas de primer orden, las cuales envían proyecciones a las de segundo orden localizadas en el núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo expresando péptidos anorexigénicos como la hormona liberadora de tirotrifinas (TRH) y la hormona liberadora de corticotrofinas (CRH). El área perifornical (PFA) adyacente al fórnix y área lateral (HLA) expresan péptidos orexigénicos tales como las orexinas u hipocretinas y hormona concentradora de melanina (MCH). Imagen traducida de Schwartz et al., 2000.

1.7. Neurotransmisores clásicos que regulan la ingesta de Alimento

La regulación de la conducta de ingesta no podía estar completa sin la participación de algunos sistemas de neurotransmisión clásicos. Las catecolaminas como la dopamina (DA) posee un efecto inhibitorio en la conducta de ingesta (Kuo, 2002). Mediante manipulaciones farmacológicas, se ha reportado que los subtipos de receptores D_1 y D_2 son los encargados de este efecto inhibitorio. Conductas dirigidas hacia una meta como la ingesta de alimentos, incrementan la tasa de disparo de neuronas DA (Palmiter, 2007). La señalización de la dopamina en el estriado dorsal (Caudado-Putamen, CPu) es importante para la alimentación, ya que ratones deficientes de dopamina en el CPu son hipofágicos y mueren de inanición (Sotak et al., 2005). Mientras que la liberación de DA en el área ventral tegmental (AVT) y núcleo acumbens (Acc) tienen que ver más con el aspecto reforzante del comer (Meister, 2007; Palmiter, 2007). En el caso de la noradrenalina, la cual es sintetizada en el tallo cerebral, se observan fibras noradrenérgicas ascendentes al PVN del hipotálamo ejerciendo efectos bifásicos, ya que puede elicitar alimentación o saciedad (Wellman, 2000; Schwartz et al., 2000; Meister, 2007). Por otro lado, la acetilcolina promueve un decremento en el consumo de alimento y peso corporal, ya que la nicotina (un ligando para acetilcolina) promueve una reducción del apetito y se ha reportado que el cese de fumar tabaco, conduce a hiperfagia y ganancia del peso corporal (Miyata et al., 1999).

El sistema histaminérgico, es otro de los neurotransmisores implicados en el control de la conducta de ingesta. Neuronas en el núcleo tuberomamilar, liberan histamina y envían proyecciones a casi todo el cerebro. Se ha reportado que los antidepressivos y antihistaminérgicos estimulan el consumo de alimento, sugiriendo que la histamina produce un efecto anorexigénico (Meister, 2007).

En el caso de los aminoácidos como el glutamato y el GABA también participan en el control de la conducta de ingesta. Existe la evidencia (utilizando técnicas de

hibridación *in situ*) que el transportador vesicular para GABA (VGAT) así como el transportador vesicular para glutamato (VGLUT2), son expresados en núcleos hipotalámicos, como el ARC modulando las neuronas NPY/AGRP y POMC/CART (Meister, 2007).

Existen además otros neurotransmisores que también regulan la ingesta de alimento. Tal es el caso del sistema opioide y canabinoide los cuales poseen la capacidad de incrementar el apetito y el consumo de alimento tanto en humanos como en animales (Solinas y Goldberg, 2005). Se ha reportado que estos dos sistemas de neurotransmisión están relacionados con el valor hedónico o reforzante de la comida, tal como la saliencia o lo sabroso de la comida (Kirkham, 2003).

La participación de otro sistema de neurotransmisión, no menos importante que los anteriores, es la serotonina ó 5-HT y tiene un papel fundamental en el control del consumo de alimento. Debido a que en el presente trabajo fueron utilizados fármacos que afectan la actividad serotoninérgica es necesaria la descripción de este neurotransmisor con más detalle en el siguiente apartado.

CAPÍTULO 2. REGULACIÓN SEROTONÉRGICA DE LA INGESTA DE ALIMENTO.

2.1. Serotonina (5-HT)

La 5-Hidroxitriptamina (5-HT) es una amina la cual fue caracterizada como una indolamina, gracias a las primeras investigaciones realizadas en 1930 por Erspamer, el cual estudiaba la distribución de células enterocromafines que se teñían con reactivos para grupos indoles, encontró que las concentraciones más altas se hallaban en la mucosa del tubo digestivo, las plaquetas y algunas regiones del SNC, por ello el indol que aún no era identificado fue denominado como enteramina. Más adelante otros investigadores en Cleveland se encargaron de aislar a una sustancia vasoconstrictora que era liberada por las plaquetas en sangre coagulada, a la cual denominaron como serotonina (Murphy, Campbell y

Costa, 1978; Folk y Long, 1988). Posteriormente se realizaron comparaciones entre la serotonina y la indolenteramina, encontrando que ambas sustancias eran idénticas desde los puntos de vista químico y farmacológico.

La serotonina, se encuentra distribuida en grandes concentraciones en el Sistema Periférico, específicamente en las células enterocromafines de la mucosa del tubo digestivo, las plaquetas y el tracto gastrointestinal. Además actúa sobre el músculo liso, es reconocida como un fármaco que fomenta la agregación plaquetaria y en 1950 se sugirió que podía funcionar como neurotransmisor en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Folk y Long, 1988), ejerciendo un amplio repertorio de acciones y funciones en ritmos circadianos, sueño, conducta sexual, trastornos mentales, ingesta de alimentos y otras funciones neuroendocrinas (Serreti, Benedetti, Zanardi y Smeraldi, 2005; Boadle-Biber, 1993). En el SNC los cuerpos celulares que contienen serotonina, son restringidos a agrupaciones de células localizadas a lo largo de la línea media del tallo cerebral. Sin embargo; sus axones inervan a casi todas las áreas del SNC. La mayor cantidad de somas serotoninérgicos se encuentran en el núcleo del rafé del tallo cerebral y el mesencéfalo (Steinbusch y Nieuwenhuys, 1983; Tork, 1985; Boadle-Biber, 1993). Aunque el número de neuronas serotoninérgicas es pequeño en comparación con el número total de neuronas en el cerebro, tienen la ventaja de encontrarse agrupadas, lo cual permite estimularlas eléctricamente o lesionarlas selectivamente. Se han observado diferencias estructurales y bioquímicas entre las proyecciones descendentes y rostrales del sistema serotoninérgico. Estas diferencias son asociadas a diferentes sensibilidades ante neurotoxinas, o a propiedades fisiológicas características de cada subgrupo de neuronas serotoninérgicas (Molliver et al., 1990).

2.2. Síntesis de 5-HT.

La biosíntesis de la 5-HT es realizada por células que se localizan en el SNC.

Debido a que la serotonina no cruza la barrera hematoencefálica, las neuronas serotoninérgicas captan de manera activa al aminoácido triptófano, este aminoácido es transformado a 5-hidroxitriptofano (5-HTP) por la acción de la enzima triptófano hidroxilasa y el 5-HTP el cual es el precursor de 5-HT es transformado a 5-Hidroxitriptamina (5-HT) por la acción del aminoácido aromático descarboxilasa (AADC) (Graeff , 1997) Ver Figura 3.

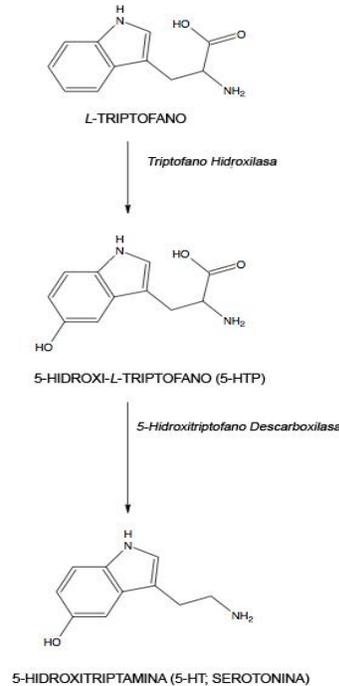


Figura 3. Síntesis de la 5-HT. La triptófano hidroxilasa cataliza la conversión de triptófano a 5-Hidroxitriptófano (5-HTP). El aminoácido aromático descarboxilasa cataliza la conversión de 5-Hidroxitriptófano a 5-Hidroxitriptamina (5-HT). Imagen modificada de Das et al., 2004.

2.3. Receptores de 5-HT

La serotonina (5-Hidroxitriptamina) es uno de los neurotransmisores más antiguos, esto ha permitido ser objeto de una gran cantidad de investigaciones para descubrir sus propiedades biológicas, fisiológicas y funcionales. Estas investigaciones han permitido diferenciar a la vasta y compleja familia de receptores que posee la 5-HT. Los receptores serotoninérgicos comenzaron a ser

caracterizados gracias a estudios de unión de radioligandos, los cuales permitían diferenciar sitios de unión de 5-HT (Glennon, 1990). Estos sitios de unión se encuentran tanto a nivel periférico como a nivel central, y se han descubierto también en tejido no neural, como en el tracto gastrointestinal y el sistema cardiovascular (Hoyer, Hannon y Martin, 2002). Los receptores 5-HT han sido clasificados en 7 clases (5-HT₁-5-HT₇), de acuerdo a sus características estructurales, operacionales y de transducción. Con excepción del receptor 5-HT₃, el cual se une a un canal iónico, el resto de los receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G, los cuales contienen una estructura de 7 dominios transmembranales. Estas 7 clases de receptores han sido divididos en 14 subtipos (Ver Figura 4), los cuales cubren la vasta cantidad de funciones fisiológicas de 5-HT (Barnes y Sharp, 1999, Hoyer et al., 2002; Kroeze y Roth, 1998). Estos receptores han sido caracterizados usando herramientas farmacológicas y más recientemente las técnicas de biología molecular han permitido confirmar esta clasificación.

Dentro de la familia de receptores 5-HT₁ se encuentran los subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} y 5-HT_{1F}, todos son receptores acoplados a proteínas G y se ha pensado que son receptores unidos negativamente a adenilato ciclasa. La familia de receptores 5-HT₂ consiste de 3 subtipos denominados 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}. El receptor 5-HT₃ es el único que se une a un canal iónico (receptor ionotrópico). El resto de los receptores 5-HT (5-HT₄-5-HT₇) son receptores metabotrópicos, acoplados a proteínas G (Hoyer et al., 2002; Glennon, 1990; Pauwels, 2000; Barnes y Sharp, 1999), los cuales producen segundos mensajeros que regulan funciones celulares vía fosforilación/desfosforilación de proteínas intracelulares. Cinco clases de receptores 5-HT (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₄, 5-HT₆ y 5-HT₇) regulan 2 de las principales vías de señalización intracelulares de los segundos mensajeros; adenilato ciclasa y fosfolipasa C (Pauwels, 2000).

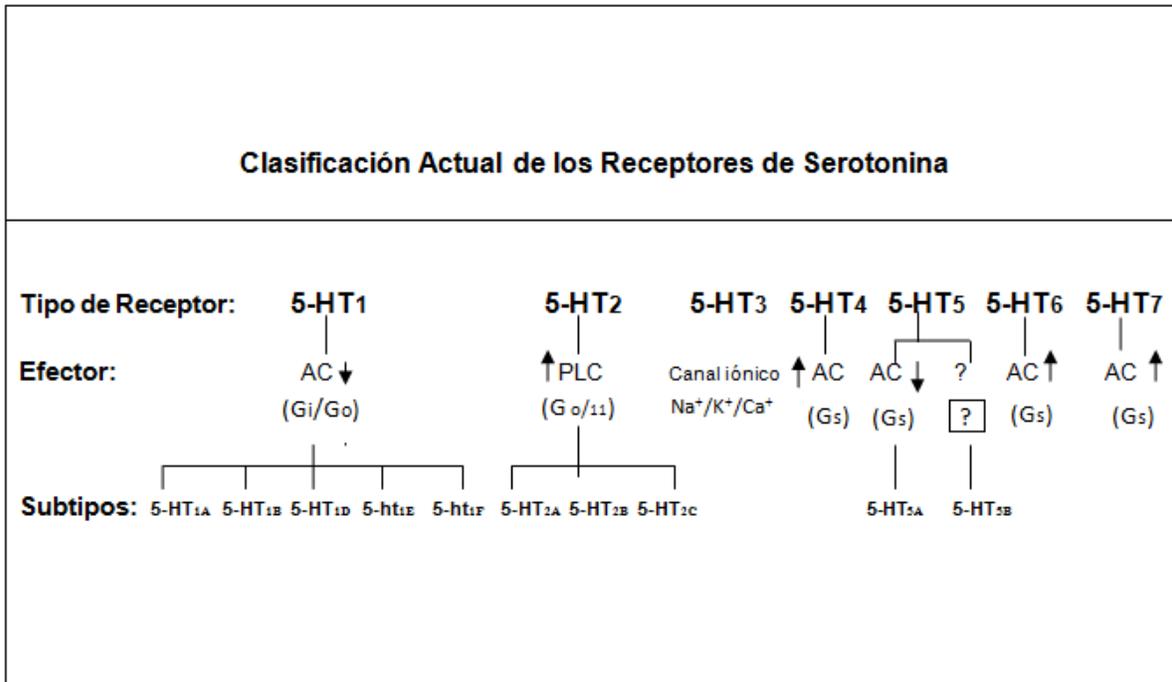


Figura 4. Los receptores de serotonina se han clasificado de acuerdo a sus características operacionales, estructurales y de transducción. Son divididos en 7 familias (5-HT1-5-HT7) los cuales son subdivididos en 14 subtipos de receptores. Los receptores 5-HT son metabotrópicos; acoplados a proteínas G, excepto el receptor 5-HT3 el cual se une a un canal iónico. Imagen modificada de Barnes y Sharp, 1999.

2.4. Papel de la serotonina 5-HT en la ingesta de alimento

Como se mencionó en el capítulo anterior, una gran variedad de sistemas de neurotransmisión están implicados en los mecanismos fisiológicos que subyacen a la ingesta de alimentos. A pesar de esto, la investigación se ha centrado en el sistema de serotonina (5-HT) el cual muestra una gran versatilidad, se encuentra en diferentes núcleos a nivel central, sin embargo la mayor cantidad de serotonina se encuentra concentrada en la periferia; específicamente en el tracto gastrointestinal (Blundell y Lathan, 1979).

La proposición de que la serotonina es uno de los principales sistemas de neurotransmisión que regulan el control del consumo de alimento y la expresión del apetito ha sido hecha hace más de tres décadas, debido a que los receptores

de serotonina ocupan una localización anatómica estratégica proyectando hacia diferentes núcleos hipotalámicos (Azmitia,1978; Halford, Harrold, Lawton y Blundell, 2005). La serotonina actúa como un poderoso agente anorexigénico, se encuentra principalmente en neuronas que proyectan del núcleo del rafe al hipotálamo. Los receptores de serotonina se encuentran de manera abundante en el núcleo paraventricular, el núcleo arcuato y el núcleo ventromedial del hipotálamo (Leibowitz y Alexander, 1998). Estudios en los que se infundía 5-HT, o agentes farmacológicos con afinidad a los receptores 5-HT, reducían los niveles de neuropéptidos que regulan la ingesta de alimento como el NPY, POMC y AgrP en áreas hipotalámicas. Un estudio realizado por Rogers, McKibbin y Williams en 1991, mostraron que la administración aguda de fenfluramina redujo los niveles de NPY en el hipotálamo. Dryden, McCarthy, Malabu, Ware, y Williams (1993) evaluaron el efecto de la metisergida sobre los niveles de NPY, observando un incremento del neuropéptido en el núcleo arcuato y paraventricular del hipotálamo, además de un efecto hiperfágico en los animales. Más adelante en 1996, Dryden, Frankish, Wang, Pickavance y Williams, también observaron una reducción de NPY en el núcleo paraventricular del hipotálamo después de administrar m-CPP, un agonista a los receptores 5-HT_{1B/2C}, el cual suprime el consumo de alimento. Estos datos sugieren una interacción entre el sistema 5-HT y el NPY, uno de los principales neuropéptidos que incrementa la ingesta de alimentos, el cual es inhibido por neuronas serotoninérgicas. Sin embargo los primeros estudios que evaluaron la participación del sistema serotoninérgico, fueron de carácter farmacológico, con la finalidad de descubrir la participación de los receptores implicados en los mecanismos de alimentación.

2.5. Receptores de serotonina implicados en la ingesta de alimento.

Debido a manipulaciones farmacológicas que producían alteraciones en el consumo de alimento se ha planteado que la 5-HT ejerce un papel inhibitorio en el control de la conducta de alimentación (Boess y Martin, 1994; Blundell, 1984; Dourish, Clark, Fletcher e Iversen, 1989; Blundell y Halford, 1998; Shor-Posner,

Grinker, Marinescu, Brown y Leibowitz, 1986; Simansky, 1996; Leibowitz y Alexander, 1998).

Estudios farmacológicos muestran que la administración directa de 5-HT o de agentes que incrementan la disponibilidad de serotonina sobre receptores postsinápticos o que actúan al liberar y bloquear la recaptura de la serotonina endógena producen un efecto supresor en el consumo de alimento (Blundell, 1984; Blundell, 1977; Samanin, 1983; Bendoti y Samanin, 1987) en un amplio rango de especies, desde roedores hasta el humano y primates no humanos (Simansky, 1996). Por el contrario, la administración de fármacos que bloquean a los receptores 5-HT postsinápticos o que decremantan la neurotransmisión serotoninérgica o la depleción de células serotoninérgicas con alguna neurotoxina como la 5-7 dihidroxitriptamina producen un efecto estimulante en la ingesta de alimentos (Dourish et al., 1989; Blundell, 1984).

De los subtipos de receptores del sistema 5-HT, existe evidencia de que los subtipos 5-HT₁ y 5-HT₂ ejercen un papel fundamental en los mecanismos de alimentación, específicamente de los que regulan el hambre y la saciedad (De Vry y Schreiber, 2000; Bendotti y Samanin, 1987; Kennett, Dourish y Curzon, 1987). Sin embargo los subtipos de receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} parecen ser los principales receptores en mediar el control inhibitorio de la serotonina en la ingesta de alimentos al realizar acciones en conjunto para producir saciedad (Samanin y Grignaschi, 1996; Simansky, 1996; De Vry y Schreiber, 2000).

Diversos estudios farmacológicos han mostrado que al administrar de manera sistémica agonistas a los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} se produce un efecto hipofágico (Simansky, 1996; Leibowitz y Alexander, 1998). Es considerable la cantidad de investigaciones que muestran el efecto inhibitorio de la serotonina sobre la ingesta de alimentos y la cantidad de evidencia que apoya a la hipótesis del efecto modulador de la 5-HT en la alimentación (Ver tabla 2).

2.6. Fármacos serotoninérgicos con acción anoréxica.

2.6.1. Agonistas 5-HT.

Los primeros estudios farmacológicos centrados en descubrir agentes con propiedades anorexigénicas vertieron su atención en los agonistas de los receptores serotoninérgicos, debido a que la estimulación de los receptores de 5-HT produjo un decremento en el consumo de alimento de roedores. Esto llevó a la hipótesis de que el incremento en la actividad serotoninérgica podría estar implicado en los mecanismos de alimentación. Al igual que las hormonas que producen saciedad como la leptina; la 5-HT ejerce un efecto inhibitorio en la conducta de alimentación al interactuar con las diferentes poblaciones de neuropéptidos localizadas en circuitos hipotalámicos (Halford et al., 2005). Existe evidencia de que la administración de agentes que incrementan la liberación de 5-HT activan a las neuronas proopiomelanocortinas (POMC) en el núcleo arcuato del hipotálamo, sugiriendo que el sistema de melanocortinas es un blanco de acción principal para la 5-HT en el efecto inhibitorio de la alimentación (Heisler et al., 2006).

Como la 5-HT es el neurotransmisor que más se ha relacionado con la conducta de ingesta, es lógico que la mayor cantidad de investigación se centrara en descubrir agentes farmacológicos eficaces para inhibir la ingesta de alimentos. Los fármacos que más se han empleado son los agonistas a receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}. Estudios realizados con agonistas al receptor 5-HT_{1B} como el pyridyl indol, RU 24969 y CP-94253 reducen el consumo de alimento en ratas (Kennet et al., 1987; Simansky y Vaidya, 1990; Lee, Kennett, Dourish y Clifton, 2002). Y al administrar antagonistas de estos subtipos de receptores se ha podido invertir los efectos hipofágicos producidos previamente por los agonistas en una variedad de especies (De Vry y Schreiber, 2000; Kennett, 1988). Luo y Li en 1991, evaluaron la administración crónica de agonistas serotoninérgicos, encontrando un efecto anorexigénico marcado, también hubo un decremento en el consumo de

carbohidratos, sin embargo después de 5 días de administración observaron un ligero incremento en el peso corporal. Kennett y cols. en 1987, evaluaron el efecto de tres agonistas a los receptores 5-HT_{1B} sobre la conducta de alimentación; encontraron que el m-CPP, TFMPP y RU24964 decrementaron el consumo de alimento de manera dosis-dependiente, para diferenciar el efecto hipofágico de los tres fármacos evaluados administraron antagonistas a los receptores 5-HT₁ y 5-HT₂, además de antagonistas dopaminérgicos; los resultados mostraron que la metergolina únicamente invirtió el efecto hipofágico producido por RU24969, mientras que el antagonista dopaminérgico espiperona no alteró el efecto hipofágico producido por los tres agonistas 5-HT. En 1992, Fletcher, Ming, Zack y Coscina, evaluaron el efecto de TFMPP y RU24969 infundidos en el hipotálamo medial y de manera periférica, en tres paradigmas de alimentación: la alimentación inducida por noradrenalina (NA), privación de alimento y alimentación libre; encontrando que ambos fármacos administrados periféricamente redujeron el consumo de alimento de manera dosis-dependiente en los tres paradigmas de alimentación en que fueron evaluados. Sin embargo, la administración de ambos fármacos en el hipotálamo medial no produjo una reducción en el consumo de alimento. Estos datos contrastan con los obtenidos por Hutson, Donohoe y Curzon (1988) quienes administraron los mismos agonistas en el NPV; encontrando una reducción del consumo de alimento de manera dosis-dependiente después de 18 h de privación de alimento.

En 1995, Velázquez-Martínez, Valencia-Flores, López-Cabrera y Villarreal, evaluaron el efecto del indorrenato (INDO), un agonista a receptores 5-HT_{1A/1B/2C} sobre el consumo de alimento y lo compararon con el efecto producido por amfetamina y fenfluramina. Entrenaron a ratas a consumir alimento durante 4 h al día y encontraron que todos los fármacos redujeron el consumo de alimento. Además registraron el consumo de agua encontrando que el INDO no alteró la ingesta de líquido en los animales en comparación con la fenfluramina y la amfetamina, los cuales redujeron el consumo. Al administrar antagonistas como la

ciproheptadina, cinancerina, metisergida y metergolina revirtieron el efecto hipofágico producido por el INDO. La administración de haloperidol, un antagonista dopaminérgico no alteró el efecto producido por el INDO. Sugiriendo que el efecto producido por el INDO es mediado únicamente por mecanismos serotoninérgicos.

Estos datos son sólo una muestra de la gran cantidad de estudios experimentales que concuerdan con la hipótesis que señala que el incremento de 5-HT en el espacio extracelular produce una reducción en el consumo de alimento y en el peso corporal y que la reducción de la neurotransmisión serotoninérgica estimula la ingesta de alimentos, además de que los receptores 5-HT_{1B} pueden mediar el efecto de saciedad y regular el tamaño de las comidas, mientras que los receptores 5-HT_{2C} pueden modular la tasa de alimentación (g/min) (Grignaschi y Samanin, 1992b; Simansky, 1996).

2.6.1.1. Inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS)

Los Inhibidores Selectivos de Recaptura de Serotonina (ISRS), son de los agentes terapéuticos más prescritos en la actualidad (Vaswani, Linda y Ramesh, 2003), sus acciones terapéuticas son diversas, aunque son utilizados más frecuentemente para tratar la depresión, además se utilizan en el tratamiento de otros desórdenes como el Trastorno Obsesivo Compulsivo, la ansiedad, desorden de pánico y en algunos desórdenes de alimentación como la bulimia (Stahl, 1998).

Los ISRS inhiben al transportador de 5-HT, e incrementan la liberación de neurotransmisor (Stahl, 1998; Wong, Perry y Bymaster, 2005; Anderson, 2004), de acuerdo a la hipótesis planteada sobre el incremento extracelular de 5-HT y el efecto inhibitorio de la alimentación, se ha evaluado el efecto de diferentes ISRS sobre la ingesta de alimentos. Uno de los ISRS más explorado ha sido la fenfluramina, un agente con un blanco terapéutico diverso (Simansky, 1996). La fenfluramina ha sido administrada en un amplio rango de paradigmas que evalúan

el consumo de alimento, como la Secuencia de Siciedad Conductual, la cual permite evaluar una serie de conductas post-prandiales como el inicio de la alimentación seguido de un corto periodo de conductas activas como la locomoción, olfateo y acicalamiento (Antin, Gibbs, Holt, Young y Smith, 1975) también ha sido evaluada en una gran cantidad de especies desde roedores hasta el humano. (Grinker, Drewnowski, Enns y Kissileff, 1980; Foltin y Moran, 1989; McGuirk y Silverstone, 1990). Los resultados obtenidos muestran que este agente serotoninérgico actúa como un fármaco anorexigénico produciendo un decremento en el consumo de alimento y en el peso corporal (Willner, McGuirk, Phillips y Muscat, 1990; Kaplan et al., 1977; Fletcher y Davies, 1990; Grignaschi y Samanin, 1992a). Otros ISRS que tienen el mismo efecto son la sertralina (Lucki, Kreider y Simansky, 1988), paroxetina y también la fluoxetina (Simansky et al., 1996; Gutiérrez et al., 1992; Wong, Reid y Threlkeld, 1988; Halford y Blundell, 1996; Stein, Wayner, Kantak y Adler-Stein, 1978).

2.6.2. Fármacos serotoninérgicos con acción orexigénica.

Como la hipótesis de 5-HT plantea que la disminución de 5-HT en el espacio extracelular produce un incremento en el consumo de alimento (Dourish et al., 1989; Halford, 2001; Goudie, Thornton y Wheeler, 1976; Heisler et al., 1999) una amplia cantidad de investigaciones se centraron en descubrir los mecanismos que subyacen a este efecto, además de esclarecer la participación que juegan los diferentes receptores 5-HT sobre el incremento en la alimentación producido por fármacos con efecto orexigénico.

Para evaluar el efecto producido por el incremento de la neurotransmisión serotoninérgica sobre el consumo de alimento, se evaluaron antagonistas a los subtipos de receptores 5-HT₁ y 5-HT₂. En 1988, Fletcher examinó el efecto producido por ritanserina, metisergida y metergolina, los cuales produjeron un efecto estimulador en el consumo de alimento. Más adelante, Dourish y cols. (1989) evaluaron el efecto de antagonistas a los receptores 5-HT₁, encontrando

que la metergolina, metiotepina, metisergida, mesulergina y mianserina incrementaron el consumo de alimento en ratas con alimentación libre de manera dosis-dependiente.

EFFECTO DE FÁRMACOS SEROTONÉRGICOS SOBRE LA INGESTA DE ALIMENTOS

FÁRMACO	ACTIVIDAD	EFFECTO EN LA INGESTA DE ALIMENTO	ESPECIE	AUTOR Y AÑO
AGONISTAS				
m-CPP	Agonista a receptor 5-HT _{1B/2C}	Anoréxico	Ratas Humano	Halford et al.,2005. Walsh et al.,1994. Kennet y Curzon, 1988.
8-OHDPAT	Agonista a receptor 5-HT _{1A}	Efecto bifásico	Ratas	Leibowitz, 1993.
TFMPP	Agonista a receptor 5-HT _{1B/2C}	Anoréxico	Ratas	Fletcher et al.,1992.
CP -93129	Agonista a receptores 5-HT _{1B}	Anoréxico	Ratas	Halford y Blundell, 1996.
DOI	Agonista a receptores 5-HT _{2A/2C}	Anoréxico	Ratas	De Vry y Schreiber, 2000.
RU 24-969	Agonista a receptores 5-HT _{1B/2C}	Anoréxico	Ratas	Hutson et al., 1988.
Sumatriptan	Agonista a receptores 5-HT _{1B/1D}	Anoréxico	Humano	Boeles et al., 1997.
Ipsapirona	Agonista a receptores 5-HT _{1A}	Efectos Bifásicos	Ratas	De Vry y Schreiber, 2000.
BW 723C86	Agonista al receptor 5-HT _{2B}	Efectos Bifásico	Ratas	Kennett et al., 1997.
CP 94-253	Agonista al receptor 5-HT _{1B}	Anoréxico	Ratas	Schreiber et al., 2000
ANTAGONISTAS				
SB242084	Antagonista a receptores 5-HT _{2C}	Orexigénico	Ratas	Vickers y Dourish, 2004.
GR127935	Antagonista a receptor 5-HT _{1B}	No se tiene claro el efecto	Ratas	Vickers y Dourish, 2004.
SB224289	Antagonista a receptor 5-HT _{1B}	No se tiene claro el	Ratas	Vickers y Dourish, 2004.

		efecto		
Metergolina	Antagonista a receptor 5-HT ₂	Orexigénico Bifásico	Ratas Ratas	Halford y Blundell, 1996. Simansky, 1996.
Ritanserina	Antagonista a receptor 5-HT ₂	Orexigénico	Ratas	Grignaschi y Samanin, 1992a.
Ketanserina	Antagonista a receptor 5-HT ₂	Orexigénico	Ratas	Garattini et al., 1989.
SB 200,646	Antagonista a receptor 5-HT _{2B/2C}	Orexigénico	Ratas	Kennett et al., 1994.
SB 206,553	Antagonista a receptor 5-HT _{2B/2C}	Orexigénico	Ratas	De Vry y Schreiber, 2000. .
ciproheptadina	Antagonista no selectivo a receptor 5-HT ₂	Orexigénico	Ratas Humano	Oomura et al., 1973. Konstandi et al., 1996.
ISRS				
Fenfluramina	Inhibidor Selectivo de la Recaptura de 5-HT	Anoréxico	Ratas Humano	Rogers y Blundell, 1979. Halford et al., 2005.
Fluoxetina	Inhibidor selectivo de la recaptura de 5-HT	Anoréxico	Ratas Humano	Mc Guirk y Silverstone, 1990. Wong et al., 1988.
Sertralina	Inhibidor selectivo de la recaptura de 5-HT	Anoréxico	Ratas	Koe et al., 1983.
d- fenfluramina	Enantiómero activo de fenfluramina.	Anoréxico	Ratas	Rogers y Blundell, 1979 Halford y Blundell, 1996.

Tabla 2. Muestra la gran cantidad de estudios en los que se ha evaluado el efecto de fármacos serotoninérgicos sobre la ingesta de alimentos. Y en los que se apoya la participación del sistema 5-HT en los mecanismos de alimentación.

2.7. Fluoxetina: Inhibidor Selectivo de la Recaptura de Serotonina (ISRS)

La fluoxetina N-Methyl-3-[(4-trifluoromethyl) phenoxy]-3-phenylpropylamine hydrochloride (ver figura 1), es un fármaco antidepresivo que incrementa la neurotransmisión serotoninérgica al inhibir selectivamente la recaptura neural de serotonina (Benfield , Heel y Lewis, 1986; Frankfurt et al., 1994) tanto en animales como en humanos (Messiha, 1993). La inhibición de recaptura de 5-HT incrementa la cantidad de serotonina disponible en el espacio sináptico para unirse a

receptores postsinápticos y promover la neurotransmisión 5-HT (Frankfurt et al., 1994).

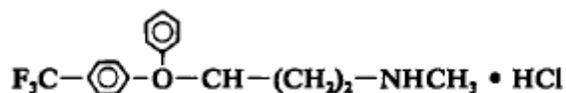


Figura 5. Estructura química del fármaco fluoxetina.

2.7.1. Efecto de Fluoxetina sobre la ingesta de alimentos.

La fluoxetina, al incrementar la liberación de 5-HT en las terminales nerviosas, se ha reportado que reduce el hambre y el consumo de alimento en humanos (McGuirk y Silverstone, 1990). La administración de fluoxetina en ratas privadas de alimento y con alimentación libre también produce una reducción en la alimentación (hipofagia) y por ende en el peso corporal (Currie, Coscina y Fletcher, 1998). Wong, Reid y Threlkeld en 1988, administraron enantiómeros de fluoxetina y antagonistas a receptores 5-HT de manera central y periférica para revertir el efecto producido por la fluoxetina. Los resultados mostraron que la fluoxetina produjo una reducción del consumo de alimento de manera dosis-dependiente. Los antagonistas administrados periféricamente no revirtieron el efecto hipofágico producido por la fluoxetina. Además administraron a la fluoxetina en el núcleo paraventricular del hipotálamo y en ratas con hiperfagia inducida por 2-DG, en ambos casos la fluoxetina redujo el consumo de alimento. En ratas privadas de alimento la fluoxetina también ha suprimido efectivamente el consumo de alimento (Goudie et al., 1976). Otra serie de investigaciones han mostrado la eficacia de la fluoxetina al decrementar el consumo de alimento en ratas bajo diferentes condiciones experimentales (Heisler et al., 1999; Uphouse, Hensler, Sarkar y Grossie 2006; Wong et al., 1998; Luo y Li, 1990; Feldman y Smith, 1978; Cooper et al., 1990; Schneider, Badjecki, Feldman y Murphy 1994; McBride, Murphy, Lumeng y Li, 1987).

Los mecanismos de acción de la fluoxetina y de agonistas a los receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ son consistentes con la hipótesis de que incrementando la neurotransmisión de 5-HT se reduce el consumo de alimento (Dourish et al., 1989; Fuller, Hemrick-Luecke y Snoody, 1994; Tecott, 2007). Para evaluar qué subtipos de receptores de 5-HT median el efecto hipofágico de la fluoxetina, se llevaron a cabo estudios con antagonistas a los subtipos de receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ principalmente, encontrando que los antagonistas al receptor 5-HT₂ invertían el efecto hipofágico de la fluoxetina parcialmente (Göthert, 1986).

En investigaciones realizadas con neurotoxinas como la 5,7 dihidroxitriptamina no se encontró modificación en el efecto supresor de alimento inducido por fluoxetina (Currie et al., 1998). Una posible explicación para entender el pobre efecto de la depleción central de 5-HT es que el estado funcional de las neuronas serotoninérgicas que permanecen, es suficiente para mediar las acciones anoréxicas de la fluoxetina (Grignaschi et al., 1992b).

La fluoxetina puede interactuar con diferentes neuropéptidos implicados en la regulación de la conducta alimenticia como el NPY, POMC y AgRP, sugiriendo que la administración de este fármaco puede incidir en los efectos de estos neuropéptidos sobre la ingesta de alimentos. Gutiérrez y cols. (2002) evaluaron el efecto de la fluoxetina sobre la actividad de NPY en el NPV de ratas Zucker, encontrando que la fluoxetina decrementa los niveles de NPY en el NPV. Más adelante en el 2005, Myung y colaboradores evaluaron el efecto de la fluoxetina sobre NPY en ratas normales, encontrando un efecto hipofágico después de la administración de fluoxetina por 2 semanas y una reducción en la expresión de mRNA de NPY y POMC, sugiriendo que la fluoxetina puede revertir el efecto hiperfágico de NPY al reducir sus niveles en el hipotálamo.

Estudios clínicos han demostrado que la fluoxetina también puede reducir el consumo de alimento y peso corporal en humanos (Ward, Comer, Haney, Fischman y Foltin, 1999; Pomerleau, Pomerleau, Morrell y Lowenbergh, 1991;

Foltin, Haney, Comer y Fischman, 1996). Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de estudios experimentales realizados con esta droga, no se ha esclarecido el papel que ejerce sobre las señales fisiológicas de hambre y saciedad.

2.8. Ciproheptadina

La ciproheptadina, 4-(5H-Dibenzo [a,d] cyclohepten-5-ylidene)-methylpiperidine hydrochloride (Ver figura 6) actúa como un antagonista no selectivo a los receptores 5-HT₂ y como un antagonista de los receptores histaminérgicos H₁ (Leysen et al., 1981; Chakrabarty et al., 1967). Bloquea la actividad de la 5-HT en el músculo liso debido a su fijación sobre los receptores 5-HT₂. Ha mostrado actividad anticolinérgica y posee propiedades antidepresivas débiles. Debido a su afinidad a los receptores H₁, la ciproheptadina tiene propiedades y aplicaciones similares a las de otros antagonistas del sistema histaminérgico. Es prescrita para tratar alergias cutáneas y se ha llegado a prescribir para tratar los efectos no deseados producidos por los ISRS, como la fluoxetina y la sertralina (Orthen-Gambill, 1988).

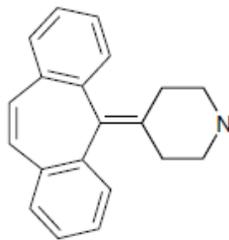


Figura 6. Estructura química del fármaco ciproheptadina

2.8.1. Efecto de la ciproheptadina sobre la ingesta de alimentos.

Existe evidencia de que fármacos antiserotonérgicos y antihistaminérgicos como la ciproheptadina promueven un incremento en el consumo de alimento (Orthen-Gambill, 1988). En humanos, se ha reportado que incrementa el apetito y el peso

corporal. En 1962, Lavenstein, Dacaney, Lasagna y Van Metre, administraron ciproheptadina a niños asmáticos y observaron un incremento en el apetito, talla y peso corporal, descartando que estos cambios fueran producto de hipotiroidismo o algún desbalance hormonal. En adultos normales, se ha reportado que la administración de ciproheptadina también incrementa el consumo de alimento y el peso corporal (Noble, 1969; Silverstone y Schuyler, 1975). Resultados similares fueron encontrados por Comer, Haney, Fischman y Foltin (1997) evaluando el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de una dieta alta y baja en carbohidratos en humanos. Investigaciones realizadas con otras especies también muestran un efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento. Chakrabarty y cols. (1967) evaluaron el efecto de la ciproheptadina sobre la actividad eléctrica en el hipotálamo lateral y ventromedial de gatos. Encontraron un incremento en la amplitud y la frecuencia del electroencefalograma (EEG) en el HL después de la administración intravenosa de 2.5 y 3.0 mg/kg de ciproheptadina. Estos resultados correlacionaron con un decremento en los niveles de glucosa corporales. Sin embargo, no hubo ningún cambio en la actividad eléctrica del HVM después de la administración de ciproheptadina. Además, la ciproheptadina incrementó el consumo de alimento y el peso corporal de los animales. En roedores el efecto de la ciproheptadina es más controversial ya que se ha reportado que en dosis muy pequeñas puede ejercer una acción anoréxica (Blavet, DeFeudis y Clostre, 1982). Además existe evidencia de que hay cambios cíclicos en la conducta de ingesta de agua y alimento en ratas hembra durante su ciclo estral. En un estudio realizado por Konstandi, Dellia-Sfikaki y Varonos (1996) no se observó un incremento en el consumo de alimento después de la administración oral de ciproheptadina en ratas hembra, pero sí un incremento en el consumo de agua. Quizás la actividad antiserotonérgica de la ciproheptadina sea un factor importante para alterar el consumo de agua, ya que se ha reportado que la serotonina induce sed (Barofsky, Grier y Pradham, 1980). El efecto de la ciproheptadina sobre centros hipotalámicos también ha sido

evaluado. Oomura, Ono, Sugimori y Nakamura (1973) evaluaron el efecto de la ciproheptadina sobre los centros hipotalámicos de roedores, encontrando un incremento en la actividad de neuronas del HL y HVM, así como un efecto estimulador sobre la ingesta de alimentos. Orthen-Gambill (1988) encontró que la ciproheptadina (1.25 mg/kg, i.p.) produjo un incremento en el consumo de alimento (Purina chow) 24 horas después de la administración en ratas macho libres de alimento. Similarmente, las dosis de 0.625 mg/kg y 1.25 mg/kg de ciproheptadina, incrementaron el consumo de alimento de una dieta altamente sabrosa (leche carnation sabor vainilla) en 1, 2, 4, 6 y 24 h después de la administración. En contraste, la ciproheptadina no alteró el consumo de agua en ambos tipos de dieta. Baxter, Miller y Soroko (1970) encontraron que las dosis de 12.5 mg/kg y 25 mg/kg de ciproheptadina administradas por vía subcutánea (s.c.) incrementaron el consumo de alimento en ratas (cualquier sexo) privadas de alimento.

CAPÍTULO 3. CONTROL DE LA CONDUCTA POR ESTÍMULOS

3.1. El control de estímulos.

El objetivo que subyace al control de estímulos, es el determinar si un estímulo puede ejercer un control sobre la conducta al permitir un aprendizaje de discriminación. Un estímulo es definido como un suceso que puede ser caracterizado en al menos una dimensión ó puede estar compuesto por sucesos de diferentes modalidades (Orozco, López y Velázquez, 1998) y se dice que ejerce un control sobre la conducta de los organismos ante la presencia o ausencia del mismo. Por ejemplo, cuando las personas se encuentran manejando su vehículo, pueden avanzar o detenerse al ver el color de la luz que presenta el semáforo. El cambio en la propiedad del estímulo, en este caso el color de la luz (verde o rojo) va a propiciar un cambio en la conducta del automovilista (avanzar o detenerse).

En 1956, Gutman y Kalish (en Honig y Urcuioli, 1981) denominaron dos procesos

sin los cuales no se podría comprender el control de estímulos. El primero es la discriminación y el segundo la generalización.

3.2. Discriminación y Generalización

La discriminación es un proceso que implica hacer distinciones entre situaciones para responder apropiadamente a cada una de ellas (Young, James y Rosecrans, 2001). La discriminación ocurre cuando los organismos emiten respuestas diferenciales ante la presencia o ausencia de un estímulo; es decir, la probabilidad de una respuesta será mayor ante la presencia de un estímulo (estímulo discriminativo, ED) (Marona-Lewicka y Nichols, 1998). Por el contrario, si los organismos responden de manera similar ante estímulos que no habían sido presentados anteriormente (estímulos de prueba), se dice que hubo una generalización del estímulo. Qué tanto un estímulo de prueba puede ser generalizable al estímulo de entrenamiento, dependerá de las similitudes entre la dimensión de ese estímulo (Marx, 1976). De esta manera, se puede obtener un gradiente de generalización que es definido como una variación ordenada de una dimensión del estímulo. La respuesta del organismo ante éstas variaciones estará en función de la similitud que el estímulo de prueba guarde con el estímulo de entrenamiento (Bickel y Etzel, 1985; Marx, 1976; Willner, Sanger, Emmet y Oglesby, 1991; Katz, 1983).

En estudios de discriminación se han utilizado estímulos exteroceptivos tales como luces o tonos (John y Kleiman, 1975). La generalización se ha llevado a cabo modulando diferentes dimensiones de los estímulos como la frecuencia (Risley, 1964) y la intensidad, entre otras. Asimismo, se ha evaluado la capacidad de estímulos interoceptivos, como lo son los agentes farmacológicos en el control de estímulos. Por ejemplo, en 1964, Overton comparó la eficacia de los estímulos exteroceptivos como las señales visuales y de los efectos producidos por una droga para ejercer un control discriminativo. Como parte del diseño experimental se utilizó pentobarbital como estímulo discriminativo y se observó que la presencia

o ausencia del pentobarbital adquirió un control discriminativo, pero que una señal visual no fue un estímulo efectivo. En otro estudio realizado por Overton (1977) se encontró que la anfetamina puede servir como un ED más efectivo en comparación con estímulos exteroceptivos. Estos resultados sugieren que ciertas drogas pueden ejercer un control sobre la conducta de manera más eficaz que estímulos exteroceptivos.

De esta manera, el control de estímulos inducido por drogas ha permitido obtener una caracterización farmacológica de una gran variedad de componentes psicoactivos (Harris y Balster, 1971; Overton, 1971). Otras investigaciones se han centrado en evaluar la eficacia de las drogas sobre el control de respuesta conductual; es decir, qué tanto una droga puede ejercer el papel de estímulo discriminativo (ED) (Laties, 1975; Thompson y Pickens, 1971). La capacidad de una droga como ED ha sido probada en procedimientos de discriminación condicional, en los cuales los sujetos son entrenados a emitir una de dos respuestas alternativas en una condición de estímulos y una respuesta diferente bajo otra condición. Cuando los sujetos emiten su respuesta únicamente bajo la condición de estímulos de entrenamiento, esa condición ha adquirido un control discriminativo (Schuster y Balster, 1977).

3.3 Paradigma de Discriminación de Drogas (DD) ó Discriminación de la Intensidad de Privación de Alimento (DIPA)

Uno de los métodos más utilizados para evaluar la eficacia de las drogas como estímulo discriminativo es el paradigma de discriminación de drogas DD ó DIPA, el cual permite estudiar de manera objetiva los efectos conductuales de drogas psicoactivas (Colpaert, 1999). De ésta manera el paradigma hace uso de la capacidad de los animales para identificar distintos estados interoceptivos (señales) (Schechter, Signs y Borja, 1989) para producir una línea base conductual estable que pueda ser utilizada para investigar similitudes y diferencias dentro y entre clases de fármacos psicoactivos (Díaz y Velázquez, 2000).

El procedimiento de DD ó DIPA ha sido utilizado en una gran cantidad de especies; como humanos, primates no humanos, palomas y roedores (Glennon, 1991).

En DD ó DIPA los sujetos experimentales son entrenados a ejecutar una respuesta (presionar un operando) ante la presencia de droga y otra respuesta cuando únicamente el vehículo (salina) o una droga diferente está presente. Una vez que los animales aprenden la discriminación, se realizan pruebas en las que se evalúan otros agentes y se obtiene información sobre las semejanzas de las propiedades de ED que existen entre la droga de entrenamiento y drogas distintas (Marona-Lewicka y Nichols, 1998; Schechter y Filkenstein, 1985). De esta manera los efectos de las drogas como ED en animales, es análogo a pedirle a un sujeto humano que reporte de manera verbal los efectos producidos por un fármaco (Smith y Bickel, 2001; Oliveto, Bickel, Kamien, Hughes y Higgins, 1994; Preston y Bigelow, 1998).

Las primeras investigaciones en las que se reportaron efectos producidos por drogas fueron realizadas por Combe en 1830 (en McMillan, Sun y Hardwick, 1996) el cual reportó que el etanol podía producir un aprendizaje dependiente de estado, ya que las “sensaciones” producidas bajo el efecto de la droga permitían diferenciar situaciones específicas. En 1882, Ribot (en Laties y Weiss, 1966) determinó que las “sensaciones” podían reflejar el estado fisiológico y farmacológico del organismo convirtiéndose en poderosas determinantes de la capacidad de poder recordar o no un hecho ocurrido en un tiempo específico.

3.3.1. ¿En qué consiste el Paradigma de DD ó DIPA?

El paradigma de DD ó DIPA es un procedimiento sensible a los efectos producidos por los fármacos, en el cual los animales son entrenados a discriminar una dosis particular de una droga (droga de entrenamiento), de una dosis distinta de la droga de entrenamiento, de una droga diferente de la de entrenamiento, ó de un vehículo (Glennon, 1991; Colpaert, 1999; Overton, Leonard y Merckle, 1981; Young et al., 2001).

3.3.1.2 ¿Qué evalúa el paradigma de DD ó DIPA?

El paradigma de DD evalúa los mecanismos fisiológicos y conductuales que subyacen a la acción de los fármacos, permitiendo caracterizar sus mecanismos de acción en el SNC. En DD se toman 2 medidas esenciales: La primera es el índice de discriminación (ID), el cual es un valor derivado del número de respuestas emitidas hacia el operando de la caja experimental asociado con la droga o salina, dividido entre el número total de respuestas emitidas; el valor resultante puede expresarse como porcentaje de respuestas hacia un operando específico. El ID nos indica el grado de semejanza entre el componente de prueba y el de entrenamiento. Otra medida importante en DD es la tasa de respuesta (TR), la cual nos indica si hay un deterioro motor o en el nivel de motivación por efecto del tratamiento y es obtenido como el número de respuestas por unidad de tiempo (Solinas, Panlilio, Justinova, Yasar y Goldberg, 2006). Una vez que una droga ejerce control discriminativo, pruebas de generalización pueden ser llevadas a cabo. En esta fase, pueden ser evaluadas diferentes dosis del fármaco de entrenamiento o un fármaco diferente. La ejecución de los animales estará en función de la similitud de la droga de prueba con la droga de entrenamiento (Appel, West, Rolandi, Alici y Pechersky, 1999).

Las investigaciones concernientes al control discriminativo, han examinado la eficacia de estímulos particulares para controlar la conducta; además se han evaluado diferentes programas de reforzamiento con el fin de encontrar el procedimiento adecuado para mantener un control discriminativo eficaz (Li y McMillan, 1998).

Además de los fármacos, otros estados interoceptivos pueden ejercer un control sobre la conducta. Tal es el caso de las señales fisiológicas de hambre y saciedad, que han sido utilizadas como estímulos discriminativos en tareas de condicionamiento clásico y operante, las cuales puede aportar información

relevante sobre los mecanismos fisiológicos que subyacen a la ingesta de alimentos.

A principios de los años noventa del siglo pasado, iniciaron una serie de investigaciones para responder a la interrogante sobre si los animales son capaces de discriminar estados interoceptivos de hambre y saciedad (Schechter, 1990) tal y como ocurre con los estados interoceptivos producidos por fármacos. Todos los organismos son capaces de detectar cambios fisiológicos después de comer o cuando se está bajo un estado energético negativo (privación de alimento), porque aunque la falta de alimento o el abastecimiento de nutrientes es producido a nivel periférico todas estas señales fisiológicas son integradas en el SNC (Simansky, 1996) y de esta manera los organismos pueden guiar su conducta al hacer una interpretación de las señales fisiológicas (Benoit y Tracy, 2008).

Los primeros estudios utilizaron técnicas de condicionamiento clásico, que consistían en entrenar a ratas a discriminar diferentes niveles de privación de alimento, asociando un nivel de privación con la liberación de un choque ligero en las patas del animal, mientras que un nivel diferente de privación de alimento no tenía ninguna consecuencia. El aprendizaje de este tipo de señales fue demostrado con la conducta de freezing o congelamiento. A este procedimiento se le llamó *Discriminación de la Intensidad de Privación de Alimento ó DIPA* (Davidson, 1993). Más estudios fueron realizados utilizando este mismo paradigma, evaluando diferentes niveles de privación de alimento así como también hormonas gastrointestinales que participan en el control de la conducta de ingesta como insulina, leptina, colecistocinina (CCK), neuropéptido Y (NPY) y 2-desoxiglucosa (2-DG) (Davidson, Flynn y Jarrard, 1992; Davidson, 1993; Benoit y Davidson, 1996; Seeley, Benoit y Davidson, 1995). Estos estudios demostraron que las señales interoceptivas producidas por privación de alimento pueden ejercer un control en la conducta de los animales utilizándolas como señales discriminativas que predicen la presencia o ausencia de un choque eléctrico.

El DIPA, ha sido usado como herramienta para evaluar señales interoceptivas de hambre y saciedad como estímulo discriminativo en ratas. En DIPA el animal tiene que emplear una respuesta operante; es decir presionar un operando (usualmente una palanca) de una cámara experimental cuando se encuentre “hambriento” o con un nivel alto de privación de alimento y presionar otro operando cuando se encuentre “saciado” o con un nivel bajo de privación de alimento. Los animales obtienen reforzamiento positivo (agua con azúcar o pellets de azúcar) cuando responden en la palanca correcta asociada a cada condición. De igual forma, han sido evaluados diferentes neuroquímicos, hormonas gastrointestinales que inhiben o incrementan el consumo de alimento y fármacos con acción anorexigénica, para saber si producen un estado similar al de hambre o saciedad.

Debido a que este paradigma fue utilizado en el presente trabajo para evaluar estados interoceptivos de hambre y saciedad como estímulo discriminativo en ratas, serán descritos con mayor detalle los estudios que lo apoyan.

3.4. Generalización de neuropéptidos y agentes farmacológicos implicados en la ingesta de alimento hacia las señales fisiológicas de hambre y saciedad.

Uno de los primeros estudios para evaluar los objetivos trazados fueron llevados a cabo por Corwin, Woolverton y Schuster (1990) en el que evaluaron las señales de hambre y saciedad en un paradigma de discriminación. Entrenaron a 23 ratas en cajas de condicionamiento operante a discriminar 3 y 22 horas de privación de alimento. Los animales tenían que responder en la palanca derecha cuando estuvieran privados por 3 horas de alimento (un estado interoceptivo similar a saciedad) mientras que cuando estuvieran privadas por 22 horas de alimento (un estado interoceptivo similar al de hambre) respondían en la palanca izquierda.

En las pruebas de generalización evaluaron un agente implicado en la saciedad, la CCK y dos drogas anoréxicas (la anfetamina y la fenfluramina) para determinar si estos agentes producían un estado interoceptivo similar al de 3 horas de alimento. Se encontró efectivamente que los animales pueden discriminar estados interoceptivos de hambre y de saciedad y sólo la CCK a diferencia de la anfetamina y fenfluramina, produjo un estado similar al de saciedad (ó 3 horas de privación de alimento).

En otro estudio realizado por Schechter (1990) utilizando también una tarea de discriminación de drogas, siete ratas macho de la cepa Sprague-Dawley fueron entrenadas en cajas de de condicionamiento operante para discriminar el estado interno producido por 3 y 27 horas de privación de alimento. Tres horas de privación de alimento (o saciedad, SAT) fueron asociadas con una respuesta (RF10) en un operando, mientras que 27 horas de privación de alimento (ó “hambre”, DEP) fueron asociadas con una respuesta (RF10) en el operando contrario. Cuando los animales adquirieron el criterio de discriminación (8 de 10 sesiones consecutivas) iniciaron las pruebas de generalización en las cuales se evaluaron 1, 15, 21 y 48 horas de privación de alimento. Se consideró como palanca “seleccionada”, las diez primeras respuestas (RF10) ya fuera en la palanca de “saciedad” (SAT) o en la palanca de “hambre” (DEP) e inmediatamente después los animales fueron retirados de la cámara experimental. Las pruebas de generalización fueron llevadas a cabo mediante extinción; es decir, sin reforzamiento. Posteriormente, pruebas de generalización fueron llevadas a cabo con las drogas anoréxicas anfetamina, fenfluramina y su metabolito norfenfluramina. Cuando a los animales se les administró fenfluramina bajo la condición de “hambre” (27 h de privación) emitieron una respuesta hacia el operando asociado con “saciedad”, mientras que la anfetamina produjo respuestas hacia el operando asociado con la condición de hambre (27 h de privación de alimento). Por lo tanto, la fenfluramina produjo un estado interoceptivo similar a “saciedad” (3 h de privación de alimento).

A partir de estos estudios, hubo un gran interés por evaluar si el estado interoceptivo producido por neuropéptidos y hormonas gastrointestinales que participan en la regulación de la ingesta de alimentos, pueden mimetizar o producir un estado interoceptivo similar al de hambre y saciedad. En 1991, Jewett, Schaal, Cleary, Thompson y Levine, demostraron por primera vez que el NPY (un neuropéptido que estimula de manera potente el consumo de alimento), administrado intracerebroventricularmente (i.c.v.), es altamente discriminable de manera dosis-dependiente. De igual forma, administrando otro péptido como el péptido YY₃₋₃₆ (PYY) (70% homólogo al NPY y mucho más potente que éste), las ratas generalizaron su respuesta al operando asociado con NPY. Pero la privación de 24 y 48 horas de alimento, no se generalizó a la respuesta asociada con NPY, sugiriendo que el NPY y la privación de alimento no producen señales internas similares. En estudios más recientes administrando NPY y ghrelina dentro del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), produjeron un estado interoceptivo equivalente al de 22 horas de privación de alimento (Jewett et al., 2006). Resultados similares fueron encontrados al administrar ghrelina de manera intraperitoneal (i.p.) o intracerebroventricular (i.c.v.) en ratas privadas por 24 horas de alimento (Davidson et al., 2005), sugiriendo que la ghrelina produce consecuencias sensoriales interoceptivas similares a las producidas por 24 h de privación de alimento, siendo más marcado el efecto por vía i.c.v. que por vía i.p.

Estudios similares administrando hormonas gastrointestinales tales como la leptina y CCK por vía intracerebroventricular (i.c.v.) e intraperitoneal (i.p.) respectivamente, produjeron señales similares a las producidas por 1 hora de privación de alimento, es decir; produjeron señales similares a un estado de saciedad (Kanoski, Walls y Davidson, 2007). De estos estudios, se concluyó que los animales efectivamente pueden ser capaces de discriminar señales internas de hambre y saciedad utilizando ya sea tareas de condicionamiento clásico u operante. Actualmente la investigación se está centrando en evaluar si fármacos que inhiben o incrementan el consumo de alimento, lo hacen a través de una señal

de hambre o saciedad. Jewett y cols. (2008) administraron fármacos con acción anoréxica como la sibutramina y rimonabant a ratas entrenadas a discriminar 2 y 22 horas de privación de alimento en cajas de condicionamiento operante. Los resultados obtenidos fueron que los animales son capaces de discriminar los estados interoceptivos producidos por 2 y 22 horas de alimento. En la fase de generalización, la sibutramina alteró los efectos estímulo discriminativo producidos por 22 horas de privación de alimento; es decir, la sibutramina produjo un estado similar al de 2 horas de privación de alimento. En el caso del rimonabant, no alteró los efectos estímulo discriminativo producidos por 22 horas de privación de alimento. Sin embargo, ambas drogas decrementaron el consumo de alimento.

JUSTIFICACIÓN

El incremento en la incidencia de trastornos alimenticios como la anorexia, la bulimia nervosa y la obesidad hacen necesario realizar investigación científica seria sobre los mecanismos que subyacen a la ingesta de alimentos. Ahora bien, la investigación referente a la ingesta de alimentos y a la búsqueda de opciones farmacológicas que resulten efectivas en el tratamiento de los trastornos de alimentación se ha centrado únicamente en evaluar si los agentes farmacológicos tienen un efecto inhibitorio o incrementan la ingesta de alimentos, pero los nuevos paradigmas de investigación en farmacología conductual tal como el paradigma de Discriminación de Drogas (DD) ó Discriminación de la Intensidad de la Privación de alimento (DIPA) aplicado en las nuevas líneas de investigación sobre la conducta alimenticia ha mostrado ser una herramienta útil que permite caracterizar las propiedades de agentes farmacológicos, evaluando los estados interoceptivos producidos por los estados de hambre y saciedad como una señal importante para guiar a la conducta de ingesta. Por lo tanto, DD ó DIPA ha resultado un procedimiento efectivo para evaluar señales fisiológicas como el hambre y la saciedad, dando un estatus de control de la conducta a las señales interoceptivas. En este contexto, el objetivo principal de la presente investigación fue el de evaluar mediante DD ó DIPA las señales de hambre y saciedad como un estado interoceptivo interpretado por los animales experimentales y determinar si el efecto de fármacos serotoninérgicos que producen un incremento en la ingesta de alimento (efecto orexigénico) como la ciproheptadina o un efecto supresor en la ingesta (efecto anorexigénico) como la fluoxetina, producen señales internas similares a hambre y saciedad. El interés por evaluar los efectos de estos dos fármacos se debe a que la fluoxetina ha mostrado tener efectos moduladores en la conducta de alimentación y parece suprimir la ingesta de alimento en modelos animales y humanos, aunque no se ha evaluado el efecto que tiene sobre las señales fisiológicas de hambre y saciedad. Por su parte, la ciproheptadina ha sido utilizada para incrementar el consumo de alimento, pero tampoco se tienen datos de su efecto sobre las señales fisiológicas de hambre y saciedad.

❖ **OBJETIVOS**

- **Objetivo General:** Evaluar el efecto producido por los fármacos serotoninérgicos (fluoxetina y ciproheptadina) sobre las señales fisiológicas de hambre y saciedad producidas por 2 y 22 horas de privación de alimento en ratas.

- **Objetivos Particulares:**
 - Evaluar si la fluoxetina produce un estado interoceptivo similar a hambre o saciedad bajo las condiciones de 2 y 22 h de privación de alimento.
 - Evaluar si la ciproheptadina produce un estado interoceptivo similar a hambre o saciedad bajo las condiciones de 2 y 22 h de privación de alimento.
 - Evaluar el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento bajo las condiciones de 2 y 22 horas de privación de alimento.
 - Evaluar el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento bajo las condiciones de 2 y 22 horas de privación de alimento.

❖ **HIPÓTESIS**

- **Hipótesis general**
 - Los fármacos serotoninérgicos con efecto anorexigénico (fluoxetina) y orexigénico (ciproheptadina) podrán mimetizar el efecto de estímulo discriminativo producido por las señales interoceptivas de hambre y saciedad en ratas.

➤ **Hipótesis particulares**

- Si la fluoxetina altera (disminuye la generalización a) el efecto de estímulo discriminativo producido por 22 h de privación de alimento (condición de hambre) entonces la fluoxetina produce un estado interoceptivo equivalente al de saciedad.
- Si la ciproheptadina altera (disminuye la generalización a) el efecto de estímulo discriminativo producido por 2h de privación de alimento (condición de saciedad) entonces la ciproheptadina produce un estado interoceptivo similar al de hambre.
- Si la fluoxetina produce un efecto supresor en la ingesta de alimentos entonces reducirá el consumo de alimento después de 2 y 22 horas de acceso al alimento.
- Si la ciproheptadina produce un efecto orexigénico en la ingesta de alimentos, entonces incrementará el consumo de alimento después de 2 y 22 horas de acceso al alimento.

CAPÍTULO 4. MÉTODO

4.1. Sujetos

Se utilizaron 10 ratas macho de la cepa Wistar (experimentalmente ingenuas) con un peso aproximado de 280-350 gramos a su llegada al laboratorio, alojadas en cajas individuales, bajo un ciclo de luz- oscuridad de 12 h (con las luces encendidas a las 7:00 am y apagadas a las 7:00 pm), con alimento (pellets Purina-Chow) y agua ad libitum al inicio del experimento. Durante las fases de experimentación, las ratas fueron privadas de alimento para mantenerlas al 85 % de su peso.

4.2. Aparatos

Se utilizaron 5 cajas experimentales de condicionamiento operante de 28x22x28 cm (Lafayette, Instruments USA), con 2 palancas retráctiles localizadas a 8 cm del piso, un dispensador de líquidos localizado entre ambas palancas a 5 cm de distancia de éstas; 2 luces localizadas a 7 cm de altura desde cada palanca, un buzzer conectado a una bocina ubicado en la parte superior de la caja y una luz general. Las cajas experimentales se encontraban en compartimentos somoamortiguados, equipadas con un ventilador que generaba ruido blanco, para enmascarar los sonidos ambientales. Los eventos experimentales fueron controlados y registrados por una interfase (Med Associates inc, USA) y una computadora 486.

4.2.1 .Fármacos.

Se utilizó hidrocloreto de fluoxetina el cual fue proporcionado por la casa farmacéutica Tocris, diluido en salina isotónica al 0.9% y administrado intraperitonealmente (i.p) en dosis de 0.1, 1.0, 3.0, 5.0 y 10.0 mg/kg, en un volumen de 1 ml/kg, treinta minutos antes de las pruebas de generalización.

La ciproheptadina fue obtenida de la casa farmacéutica Tocris, fue diluida en una solución compuesta de propilenglicol al 60 % y agua inyectable al 40%, se administró en dosis de 0.1, 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg i.p, en un volumen de 1 ml/kg, treinta minutos antes de las pruebas de generalización.

4.3. Procedimiento

El experimento constó de 3 fases: de moldeamiento, de entrenamiento y de generalización.

4.3.1. Fase de Moldeamiento

La primera fase constó de 3 sesiones, durante las cuales se llevó a cabo el moldeamiento de los animales mediante el procedimiento de aproximaciones sucesivas. Las ratas fueron entrenadas a responder hacia cada uno de los

operandos de la caja experimental mediante el reforzamiento con 0.2 ml de solución sucrosa otorgado a los animales únicamente cuando se aproximaban o presionaban alguna de las palancas. Cuando los animales respondieron adecuadamente en ambas palancas fueron entrenados a responder bajo el programa de reforzamiento de razón fija (RF) que fue incrementando de manera progresiva desde RF1, RF3, RF5, RF8 hasta alcanzar RF10. Cuando las 10 ratas se mantuvieron durante 3 sesiones consecutivas respondiendo de manera correcta en RF10, inició el entrenamiento de discriminación de 2 y 22 h de privación de alimento.

4.3.2.Fase de Entrenamiento

4.3.2.1. Entrenamiento de discriminación de 2 estados alternos de privación de alimento.

Después de la fase de moldeamiento, cada animal fue asignado aleatoriamente a uno de dos grupos de 5 sujetos cada uno. Ambos grupos fueron entrenados a discriminar dos estados de privación de alimento, uno de 2 h denominado como “saciedad” y otro de 22h denominado como “hambre” en cajas de condicionamiento operante.

Así, al primer grupo se le privó por 2 h (estado de saciedad) y se entrenó a responder mediante RF 10 hacia el operando derecho cuando se encontraba bajo esta condición. Cuando se encontraba bajo 22 h (estado de hambre) su respuesta se asoció al operando izquierdo de la caja experimental. Las condiciones del segundo grupo fueron invertidas; cuando los animales se encontraban bajo 2 h de privación de alimento su respuesta se asoció al operando izquierdo y bajo el estado de 22 h de privación la respuesta era emitida en el operando derecho. Las sesiones de cada grupo duraban 30 minutos cada una y se llevaron a cabo los 7 días de la semana para mantener un control sobre las condiciones de discriminación. La secuencia de discriminación que se utilizó en el entrenamiento fue basada en el procedimiento de Colpaert et al. (1982) y las condiciones se

presentaron de manera semialeatoria evitando que los estados de privación se repitieran más de 2 veces, por ejemplo: 2, 22, 2, 2, 22, 2, 22, 22 etc. Cuando los animales alcanzaron el criterio de discriminación; es decir el 85% de respuestas emitidas en la palanca asociada a 22 h, las pruebas de generalización comenzaron.

4.3.3. Fase de generalización:

4.3.3.1. Generalización sin fármaco

Una vez alcanzado el criterio de discriminación, las ratas fueron sujetas a sesiones prueba constituidas por horas intermedias de privación de alimento de 2, 5, 6.20, 11.10 y 22, con el fin de evaluar si los animales respondían a estos estados interoceptivos de prueba de forma similar a “hambre” o “saciedad”. En esta fase, sólo se registraron las primeras diez respuestas emitidas (RF10) en cualquier operando de la cámara experimental. Posteriormente, las luces de la caja experimental se apagaban indicando que la sesión experimental había finalizado y los animales eran retirados inmediatamente. El orden en el que fueron evaluadas las horas de privación de alimento de prueba, fue de manera semialeatoria y fueron interpuestas sesiones de entrenamiento entre cada hora de prueba para asegurar que el criterio de discriminación se siguiera manteniendo. A diferencia de la fase de entrenamiento, las respuestas emitidas en cualquier operando de la caja experimental no tuvieron como consecuencia la liberación del reforzador.

4.3.3.2. Generalización con fármaco

El estímulo interoceptivo producido por fluoxetina y ciproheptadina fue evaluado para saber si los animales lo reportaban de manera similar a un estado de “hambre” o “saciedad”. Para ello, la fluoxetina en dosis de 0.1, 1.0, 3.0, 5.0 y 10.0 mg/kg i.p fue administrada treinta minutos antes de cada sesión experimental. Como en la fase de generalización cuantitativa, sólo se tomaron las primeras diez respuestas emitidas en cualquiera de los operandos como respuesta.

Posteriormente, las luces de las cajas operantes se apagaban indicando el término de la sesión y los animales eran retirados inmediatamente. El procedimiento fue el mismo al evaluar diferentes dosis de ciproheptadina (0.1, 1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg i.p). Las diferentes dosis de fluoxetina y ciproheptadina fueron administradas en orden semialeatorio y ambos fármacos fueron evaluados bajo la condición de “hambre” y “saciedad”. Entre cada dosis de fármaco, fueron interpuestas sesiones de entrenamiento para asegurar que el criterio de discriminación se siguiera manteniendo. De igual forma, las respuestas emitidas en cualquier operando no tuvieron como consecuencia la liberación del reforzador.

4.4. Registro de consumo de agua y alimento

Se registró el consumo de agua y alimento de los animales durante la fase de entrenamiento y después de la fase de generalización con fluoxetina y ciproheptadina. El objetivo de registrar el consumo de alimento fue para corroborar el efecto inhibitorio de la fluoxetina y estimulador de la ciproheptadina sobre la ingesta de alimentos. Para ello, fueron colocados 200 gramos de alimento en el comedero de las cajas “hogar” de los animales y 200 ml de agua en botellas graduadas al finalizar la sesión experimental. El registro de consumo de agua y alimento se realizó bajo las condiciones de 2 y 22 h de privación de alimento. Los datos fueron obtenidos al restar la cantidad que consumieron los animales de los 200 gr de alimento y los 200 ml de agua que se les proporcionó al término de la sesión experimental.

4.5. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en las diferentes fases experimentales fueron el índice de discriminación (ID) y la tasa de respuesta (TR). El ID es obtenido como el total de respuestas hacia la palanca correcta entre las respuestas totales emitidas en ambas palancas. La TR es el número de respuestas por segundo. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar.

La ejecución de los animales en la fase de entrenamiento de discriminación de 2 y 22 h de privación de alimento fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías cuyos factores fueron las sesiones de entrenamiento y las condiciones de discriminación (hambre y saciedad).

Los datos de la fase de generalización cuantitativa (horas intermedias de privación de alimento) fueron analizados con un ANOVA de medidas repetidas de una vía, teniendo como factor las diferentes horas de privación de alimento. Similarmente, los datos de la fase de generalización cualitativa (fluoxetina y ciproheptadina) fueron analizados con un ANOVA de medidas repetidas de una vía, teniendo como factor las dosis de cada fármaco. Los datos obtenidos del registro de ingesta de agua y alimento se analizaron con un ANOVA de medidas repetidas de una vía comparando el efecto de las diferentes dosis de fármaco sobre el consumo de agua y alimento durante 2 y 22 h de privación de alimento. Cuando se encontraron diferencias con una $P < 0.05$, se realizó la prueba post hoc de Dunnett para determinar las dosis en las que hubo diferencias significativas respecto al grupo control. Los datos fueron analizados con el programa de análisis estadístico GraphPad Prism versión 5.0 para Mac OS X, 2009.

Se descartaron los datos de 2 ratas en el análisis estadístico para la fase de generalización con fármaco y del consumo de agua y alimento, debido a que uno de los animales desarrolló preferencia hacia uno de los operandos de la cámara experimental y otro murió y no completó todas las dosis de prueba en la fase de generalización.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

5.1. Entrenamiento de discriminación de 2 y 22 h de privación de alimento

La figura 7 muestra la ejecución de los animales ($n=10$) en el entrenamiento de discriminación de 2 y 22 h de privación de alimento, se puede observar que en promedio los animales alcanzaron el criterio de discriminación alrededor de las 80 sesiones de entrenamiento, 40 sesiones para la condición de 2 h (saciedad) y 40 sesiones para la condición de 22 h (hambre). Se encontraron diferencias significativas en el índice de discriminación bajo 2 y 22 h [$F_{(1,9)}=2253.151$, $P<0.001$] (ver figura 7). El número de sesiones requeridas por cada sujeto para alcanzar el criterio de discriminación es mostrado en la tabla 3. La figura 8 muestra la tasa de respuesta en la fase de entrenamiento. No se encontraron diferencias significativas bajo las 2 y 22 h de privación de alimento [$F_{(1,9)}=.6728$, $P=0.4333$] (ver figura 2).

Índice de discriminación bajo 2 y 22 h de privación de alimento.

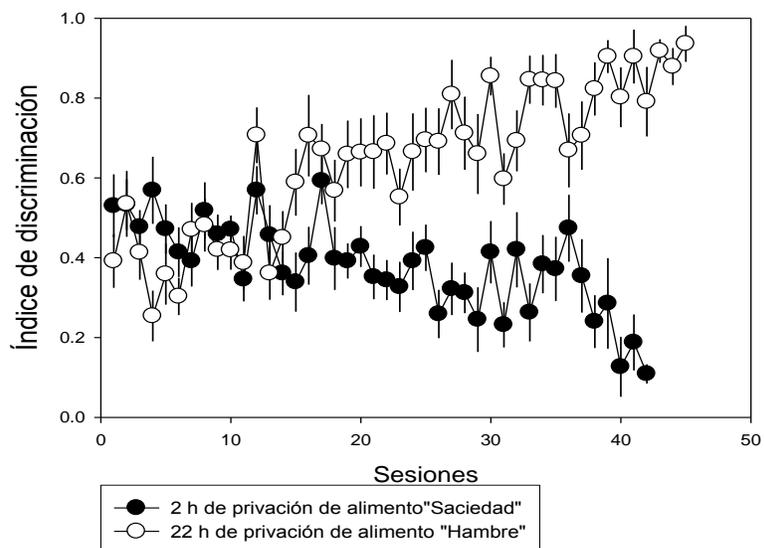


Figura 7. Muestra el índice de discriminación bajo 2 y 22 h de privación a lo largo de las sesiones de entrenamiento. Los círculos cerrados representan la condición de "Saciedad" y los círculos abiertos la condición de "Hambre". En las ordenadas se muestra el porcentaje de respuestas hacia la palanca asociada con 22h de privación de alimento. En las abscisas se muestran las sesiones de entrenamiento.

Rata	Número de sesiones
1	70
2	80
3	70
4	85
5	80
6	88
7	78
8	70
9	66
10	65

Tabla 3. Muestra el número de sesiones en el que cada rata alcanzó el criterio de discriminación (85 % de respuestas correctas asociadas a cada condición de entrenamiento) durante 5 sesiones consecutivas.

Tasa de respuesta bajo 2 y 22 h de privación de alimento

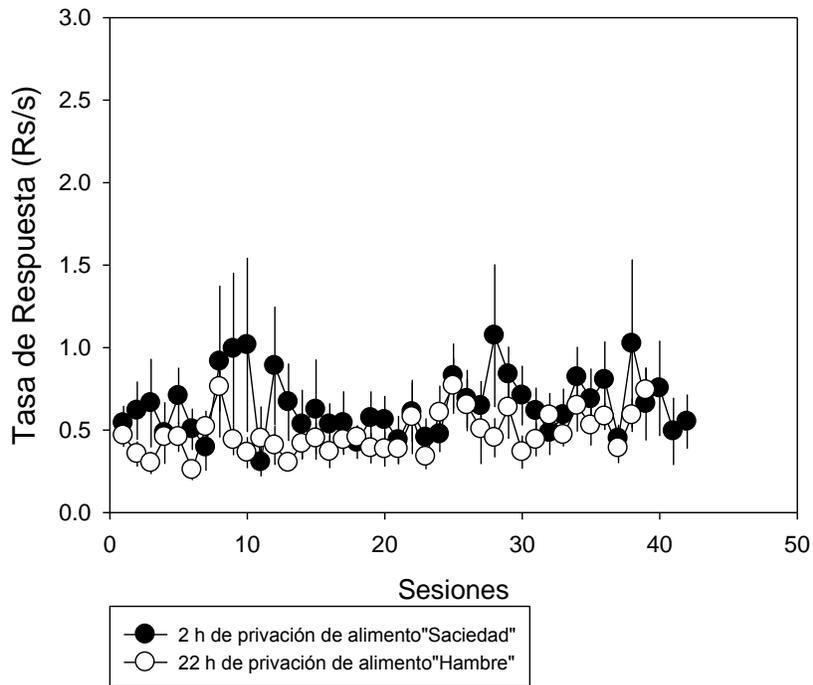


Figura 8. Muestra la tasa de respuesta de los animales a lo largo de las sesiones de entrenamiento bajo 2 y 22 h de privación de alimento. En el eje de las ordenadas se muestra la tasa de respuesta (respuestas/segundo). En el eje de las abscisas se muestran las sesiones de entrenamiento. La condición de "hambre" es representada por los círculos abiertos, mientras que la condición de "saciedad" es representada por los círculos cerrados.

5.2. Generalización sin fármaco (Horas intermedias de privación de alimento)

La figura 9 muestra la respuesta de los animales (n=10) en la fase de generalización cuantitativa (horas intermedias de privación de alimento), se puede observar que la ejecución de los animales fue una función directa de las horas de privación (2, 5, 6:20, 11:10 y 22 h) . El ANOVA de una vía de medidas repetidas mostró diferencias significativas en el factor horas de privación de alimento [$F_{(4,36)}=7.7620$, $P=.00013$]. Una prueba post hoc de Dunnett, encontró que 11:10 y 22 h de privación de alimento fueron estadísticamente significativas con respecto a la condición control de 2 h de privación de alimento ($P<0.05$), mientras que 2, 5 y 6:20 h fueron estadísticamente significativas con respecto a la condición control de 22 h ($P<0.05$). Las figuras 10A y 10B muestran la tasa de respuesta de los animales, bajo la condición de saciedad y de hambre. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la ejecución de los animales bajo las diferentes horas de privación, con respecto a las condiciones control (saciedad y hambre) [$F_{(4,36)}=0.7074$, $P=0.5922$].

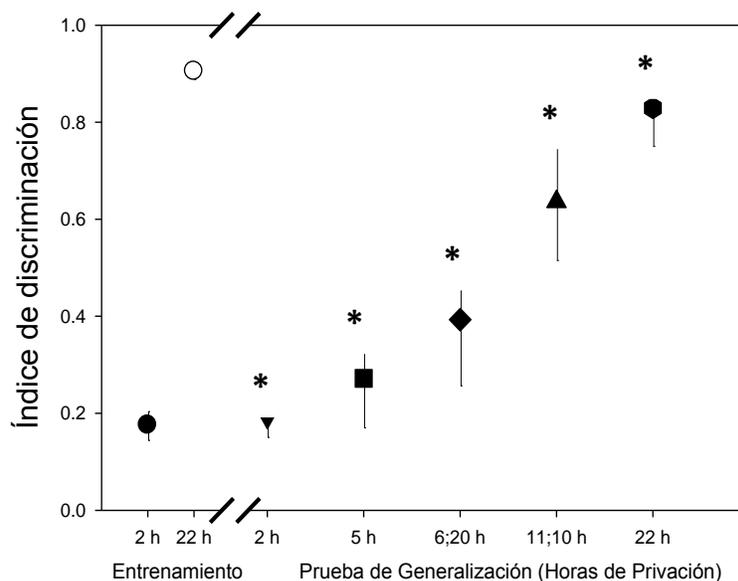
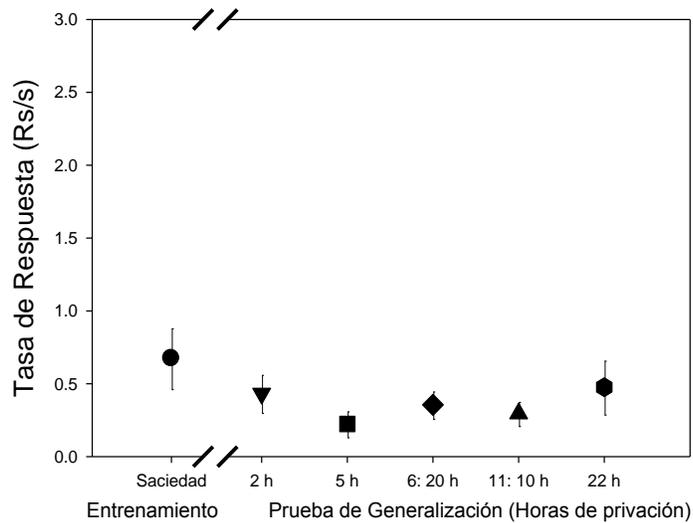


Figura 9. Gradiente de generalización al evaluar diferentes horas de privación de alimento. En el eje de las ordenadas se presenta el porcentaje de respuestas asociado a la palanca de 22 h, el de las abscisas presenta la condición de saciedad (círculo cerrado), condición de hambre (círculo abierto) y las diferentes horas de privación de alimento; 2h (triángulo invertido), 5 h (cuadrado), 6:20 h (rombo) 11:10 h (triángulo) y 22 h (hexágono).

Efecto de las horas intermedias de privación de alimento sobre la tasa de respuesta.

A.



B.

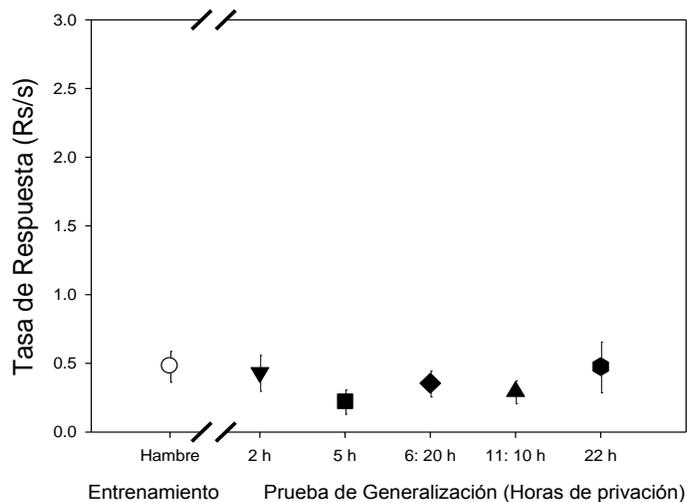


Figura 10. Muestra la tasa de respuesta en la fase de generalización sin fármaco (horas intermedias de privación de alimento) comparada con la condición de saciedad (A) y la condición de hambre (B). En ambas gráficas las ordenadas presentan el número de respuestas por segundo. En las abscisas se presenta la condición de saciedad (círculo cerrado), condición de hambre (círculo abierto) y las diferentes horas de privación de alimento; 2h (triángulo invertido), 5 h (cuadrado), 6:20 h (rombo) 11:10 h (triángulo) y 22 h (hexágono).

5.3. Generalización con fármaco: Fluoxetina

La figura 11A muestra la ejecución de los animales ($n=8$) durante la prueba de generalización con fluoxetina bajo la condición de saciedad. Se puede observar que independientemente de las dosis evaluadas, la fluoxetina no alteró el efecto de estímulo discriminativo producido por las 2 h de privación de alimento y a partir de la dosis de 5 mg/kg se observa una mayor estabilidad en la respuesta. El ANOVA de una vía indicó que el factor dosis no difirió de manera significativa con respecto a la condición control de saciedad [$F_{(6,42)}=0.8343$, $P=0.5504$]. La figura 11B muestra el efecto de la fluoxetina bajo la condición de hambre ($n=8$), se puede observar una generalización parcial hacia la condición de saciedad, las dosis bajas (0.1 y 1.0 mg/kg) no alteraron el efecto de estímulo discriminativo producido por la condición de hambre. Sin embargo, con la dosis de 3.0 mg/kg se puede observar una tendencia hacia la condición de saciedad; las dosis altas (5.0 y 10.0 mg/kg) produjeron una generalización parcial hacia la condición de saciedad. El ANOVA de una vía mostró diferencias significativas entre las diferentes dosis y la condición de hambre [$F_{(6,42)}=4.358$, $P=0.0017$]. La prueba post hoc de Dunnett reveló que la dosis de 10.0 mg/kg resultó significativa con respecto a la condición de hambre $P < 0.05$ (ver figura 12). Las figuras 11C y 11D muestran la tasa de respuesta de los animales evaluados bajo las condiciones de saciedad y hambre con las diferentes dosis de fluoxetina. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de respuesta bajo ambas condiciones de prueba; saciedad [$F_{(6,42)}=1.351$, $P=0.2567$] y hambre [$F_{(6,42)}=0.6802$, $P=0.6664$] con las diferentes dosis evaluadas.

Generalización con Fluoxetina bajo 2 y 22 h de privación de alimento.

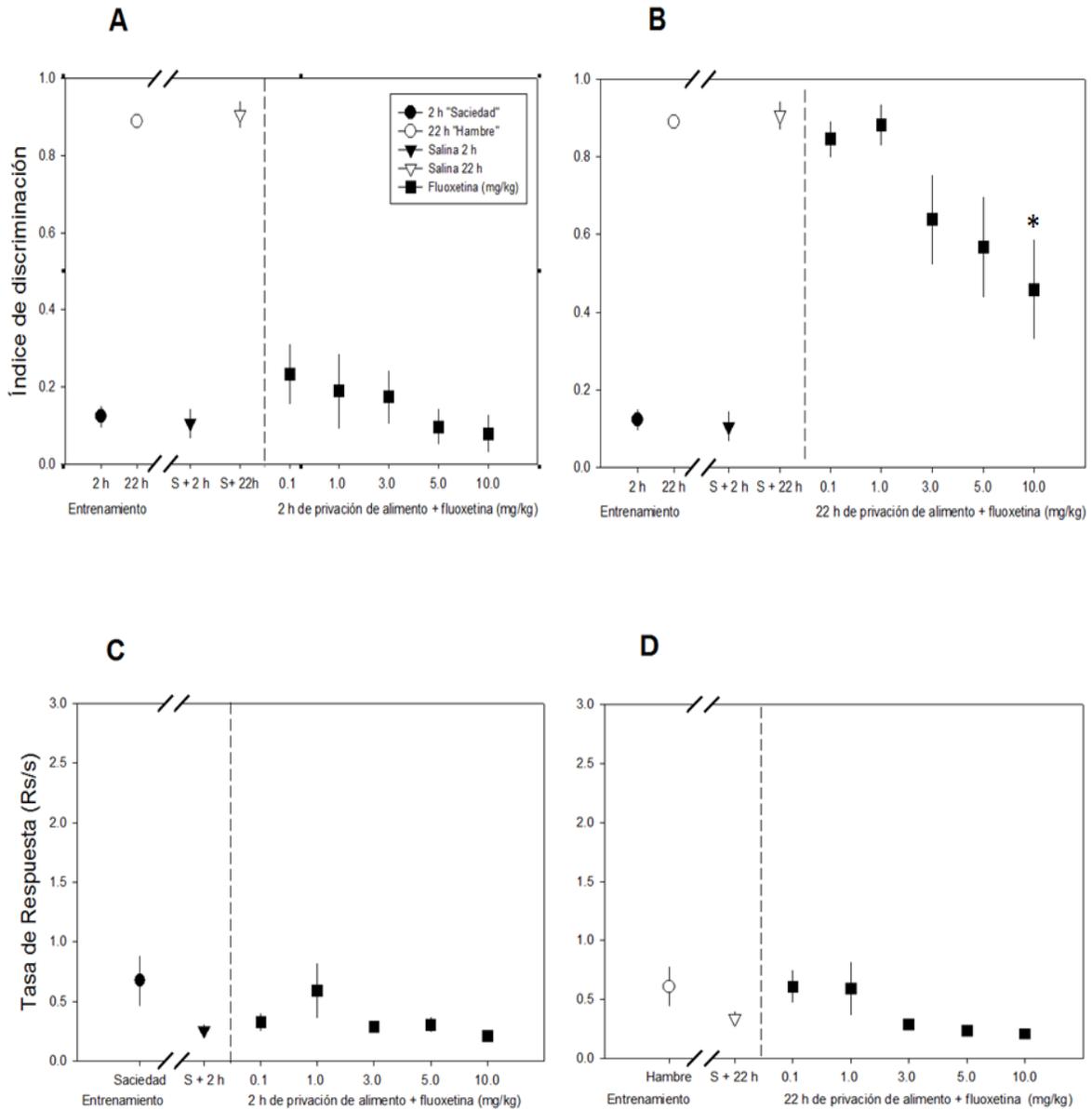


Figura 11. Muestra la ejecución de los sujetos en una prueba de generalización con diferentes dosis de fluoxetina bajo la condición de “saciedad” (A) y “hambre” (B). El efecto de las diferentes dosis de fluoxetina sobre la tasa de respuesta (respuestas por segundo) bajo la condición de “saciedad” y “hambre” es mostrado en los paneles C y D respectivamente. Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

5.4. Generalización con fármaco: Ciproheptadina

La figura 12A muestra el efecto de las diferentes dosis de ciproheptadina en la prueba de generalización bajo la condición de saciedad (n=8), las dosis bajas (0.1 y 1.0 mg/kg) no alteraron el efecto de estímulo discriminativo producido por 2 h de privación de alimento, pero se puede observar que las dosis altas produjeron una generalización parcial hacia la condición de hambre. El ANOVA de una vía mostró diferencias significativas entre las dosis de ciproheptadina respecto a la condición control (2 h de privación de alimento) [$F_{(5,35)}=4.083$, $P=0.0050$]; es decir las dosis de fármaco alteraron el efecto de estímulo discriminativo producido por la condición de saciedad, la prueba post hoc de Dunnett reveló diferencias significativas con las dosis de 10.0 mg/kg respecto a la condición control de saciedad ($P<0.005$). La figura 12B muestra el efecto de la ciproheptadina en la prueba de generalización bajo la condición de hambre (n=8). Se puede observar que independientemente de la dosis administrada, la ciproheptadina produjo un estado interoceptivo similar al de hambre. El ANOVA de una vía de medidas repetidas indicó que el factor dosis no mostró diferencias significativas entre el efecto producido por las diferentes dosis de ciproheptadina respecto a la condición control de hambre, por lo tanto ninguna de las dosis de ciproheptadina alteró el efecto de estímulo discriminativo producido por la condición de hambre. [$F_{(5,35)}=1.408$, $P=0.2455$]. Las figuras 12C y 12D muestran el efecto de la ciproheptadina en la tasa de respuesta de los animales bajo las condiciones de saciedad y hambre respectivamente. Se puede observar que la ciproheptadina (independientemente de las dosis) no alteró la tasa de respuesta bajo la condición de saciedad [$F_{(5,35)}=2.218$, $P=0.0744$] y la de hambre [$F_{(5,35)}=0.5742$, $P=0.7193$].

Generalización con Ciproheptadina bajo 2 y 22 h de privación de alimento.

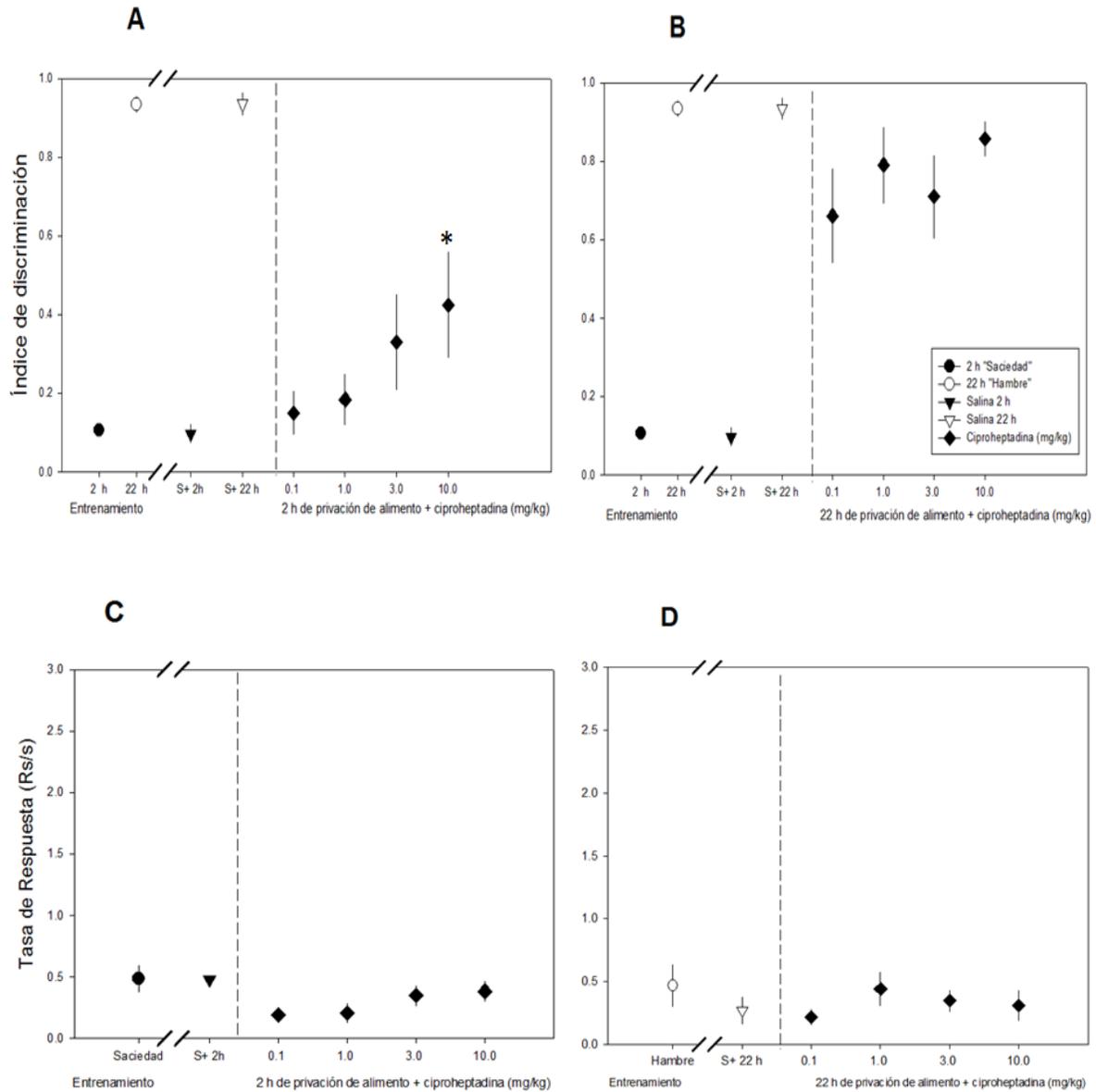


Figura 12. Muestra la ejecución de los animales en la prueba de generalización con diferentes dosis de ciproheptadina (mg/kg) bajo la condición de saciedad (A) y hambre (B). Se muestra el efecto de la Ciproheptadina sobre la tasa de respuesta (respuestas por segundo) de los animales bajo las condiciones de saciedad (C) y hambre (D). Diferencias significativas son representadas con asteriscos ($p < 0.05$).

5.5. Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento y agua bajo 2 y 22 h de privación de alimento

La figura 13 muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento bajo 2 h de privación de alimento (n=8), el ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre el efecto de la fluoxetina y la condición control [$F_{(5,35)}=9.504$, $P<0.0001$] se puede observar que únicamente la dosis más alta (10.0 mg/kg) decrementó el consumo de alimento. La prueba post hoc de Dunnett confirmó que la dosis de 10.0 mg/kg redujo de manera significativa el consumo de alimento respecto a la condición control ($P<0.05$).

La figura 14 muestra el consumo de alimento bajo 22 h de privación de alimento, después de la administración de fluoxetina (n=8), se puede observar que todas las dosis de fluoxetina decrementaron el consumo de alimento [$F_{(5,35)}=29.11$, $P<0.0001$]. La prueba post hoc de Dunnett reveló diferencias significativas con todas las dosis de fluoxetina respecto a la condición control ($P<0.05$). La figura 15 muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua bajo 2 h privación de alimento (n=8), se puede observar que las dosis de 1.0 y 3.0 redujeron el consumo; mientras que las dosis altas (5.0 y 10.0 mg/kg) no alteraron la condición control, el ANOVA de una vía mostró diferencias entre las dosis de fármaco y la condición control [$F_{(5,35)}=14.76$, $P<0.0001$], la prueba post hoc de Dunnett reveló que las dosis bajas (1.0 y 3.0) redujeron de manera significativa el consumo de agua ($P<0.05$). La figura 16 muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua bajo 22 h de privación de alimento (n=8). Se puede observar que las dosis bajas de 0.1 y 3.0 mg/kg redujeron el consumo de agua, y que las dosis altas (5.0 y 10.0 mg/kg) produjeron un incremento en el consumo. El ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre las diferentes dosis y las condición control [$F_{(5,35)}=15.96$, $P<0.0001$]. La prueba post hoc de Dunnett confirmó que las dosis bajas (0.1 y 3.0) decrementaron de manera significativa el consumo de agua ($P<0.05$).

Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento bajo la condición de saciedad

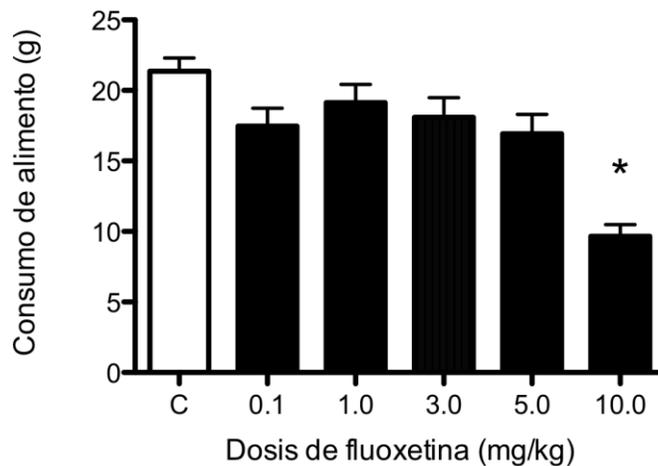


Figura 13. Muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento (“saciedad”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de alimento (g). En las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de fluoxetina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos($p<0.05$).

Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de alimento bajo la condición de hambre

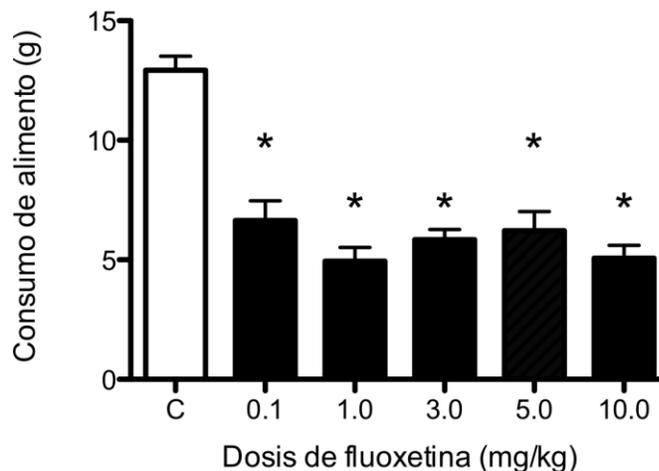


Figura 14. Muestra el efecto de la fluoxetina sobre el de consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 22 h de alimento (“hambre”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de alimento (g). En las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de fluoxetina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p<0.05$)

Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua bajo la condición de saciedad

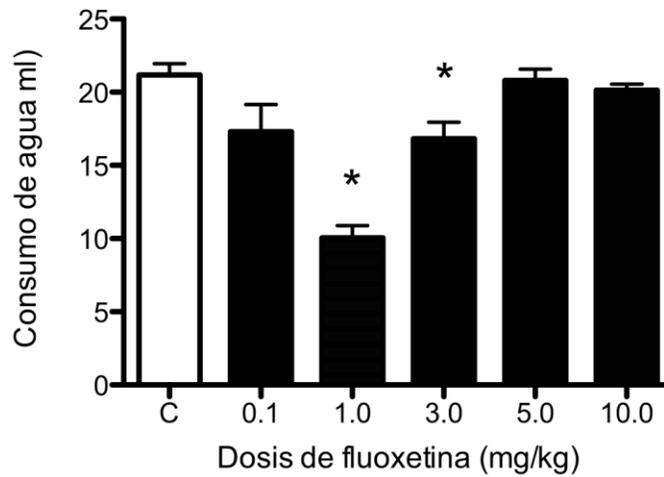


Figura 15. Muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua durante 2 h de privación de alimento (“saciedad”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de agua (ml). En las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de fluoxetina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

Efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua bajo la condición de hambre

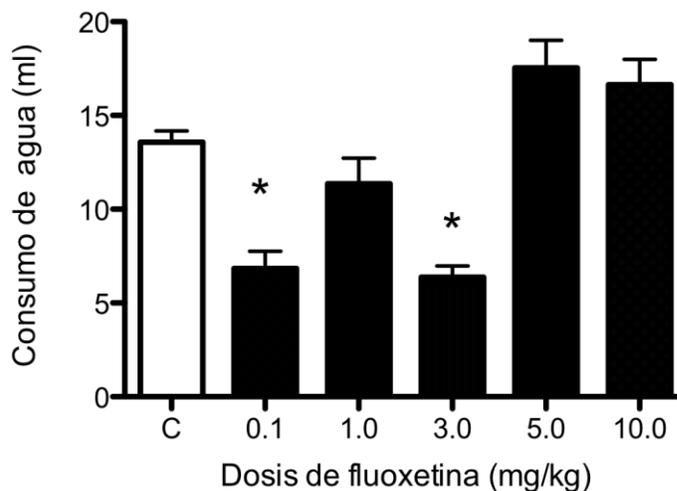


Figura 16. Muestra el efecto de la fluoxetina sobre el consumo de agua durante 22 h de privación de alimento (“hambre”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de agua (ml). En las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de fluoxetina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

5.6. Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento y agua bajo 2 y 22 h de privación de alimento.

La figura 17 muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento. Se observó que la ciproheptadina incrementó el consumo de alimento. El ANOVA de una vía de medidas repetidas encontró diferencias significativas en el factor dosis [$F_{(4,28)}=48.02$, $P<0.0001$]. Una prueba post hoc de Dunnett reveló que las dosis más altas de ciproheptadina (1.0mg/kg, 3.0 mg/kg y 10.0 mg/kg) incrementaron de manera significativa el consumo de alimento con respecto a la condición control ($P<0.05$). Mientras que la dosis más pequeña de ciproheptadina (0.1mg/kg) redujo de manera significativa el consumo de alimento comparado con la condición control ($P< 0.05$).

La figura 18 muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento cuando los animales ($n= 8$) fueron privados por 22 h de alimento, se puede observar que las dosis bajas (0.1 y 1.0 mg/kg) decrementaron el consumo de alimento, y que las dosis altas produjeron el efecto contrario (3.0 y 10.0 mg/kg). El ANOVA de una vía de medidas repetidas, encontró diferencias significativas en el factor dosis [$F_{(4,28)}= 134.1$, $P< 0.0001$]. Una prueba post hoc de Dunnett confirmó que las dosis más pequeñas (0.1 mg/kg y 1.0 mg/kg) redujeron de manera significativa el consumo de alimento con respecto a la condición control ($P< 0.05$). En contraste, las dosis más altas (3.0 mg/kg y 10.0 mg/kg) incrementaron el consumo de alimento con respecto a la condición control ($P<0.05$) (ver figura 18). La figura 19 muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento. Se observó que la ciproheptadina también alteró el consumo de agua con respecto a la condición control. El ANOVA de una vía de medidas repetidas, encontró diferencias significativas en el factor dosis [$F_{(4,28)}= 24.25$, $P< 0.0001$]. Una prueba post hoc de

Dunnett reveló que la dosis de 1.0 mg/kg de ciproheptadina redujo de manera significativa el consumo de agua con respecto a la condición control ($P < 0.05$). En contraste, la dosis de 3.0 mg/kg de ciproheptadina incrementó de manera significativa el consumo de agua con respecto a la condición control ($P < 0.05$). La figura 20 muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua cuando los animales fueron privados por 22 h de alimento. Se observó que la ciproheptadina alteró el consumo de agua con respecto a la condición control. El ANOVA de una vía de medidas repetidas encontró diferencias significativas en el factor dosis [$F_{(4,28)} = 53.54$, $P < 0.05$]. Una prueba post hoc de Dunnett reveló que las dosis más pequeñas (0.1 mg/kg y 1.0 mg/kg) redujeron de manera significativa el consumo de agua con respecto a la condición control ($P < 0.05$). En contraste, con la dosis de 3.0 mg/kg incrementó significativamente el consumo de agua con respecto a la condición control ($p < 0.05$).

Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento bajo la condición de saciedad

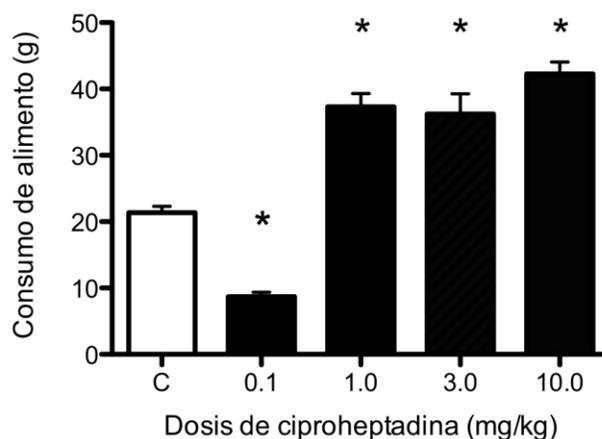


Figura 17. Muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento (“saciedad”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de alimento (g), mientras que en las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de ciproheptadina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento bajo la condición de hambre

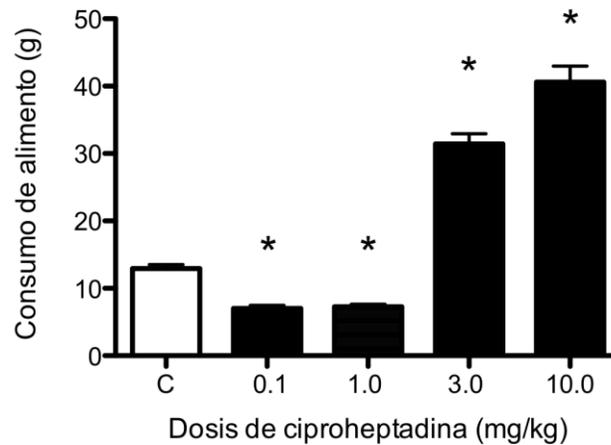


Figura 18. Muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 22 h de alimento (“hambre”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de alimento (g), mientras que en las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de ciproheptadina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua bajo la condición de saciedad

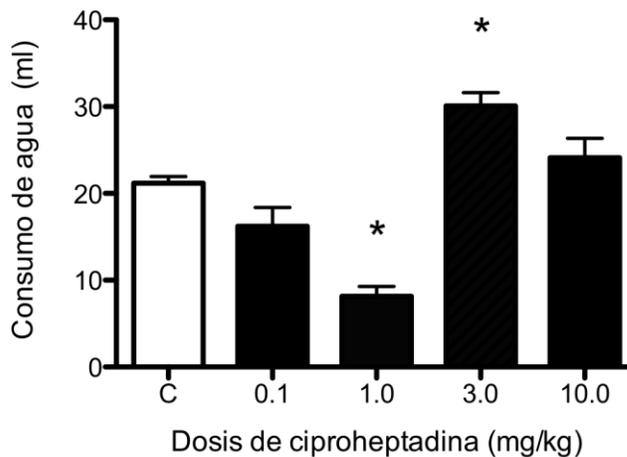


Figura 19. Muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento (“saciedad”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de agua (ml), mientras que en las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de ciproheptadina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

Efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua bajo la condición de hambre

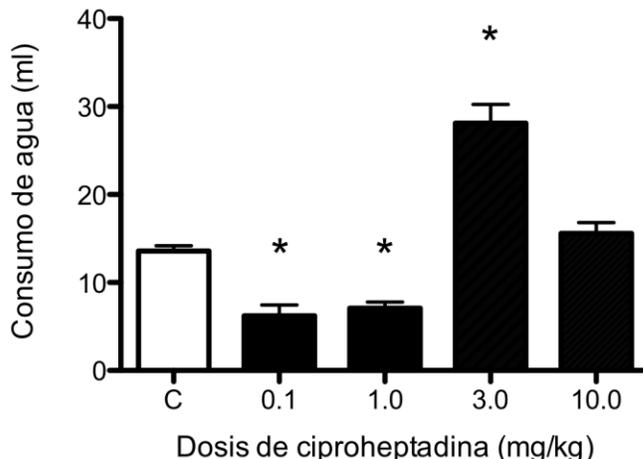


Figura 20. Muestra el efecto de la ciproheptadina sobre el consumo de agua cuando los animales fueron privados por 22 h de alimento (“hambre”). En las ordenadas se presenta el consumo promedio de alimento (ml), mientras que en las abscisas se presenta la condición control (barra abierta) y las dosis de ciproheptadina (mg/kg, barras cerradas). Diferencias significativas son representadas por asteriscos ($p < 0.05$).

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los animales fueron capaces de discriminar el estado interoceptivo producido por 2 y 22 horas de privación de alimento en una tarea de discriminación de drogas (ver figura 1). Estos resultados apoyan la idea de que la privación de alimento o su ausencia producen señales internas confiables que permiten controlar la conducta del organismo (Davidson, 1992; Benoit y Tracy, 2008). La respuesta de los animales fue una función directa de las horas de privación de alimento. Así cuando los animales fueron evaluados bajo el estímulo interoceptivo producido por 2, 5 y 6.20 h de privación de alimento, los animales generalizaron su respuesta hacia el estado interoceptivo producido por 2h (saciedad), mientras que el estímulo interoceptivo producido por 11.10 y 22 h de privación de alimento, fue similar al producido por 22 h (hambre) de entrenamiento (ver figura 3).

Estos hallazgos concuerdan con lo reportado por Orozco y cols. (1993) y Davidson (1993) en los cuales se refiere que mientras más se asemeje el estímulo de prueba al estímulo de entrenamiento, el animal responderá de manera similar. Resultados similares fueron encontrados en un estudio previo realizado por Schechter (1990), sólo que a diferencia del presente, entrenaron a ratas a discriminar 3 y 27h de privación de alimento y en la fase de generalización evaluaron 1, 15, 21 o 48 horas de privación de alimento.

En el presente trabajo, los animales adquirieron el criterio de discriminación en 80 sesiones (40 sesiones bajo la condición de hambre y 40 sesiones para la condición de saciedad). En el estudio realizado por Schechter (1990), los animales adquirieron el criterio de discriminación en 60 sesiones (30 para saciedad y 30 para hambre). Resultados similares fueron encontrados en un estudio realizado por Corwin y cols. (1990) sólo que a diferencia del presente estudio, utilizaron como estímulo discriminativo 3 y 22 horas de privación de alimento y los animales alcanzaron el criterio de discriminación en un promedio de 96 sesiones de entrenamiento (48 sesiones para 3h y 48 sesiones para 22 h de privación de alimento). Pero a diferencia del presente estudio, los animales fueron entrenados a discriminar bajo un programa de reforzamiento de RF 20.

En un estudio realizado por Jewett y cols. (2006) entrenaron a ratas como en el presente trabajo, a discriminar 2 y 22 h de privación de alimento en cajas de condicionamiento operante. Los animales lograron alcanzar el criterio de discriminación en 56 sesiones en promedio (28 sesiones para cada condición). En un estudio más reciente, Jewett y cols. (2008) los animales alcanzaron el criterio de discriminación en 82 sesiones, similar al número de sesiones requeridas para alcanzar el criterio de discriminación en el presente estudio.

Utilizando un procedimiento distinto al usado típicamente en estudios de discriminación de drogas, Davidson y cols. (2005) entrenaron a ratas a discriminar 1 h y 24 h de privación de alimento mediante la aproximación a un comedero o

magazine (como indicador de conducta apetitiva). Los animales fueron reforzados con pellets de sucrosa (45 mg) y requirieron 58 sesiones de entrenamiento bajo cada condición. En un estudio similar realizado por Kanoski y cols. (2007) los animales fueron capaces de discriminar los estados interoceptivos producidos por 1 h y 24 h de privación de alimento. En este estudio se requirieron de 80 sesiones de entrenamiento (40 sesiones bajo cada condición).

Estos datos muestran que una vez que los animales fueron capaces de discriminar de manera efectiva las señales fisiológicas de hambre y saciedad, en este estudio pudimos evaluar el efecto de fármacos con acción anoréxica u orexigénica, para determinar si el efecto producido en el consumo de alimento es regulado a través de señales fisiológicas de hambre o saciedad. Sin embargo, el papel que juegan agentes neuroquímicos en la conducta de ingesta han sido evaluados previamente para conocer los mecanismos fisiológicos que los subyacen, como la ghrelina (Davidson et al., 2005; Jewett et al., 2006), leptina y CCK (Kanoski et al., 2007), NPY (Jewett et al., 1991; Jewett et al., 2006) y fármacos que producen una potencial pérdida de peso como en el caso de la anfetamina y la fenfluramina (Corwin et al., 1990; Schechter, 1990). De la diversidad de agentes evaluados utilizando horas de privación de alimento como estímulo discriminativo se ha encontrado que efectivamente estos neuroquímicos pueden mimetizar las señales de hambre y saciedad. Sin embargo se ha encontrado que algunos agentes implicados en la ingesta de alimentos como NPY, y fármacos como la anfetamina y el rimonabant no producen señales similares a las de hambre y saciedad (Corwin et al., 1990; Jewett et al., 2008). Las diferencias entre los datos de este estudio y los de investigaciones previas, pueden deberse a que la alteración en el consumo es producida por un mecanismo diferente al de hambre y saciedad. No obstante en este estudio los resultados obtenidos muestran que la fluoxetina produjo un estado interoceptivo similar al de saciedad cuando los animales se encontraban privados de alimento por 2h. Esto indica que la fluoxetina produjo una señal similar a la señal fisiológica de saciedad en la que

se encontraban los animales. Bajo la condición de 22 h la fluoxetina (0.5 y 10.0 mg/kg) produjo un estado interoceptivo parcialmente similar al de saciedad, apoyando la hipótesis de que la fluoxetina ejerce su acción anoréxica al producir saciedad en ratas.

Como parte de la fase experimental, se registró el consumo de agua y alimento durante la administración de fluoxetina, los resultados mostraron que el fármaco alteró el consumo de agua y alimento durante la fase de generalización. Se encontró que la fluoxetina decremento el consumo de alimento de manera significativa cuando los animales fueron privados por 22 h de acceso a la comida (Ver figura 14). Resultados similares fueron hallados por Cooper y cols. (1989) quien encontró que dosis de 3.0 a 10.0 mg/kg de fluoxetina redujeron significativamente el consumo de alimento en ratas con alimentación libre. Otros investigadores observaron una reducción del consumo de alimento producida por la dosis de 10.0 mg/kg de fluoxetina (Stein et al., 1978; Halford y Blundell, 1996). Mientras que Heisler y cols. (1996) encontraron que la fluoxetina en dosis de 5.0, 10.0 y 15.0 mg/kg redujeron de manera significativa el consumo calórico en ratas después de 2, 4, 6 y 24 h postinyección. Estos datos sugieren que la fluoxetina produce un efecto anoréxico después de su administración en animales con alimentación libre en un rango de dosis de 3.0-15.0 mg/kg. Sin embargo nuestros resultados mostraron que las dosis bajas (0.1 y 1.0) también redujeron de manera significativa el consumo de alimento en comparación con la condición control (Ver figuras 13 y 14). Luo y Li (1989) evaluaron el consumo de alimento después de la administración de 2.0 mg/kg de fluoxetina encontrando una reducción significativa en el consumo después de 1 y 2 h de acceso al alimento. Cuando los animales tuvieron acceso al alimento por 22 h únicamente la dosis más alta de fluoxetina (10.0 mg/kg) redujo de manera significativa el consumo de alimento. Estos resultados apoyan las investigaciones previas en las que se administraron dosis similares de fluoxetina, como en el estudio realizado por Goudie y cols. (1976) quienes administraron 10 mg/kg de fluoxetina y encontró un efecto anoréxico

después de 18 h de privación de alimento. McBride (1987) evaluó 5.0 y 10.0 mg/kg de fluoxetina y encontró que después de 2 y 24 h de acceso al alimento la dosis de 10.0 mg/kg redujo significativamente el consumo de alimento. Estos datos en conjunto apoyan los resultados de esta investigación, confirmando que la fluoxetina en dosis de 10.0 mg/kg produce un efecto anoréxico posiblemente debido al incremento en la liberación de 5-HT.

La investigación concerniente al efecto de la fluoxetina sobre la ingesta de agua ha sido escasa. Sin embargo, en el presente estudio se observó que la fluoxetina alteró el consumo de agua. Se observó que cuando los animales fueron privados por 22 h de alimento, las dosis de 0.1 y 3.0 mg/kg de fluoxetina decrementaron de manera significativa el consumo de agua. McBride y cols. (1987) observaron que al administrar 5.0 y 10.0 mg/kg de fluoxetina se redujo el consumo de agua después de 30 min, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, sin embargo cuando los animales tuvieron acceso al agua por 2 h, el decremento en el consumo de agua si resultó estadísticamente significativo. En ésta investigación, cuando los animales fueron privados por 2h, la fluoxetina en dosis de 1.0 mg/kg y 3.0 mg/kg redujeron significativamente el consumo.

La ciproheptadina produjo un estado interoceptivo similar al de hambre al ser evaluada bajo la condición de 2 h de privación de alimento. Bajo la condición de 22 h de privación de alimento la ciproheptadina produjo una señal discriminativa similar al estado fisiológico de hambre, sugiriendo que la ciproheptadina puede ejercer su efecto orexigénico al producir un estado fisiológico similar al de hambre en los animales, efecto que probablemente sea modulado por la activación de núcleos hipotalámicos tales como el HL (Chakrabarty et al., 1967), pero también a sus propiedades antiserotonérgicas y antihistaminérgicas (Orthen-Gambill, 1988).

Se confirmó el efecto orexigénico de la ciproheptadina al incrementar el consumo de alimento. Los resultados del presente estudio mostraron un incremento en el

consumo de alimento de manera dosis-dependiente cuando los animales estuvieron privados por 22 h de alimento (ver figura 18), mientras que cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento, sólo las dosis más grandes (1.0, 3.0 y 10.0 mg/kg, i.p.) de ciproheptadina incrementaron el consumo de alimento. En contraste, se observó un efecto inhibitorio sobre el consumo de alimento cuando los animales fueron privados por 2 h de alimento, con la dosis más pequeña de ciproheptadina (0.1 mg/kg, i.p.). Estos hallazgos son consistentes con estudios previos en los que han reportado que dosis muy bajas de ciproheptadina pueden ejercer una acción anoréxica en ratas (Blavet et al., 1982). En general los hallazgos del presente estudio son consistentes con estudios previos en los que han demostrado que la ciproheptadina ejerce un efecto orexigénico en la ingesta de alimentos posiblemente debido a sus propiedades antiserotonérgicas y antihistaminérgicas en ratas con acceso libre al alimento (Orthen-Gambill, 1988) o privadas de alimento (Baxter et al., 1970).

Resultados interesantes fueron encontrados con la ciproheptadina sobre el consumo de agua. La ciproheptadina incrementó el consumo de agua cuando los animales fueron privados por 2 h y 22 h de alimento sólo con la dosis de 3.0 mg/kg i.p., mientras que con las dosis más pequeñas (.01 y 1.0 mg/kg, i.p.) el consumo de agua fue decrementado. Estos resultados son consistentes con estudios previos en los que reportan que después de la administración de 15 mg/kg s.c. de ciproheptadina en ratas macho adultas, incrementa el consumo de agua. En contraste, el consumo de agua ha sido decrementado en ratas hembra debido a variaciones durante su ciclo estral (Konstandi, 1996), sugiriendo que la ciproheptadina ejerce un efecto estimulador o inhibitorio en el consumo de agua dependiendo del ciclo hormonal del sujeto. Este efecto encontrado en el consumo de agua quizá sea debido también por las propiedades antiserotonérgicas del fármaco al ser un antagonista de los receptores 5-HT₂, ya que existe la evidencia de que la serotonina induce sed (Barofsky et al., 1980). Aunque en el presente

estudio sólo se observó éste efecto con la dosis de 3.0 mg/kg i.p. en comparación con las dosis más pequeñas en las cuales se observó un decremento en el consumo de agua después de la administración de ciproheptadina.

El efecto de la ciproheptadina sobre la ingesta de agua y alimento quizás también dependa del estado hormonal del animal, ya que hay cambios cíclicos en la conducta de ingesta de agua y alimento durante el ciclo estral de ratas hembra (Konstandi et al., 1996). Otro factor que también podría estar implicado es la vía de administración de la droga, ya que la ciproheptadina fue administrada por vía intraperitoneal, en comparación con otros estudios en los que la han administrado por vía subcutánea (Gosh y Pavarthi, 1973) u oral (Konstandi et al., 1996).

Hasta el momento no hay un procedimiento único para evaluar estados de hambre y saciedad como estímulo discriminativo en ratas. Incluso, hay estudios en los que han utilizado tareas de condicionamiento clásico (Davidson, 1993). Sin embargo, el procedimiento de discriminación de drogas o discriminación de la intensidad de privación de alimento utilizado en el presente estudio, permitió corroborar que los animales son capaces de discriminar estados interoceptivos de hambre y saciedad emitiendo respuestas diferenciales en cajas de condicionamiento operante y que fármacos que inhiben o incrementan el consumo de alimento como la fluoxetina y ciproheptadina respectivamente, lo hacen por medio de señales interoceptivas de hambre o saciedad, sugiriendo que la serotonina juega un papel fundamental en la regulación de señales fisiológicas de hambre y saciedad.

Futuras investigaciones en DD son requeridas para evaluar otros fármacos que alteren otros sistemas de neurotransmisión que participan en la conducta alimenticia. Debido a que en el presente trabajo se evaluó un fármaco con propiedades antihistaminérgicas, sería interesante evaluar fármacos que bloqueen o que faciliten la neurotransmisión histaminérgica. Los avances en esta línea de investigación permitirán desarrollar nuevos fármacos para el tratamiento de desórdenes alimenticios.

REFERENCIAS

Adan, R.A., Vanderschuren, L.J., y la Fleur, S.E. (2008). Anti-obesity drugs and neural circuits of feeding. *Trends in pharmacological sciences*, 29(4), 208-217.

Anderson, G.M. (2004). Peripheral and central neurochemical effects of the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in humans and nonhuman primates: assessing bioeffect and mechanisms of action. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 22(5-6), 397-404.

Antin, J., Gibbs, J., Holt, J., Young, R.C., y Smith, G.P. (1975). Cholecystikinin elicits the complete behavioural sequence of satiety in rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, 89(7), 784-790.

Appel, J.B., West, W.B., Rolandi, W.G., Alici, T., y Pechersky, K. (1999). Increasing the selectivity of drug discrimination procedures. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 64(2), 353-358.

Azmitia, E.C. (1978). The serotonin-producing neurons of the midbrain median and dorsal raphe nuclei. En: L.L. Iversen, S.D. Iversen y S.H. Snyder (Eds.), *Handbook of Psychopharmacology* (pp.233-314). New York: Plenum.

Barnes, N.M., y Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38(8), 1083- 1152.

Barofsky, A.L., Grier, H.C., y Pradham, T.K. (1980). Evidence for regulation of water intake by median raphe serotonergic neurons. *Physiology y behavior*, 24(5), 951-955.

Baxter, M.G., Miller, A.A., y Soroko, F.E. (1970). The effect of cyproheptadine on food consumption in the fasted rat. *British journal of pharmacology*, 39(1), 229-230.

Bendotti, C., y Samanin, R. (1987). The role putative 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor in the control of feeding rats. *Life sciences*, 41(5), 635-642.

Benfield, P., Heel, R.C., y Lewis, S.P. (1986). Fluoxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in depressive illness. Review. *Drugs*, 32(6), 481-508.

Benoit, S.C., y Davidson, T.L. (1996). Interoceptive sensory signals produced by 24-hr food deprivation, pharmacological glucoprivation and lipoprivation. *Behavioral neuroscience*, 110(1), 168-180.

Benoit, S.C., y Tracy, A.L. (2008). Behavioral controls of food intake. *Peptides*, 29(1), 139-147.

Benoit, S.C., Tracy, A.L., Air, E.L., Kinzig, K., Seeley, R.J., y Davidson, T.L. (2001). The role of the hypothalamic melanocortin system in behavioural appetitive processes. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 69(3-4), 603-609.

Berridge, K.C. (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 20(1), 1-25.

Berthoud, H.R., y Morrison, C. (2008). The brain, appetite and obesity. *Annual review of psychology*, 59, 55-92.

Bickel, W.K., y Etzel, B.C. (1985). The quantal nature of controlling stimulus response relations as measured in tests of stimulus generalization. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 44(2), 245-270.

Blavet, N., DeFeudis, F.V., y Clostre, F. (1982). Inhibition of food intake in the rat by cyproheptadine. *Experientia*, 38(2), 264-265.

Blundell, J.E. (1977). Is there a role for serotonin (5-hydroxytryptamine) in feeding? *International journal of obesity*, 1(1), 15-42.

Blundell, J.E. (1984). Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*, 23(12B), 1537-1551.

Blundell, J.E. (1992). Serotonin and the biology of feeding. *The American journal of clinical nutrition*, 55(1), 155-159.

Blundell, J.E., y Halford, J.C.G. (1998). Serotonin and appetite regulation. Implications for the pharmacological treatment of obesity. *CNS drugs*, 9(6), 473-495.

Blundell, J.E., y Latham, C.J. (1979). Serotonergic influences on food intake: effect of 5-hydroxytryptophan on parameters of feeding behavior in deprived and free-feeding rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 11(4), 431-437.

Boadle-Biber, M.C. (1993). Regulation of serotonin synthesis. *Progress in biophysics and molecular biology*, 60(1), 1-15.

Boeles, S., Williams, C., Campling, G.M., Goodall, E.M., y Cowen, P.J. (1997). Sumatriptan decreases food intake and increases plasma growth hormone in healthy women. *Psychopharmacology (Berl)*, 129(2), 179-182.

Boess, F.G., y Martin, I.L. (1994). Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology*, 33(3-4), 275-317.

Boston, B.A., Blaydon, K.M., Varnerin, J., y Cone, R.D. (1997). Independent and additive effects of central POMC and leptin pathways on murine obesity. *Science*, 278(5343), 1641-1644.

Brüning, J.C., Gautam, D., Burks, D.J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P.C., Klein, R., Krone, W., Müller-Wieland, D., y Kahn, C.R. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*, 289(5487), 2122-2125.

Campfield, L.A., Smith, F.J., Guisez, Y., Devos, R., y Burn, P. (1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 269(5223), 546-549.

Carlson, N.R. (2006). *Fisiología de la conducta* (8ª ed.). Madrid, España: Pearson Educación.

Chakrabarty, A.S., Pillai, R.V., Anand, B.K., y Singh, B. (1967). Effect of cyproheptadine on the electrical activity of the hypothalamic feeding centres. *Brain research*, 6(3), 561-569.

Chaudhri, O.B., Salem, V., Murphy, K.G., y Bloom, S.R. (2008). Gastrointestinal satiety signals. *Annual review of physiology*, 70, 239-255.

Clark, J.T., Kalra, P.S., Crowley, W.R., y Kalra, S.P. (1984). Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology*, 115(1), 427-429.

Colpaert, F.C. (1999). Drug discrimination in neurobiology. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 64(2), 337-345.

Colpaert, F.C., y Janssen, P.A. (1982). OR discrimination: a new drug discrimination method. *European journal of pharmacology*, 78(1), 141-144.

Comer, S.D., Haney, M., Fischman, M.W., y Foltin, R.W. (1997). Cyproheptadine produced modest increases in total caloric intake in humans. *Physiology and behavior*, 62(4), 831-839.

Cooper, S.J., Dourish, C.T., y Barber, D.J. (1990). Fluoxetine reduces food intake by a cholecystinin-independent mechanism. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 35(1), 51-54.

Corwin, R.L., Woolverton, W.L., y Schuster, C.R. (1990). Effects of cholecystokinin, d-amphetamine and fenfluramine in rats trained to discriminate 3 from 22 hr of food deprivation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 253(2), 720-728.

Cummings, D.E., y Overduin, J. (2007). Gastrointestinal regulation of food intake. *The Journal of clinical investigation*, 117(1), 13-23.

Currie, P.J., Coscina, D.V., y Fletcher, P.J. (1998). Reversal of fenfluramine and fluoxetine anorexia by 8-OH DPAT is attenuated following raphe injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain research*, 800(1), 62-68.

Das, Y.T., Bagchi, M., Bagchi, D., y Preuss, H.G. (2004). Safety of 5-hydroxy-L-tryptophan. *Toxicology letters*, 150(1), 111-122.

Davidson, T.L. (1993). The nature and function of interoceptive signals to feed: toward integration of physiological and learning perspectives. *Psychological review*, 100(4), 640-657.

Davidson, T.L., Flynn, F.W., y Jarrard, L.E. (1992). Potency of food deprivation intensity cues as discriminative stimuli. *Journal of experimental psychology. Animal behavior processes*, 18(2), 174-181.

Davidson, T.L., Kanoski, S.E., Tracy, A.L., Walls, E.K., Clegg, D., y Benoit, S.C. (2005). The interoceptive cue properties of ghrelin generalize to cues produced by food deprivation. *Peptides*, 26(9), 1602-1610.

de Castro, J.M., y de Castro, E.S. (1989). Spontaneous meal patterns of humans: influence of the presence of other people. *The American journal of clinical nutrition*, 50(2), 237-247.

De Vry, J., y Schreiber, R. (2000). Effects of selected serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonists in feeding behavior: possible mechanisms of action. *Neuroscience y biobehavioral reviews*, 24(3), 341-353.

Díaz, J.L., y Velázquez, D.N. (2000). La discriminación del efecto de las drogas y la conciencia animal. *Salud Mental*, 23(2), 1-7.

Dourish, C.T., Clark, M.L., Fletcher, A., e Iversen, S.D. (1989). Evidence that blockade of postsynaptic 5-HT₁ receptors elicits feeding in satiated rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 97(1), 54-58.

Dryden, S., Frankish, H.M., Wang, Q., Pickavance, L., y Williams, G. (1996). The serotonergic agent fluoxetine reduces neuropeptide Y levels and neuropeptide Y secretion in the hypothalamus of lean and obese rats. *Neuroscience*, 72(2), 557-566.

Dryden, S., McCarthy, H.D., Malabu, U.H., Ware, M., y Williams, G. (1993). Increased of neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic nuclei of the rat following treatment with methysergide: evidence that NPY may mediate serotonin's effects on food intake. *Peptides*, 14(4), 791-796.

Dryden, S., Wang, Q., Frankish, H.M., y Williams, G. (1996). Differential effects of the 5-HT_{1B/2C} receptor agonist *m*CPP and the 5-HT_{1A} agonist flesinoxan on hypothalamic neuropeptide Y in the rat: evidence that NPY may mediate serotonin effect's on food intake. *Peptides*, 17(6), 943-949.

Elias, C.F., Lee, C., Kelly, J., Aschkenasi, C., Ahima, R.S., Couceyro, P.R., Kuhar, M.J., Saper, C.B., y Elmquist, J.K. (1998). Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron*, 21(6), 1375–1385.

Ellacott, K.L., y Cone, R.D. (2004). The central melanocortin system and the integration of short and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent progress in hormone research*, 59, 395–408.

Feldman, R.S., y Smith, W.C. (1978). Chlordiazepoxide-fluoxetine interactions on food intake in free-feeding rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 8(6), 749-752.

Fletcher, P.J. (1988). Increased food intake in satiated rats induced by the 5-HT antagonists methysergide, metergoline and ritanserin. *Psychopharmacology (Berl)*, 96(2), 237-242.

Fletcher, P.J., y Burton, M.J. (1984). Effects of manipulationn of peripheral serotonin of feeding and drinking in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 20(6), 835-840.

Fletcher, P.J., y Davies, M. (1990). Dorsal raphe microinjection of 5-HT and indirect 5-HT agonists induces feeding in rats. *European journal of pharmacology*, 184(2-3), 265-271.

Fletcher, P.J., Ming, Z.H., Zack, M.H., y Coscina, D.V. (1992). A comparison of the action of the effects of the 5-HT₁ agonists TFMPP and RU 24969 on feeding following peripheral or medial hypothalamic injection. *Brain research*, 580(1-2), 265-272.

Folk, G.E., y Long, J.P. (1988). Serotonin as a neurotransmitter: a review. *Comparative, biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology* 91(1), 251-257.

Foltin, R.W., Haney, M., Comer, S.D., y Fischman, M.W. (1996). Effect of fluoxetine on food intake in humans living in a residential laboratory. *Appetite*, 27(2), 165-181.

Foltin, R.W., y Moran, T.H. (1989). Food intake in baboons: effects of a long-acting cholecystokinin analog. *Appetite*, 12(2), 145–152.

Frankfurt, M., McKittrick, C.R., y Luine, V.N. (1994). Short-term fluoxetine treatment alters monoamine levels and turnover in discrete brain nuclei. *Brain research*, 650(1), 127-132.

Fuller, R.W., Hemrick-Luecke, S.K., y Snood, H.D. (1994). Fluoxetine at anorectic doses does not have properties of a dopamine uptake inhibitor. *Journal of neural transmission. General section*, 96(3), 165–177.

Gao, Q., y Horvath, T.L. (2007). Neurobiology of energy and energy expenditure. *Annual review of neuroscience*, 30, 367-398.

Gao, Q., y Horvath, T.L. (2008). Neuronal control of energy homeostasis. *FEBS Letters*, 582(1), 132-141.

Garattini, S., Mennini, T., y Samanin, R. (1989). Reduction of food intake by manipulation of central serotonin: current experimental results. *The british journal of psychiatry: The journal of mental science*, 155(8), 41-51.

Ghosh, M.N., y Parvathy, S. (1973). The effect of cyproheptadine on water and food intake and on body weight in the fasted adult and weanling rats. *British journal of pharmacology*, 48(2), 328-329.

Glennon, R.A. (1990). Serotonin receptors: clinical implications. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 14(1), 35-47.

Glennon, R.A., Järbe, T.U.C., y Frankenheim, J. (1991). Drug discrimination: applications to drug abuse research. Research Monograph 116. National Institute on Drug Abuse, Rockville.

Göthert, M. (1986). Presynaptic 5-HT autoreceptors and the modulation of the release of 5-HT. *Clinical neuropharmacology*, 9(Suppl 4), 308-310.

Goudie, A.J., Thornton, E.W., y Wheeler, T.J. (1976). Effects of Lilly 110140, a specific inhibitor of 5-hydroxytryptamine uptake, on food intake and on 5-hydroxytryptophan-induced anorexia. Evidence for serotonergic inhibition of feeding. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 28(4), 318-320.

Graeff, F.G. (1997). The serotonergic systems. *The Psychiatric clinics of North America*, 20(4), 723-739.

Grignaschi, G., y Samanin, R. (1992a). Role of 5-HT receptors in the effect of d-fenfluramine in feeding patterns in the rat. *European journal of pharmacology*, 212 (2-3), 287-289.

Grignaschi, G., y Samanin, R. (1992b). Role of serotonin and catecholamines in brain in the feeding suppressant effect of fluoxetine. *Neuropharmacology*, 31(5), 445-449.

Grinker, J.A., Drewnowski, A., Enns, M., y Kissileff, H. (1980). Effects of d-amphetamine and fenfluramine on feeding patterns and activity of obese and lean Zucker rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 12(2), 265-275.

Guan, X.M., Yu, H., Palyha, O.C., McKee, K.K., Feighner, S.D., Sirinathsinghji, D.J., Smith, R.G., Van der Ploeg, L.H., y Howard, A.D. (1997). Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain research. Molecular brain research*, 48(1): 23–29.

Gutiérrez, A., Saracíbar, G., Casis, L., Echevarría, E., Rodríguez, V.M., Macarulla M., Abecia, L.C., y Portillo, M.P. (2002). Effects of fluoxetine administration on neuropeptide Y and orexins in obese zucker rat hypothalamus. *Obesity research*, 10(6), 532-540.

Halford, J.C. (2001). Pharmacology of appetite suppression: implication for the treatment of obesity. *Current drug targets*, 2(4), 353-370.

Halford, J.C., y Blundell, J.E. (1996). Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 54(4), 745-751.

Halford, J.C., Harrold, J.A., Lawton, C.L., y Blundell, J.E. (2005). Serotonin (5-HT) drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. *Current drug targets*, 6(2), 201-213.

Hameed, S., Dhillon, W.S., y Bloom, S.R. (2009). Gut hormones and appetite control. *Oral diseases*, 15(1), 18-26.

Harris, R.T., y Balster, R.L. (1971). An analysis of the function of drugs in the stimulus control of operant behaviour. En: T. Thompson y R. Pickens (Eds.), *Stimulus properties of drugs* (pp.111-132). New York: Appleton-Century-Crofts.

Heisler, L.K., Jobst, E.E., Sutton, G.M., Zhou, L., Borok, E., Thornton-Jones, Z., Liu, H.Y., Zigman, J.M., Balthasar, N., Kishi, T., Lee, C.E., Aschkenasi, C.J., Zhang, C.Y., Yu, J., Boss, O., Mountjoy, K.G., Clifton, P.G., Lowell, B.B., Friedman, J.M., Horvath, T., Butler, A.A., Elmquist, J.K., y Cowley, M.A. (2006). Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. *Neuron*, 51(2), 239-249.

Heisler, L.K., Kanarek, R.B., y Homoleski, B. (1999). Reduction of fat and protein intakes but not carbohydrate intakes following acute and chronic fluoxetine in female rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 63(3), 377-385.

Honig, W.K., y Urcuioli, P.J. (1981). The legacy of Guttman and Kalish (1956): Twenty-five years of research on stimulus generalization. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 36(3), 405-445.

Hoyer, D., Hannon, J.P., y Martin, G.R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 71(4), 533-554.

Hutson, P.H., Donohoe, T.P., y Curzon, G. (1988). Infusion of the 5-hydroxytryptamine agonists RU24969 and TFMPP into the paraventricular nucleus of the hypothalamus causes hypophagia. *Psychopharmacology (Berl)*, 95, 550-552.

Jewett, D.C., Hahn, T.W., Smith, T.R., Fiksdal, B.L., Wiebelhaus, J.M., Dunbar, A.R., Filtz, C.R., Novinska, N.L., y Levine, A.S. (2008). Effects of sibutramine and rimonabant in rats trained to discriminate between 22- and 2-h food deprivation. *Psychopharmacology (Berl)*, 203(2), 453-459.

Jewett, D.C., Lefever, T.W., Flashinski, D.P., Koffarnus, M.N., Cameron, C.R., Hehli, D.J., Grace, M.K., y Levine, A.S. (2006). Intraparaventricular neuropeptide Y and ghrelin induce learned behaviors that report food deprivation in rats. *Neuroreport*, 17(7), 733-737.

Jewett, D.C., Schaal, D.W., Cleary, J., Thompson, T., y Levine, A.S. (1991). The discriminative stimulus effects of neuropeptide Y. *Brain research*, 561(1), 165-168.

John, E.R., y Kleinman, D. (1975). "Stimulus generalization" between differentiated visual, auditory and central stimuli. *Journal of neurophysiology*, 38(4), 1015-1034.

Kanoski, S.E., Walls, E.K., y Davidson, T.L. (2007). Interoceptive "satiety" signals produced by leptin and CCK. *Peptides*, 28(5), 988-1002.

Kaplan, J.M., Donahey, J., Baird, J.P., Simansky, K.J., y Grill, H.J. (1997). d-Fenfluramine anorexia: Dissociation of ingestion rate, meal duration and meal size effects. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 57(1-2), 223-229.

Katz, J.L. (1983). Effects of drugs on stimulus control of behavior. II. Degree of stimulus control as a determinant of effect. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 226(3), 756-763.

Kennett, G.A., Ainsworth, K., Trail, B., y Blackburn, T.P. (1997). BW 723C86, a 5-HT_{2B} receptor agonist, causes hyperphagia and reduced grooming in rats. *Neuropharmacology*, 36(2), 233-239.

Kennett, G.A., y Curzon, G. (1988). Evidence that hypophagia induced by mCPP and TFMPP requires 5-HT_{1C} and 5-HT_{1B} receptors; hypophagia induced by RU24969 only requires 5-HT_{1B} receptors. *Psychopharmacology (Berl)*, 96(1), 93-100.

Kennett, G.A., Dourish, C.T., y Curzon, G. (1987). 5-HT_{1B} agonists produce anorexia at a postsynaptic site. *European journal of pharmacology*, 141(3), 429-435.

Kennett, G.A., Wood, M.D., Glen, A., Grewal, S., Forbes, I., Gadre, A., y Blackburn, T.P. (1994). In vivo properties of SB 200646A, a 5-HT_{2C/2B} receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology*, 111(3), 797-802.

Kirkham, T.C. (2003). Endogenous cannabinoids: a new target in the treatment of obesity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 284(2), 343-344.

Kissileff, H.J., Pi-Sunyer, J., Thornton, J., y Smith, G.P. (1981). C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *American journal of clinical nutrition*, 26(2), 1744-1752.

Koe, B.K., Weissman, A., Welch, W.M., y Browne, R.G. (1983). Sertraline, 1S,4S-N-methyl-4-(3,4-dichlorophenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthylamine, a new uptake inhibitor with selectivity for serotonin. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 226(3), 686-700.

Konstandi, M., Dellia-Sfikaki, A., y Varonos, D. (1996). Effect of cyproheptadine hydrochloride in feeding behaviors. *Pharmacological research*, 3(1), 35-40.

Kroeze, W.K., y Roth, B.L. (1998). The molecular biology of the serotonin receptors: therapeutic implications for the interface of mood and psychosis. *Biological psychiatry*, 44(11), 1128-1142.

Kuo, D.Y. (2002). Co-administration of dopamine D₁ and D₂ agonists additively decreases daily food intake body weight and hypothalamic neuropeptides Y level in rats. *Journal of biomedical science*, 9(2), 126-132.

Laties, V.G. (1975). The role of discriminative stimuli in modulating drug action. *Federation proceedings*, 34(9), 1880-1888.

Laties, V.G., y Weiss, B. (1966). Influence of drugs on behavior controlled by internal and external stimuli. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 152(3), 388-396.

Lavenstein, A.F., Dacanay, E.P., Lasagna, L., y Van Metre, T.E. (1962). Effects of cyproheptadine on asthmatic children. *The Journal of American Medical Association*, 180(11), 912-916.

Lee, M.D., Kennett, G.A., Dourish, C.T., y Clifton, P.G. (2002). 5-HT_{1B} receptors modulate components of satiety in the rat: behavioral and pharmacological analyses of the selective serotonin 1B agonist CP-94, 253. *Psychopharmacology (Berl)*, 164(1), 49-60.

Leibowitz, S.F. (1993). Hypothalamic serotonin in relation to appetite for macronutrients and eating disorders. *Biology, pharmacy and therapeutics*, 44(6), 383-391.

Leibowitz, S.F., y Alexander, J.T. (1998). Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size and body weight. *Biological psychiatry*, 44(9), 851-864.

Leysen, J.E., Awouters, F., Kennis, L., Laduron, P.M., Vandenberg, J., y Janssen, P.A. (1981). Receptor binding profile of R 41 468, a novel antagonist at 5-HT₂ receptors. *Life sciences*, 28(9), 1015-1022.

Li, M., y Mc Millan, D.E. (1998). The Effects of Drug Discrimination History on Drug Discrimination and on Punished and Unpunished Responding. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 61(1), 93-105.

Lightowler, S., Wood, M., Brown, T., Glen, A., Blackburn, T., Tulloch, I., y Kennett, G. (1996). An investigation of the mechanism responsible for fluoxetine-induced hypophagia in rats. *European journal of pharmacology*, 296(2), 137-143.

Lucki, I., Kreider, M.S., y Simansky, K.J. (1988). Reduction of feeding behavior by the serotonin uptake inhibitor sertraline. *Psychopharmacology (Berl)*, 96(3), 289-295

Luo, S., y Li, E.T. (1990). Food intake and selection pattern of rats treated with dexfenfluramine, fluoxetine and RU 24969. *Brain research bulletin*, 24(6), 729-733.

Luo, S., y Li, E.T. (1991). Effects of repeated administration of serotonergic agonists on diet selection and body weight in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 38(3), 495-500.

Maljaars, J., Peters, H.P., y Masclee, A.M. (2007). The gastrointestinal tract: neuroendocrineregulation of satiety and food intake. *Alimentary pharmacology and therapeutics*, 26(2), 241-250.

Marona-Lewicka, D., y Nichols, D.E. (1998). Drug discrimination studies of the interoceptive cues produced by selective serotonin uptake inhibitors and selective serotonin releasing agents. *Psychopharmacology (Berl)*, 138(1), 67-75.

Marx, M.H. (1976). *Procesos del aprendizaje*. México: Trillas.

McBride, W.J., Murphy, J.M., Lumeng, L., y Li, T.K. (1988). Effect of Ro 15-4513, Fluoxetine and desipramine on the intake of ethanol, water and food by the alcohol-preferring (P) and–Nonpreferring (NP) lines of rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 30(2), 1045-1050.

McGuirk, J., y Silverstone, T. (1990). The effect of the 5-HT re-uptake inhibitor fluoxetine on food intake and body weight in healthy male subjects. *International journal of obesity*, 14(4), 361-372.

McMillan, D.E., Sun, W.L., y Hardwick, W.C. (1996). Effects of drug discrimination story on the generalization of pentobarbital to other drugs. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 278, 50-61.

Massi, M., y Marini, S. (1987). Effect of 5-HT₂ antagonist ritanserin of food intake and on 5-HT-induced anorexia in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 26(1), 333-340.

Meister, B. (2007). Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiology and behavior*, 92(1-2), 263-271.

Messiha, F.S. (1993). Fluoxetine: a spectrum of clinical applications and postulates of underlying mechanisms. *Neuroscience biobehavior revision*, 17(4), 385-396.

Milke-García, M del P. (2005). Grelina: más allá de la regulación del hambre. *Revista de gastroenterología mexicana*, 70(2), 465-474.

Miyata, G., Meguid, M.M., Fetissof, S.O., Torelli, G.F., y Kim, H.J. (1999). Nicotine's effect on hypothalamic neurotransmitters and appetite regulation. *Surgery*, 126(2), 255-263.

Molliver, M.E., Berger, U.V., Mamounas, L.A., Molliver, D.C., O'Hearn, E., y Wilson, M.A. (1990). Neurotoxicity of MDMA and related compounds: anatomical studies. *Annals of the New York Academy of Sciences The Neuropharmacology of serotonin*, 600, 649-661.

Murphy, D.L., Campbell, I.C., y Costa, J.L. (1978). The brain serotonergic system in affective disorders. *Progress in neuro-psychopharmacology*, 2(1), 5-31.

Myung, C.S., Kim, B.T., Choi, S.H., Song, G.Y., Lee, S.Y., y Jhang, J.W. (2005). Role of neuropeptide Y and proopiomelanocortin in fluoxetine- induced anorexia. *Archives of pharmacal research*, 28(6), 716-721.

Näslund, E., y Hellström, Per. M. (2007). Appetite signaling: from gut peptides and enteric nerves to brain. *Physiology and behavior*, 92(1-2), 256-262.

Noble, R.E. (1969). Effect of cyproheptadine on appetite and beneficial weight gain in adults. *The journal of the american medical association*, 209(13), 2054–2055.

Oliveto, A.H., Bickel, W.K., Kamien, J.B., Hughes, J.R., y Higgins, S.T. (1994). Effects of diazepam and hydromorphone in triazolam- trained humans under a novel-response drug discrimination procedure. *Psychopharmacology (Berl)*, 114(3), 417-423.

Olszewski, P.K., Schiöt, H.B., y Levine, A.S. (2008). Ghrelin in the CNS: from hunger to a rewarding and memorable meal? *Brain research reviews*, 58(1), 160-170.

Oomura, Y., Ono, T., Sugimori, M., y Nakamura, T. (1973). Effects of cyproheptadine on the feeding and satiety centers in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 1(4), 449-459.

Orozco, G., López, M., y Velázquez, D. (1998). Control de estímulos con fármacos: aplicaciones en psicofarmacología. *Salud Mental*, 21(5), 1-6.

Orthen-Gambill, N. (1988). Antihistaminergic drugs increase feeding, while histidine suppress feeding in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 31(1), 81-86.

Overton, D.A. (1964). State-dependent or “dissociated” learning produced with pentobarbital. *Journal of comparative and physiology psychology*, 57(2), 3-12.

Overton, D.A. (1971). Discriminative control of behavior by drug states. En. T. Thompson y R. Pickens (Eds.), *Stimulus properties of drugs* (pp. 87-110). New York: Appleton-Century-Crofts.

Overton, D.A. (1977). Comparison of ethanol, pentobarbital and phenobarbital using drug vs drug discrimination training. *Psychopharmacology (Berl)*, 53(2), 195-199.

Overton D.A., Leonard, W.R., y Merkle, D.A. (1981). Methods for measuring the strength of discriminable drug effects. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 10(3), 251-263.

Palmiter, R.D. (2007). Is a dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior? . *Trends in neurosciences*, 30(8), 375-381.

Pauwels, P.J. (2000). Diverse signaling by 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptors. *Biochemical pharmacology*, 60(12), 1743-1750.

Pelleymounter, M.A., Cullen, M.J., y Backer, M.B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T., Collins, F. (1995). Effects of the obese gene obese product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 269(5223), 540-543.

Pomerleau, O.F., Pomerleau, C.S., Morrell, E.M., y Lowenbergh, J.M. (1991). Effects of fluoxetine on weight gain and food intake in smokers who reduce nicotine intake. *Psychoneuroendocrinology*, 16(5), 433-440.

Preston, K.L., y Bigelow, G.E. (1998). Opioid discrimination in humans: discriminative and subjective effects of progressively lower training dose. *Behavioral pharmacology*, 9(7), 533-543.

Proulx, K., y Seeley, R.J. (2005). The regulation of energy balance by the central nervous system. *Psychiatric clinics of North America*, 28(1), 35-38.

Qu, D., Ludwig, D.S., Gammeltoft, S., Piper, M., Pelleymounter, M.A., Cillen, M.J., Mathes, W.F., Przypek, R., Kanarek, R., y Maratos-Flier, E. (1996). A role for melanin concentrating hormone in the central regulation of feeding behavior. *Nature*, 380(6571), 243-247.

Risley, T. (1964). Generalization gradients following two response discrimination training. *Journal of experimental analysis of behavior*, 7(1), 199-204.

Rogers, P., McKibbin, P.E., y Williams, G. (1991). Acute fenfluramine administration reduces neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of the rat: possible implications for the anorectic effect of fenfluramine. *Peptides*, 12(2), 251-255.

Rogers, P.J., y Blundell, J.E. (1979). Effect of anorexic drugs on food intake and the microstructure of eating in human subjects. *Psychopharmacology (Berl)*, 66(2), 159-165.

Rossi, M., Kim, M.S., Morgan, D.G., Small, C.J., Edwards, C.M., Sunter, D., Abusnana, S., Goldstone, A.P., Rusell, S.H., Stanley, S.A., Smith, D.M., Yagaloff, K., Ghatei, M.A., y Bloom, S.R. (1998). A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology*, 139(10), 4428-4431.

Samanin, R. (1983). Drugs affecting serotonin and feeding. En: D. Gellert (Ed.), *Biochemical Pharmacology of Obesity* (pp.335-347). Amsterdam: Elsevier.

Samanin, R., y Grignaschi, G. (1996). Role of 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in satiety and animal models of eating disorders. En: S.J. Cooper y P.G. Clifton (Eds.), *Drug receptor subtypes and ingestive behavior* (pp. 167-183). London: Academic Press.

Schechter, M.D. (1990). Comparison of anorectic drugs in rats trained to discriminate between satiation and deprivation. *Life sciences*, 47(1), 17-24.

Schechter, M.D., y Filkenstein, J.A. (1985). Effect of dopamine agonists and fenfluramine on discriminative behavior in obese and lean Zucker rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 23(1), 7-11.

Schechter, M., y Signs, S. (1989). Stability of the Stimulus Properties of Drugs over time. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 32(1), 361-364.

Schneider, L.H., Badjecki, L., Feldman, S.M., y Murphy, R.B. (1994). (R)-, (S)-, and (RS)-Fluoxetine relative anorectic efficacy in the rat. *Biological psychiatry*, 33(9), 715-719.

Schreiber, R., Selbach, K., Asmussen, M., Hesse, D., y de Vry, J. (2000). Effects of serotonin $\frac{1}{2}$ agonists on dark phase food and water intake in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 67(2), 291-305.

Schuster, Ch., y Balster, R. (1977). The discriminative stimulus properties of drugs. En: T.I., Thompson (Ed.), *Advance in behavioral pharmacology* (pp. 85-139). New York: Academic.

Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte, D., Seeley, R., y Baskin, D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6), 661-671.

Seeley, R.J., Benoit, S.C., y Davidson, T.L. (1995). Discriminative cues produced by NPY do not generalize to the interoceptive cues produced by food deprivation. *Physiology and behavior*, 58(6), 1237-1241.

Serreti, A., Benedetti, F., Zanardi, R., y Smeraldi, E. (2005). The influence of serotonin transporter promoter polymorphism (SERTPR) and other polymorphism serotonin pathway on the efficacy of antidepressant treatments. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 29(6), 1074-1084.

Shor-Posner, G., Grinker, J.A., Marinescu, G., Brown, O., y Leibowitz, S. (1986). Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. *Brain research bulletin*, 17(5), 663-671.

Silverstone, T., y Schuyler, D. (1975). The effect of cyproheptadine on hunger, calorie intake and body weight in man. *Psychopharmacologia*, 40(4) 345-340.

Simansky, K.J. (1996). Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behavioural brain research*, 73(1-2), 37-42.

Simansky, K.J., y Vaidya, A.H. (1990). Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonists. *Brain research bulletin*, 25(6), 953–960.

Small, C.J., y Bloom, S.R. (2004). Gut hormones and the control of appetite. *Trends in endocrinology and metabolism*, 15(1), 259-263.

Smith, B.J., y Bickel, W.K. (2001). Effects of alprazolam, caffeine and zolpidem in humans trained to discriminate triazolam from placebo. *Drug alcohol dependence* 61(3), 249-260.

Smith, P.M., y Ferguson, A.V. (2008). Neurophysiology of hunger and satiety. *Developmental disabilities research reviews*, 14(2), 96-104.

Solinas, M., y Goldberg, S.R. (2005). Motivational Effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. *Neuropsychopharmacology*, 30(11), 2035-2045.

Solinas, M., Panlilio, L.V., Justinova, Z., Yasar, S., y Goldberg, S.R. (2006). Using drug-discrimination techniques to study the abuse-related effects of psychoactive drugs in rats. *Nature protocols*, 1(3), 1194-1206.

Sotak, B.N., Hnasko, T.S., Robinson, S., Kremer, E.J., y Palmiter, R.D. (2005). Dysregulation of dopamine signaling in the dorsal striatum inhibits feeding. *Brain research*, 1061(2), 88-96.

Stahl, S.M. (1998). Mechanism of action of selective serotonin reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *Journal of affective disorders*, 51(3), 215-235.

Stanley, B.G., y Leibowitz, S.F. (1984). Neuropeptide Y: stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. *Life sciences*, 35(26), 2635–42.

Stein, J.M., Wayner, M.J., Kantak, K.M., y Adler-Stein, R.L. (1978). Synergistic action of p-chloroamphetamine and fluoxetine on food and water consumption patterns in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 9(5), 677-685.

Steinbusch H.W., y Nieuwenhuys, R. (1983). The raphe nuclei of the rat brain stem: A cytoarchitectonic and immunohistochemical study. En: P.C. Emson (Ed.), *Chemical Neuroanatomy* (pp.131-207). New York: Raven Press.

Tecott, L. (2007). Serotonin and the orchestration of energy balance. *Cell Metabolism review*, 6(5), 352-361.

Thompson, T. y Pickens, R. W. (1971). Interoceptive stimulus control of behaviour. En: T. Thompson y R. Pickens (Eds.), *Stimulus properties of drugs* (pp.3-11). New York: Appleton-Century-Crofts

Tork, I. (1985). Raphe nuclei and serotonin containing systems. En: G. Paxinos (Ed.), *The Rat Nervous System* (pp. 43-78). Sydney: Academic Press.

Unger, J.W., Livingston, J.N., y Moss, A.M. (1991). Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanisms and functional aspects. *Progress In neurobiology*, 36(5), 343-362.

Uphouse, L., Hensler, J.G., Sarkar, J., y Grossie, B. (2006). Fluoxetine disrupts food intake and estrous cyclicity in Fischer female rats. *Brain research*, 1072(1), 79-90.

Vaswani, M., Linda, F.K., y Ramesh, S. (2003). Role of selective reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 27(1), 85-102.

Velázquez Martínez, D.N., Valencia Flores, M., López Cabrera, M., y Villarreal, J.E. (1995). Effects of indorenate on food intake: comparison with amphetamine and fenfluramine. *Psychopharmacology (Berl)*, 117(1), 91-101.

Vickers, S.P., y Dourish, C.T. (2004). Serotonin receptor ligands and the treatment of obesity. *Current opinion in investigational drugs*, 5(4), 377-388.

Walsh, A.E., Smith, K.A., Oldman, A.D., Williams, C., Goodall, E.M., y Cowen, P.J. (1994). m-Chlorophenylpiperazine decreases food intake in a test meal. *Psychopharmacology (Berl)*, 116(1), 120-122.

Ward, A.S., Comer, S.D., Haney, M., Fischman, M.W., y Foltin, R.W. (1999). Fluoxetine-maintained obese humans: effect on food intake and body weight. *Physiology and behavior*, 66(5), 815-821.

Wellman, P.J. (2000). Norepinephrine and the control of food intake. *Nutrition*, 16(10), 837-842.

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

Williams, G., Harrold, J.A., y Cutler, D.J. (2000). The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box. *The proceedings of the nutrition society*, 59(3), 385-396.

- Williams, J., y Mobarhan, S. (2003). A critical interaction: leptin and ghrelin. *Nutrition review*, 61(11), 391-393.
- Willner, P., McQuirk, J., Phillips, G., y Muscat, R. (1990). Behavioural analysis of the anorectic effects of fluoxetine and fenfluramine. *Psychopharmacology (Berl)*, 102(2), 273-277.
- Willner, P., Sanger, D., y Emmet, Oglesby, M.W. (1991). Behavioral aspects of drug discrimination. *Behavioral pharmacology*, 2(1), 251-436.
- Wong, D.T., Perry K.W., y Bymaster, F.P. (2005). Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nature reviews. Drug discovery*, 4(9), 764-774.
- Wong, D.T., Reid, L.R., y Threlkeld, P.G. (1988). Suppression of food intake in rats by fluoxetine: comparison of enantiomers and effects of serotonin antagonists. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 31(2), 475-479.
- Xu, L., Li, B.H., Rowland, N.E., y Kalra, S.P. (1995). Neuropeptide Y injection into the fourth cerebroventricle stimulates c-Fos expression in the paraventricular nucleus and other nuclei in the forebrain: effect of food consumption. *Brain research*, 698(1-2), 227-231.
- Yasuda, T., Masaki, T., y Kakuma, T. (2004). Hypothalamic melanocortin system regulates sympathetic nerve activity in brown adipose tissue. *Experimental biology and medicine*, 229(3), 235-259.
- Young, R., James, J.R., y Rosecrans, J.A. (2001). Drug Discrimination. En: J.J. Buccafusco (Ed.), *Methods of behavior analysis in Neuroscience* (pp. 71-80). Boca Raton, Florida: CRC Press LL.