



UNAM IZTACALA

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**PARTICIPACIÓN DEL RECEPTOR CRH2 α DEL NPV SOBRE LA
SECUENCIA DE SACIEDAD CONDUCTUAL EN RATAS
ADRENALECTOMIZADAS.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A:
KARINA CRUZ GARCÍA

Directora: Dra. Verónica Elsa López Alonso
Dictaminadores: Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz
Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ CON APOYO DE
PAPITT DGAPA IN306711-3.**



Los Reyes Iztacala, Edo de México, 2014



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.

Dejo estas líneas para el final, pues no hay nada más reconfortante que después de ver concluida una etapa en mi vida, hoy mire hacia atrás y descubra todo lo que precedió a éste gran momento. Pues mientras preparaba este apartado, inmediatamente recordé a profesores, quienes día a día con su guía y apoyo, impulsaron y motivaron mi interés por aprender y conocer más. Agradezco a la profesora Martha Elisa López Arias, quien desde primer semestre me instruyo en el gusto por las Neurociencias, quizá ella sin saberlo hasta la fecha.

Agradezco al Dr. Jorge Guerreño Barrios, quien como profesor de la carrera siempre hizo que me esforzara al exigirme un poco más cada vez, sin duda, esto hizo que yo fuera creyendo un poco más en mí. Así mismo, agradezco a cada uno de los profesores que me acompañaron en mi formación, pues sin ellos, hoy yo no hubiera llegado hasta aquí.

Agradezco a mis amigos de vida, Lorena Nava y Alan Israel, por siempre creer y confiar en mí, por sus palabras de aliento, por su tiempo, por su hermandad... por todo. Agradezco a mi amigo Francisco, a quien lo conocí durante la carrera, y se convirtió en un gran apoyo y motivación. Agradezco a mis compañeros de clase, por inspirarme y motivarme, por su guía, paciencia y apoyo.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio, Karla, Daniel, Alberto, Gaby, Melissa, Felipe y Omar, pues con ellos compartí conocimiento, trabajo, intereses, risas, pero también preocupaciones y ansiedades, pues el haber sido parte del Laboratorio de Neurobiología de la Nutrición, hizo que me enfrentará a un reto que parecía interminable, pero ahora me doy cuenta que aquí fue donde crecí como futura profesionista, pues todo lo que se llega a aprender en un laboratorio es maravilloso.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Verónica Elsa López Alonso, por su paciencia, dedicación y apoyo en mi formación, de la misma manera agradezco al Dr. Erick Escartín y al Dr. Juan Manuel Mancilla, por recibirme en su laboratorio y por su guía durante la realización de este proyecto.

Y por último, agradezco enormemente a mi familia, empezando por mi madre, pues el título no sólo es mío, también es de ella; gracias madre por tu apoyo, por tus regaños y llamadas de atención, nunca podré expresar todo lo que significas para mí. Gracias a mi hermano Emmanuel, quien día con día, estuvo siempre al pendiente de mi trayecto profesional, siempre alentándome y motivándome. Gracias a mi hermana Laura, quien siempre se ha mostrado feliz por mi pasión hacia mi carrera. Gracias a mi sobrina Abigail, pues sin darse cuenta calmaba mis momentos más angustiosos, pues con su corta edad, me transmitía su tranquilidad, su sencillez ante la vida y sus alegrías.

Para no extenderme demasiado, agradezco a todos y cada una de las personas con las que me cruce durante esta hermosa experiencia, pues es muy probable que de todos haya aprendido algo nuevo. Así mismo, le agradezco a la FES-IZTACALÁ, quien me encontró con personas realmente maravillosas que nunca olvidaré, le agradezco a la vida también, por lo que estoy viviendo y por lo que vendrá...

ÍNDICE

RESUMEN

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
3. Hipotálamo: centro integrador de las señales hambre-saciedad.....	9
3.1 El Hipotálamo.....	10
3.2 Eje hipotalámico-pituitaria adrenal.....	13
4. Hormona liberadora de corticotropina (CRH) y Conducta alimentaria.....	18
4.1 Síntesis de CRH y sus receptores.....	19
4.2 Agonistas y antagonistas de CRH y conducta alimentaria.....	25
5. Delimitación del objeto de estudio.....	31
6. Objetivos.....	33
7. Hipótesis.....	34
8. Método.....	35
8.1 Sujetos.....	35
8.2 Dieta.....	35
8.3 Fármacos.....	35
8.4 Cirugías.....	36
8.5 Secuencia de Saciedad Conductual.....	37
9. Procedimiento.....	38
9.1 Histología.....	39
9.2 Análisis Estadísticos.....	39
10. Resultados y Análisis de Resultados.....	40
11. Discusión.....	56
12. Conclusiones.....	52
13. Perspectivas.....	53
14. Bibliografía.....	54

RESUMEN

La hormona liberadora de corticotropina (CRH) activa al eje hipotálamo-pituitaria-adrenal. Los receptores CRH 2α participan en el control del consumo de alimento pero se desconocen los patrones conductuales que caracterizan a la conducta alimentaria modulada por estos receptores. Por tanto el objetivo de la presente investigación fue evaluar los efectos de la estimulación de los receptores CRH 2α del núcleo paraventricular hipotalámico (NPV) sobre la selección dietaria y el desarrollo de la secuencia de saciedad conductual (SSC) en ratas adrenalectomizadas. Se tuvieron cinco grupos de ratas Wistar con tratamientos diferentes y a excepción del grupo *Sham* todos fueron adrenalectomizados (ADX): Grupo *Sham* (falsa cirugía ADX) se aplicó Vehículo+Vehículo; grupo ADX recibió Vehículo+Vehículo; grupo UCN 2 se administró Vehículo+Ucn2 (Urocortina, Agonista CRH 2α); grupo ASV-30 (Antagonista CRH 2α) se aplicó Antisauvagina30 +Vehículo; grupo Pretratado se suministró Antisauvagina30+Urocortina2. La ingesta de carbohidratos y grasas disminuyó significativamente con la ADX y la urocortina, efecto prevenido con la antisauvagina-30. La urocortina interrumpió el desarrollo natural de la SSC, el pretratamiento con Antisuvagina-30 lo previno. Estos resultados sugieren que los receptores CRH 2α no sólo median el efecto anorexigénico de la CRH, también están relacionados con la modulación del desarrollo de la SSC.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la vida cotidiana, la conducta alimentaria se reduce a la necesidad básica de ingerir alimento para la supervivencia, sin embargo, las investigaciones muestran que la ingesta de alimento, el hambre, la saciedad y el balance energético se regulan a través de diferentes sistemas. Lo anterior incluye factores fisiológicos, bioquímicos y psicológicos. Asimismo, se evidencia qué es lo que ocurre antes, durante y después de la ingesta de alimento, mostrándose la existencia de un sistema constituido por una compleja red de circuitos neurohormonales, que funcionan a base de señales moleculares de origen periférico y/o central, las cuales a corto plazo regulan la cantidad de alimento consumido y a largo plazo la cantidad de reservas de grasa corporal.

El conocimiento de las señales a nivel central y periférico, sus efectos orexigénicos o anorexigénicos y sus vías de acción funcional son necesarios para determinar el origen de los trastornos de la conducta alimentaria y/o de la obesidad. En el futuro esto permitirá diseñar mejores programas de prevención y de tratamiento farmacológico. El sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP) regulan la ingestión de alimentos, el mantenimiento del balance energético y la conservación del peso corporal; cuando alguno de estos sistemas falla se presentan patologías como la desnutrición y la obesidad. Particularmente en el hipotálamo se integra una red compleja de vías neuronales que regulan el hambre y la saciedad. Algunas investigaciones han demostrado que cuando se daña el núcleo hipotalámico ventromedial se propicia la hiperfagia y el aumento del peso corporal, mientras que en el hipotálamo lateral se produce hipofagia y la pérdida de peso (González, Ambrocio & Sánchez, 2006).

El SNC incorpora la información de acuerdo al estado energético del organismo, lo que resulta en la generación de señales centrales o periféricas que permiten alcanzar el balance energético. Estas señales pueden ser de naturaleza orexigénica (señales de hambre que activan vías anabólicas) o anorexigénicas (señales de saciedad, que activan vías catabólicas) (Hillebrand, De Wied & Adan, 2002). Por ende, en las siguientes páginas se describirá en qué consiste la conducta alimentaria, la participación de algunos de los mecanismos involucrados a nivel del sistema nervioso central y periférico, enfatizando en el funcionamiento del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal y algunas manipulaciones farmacológicas.

2. ANTECEDENTES

La alimentación provee de energía al organismo para realizar las actividades cotidianas. Regularmente se requiere sentir “hambre” para ingerir alimento, ya que se desatan procesos bioquímicos en el organismo que lo alertan para que busque e ingiera alimento. La elección e ingesta de alimento depende particularmente de la conducta alimentaria, que a su vez debe entenderse desde una visión psicológica, fisiológica y neurológica. Desde el punto de vista fisiológico y neurológico existe un sistema que controla el consumo de alimentos, el cual regula las señales implicadas en la ingesta y en la homeóstasis energética, la región que regula las señales del consumo de los alimentos es el hipotálamo (Guyton, 1994).

El núcleo paraventricular hipotalámico (NPV) se ha identificado como el centro inhibidor de la ingesta de alimento, otros núcleos hipotalámicos se han involucrado con la recompensa y la motivación por los alimentos, el aprendizaje, la emoción y el estrés (Valdés, Valladares & Macías, 2009).

Adicionalmente, el sistema hipotálamo-pituitaria-adrenal controla la liberación de hormonas específicas, la estimulación del núcleo paraventricular (NPV) induce la liberación de la hormona liberadora de corticotropina CRH, esta a su vez estimula la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la hipófisis, la cual llega a las glándulas suprarrenales o adrenales (alojadas en la parte superior de cada riñón). La secreción de ACTH puede deberse a la presencia de estrés, el cual puede ser fisiológico o psicológico. El estrés se define como una reacción de ajuste que modifica la conducta y activa cambios hormonales para mantener la homeostasis, mejorando la probabilidad de

supervivencia. Los eventos estresantes provocan la estimulación de la CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo y esto causa la activación hormonal de la hipófisis (Duval, González & Rabia, 2010; Uribe, Gómez, Mesa & Lezcano, 2005). La administración de la CRH induce efectos anorexigénicos asociados con conductas de ansiedad, esta hormona es la principal mediadora de las respuestas de estrés, lo que contribuye a una disminución en la ingesta de alimento (Bakshi, Newman, Smith-Roe, Jochman & Kalin, 2007).

Por otro lado, la ACTH desencadena la liberación de mineraloglu corticoides y glucocorticoides en la glándula suprarrenal (Rosenzweig, Leiman & Breedlove, 2001). La liberación de los glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en animales) aumenta en el consumo de alimento y estimula la lipogénesis, lo que trae como consecuencia la formación de triglicéridos y la acumulación de reservas de grasa corporal; los glucocorticoides también favorecen la liberación hepática de glucosa (Dawson, Taylor & Reide, 2001). Los glucocorticoides secretados a través de las glándulas adrenales son el resultado de la activación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal. Además, altos niveles de glucocorticoides han sido asociados a la obesidad en ratas y en humanos (Martínez et al., 2010).

Las evidencias experimentales en modelos con ratas adrenalectomizadas (extirpación de las glándulas adrenales) confirman la ausencia de glucocorticoides y disminución del peso corporal debido a una mayor sensibilidad a la leptina y a la insulina, las cuales son hormonas anorexigénicas que funcionan como señales de saciedad, ocasionando una menor sensibilidad a ciertos neuropéptidos orexígenicos (La Fleur, 2006).

Routh, Stern y Horwitz (1995), mostraron que la adrenalectomía en ratas obesas Zucker (*fa/fa*) tiende a normalizar las alteraciones metabólicas de éstas, debido al aumento del 5HIAA (ácido 5-hidroxiindolácetico) y de la 5-HT (serotonina), en varias regiones cerebrales como en el NPV, el núcleo supraquiasmático (NSQ), el núcleo dorsomedial (NDM), el hipotálamo lateral (HL), en la amígdala medial (AM), en el núcleo del tracto solitario (NTS) y en el núcleo ventromedial hipotalámico (VMN). La adrenalectomía (ADX) aumentó las concentraciones de CRH debido a la anulación del sistema de feedback negativo para los glucocorticoides, ocasionando la liberación de CRH y de ACTH, y la ausencia de glucocorticoides. A su vez, la CRH aumentó las concentraciones de 5HT en el cerebro, principalmente en la región ventromedial hipotalámica. Al aumentar los niveles de CRH y de la actividad serotoninérgica, se produjo la reducción de la ingesta de alimento y la disminución en la ganancia de peso corporal.

La CRH tiene dos tipos de receptores en el hipotálamo, los CRH1 y los CRH2, éste último con tres variantes (CRH2 α , CRH2 β y CRH2 γ). La urocortina (UCN) es un péptido que tiene gran afinidad por los receptores CRH2, particularmente CRH2 α . La UCN inhibe la ingesta de alimento hasta 24 horas después de la administración intracerebroventricular (icv), lo que sugiere que los receptores CRH2 participan en la modulación de mecanismos responsables de la regulación de la ingesta de alimento y del balance energético (Spina et al., 1996).

Ohata, Suzuki, Oki y Shibasaki (2000) examinaron los efectos de la inyección de UCN en diferentes dosis (0.05, 0.5 ó 2.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), en varios núcleos del hipotálamo. En el núcleo ventromedial y en el hipotálamo lateral se observó una disminución de la ingesta de alimento dependiente de la dosis. Con respecto al tiempo, los efectos de esta disminución fueron más evidentes en la primera hora después de la inyección, ya que la cantidad de alimento en gramos fue menor y fue aumentando conforme transcurría el tiempo. En el NPV, sólo la dosis de 2.5 μg de UCN disminuyó significativamente la ingesta de alimento a partir de la primera hora de registro en comparación con todos los grupos. Respecto a la ingesta de agua, se encontró la disminución significativa dependiente de la dosis y del tiempo en el VMN. Los investigadores concluyeron que la UCN inhibe la ingesta de alimento y de agua cuando se inyecta en el núcleo ventromedial del hipotálamo, pero no en el núcleo paraventricular y en el hipotálamo lateral (en este último solo se muestra una disminución de la ingesta de alimento). La frecuencia de la conducta de acicalamiento aumentó, la frecuencia de las conductas de descansar, husmear y actividad motorano tuvieron cambios.

Por otro lado, Asakawa , Inui, Ueno, Makino y Fujino (1999), demostraron que la inyección ip de UCN en ratones obesos *ob/ob* y no obesos, redujo el consumo de alimento y el peso corporal. Grill, Markison, Ginsberg y Kaplan (2000), exploraron los efectos de la administración icv del agonista UCN en el ventrículo lateral y en el cuarto ventrículo, encontrando una relación dosis-respuesta, los sujetos con dosis altas mostraron una mayor disminución de la cantidad de alimento ingerido.

La disminución fue más evidente en los sujetos inyectados en el ventrículo lateral, quienes mostraron mayor pérdida de peso corporal. Kinney, Scruggs y Avery (2001), observaron que la administración periférica de la UCN bajo un paradigma operante disminuyó la respuesta, notándose una relación dependiente entre la dosis y la respuesta, lo que demostró que la UCN administrada periféricamente reduce la motivación por el alimento.

Bakshi, Newman, Smith-Roe, Jochman y Kalin (2007), observaron el efecto de la administración de diferentes dosis de urocortina (0, 50, 125, 250 ng / 0.5 μ l) en el núcleo del septum lateral, encontrando una disminución dosis-dependiente de la ingesta de alimento, acompañada de un aumento de la conducta de exploración y en la conducta de acicalamiento, lo que indicó un efecto de saciedad, mediado principalmente por receptores CRH2. Los autores citados concluyeron que la estimulación de los receptores CRH2 en el núcleo del septum lateral promueve la hipofagia a través de un incremento de las respuestas de estrés. La administración de los antagonistas CRH2 (De-Phe, NMI27914 y Astressin 2B) bloqueó el efecto anorexigénico.

De acuerdo con Grill, Markison, Ginsberg y Kaplan (2000) y Kinney, Scruggs y Avery (2001), la urocortina tiene mayor afinidad por los receptores CRH2. Un potente antagonista de los receptores CRH2 es la Antisouvagina-30 (ASV-30), la administración icv de la ASV-30 redujo las conductas de ansiedad ante una condición estresante, produciendo un efecto ansiolítico (Takahashi, Peng, Livanov, Graciani & Arneric, 2001).

En un modelo de ratas ADX y con la administración icv de ASV-30 se observó que el efecto hipofágico inducido por la ADX se revirtió por la administración del antagonista CRH2. Estos datos sugieren que el efecto hipofágico en las ratas ADX se debió a la participación de los receptores CRH2 (Torres, Costa, De Castro, Antunes, & Elias, 2009).

3. HIPOTÁLAMO: CENTRO INTEGRADOR DE LAS SEÑALES HAMBRE SACIEDAD

La ingesta de alimento se establece como una relación entre el organismo y los alimentos, sin embargo, dicha relación puede estar mediada por diversos factores, ya sea por el entorno social y cultural, por la disponibilidad de alimentos, por una necesidad biológica, por factores fisiológicos y genéticos, o bien, por estados motivacionales. Sin embargo, desde una perspectiva a nivel fisiológico, se debe tener en cuenta la existencia de una regulación a base de señales neuroendocrinas específicas, implicadas en el consumo de alimento y del control del peso corporal, a este proceso se le conoce como homeostasis energética (Hillebrand, De Wied & Adan, 2002).

Estas funciones fisiológicas son reguladas por el sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP), por ejemplo, a nivel periférico, existen señales gastrointestinales que preparan al organismo para el inicio y culminación de una comida, tal es el caso de la leptina (una proteína de la familia de las citocinas), que participa en la regulación del peso corporal, de la alimentación y del gasto energético, se le ha asociado con un amplio número de procesos patológicos, entre ellos, la diabetes mellitus (Sánchez, 2005).

Por otro lado, también están involucradas áreas del cerebro, como por ejemplo la corteza orbitofrontal, la cual está relacionada con la saciedad sensorial y la amígdala que se ha relacionado con la evaluación del sabor agradable (palatable). Sin embargo, para la modulación de la ingesta, el SNC y el SNP están en constante interacción a través de señales neuroquímicas, sensoriales y

gastrointestinales (Cañedo, 2005). De ésta manera, actualmente se sabe que una de las áreas con mayor sensibilidad para mantener la homeostasis energética a nivel central, es el hipotálamo (González, Ambrocio & Sánchez, 2006).

3.1 El Hipotálamo

El hipotálamo forma parte del SNC, está localizado inmediatamente debajo del tálamo y participa en el mantenimiento de funciones específicas a nivel endocrino, autónomo y conductual. Es un centro de integración de los procesos neuronales y endocrinos que controlan la ingesta de alimento, regulan la conducta sexual y reproductiva, median las respuestas emocionales, la temperatura corporal y la regulación cardiovascular. En cuanto a la alimentación, se ha demostrado que una serie de circuitos o vías neuronales interconectadas trabajan desde el hipotálamo para regular la ingesta de alimento con la información procedente de los depósitos de energía corporal (Woods, Seeley, Porte & Schwartz, 1998).

La estimulación de ciertas áreas del hipotálamo hace que un animal experimente hambre extrema o bien que esta conducta se vea altamente inhibida (Stanley, Wynne, McGowan & Bloom, 2005). Los núcleos del hipotálamo que participan en la modulación de la ingesta de alimento son el núcleo arqueado (ARC), el núcleo PVN, el hipotálamo lateral (HL), el núcleo ventromedial (VMN), y el núcleo dorsomedial (DMN) (Anne, Martin & Bloom, 2009).

En el hipotálamo se controla la síntesis y la liberación de algunos neurotransmisores que regulan el consumo de alimento, enviando señales anorexigénicas (las que inhiben la ingesta) u orexigénicas (las que estimulan la ingesta) (véase tabla 1).

Uno de los núcleos más estudiados con respecto a la conducta alimentaria es el NPV, este núcleo se encuentra en una posición rostral del hipotálamo a lo largo del borde del tercer ventrículo. Las neuronas secretoras del NPV se dividen en neuronas magnocelulares y parvocelulares, las cuales contienen una variedad de neurotransmisores y péptidos, algunos se expresan en la misma neurona (Stanley et al., 2005). Tal es el caso de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual se localiza en la zona parvocelular del PVN, donde cerca del 50% de las neuronas que contienen CRH también contienen vasopresina (VP), la cual tiene una acción sinérgica con la CRH. La CRH tiene efectos anorexigénicos y ansiogénicos, debido a la activación del eje hipotalámico-pituitaria-adrenal (HPA), por lo que se le asocia con la disminución del hambre inducido por estrés (Hiriart & García, 2005).

ORIGEN	ACTIVIDAD ANOREXIGÉNICA	ACTIVIDAD OREXIGÉNICA
Hipotálamo	CRH	NPY
	Urocortina	Galanina
	α -MSH	β -endorfina
	GLP-1	dinorfinas
	CART	encefalinas
	Neurotesina	MCH
	CCK	Orexinas
	Serotonina (5-HT)	AgRP
	glutamato	
	GABA	
	Noradrenalina	
Periférico	Insulina	Glucocorticoides
	Leptina	Grelina
	PYY 1-36	

Tabla 1. Muestra los neuropéptidos, neurotransmisores y hormonas involucradas en el control de la ingesta de alimento. AgRP: proteína relacionada con agouti; CART: transcrito regulado de cocaína-anfetamina; CCK: colecistoquinina; CRH: Hormona liberadora de corticotropina; GC: Glucocorticoides; GLP-1: Péptido similar al Glucaagón tipo 1; MCH: Hormona concentradora de melanina; α -MSH: Hormona estimuladora de melanocitos alfa; NPY: neuropéptido Y; PYY1-36: péptido YY1-36.

3.2 Eje hipotalámico-pituitaria-adrenal

El eje HPA es un circuito que regula las señales entre el hipotálamo, la glándula pituitaria y las glándulas adrenales o suprarrenales, las cuales se localizan en la parte superior de los riñones. Este eje controla las reacciones al estrés, la digestión, el sistema inmune, las emociones, la conducta sexual y el metabolismo energético.

El eje HPA se activa por la presencia de factores estresantes (los cuales pueden tener un origen psicológico o fisiológico), observándose un incremento en la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el núcleo paraventricular del hipotálamo (Rosenzweig, Leiman & Breedlove, 2001). Esto a su vez provoca que en la hipófisis libere la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Herman, Ostrander, Mueller & Figueiredo, 2005), la cual controla la producción y liberación de hormonas de la corteza suprarrenal, tales como las hormonas esteroideas llamadas colectivamente adrenocorticoides o corticoides (mineralogluocorticoides y glucocorticoides). La principal hormona de los glucocorticoides (GC) es el cortisol o la corticosterona, el primer término se utiliza para hacer referencia a la hormona presente en los humanos, mientras que la corticosterona hace referencia a la hormona en los animales (Duval, González & Rabia, 2010).

De esta manera, el eje HPA es de interés para la investigación de la conducta alimentaria, pues se sabe que el estrés tiene efectos anorexigénicos, ocasionando la disminución en la ingesta de alimento y en el peso corporal, lo cual es consecuencia de los efectos de la CRH. Los estudios demuestran una disminución de la ingesta de alimento hasta 24 h después de una señal de estrés, tanto en ratas como en humanos, contrariamente también existe la evidencia de que cuando se les expone a una situación de estrés y posteriormente se les presenta comida con alto contenido calórico (alta en grasa y en azúcar) suelen mostrar un incremento en la ingesta de alimento.

Por ejemplo los animales que reciben un shock eléctrico en las patas como estresor y que a continuación reciben alimento con alto contenido calórico, aumentan la ingesta de alimento en contraste con animales con una dieta normal, lo cual se le atribuye al efecto de los GC (Bazhan & Zelena, 2013).

Silva (2008), señala que el estrés induce la ingesta de alimentos palatables y/o energéticos y predispone a la obesidad, en particular a quienes practican dietas restrictivas que posteriormente recaen en hábitos de alimentación inadecuados. Por otro lado, la sobre-activación del eje HPA y consecuentemente la sobre-liberación o inhibición de algunos de sus componentes (CRH, ACTH y los GC) pueden inducir alteraciones en la ingesta de alimento, desarrollándose algunos trastornos de la conducta alimentaria como la bulimia y la anorexia nerviosa o bien la obesidad (Maniam & Morris, 2012).

Se sabe que el estrés crónico (exposición prolongada o repetida a estresores) induce alteraciones de la conducta alimentaria y cambios en la expresión genética de algunos neuropéptidos que están involucrados en la regulación de la ingesta alimentaria. Se sugiere que lo anterior es consecuencia de la liberación de glucocorticoides, ya que a través de un sistema de feedback negativo inhiben la liberación de la CRH en el núcleo paraventricular hipotalámico y de la ACTH en la hipófisis, estimulando a su vez, la liberación del Neuropéptido Y (NPY) en el núcleo arqueado, el cual tiene efectos orexigénicos (Maniam & Morris, 2012).

De ésta manera, se ha demostrado que la adrenalectomía promueve la reducción significativa de la ingesta de alimento debido a la ausencia de glucocorticoides (Bligh, Douglass & Castonguay, 1991; Kumar, Papamichael & Leibowitz, 1986; Tempel & Leibowitz, 1989; Tempel, Yamamoto, Kim & Leibowitz, 1991).

Rorato et al. (2008), midieron los efectos de la adrenalectomía en conjunto con la administración de la endotoxina lipopolisacárida (LPS), la cual causa estrés a nivel fisiológico, sobre la ingesta de alimento y el peso corporal en ratas, encontrando una reducción de la ingesta de alimento en los sujetos con ADX más la administración con LPS en comparación con el grupo *Sham* (falsa cirugía ADX). Al mismo tiempo, se mostró un aumento en las concentraciones de plasma de ACTH a nivel de la hipófisis.

Se ha reportado que ratas con obesidad genética tienen niveles elevados de glucocorticoides, mientras que en ratas normales una inyección de glucocorticoides (dexametasona) por 3 días incrementó la ingesta de alimento y el peso corporal. La obesidad asociada a síndromes mendelianos como por ejemplo, el Síndrome de Cushing presenta altos niveles de glucocorticoides y de ingesta de alimento, la obesidad abdominal en humanos también presenta altos niveles de glucocorticoides e hiperactividad del eje HPA (Germano et al., 2007).

Como se aprecia, la respuesta de estrés permite la adaptación a los cambios del entorno mediante la activación del eje HPA, pues a través de los GC es que se lleva a cabo la glucogénesis y la lipogénesis, lo cual promueve ajustes metabólicos y conductuales que le permiten al organismo tener energía durante estados de agitación y de peligro (Laugero, 2004).

Godfrey y Julien (2005), propusieron al estrés social y a las emociones negativas como disparadores de la anorexia en humanos, de tal manera, se sabe que la anorexia nerviosa (AN) se caracteriza por una pérdida severa del peso corporal y conductas ansiogénicas acompañadas de síntomas depresivos. La asociación entre este tipo de desórdenes y la hiperactividad del eje HPA, radica en que la CRH y la VP son las principales encargadas del mantenimiento del eje HPA.

Estudios pos-mortem demuestran un incremento de células que expresan CRH y VP en el NPV en pacientes diagnosticados con depresión. También, como consecuencia de la sobre-activación del eje HPA, se ha demostrado que en la anorexia nerviosa existe un incremento en las conductas de ansiedad (hiperactividad) y también un exceso de la liberación de ACTH (Connan et al., 2007), lo cual podría explicar la disminución del hambre y del peso corporal en la AN.

Los efectos hiperfágicos inductores de la obesidad producidos por la activación del eje HPA, están asociados a la presencia aguda o crónica de diferentes estímulos estresores. La relación entre estrés y obesidad es más evidente cuando la dieta es alta en grasa, pues dicha dieta aumenta la liberación de la CRH y los GC (Bazhan & Zelena, 2013). Así, el hipotálamo es considerado como un centro regulador e integrador de las señales que controlan la ingesta de alimento y que actúa en interacción con otras áreas a nivel central y periférico. Sin embargo, se requiere esclarecer los mecanismos funcionales neurofisiológicos y neuroendocrinos de estos procesos para tener un mejor entendimiento de la conducta alimentaria.

4. HORMONA LIBERADORA DE CORTICOTROPINA (CRH) Y CONDUCTA ALIMENTARIA

Las neuronas que contienen a la CRH se distribuyen extensamente en el SNC y son abundantes en la zona parvocelular del núcleo paraventricular hipotalámico (Drolet & Rivest, 2001). Adicionalmente, se ha mostrado una alta inmunoreactividad de la CRH en el núcleo central de la amígdala (CeA), en el núcleo de la estría terminal (BNST), en el hipocampo, en el núcleo accumbens, en el núcleo talámico posteromedial y medio dorsal, en la sustancia *nigra*, en el *locus coeruleus*, en el rafe dorsal y medial, en la sustancia gris periacueductal, en el bulbo olfatorio, en el núcleo parabraquial, en el núcleo del tracto solitario y en el cerebelo (Steckler & Holsboer, 1999). Aguilera y Liu (2012), afirman que la CRH también está presente en otras estructuras tales como las células cromafines de la médula suprarrenal, los ganglios simpáticos del sistema nervioso autónomo y en sitios periféricos no neuronales, como en células inmunes, la piel y el tracto gastrointestinal.

La CRH es un péptido que se caracterizó en 1981 por el grupo de Willy Vale, ellos demostraron que la CRH estimula la secreción y la síntesis de la hormona adrenocorticotropica (ACTH) en la hipófisis anterior. En humanos, el gen de la CRH se localiza en el cromosoma 8, contiene 2 exones separados por un intrón, y codifica un precursor de 196 aminoácidos, a partir de cuyo procesamiento proteolítico se origina la CRH madura, constituida por una cadena de 41 aminoácidos (Arce, Catalina & Mallo, 2006). La CRH activa al eje Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal (HPA) y su liberación tiene efectos hipofágicos y ansiogénicos,

además de aumentar la frecuencia cardíaca, la presión arterial, y modular la actividad del sistema inmune. La CRH modula diferentes conductas, tales como, la ansiedad, la agresión, la conducta alimentaria, la actividad motora y la sintomatología depresiva. Además, la CRH está relacionada con la modulación de los procesos de memoria y aprendizaje (Smagin & Dunn, 2000). Se sabe que el estrés afecta a la cognición mediante distintas vías, una de estas es a través de la liberación de glucocorticoides, pues la exposición prolongada a estímulos estresantes conduce a niveles altos de glucocorticoides en el hipocampo, lo cual se relaciona con la pérdida y atrofia neuronal particularmente en esta área, lo que lleva a problemas cognitivos y de memoria (McEwen & Sapolsky, 1995).

La CRH es una hormona con múltiples funciones, por tanto es necesario conocer cómo es el proceso de su síntesis, así como identificar los receptores y mecanismos a través de los cuales actúa.

4.1 Síntesis de la CRH y sus receptores

La CRH fue el primer péptido detectado en el NPV del ratón. El factor más importante para la expresión del gen de la CRH es la proteína POU-hemeodominio, siendo esta un dominio característico de la familia de los factores de transcripción, este factor está expresado de forma endógena en las neuronas parvocelulares de la CRH y en las neuronas magnocelulares de vasopresina y oxitocina en el NPV (He et al., 1989).

La activación de las neuronas de la CRH en el NPV por un estímulo estresor, conduce a dos procesos básicos a nivel intracelular, a la síntesis de la CRH y de forma más rápida a la liberación del mismo péptido, por lo que cada uno de estos procesos tiene características diferentes, llevándose a cabo en distintos tiempos (Watts, 2005). Regularmente, la liberación del péptido almacenado es seguida de la síntesis de la CRH. Para la síntesis de este péptido, es necesaria la activación de la transcripción del gen de la CRH a nivel nuclear (gen casi idéntico en el humano y en la rata) lo cual ocurre en cuestión de minutos, esto es seguido de la formación del mRNA de la CRH en el citoplasma de la neurona, el cual comienza a aumentar hasta una hora después de haberse presentado el estímulo estresor. Así pues, se requiere de 20 a 30 minutos para que se forme el pre-péptido, produciéndose así el producto final (CRH) y otros 30 minutos para que éste sea empaquetado en las vesículas sinápticas para una próxima liberación (Watts, 2005).

Por otro lado, la rápida activación transcripcional no es necesaria para una secreción inmediata, pero es importante para la restauración del mRNA de la CRH para una nueva translación, pues además la activación de la transcripción de la CRH es importante para mantener niveles adecuados de la CRH y necesarios para futuras respuestas al estrés (Aguilera & Liu, 2012).

Se ha sugerido que la activación de la transcripción de la CRH depende del adenosín monofosfato cíclico (por sus siglas en inglés cAMP), el cual es dependiente de la proteína quinasa A (PKA), además se ha comentado que la transcripción de la CRH depende de la proteína CREB ("elementos de respuesta al cAMP", mediante el cual incrementa o reduce la transcripción regulada por estos factores), debido a los componentes desencadenados tras la activación de las neuronas de la CRH (Adler, Smas, Fiandaca, Frim & Majzoub, 1990; Liu, Kamitakahara, Kim & Aguilera, 2008; Seasholtz, Thompson & Douglass, 1988).

Los receptores de la CRH (CRH1 y CRH2) están acoplados a proteínas Gs, al ser estimulados se produce un intercambio de GDP a GTP ocasionando, la disociación de la subunidad α de la proteína G heterotrimérica y aumentando la concentración de la adenilato ciclasa y del cAMP (segundo mensajero). La actividad de la PKA y de la CREB se incrementan, dando paso a la transcripción que lleva a un aumento del mRNA de la CRH y a la translación de proteínas precursoras de la CRH. Por otro lado, la acción de la CRH en el eje HPA es modulada por los receptores CRH1 y CRH2, los receptores CRH1 están constituidos por una cadena de 415-420 aminoácidos, mientras que los receptores CRH2 están formados por una cadena de 397-438 aminoácidos (Dautzenberg, Kilpatrick, Hauger & Moreau, 2001).

Grammatopoulos y Chrousos (2002), mencionan que el receptor CRH1 tiene ocho variantes, los subtipos de receptores CRH1 α (con 415 aa), los CRH1 β (444 aa), los CRH1c (375 aa), los CRH1d (con 401 aa), los CRH1e (194 aa), los CRH1f (370 aa), los CRH1g y los CRH1h (con 341 y 145 aa respectivamente). Respecto a los receptores CRH2 se conocen tres variantes, los subtipos de receptores CRH2 α (constituidos por 411 aa), los CRH2 β (438 aa) y los CRH2 γ (397 aa). En roedores, los receptores CRH2 están expresados principalmente en la periferia, como en el corazón y en el conducto sanguíneo, sólo los receptores CRH2 α se encuentran en el SNC. En humanos, los receptores CRH2 α y los CRH2 β se encuentran expresados en órganos de la periferia y en el SNC y los CRH2 γ en el SNC (Spiess et al., 1998).

Sin embargo, hay una distinción en la funcionalidad de los receptores CRH1 y los CRH2, los primeros están implicados en la regulación de las respuestas de ansiedad ante el estrés y con el incremento de la actividad motora, mientras que los receptores CRH2 muestran efectos opuestos al favorecer la regulación de respuestas ansiolíticas. Por otro lado, los receptores CRH2, también se han relacionado con efectos anorexigénicos a través de ligandos como la misma CRH y la urocortina, por lo que la evidencia sugiere que estos péptidos, están involucrados en el balance energético (Grammatopoulos et al., 2002).

La urocortina (UCN) es un péptido conformado por 40 aminoácidos perteneciente a la familia de péptidos de la CRH, tales como la sauvagina, urocortina 2 y urocortina 3. Actualmente se conoce que la urocortina es el ligando endógeno para los receptores CRH1, CRH2 α y CRH2 β . Sin embargo, el receptor CRH1 no presenta diferencias en cuanto a la afinidad entre la Urocortina y la CRH, mientras que para los receptores 2 α se evidencian selectividades definidas (Zhao, Donaldson, Smith & Vale, 1997).

La urocortina muestra mayor afinidad que la CRH por los receptores CRH 2 β y tiene una afinidad 10 veces mayor para los receptores CRH 2 α . Así pues, la urocortina es más potente que la CRH para estimular la liberación de la ACTH *in vitro* y para suprimir la ingesta de alimento (Yen, Jaffe & Barbieri, 2001).

Tanaka et al. (2009), examinaron los efectos de la administración intraperitoneal (ip) de los péptidos de la familia de la CRH (CRH, urocortina 1, urocortina 2 y urocortina 3) sobre la ingesta de alimento y el peso corporal, con una dosis de 0.3 y de 0.1 nmol. Los efectos de la administración fueron medidos a los 20 min, 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 h después; encontrándose una reducción en la ingesta a partir de los 20 minutos y a partir de 1 h con los 4 péptidos. Sin embargo, a partir de las 8 horas, se evidenciaron diferencias significativas entre péptidos, la UCN 1 mostró mayor inhibición de la ingesta en comparación con la CRH y la UCN 2, mientras que la UCN 3 mantuvo los niveles más altos en cuanto a la ingesta de alimento. Con respecto al peso corporal, la UCN 1 y la UCN 2 mantuvieron un peso inferior.

Estos resultados demostraron que a nivel periférico la UCN 1 tiene efectos anorexigénicos más potentes que la UCN 2, se sugiere que la UCN 2 tiene alta afinidad por los receptores CRH2 α .

Por otro lado, Wang et al. (2001), mostraron que se requirió una dosis de 100 pmol de UCN para reducir significativamente la ingesta de alimento bajo condiciones de privación. En una prueba de alimentación nocturna, los animales evidenciaron una disminución de la ingesta de alimento por más tiempo con la administración de la UCN en comparación con la CRH. Adicionalmente la UCN resultó ser más potente para inhibir la ingesta inducida por el NPY.

Una investigación similar es la de Currie et al. (2011), ellos demostraron que la UCN 1 redujo la ingesta de alimento e inhibió los efectos orexigénicos del NPY y de la grelina en el NPV. Efectos similares se observaron en cuanto al cociente respiratorio, donde la Ucn 1 suprimió la oxidación principalmente de los carbohidratos. En conclusión, la grelina y el NPY en el NPV alteraron la ingesta de alimento y el metabolismo, incluyendo la oxidación de carbohidratos, a su vez la activación de la UCN 1 inhibió la acción orexigénica y metabólica de ambos neuropéptidos.

De esta manera, la urocortina resulta ser un potente agonista de los receptores CRH 2 que estimula la liberación de la ACTH en las células de la pituitaria anterior de la rata, induciendo un efecto anorexigénico (Yen, Jaffe & Barbieri, 2001).

La expresión de la urocortina se ha visto ampliamente distribuida en el SNC, incluyendo el hipotálamo (Latchman, 2002). La amplia expresión de inmunoreactividad en los sistema reproductivo, digestivo, cardiovascular, inmune y endocrino, sugiere que la urocortina tiene una función fisiológica importante en varios tejidos (Oki & Sasano, 2004).

4.2 Agonistas y antagonistas de CRH y conducta alimentaria

Las investigaciones han aportado alternativas para el tratamiento clínico de la ansiedad, la depresión, la anorexia nerviosa y la obesidad. Se sugiere que los antagonistas de los receptores CRH1 pueden utilizarse para el tratamiento de la ansiedad crónica y la depresión, así como de la epilepsia y la neurodegeneración. Por ejemplo, la antalarmina es un antagonista selectivo de los receptores CRH1, el cual bloquea los efectos ansiogénicos de la CRH en roedores en pruebas de laberinto, de campo abierto y en ambientes novedosos con fuerte iluminación, pero sin producir una sedación a nivel motor (Zorrilla, Valdez, Nozulack, Koob & Markou, 2002).

Con respecto a la actividad locomotora, Lodge et al. (2013), realizaron una prueba en la que su objetivo fue evaluar los posibles efectos sedantes del antagonista selectivo de los receptores CRH1, el BMS-763534, bajo diferentes dosis y bajo un modelo de ansiedad. Ellos reportan que los efectos sedantes del BMS-763534 se observaron sólo con la administración de una dosis alta (10 mg/kg).

Por otra parte, se ha mostrado que el antagonismo de los receptores CRH1, disminuye la tensión y la ansiedad en pacientes que reportan tener una historia de dependencia al alcohol, evidenciándose así una regulación positiva de los receptores CRH1 para minimizar la ansiedad que puede causar el estar bajo abstinencia total (Heilig & Koob, 2007; Koob, 2010). Asimismo, Zorilla, Heiling, De Wit y Shaham (2013), también confirman la relación existente entre el antagonismo de los receptores CRH1 para reducir el deseo de consumir alcohol, ingerir comida palatable y fumar como consecuencia del estrés y ansiedad ante una situación de abstinencia. Otros estudios sobre el antagonismo de los receptores CRH1 en relación a la conducta de ansiedad se muestran en la tabla 2, donde se sintetiza el tipo de prueba y los resultados encontrados.

Asimismo, los antagonistas de los receptores CRH2 pueden utilizarse en el tratamiento de la fatiga y el cansancio crónico, el sueño excesivo y la anorexia nerviosa (Grammatopoulos et al., 2002). Se sabe que los receptores CRH2 tienen efectos contrarios a los receptores CRH1, pues inducen efectos ansiolíticos. Respecto a la ingesta de alimento, se sabe que los antagonistas de los receptores CRH2 α como la antisauvagina-30 (ASV-30) incrementan el consumo de alimento y el peso corporal en roedores (Zoumakis, Grammatopoulos & Chrousos, 2006).

Existen estudios como el de Chotiwat y Harris (2008), donde se reportan los efectos del astressin (antagonista no selectivo de la CRH) minutos antes de una situación de estrés repetido, los resultados demostraron que el antagonista causó hipofagia y pérdida de peso, mostrándose un incremento de la ingesta una hora después de la inyección.

Adicionalmente se demostró la reducción del peso, sin embargo, después del periodo de estrés, se observó ganancia de peso corporal. Esto indica que el antagonismo de los receptores CRH inhibe la ingesta de alimento y disminuye el peso corporal durante periodos de estrés, contrariamente en periodos post-estrés el peso se recupera e incluso puede ser mayor al peso inicial. Estos resultados sugieren que se requiere de la activación de los receptores CRH1 para la iniciación de los eventos que conducen a una baja de peso corporal en ratas a las que se les induce estrés.

Yakabi et al. (2011), examinaron los efectos de la administración icv de urocortina sobre la síntesis y secreción de la grelina en ratas con un ayuno de 24 h. Los resultados mostraron que la inyección icv de urocortina aumentó los niveles de grelina gástrica de una a dos horas después de la inyección. La reducción de la ingesta de alimento por la urocortina fue revertido con la administración de grelina. Aunado a esto, se observó un aumento en la expresión c-Fos en el núcleo del tracto solitario (NTS), en el núcleo arqueado (ARC) y en el NPV tras la inyección de la UCN.

Antagonista	Especie	Prueba	Resultados	Referencia
R121919	Rata	Laberinto de Cruz.	Reduce la ansiedad	(Keck et al., 2001).
CP-154 526	Rata	Interacción social en un ambiente no familiar.	Incremento de la interacción social, y reducción de la conducta de ansiedad.	(Griebel et al., 1998)
DMP696	Rata	Interacción social. Separación materna, seguida de una prueba de laberinto. Prueba de interacción social en la vida adulta.	Incremento en la interacción social. Incremento en la permanencia en brazos abiertos del laberinto. Incremento en la interacción social en ratas adultas.	(Maciag et al, 2002)

Tabla 2. Algunas investigaciones sobre el antagonismo de los receptores CRH1 con respecto a la ansiedad.

Estos resultados sugieren que la disminución de la ingesta de alimento después de la inyección icv de la UCN puede deberse en parte a la disminución de los niveles de grelina en plasma.

Por otro lado, Wang et al. (2011), examinaron la función de los receptores CRH2 α sobre la regulación de la ingesta de alimento. Ellos administraron varias dosis de urocortina 2, de urocortina 3 y de astressin₂-B (antagonista selectivo CRH 2 α) ip. La urocortina 2 indujo una rápida disminución de la ingesta de alimento, en tanto que la urocortina 3 mostró un efecto anorexigénico 10 veces menos potente que la urocortina 2. Por otro lado, el astressin₂-B bloqueó el efecto inhibitor de la urocortina. Estos datos indican que la urocortina induce saciedad a través de los receptores CRH2.

De modo semejante, Weltemler y Ryabinin (2006), estudiaron la cantidad de alimento, agua y etanol consumidos durante el ciclo de oscuridad en ratones C57BL/6J después de la administración en el núcleo del rafe dorsal de vehículo (líquido cefalorraquídeo), urocortina 1, CRH y del antagonista ASV-30. Los resultados evidenciaron que la urocortina 1 redujo significativamente el consumo de alimento y de líquido ingerido en comparación con la CRH. Mientras que el antagonista ASV-30 aumentó el consumo de alimento. Por otro lado, la urocortina 1 no alteró la preferencia por el consumo de etanol. Estos resultados sugieren que en el rafe dorsal, la urocortina 1 induce un efecto anorexigénico.

El efecto de la urocortina y de la CRH sobre la ingesta de alimento también se ha estudiado en aves. Zhang et al., (2001), compararon el efecto de la urocortina 1 y la CRH sobre la ingesta de alimento en el pollo neonatal. En un primer experimento les administraron diferentes dosis de urocortina (0, 0.01, 0.1 o 1 μg , icv) después de un periodo de privación de 3 horas. La ingesta de alimento se redujo de manera dosis dependiente. En un segundo experimento, se comparó la eficacia de la urocortina y de la CRH para disminuir la ingesta con una dosis de 0.1 μg . Los resultados indicaron que la reducción de la ingesta de alimento fue más potente con la CRH que con la urocortina. Estos resultados sugieren que la estructura de los receptores de la CRH en pollos puede ser diferente a la de los mamíferos.

En resumen, los hallazgos previamente presentados evidencian la importancia de la CRH en la regulación de la conducta alimentaria, las investigaciones referentes a los efectos anorexigénicos de esta hormona pueden aportar información de la etiología de la anorexia nerviosa y en el desarrollo de tratamientos farmacológicos para combatir la obesidad.

5. DELIMITACIÓN DEL OBJETO DE ESTUDIO

El estudio de la literatura muestra que la investigación de la conducta alimentaria se ha fundamentado en primera instancia en el establecimiento de las estructuras anatómicas y en segundo los neurotransmisores que están relacionados funcionalmente con el control de la conducta alimentaria. Lo que ha llevado a evidenciar la complejidad para establecer cuáles son las estructuras cerebrales que controlan las diferentes facetas de la conducta alimentaria y cuáles son las vías y los neurotransmisores implicados en esta regulación.

A través de la revisión bibliográfica se puede apreciar que el funcionamiento irregular del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) se ha relacionado con la patofisiología de los desórdenes afectivos, los desórdenes de ansiedad y los desórdenes alimentarios. Las presiones sociales, culturales y estresantes pueden contribuir a la activación de este sistema. Las evidencias muestran la importante participación de los receptores $CRH2\alpha$ sobre el consumo de alimento, por lo que un desbalance en este sistema de neurotransmisores puede llevar a la génesis de la obesidad y/o de algunos trastornos de la conducta alimentaria.

Aunque se sabe de la participación de los receptores $CRH2\alpha$ en la regulación de consumo de alimento, aún no están bien establecidos los patrones conductuales que caracterizan a la conducta alimentaria modulada por los receptores $CRH\alpha2$. Por lo tanto, los datos de la presente investigación pueden constituir un aporte importante para el esclarecimiento de los mecanismos cerebrales y neuroendocrinos que participan en la etiología de la obesidad y de

algunos trastornos de la conducta alimentaria, así como del entendimiento del patrón conductual asociado a estos.

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar los efectos de la estimulación de los receptores CRH α 2 del núcleo paraventricular del hipotálamo sobre la ingesta del alimento y la expresión de la Secuencia de Siedad Conductual en ratas adrenalectomizadas.

Objetivos Particulares:

1. Evaluar el efecto de la estimulación de los receptores CRH 2α del núcleo paraventricular sobre la autoselección dietaria (carbohidratos, proteínas y grasas) en ratas adrenalectomizadas.
2. Caracterizar la expresión de la Secuencia de Siedad Conductual en ratas adrenalectomizadas.

7. HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación:

H1: Las ratas adrenalectomizadas (ADX) disminuirán la ingesta de proteínas, carbohidratos y grasas.

H2: La estimulación de los receptores CRH2 α del núcleo paraventricular afectará la autoselección dietaria (carbohidratos, proteínas y grasas) en ratas adrenalectomizadas.

H3: La estimulación de los receptores CRH2 α del núcleo paraventricular afectará la expresión de la Secuencia de Saciedad Conductual en ratas adrenalectomizadas.

8. MÉTODO

8.1 Sujetos

Se utilizaron 50 ratas macho de la cepa Wistar de 280-300 g. Los animales fueron provistos por el Bioterio de la UNAM campus Iztacala. Los procedimientos utilizados en este estudio se llevaron a cabo bajo los lineamientos de la norma oficial mexicana NOM-O62-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

8.2 Dieta

Estuvieron bajo un paradigma de autoselección dietaria en el cual se les proporcionó en comederos separados, carbohidratos (harina de maíz Maseca, maíz nixtamalizado, Molinos Azteca de Chalcos S.A. de C.V., planta Teotihuacán), proteínas (proteína aislada de soya 90% marca Soya Profam 646, distribuido por Food Proteín Corporation, S.A. of C.V., AMD Proteín Specialities Division, Decatur, IL 6252, U.S.A.), grasa (manteca vegetal Inca. Elaborado por Anderson Clayton & Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México). El orden de presentación de las fuentes se cambió diariamente para evitar “preferencia de lugar”.

8.3 Fármacos

Los fármacos que se utilizaron fueron: Antisauvagina-30 trifluoracetato (ASVG-30, antagonista CRH2), este fármacos fue adquirido con Sigma Chemical Co., St. Louis, MO. La Urocortina 2 (agonista CRH-2) fue adquirida con Phoenix Pharmaceuticals, INC. Todos los fármacos fueron infundidos a una velocidad de 0.5 μ l por minuto en el núcleo paraventricular del hipotálamo. La dosis para la antisauvagina fue de 2 μ g/0.5 μ l y para la urocortina 2 fue de 1 μ g/0.5 μ l.

Para asegurar una difusión completa de las sustancias el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía, posteriormente, fue retirado. La administración de los fármacos se realizó con una jeringa digital para fluidos de alta precisión (Hamilton Co., Reno, NV).

8.4 Cirugías

a) Estereotáxica

Los animales fueron anestesiados con una dosis de pentobarbital (35 mg / 1000 g, ip) y colocados en un aparato estereotáxico para realizar la implantación de una cánula guía en el núcleo paraventricular hipotalámico (NPV). Para la implantación de la cánula, se realizó un corte longitudinal en la piel para dejar descubiertos los huesos craneales, con el taladro se perforó para colocar la cánula guía en el NPV del lado derecho. Posteriormente, se realizó otra perforación para colocar un tornillo de acero inoxidable. Una vez implantado el tornillo y la cánula, se fijó con cemento acrílico dental.

Las coordenadas estereotáxicas empleadas fueron las sugeridas en el Atlas Estereotáxico de Paxinos y Watson (1998), posterior a bregma -1.4 mm, lateral -0.4 mm y ventral -6.4 mm. Posteriormente, al término de la cirugía, se aplicaron 50.000 u/Kg de penicilina benzatínica para prevenir infecciones. Posteriormente los animales estuvieron en un periodo de recuperación de 7 días.

b) Adrenalectomía bilateral

Bajo la misma dosis de anestesia se realizó una segunda cirugía para extraer las glándulas adrenales (ratas ADX) o bien para realizar una falsa cirugía en la que no se extrajeron las glándulas adrenales (ratas SHAM). Se realizaron dos incisiones dorsales, las cuales se consideraron una falsa lesión (ratas SHAM) ya que no se tocaron las glándulas adrenales. En otros sujetos se extrajeron las glándulas adrenales de forma bilateral (ratas adrenalectomizada, ADX), a través de dos incisiones dorsales. Las ratas ADX después de la cirugía tuvieron disponible en su caja habitación solución salina al 0.9% para beber, debido al efecto de la cirugía en el sistema cardiovascular.

8.5 Secuencia de Saciedad Conductual

Halford, Wanninayake y Blundel (1998) consideran a la SSC como un análisis de la conducta alimentaria, donde existe la transición ordenada de comer, moverse (actividad general), acicalarse y descansar, las cuales son actividades que se miden durante un período postingesta. La cual puede emplearse para determinar si la hipofagia producida por un fármaco se debe a mecanismos “naturales” ligados a la saciedad o bien, a otros mecanismos, así mismo, cuando se observa una interrupción de la SSC, se identifica que la reducción de la ingesta se debe a mecanismos diferentes a los de saciedad, por ejemplo, por náusea, dolor, sedación o hiperactividad. Las actividades básicas que conforman a la SSC, son la alimentación, el acicalamiento, la actividad y el descanso.

9. PROCEDIMIENTO

Al llegar al laboratorio, los sujetos estuvieron bajo habituación a las condiciones experimentales por una semana. Fueron colocados de manera aleatoria en cajas habituación-individuales con acceso *ad libitum* al agua y al alimento (carbohidratos, proteínas y grasas). Se programó un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 x 12 horas, controlado de forma automática por medio de un *timer*. Estas condiciones permanecieron durante toda la investigación.

Posterior al periodo de habituación se realizó la cirugía estereotáxica y la adrenalectomía. Después de un lapso de recuperación de una semana, tanto ratas Sham como ratas ADX fueron asignadas a uno de cinco tratamientos:

1. Grupo SHAM: Vehículo + Vehículo (Control).
2. Grupo ADX: ADX + Vehículo + Vehículo.
3. Grupo UCN 2: ADX + Vehículo + Urocortina 2 (Agonista CRH α 2).
4. Grupo ASV-30: ADX + ASV 30 + Vehículo (Antagonista CRH α 2).
5. Grupo Pretratado: ADX + Asv 30 + Urocortina 2.

Todas las inyecciones fueron administradas en el NPV. Todos los grupos recibieron dos inyecciones, entre una y otra existió un lapso de 10 min. Después de la segunda inyección, se dio inicio a una grabación de 60 min, la cual sirvió para realizar el registro conductual, todas las grabaciones fueron realizadas al inicio de la fase de oscuridad.

Se consideraron dos sistemas de registro para realizar la recolección de datos. Un registro de duración continúa de 60 minutos el cual sirvió para elaborar el análisis conductual (Secuencia de Saciedad Conductual). Los 60 minutos de observación fueron video-grabados con una cámara para baja intensidad de luz,

todas las sesiones se grabaron desde un cuarto contiguo para no interferir la conducta de los sujetos experimentales. El segundo registro fue un control de la cantidad de alimento ingerido, al finalizar el registro de duración continua se pesaron los comederos (recolectando y pesando el alimento derramado de los comederos) para conocer la cantidad de alimento consumido.

Falta describir la prueba conductual (SSC)

9.1 Histología

Al finalizar las sesiones, los sujetos experimentales fueron sacrificados con una inyección intracardiaca de pentobarbital. Posteriormente se removió el cerebro, el cual se mantuvo durante 7 días en formol al 10%. Después de esto, se realizaron cortes histológicos coronales de 70 μm de espesor con un vibratomo, para poder verificar el sitio de implantación de cánula guía.

9.2 Análisis Estadístico

Los datos fueron expresados en terminos de medias \pm EEM. Se utilizó un ANOVA de una vía para comparar la ingesta de cada uno de los macronutrientes (carbohidratos, proteínas y grasas) y las categorías conductuales de la SSC (alimentación, descansar, acicalarse y actividad). Los datos de las categorías conductuales primero fueron integrados (segundos/tiempo) para obtener el área bajo la curva (ABC) y posteriormente se realizó el ANOVA. Un ANOVA significativo fue seguido de la prueba *post hoc* de Tukey. La significancia fue $p < .05$.

10. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Después de verificar el sitio de implantación de la cánula histológico (véase Figura 1), los grupos quedaron conformados por el siguiente número de animales: Grupo SHAM (n=8), Grupo ADX (n=9), Grupo UCN2 (n=6), Grupo ASV30 (n=6), Grupo ASV30+UCN2 (n=6).

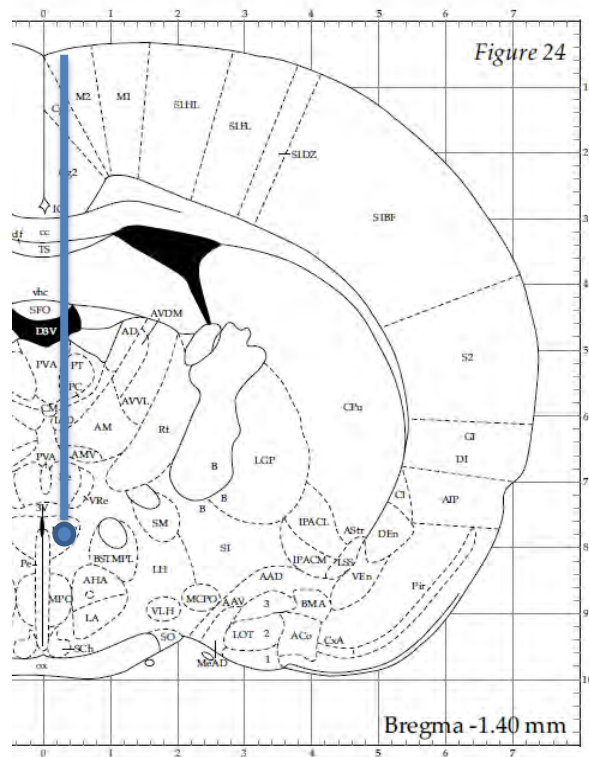


Figura 1. Esquema de corte coronal de cerebro de rata, en el cual se muestra el sitio en el que se realizó la implantación de la cánula (PaAP= Núcleo Paraventricular Hipotalámico parvocelular) modificado de Paxinos y Watson, 1998.

Ingesta de alimento

De acuerdo al ANOVA, se encontraron diferencias estadísticas significativas en el consumo de carbohidratos [$F_{(4, 30)} = 5.238; p = .0025$] y en el consumo de

grasas [$F_{(4, 30)} = 3.327$; $p = .0228$]. La prueba *post hoc* de Tukey indicó una reducción en el consumo de carbohidratos en los grupos SHAM, ADX y UCN2 en comparación con el grupo ASV-30. También se encontró una reducción con respecto a la ingesta de grasas en el grupo UCN2 con respecto al grupo SHAM (véase figura 2). En ambos casos el pretratamiento previno el efecto anorexigénico de la UCN2.

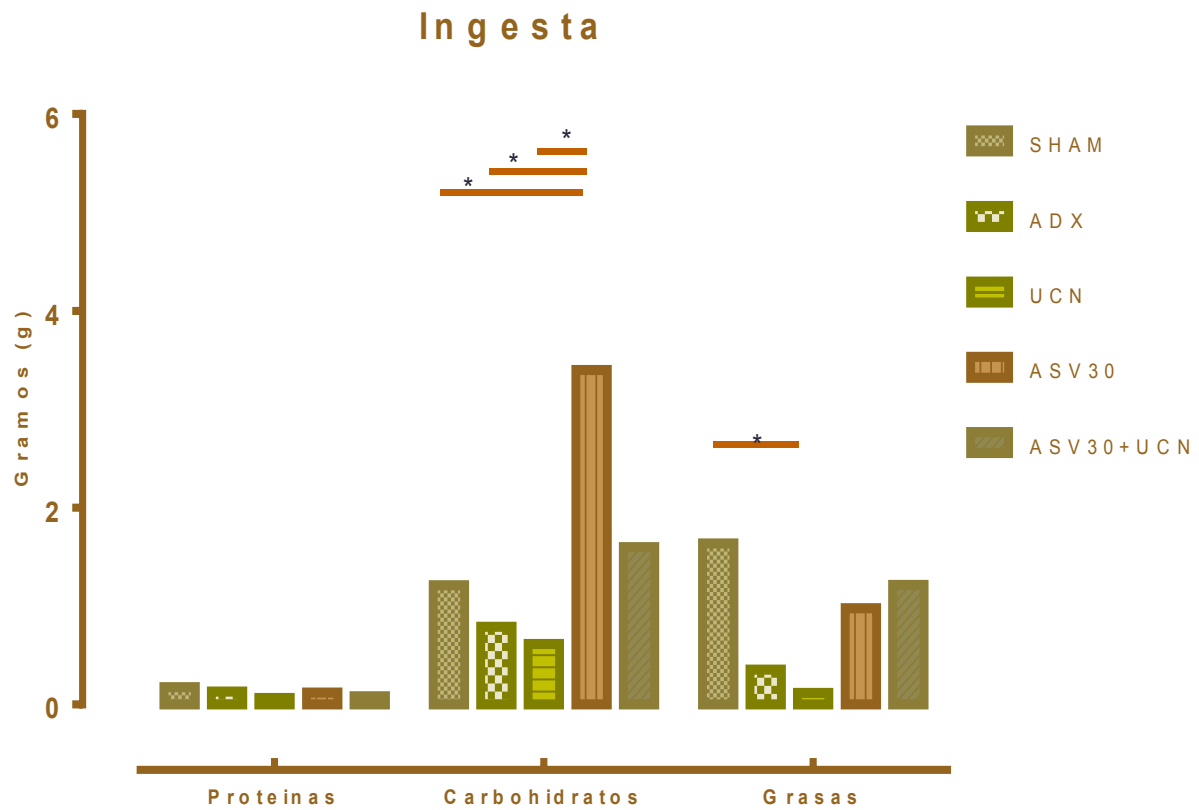


Figura 2. Media \pm EEM de la ingesta de alimento (g) de proteínas, carbohidratos y grasas. Bajo los tratamientos de Vehículo (grupo Sham y ADX), Urocortina 2, Antisauvagina-30 y pretratamiento en ratas ADX. * $p < .05$.

Secuencia de Saciedad Conductual

El análisis muestra que el grupo SHAM no expresó el patrón típico del desarrollo de la secuencia de saciedad conductual, pues los sujetos experimentales no iniciaron con la conducta de alimentarse, esta fue reemplazada principalmente por la actividad y el acicalamiento. Posterior al minuto 35 (periodo 7), ocurrió la transición entre la conducta de alimentación y la conducta de descanso, cerca del periodo 11 se observó otro periodo de transición, lo cual sugiere que las ratas consumen alimento de forma intermitente, pero no consumen por el tiempo suficiente para desarrollar el perfil clásico de la SSC (véase Figura 3A).

En el grupo ADX se observó el patrón típico de la SSC, es decir los sujetos se alimentan, se acicalan, están activos y finalmente descansan, cerca del minuto 20 (periodo 4) ocurrió la transición entre la conducta de alimentación y la conducta de descanso, la cual se mantuvo durante el resto de los periodos (véase Figura 3B).

Por otro lado, la administración de la Urocortina 2, provocó que los sujetos dejaran de alimentarse durante casi toda la hora de registro, la transición entre la conducta de alimentarse y la de descanso se presentó en el periodo 1 (véase Figura 3C), interrumpiendo el patrón típico de la SSC, como consecuencia de la aparición temprana de la conducta de descansar, lo cual se explica por los efectos anorexigénicos de la UCN 2.

Con respecto a la administración del antagonista ASV-30, se observó el patrón típico de la SSC, desde los primeros minutos los sujetos experimentales iniciaron con la conducta de alimentación seguida del acicalamiento, actividad y descanso. En el periodo 5 (25 minutos) se presentó la transición entre la conducta de alimentación y la conducta de descanso (véase Figura 3D), la cual se mantuvo a lo largo del registro conductual.

Por último, la administración del pretratamiento mostró el patrón típico de la SSC, la transición entre la conducta de alimentación y la de descanso se presentó en el periodo 4 (20 minutos), manteniéndose la conducta de descanso durante el resto del registro (véase Figura 3E). El pretratamiento previno la interrupción de la SSC inducida por la UCN 2.

Secuencia de Sacidad Conductual

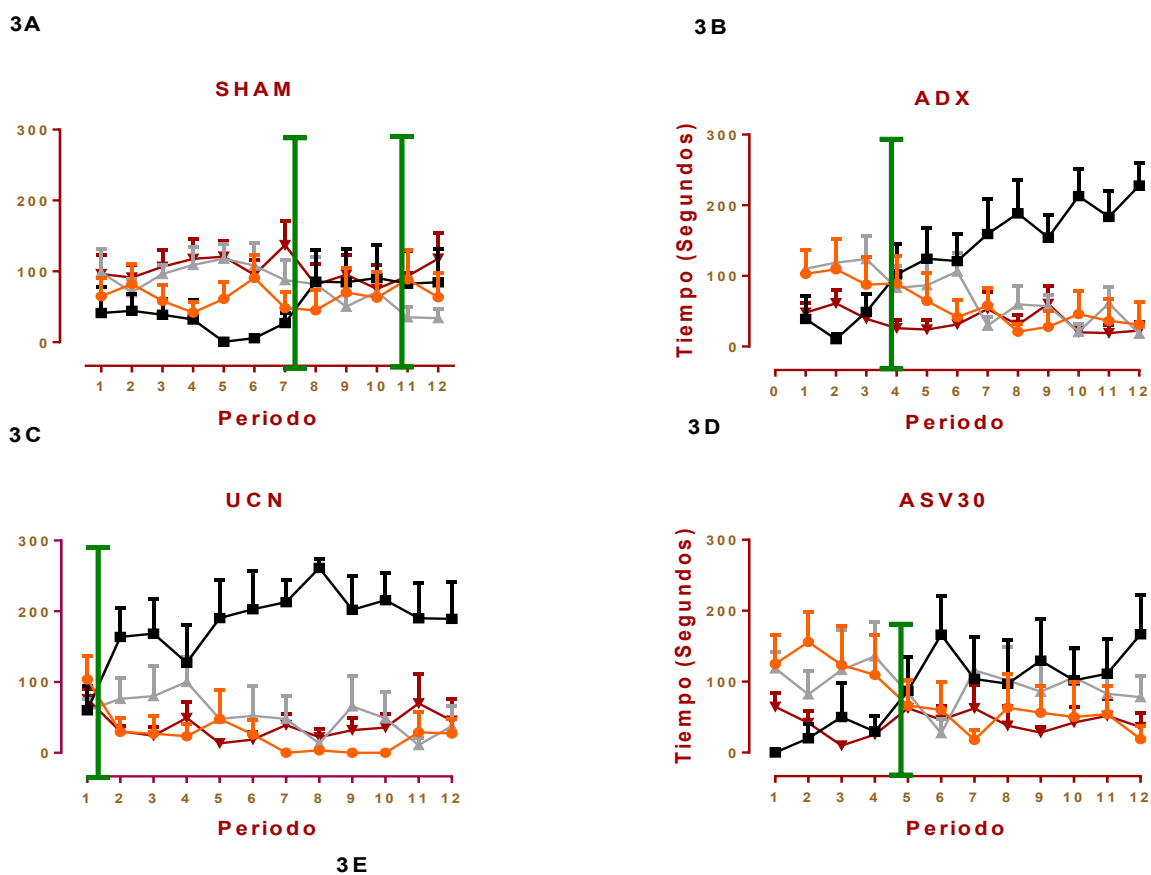


Figura 3. Desarrollo de la secuencia de sacidad conductual (SSC) durante 12 periodos de 5 minutos (tiempo total 1 hora) para cada grupo. La línea vertical indica el momento de la transición entre las conductas de alimentación y descansar.

El ANOVA del área bajo la curva (ABC) de los parámetros de la SSC, mostró diferencias significativas en la conducta de descanso [$F(4, 30) = 3.716$; $p = .0143$] y en actividad [$F(4, 30) = 7.605$; $p = 0.0002$] (véase Figura 6). La prueba *post hoc* de Tukey mostró un aumento significativo de la conducta de descanso en el grupo UCN 2 en comparación con el grupo SHAM. Esto sugiere que el efecto anorexigénico inducido por la UCN2 se debió al incremento de la conducta de descanso. La prueba a *posteriori* indicó una disminución de la actividad en los grupos ADX, UCN 2, ASV-30 y ASV-30+UCN 2 con respecto al grupo SHAM, (véase Figura 4). En las conductas de alimentarse y descanso no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

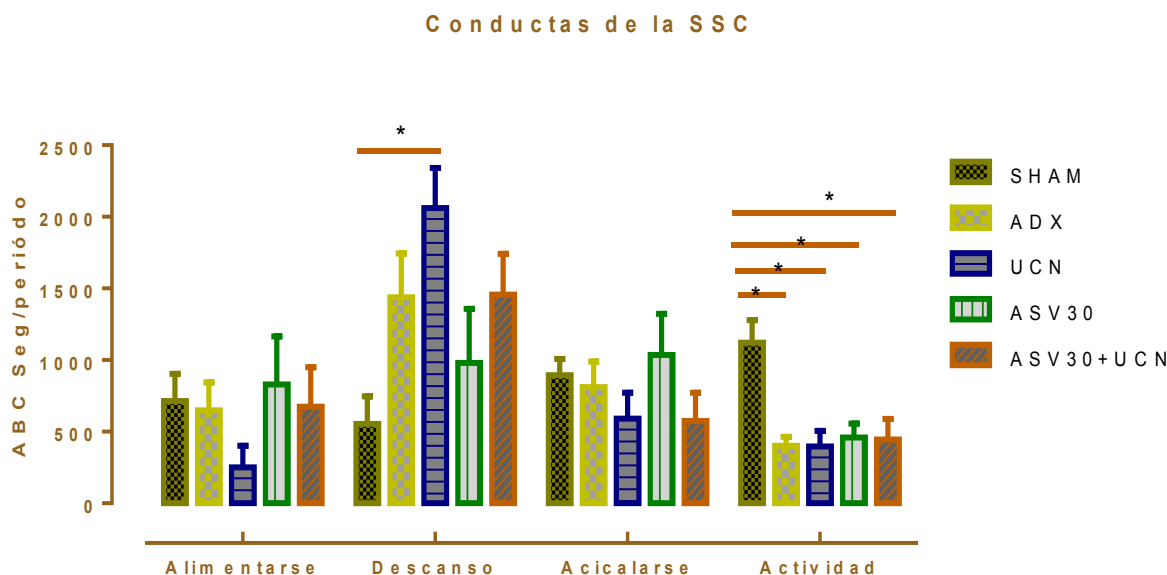


Figura 4. Media \pm EEM del área bajo la curva (ABC) de las conductas de alimentarse, acicalarse, actividad y descanso en ratas adrenalectomizadas y falsa cirugía (sham) bajo diferentes tratamientos (vehículo, urocortina 2, antisauvagina-30 y pretratamiento) administrados en el PVN. * $p < .05$.

11. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar los efectos de la estimulación de los receptores CRH2 α del núcleo paraventricular del hipotálamo sobre la ingesta del alimento y la expresión de la secuencia de saciedad conductual en ratas adrenalectomizadas. Los resultados mostraron que la adrenalectomía redujo la ingesta de alimento, la administración de la UCN 2 estimuló el efecto hipofágico sobre los carbohidratos y las grasas en las ratas ADX y el pretratamiento con el antagonista ASV-30 previno este efecto.

Estos resultados son consistentes con los de Torres et al. (2010), pues de forma similar el antagonista de los receptores CRH2 (ASV-30) revirtió el efecto hipofágico inducido por la ADX. Ellos observaron un aumento en la expresión del mRNA de la CRH en el PVN en ratas ADX, este efecto se vio potenciado cuando los sujetos fueron alimentados. Se sugiere que el aumento de la expresión del mRNA se debió a la ausencia de la retroalimentación negativa de los glucocorticoides en el NPV. Dicho efecto es consistente con la anorexia observada en los animales ADX y con la reducción de la ingesta de alimento promovida por la administración central de la CRH. Adicionalmente, en las ratas ADX se observó un aumento del mRNA de oxitocina en el NPV y la activación de las neuronas de oxitocina al ser alimentadas, la administración de antagonistas de oxitocina puede también revertir la hipofagia inducida por la ADX. También observaron que en las ratas ADX se activan neuronas del núcleo del tracto solitario (NTS) al ser alimentadas, efecto que puede ser revertido con antagonistas de los receptores CRH2 α . Lo anterior sugiere que a pesar de que las ratas ADX consumen una

cantidad menor de alimento, las respuestas relacionadas con la saciedad se encuentran aumentadas, lo que indica que estos animales son más sensibles a los estímulos fisiológicos provocados por las señales de los episodios de alimentación.

Por otro lado, el efecto inducido por la UCN2 en la presente investigación es consistente con lo reportado por Pellemounter, Joppa, Ling y Foster (2004), quienes señalan que la administración icv de la UCN2 produjo efectos anorexigénicos diez veces más potentes que la UCN3, efecto que fue prevenido con el antagonista CRH2 antisauvagina-30. Por otro lado, Ohata y Shibasaki (2004), también encontraron que la administración icv de la UCN2 y de la UCN3 redujo la ingesta de alimento después de una hora de haberse administrado, adicionalmente la UCN3 mostró un efecto supresor de la actividad motora.

Con respecto a la autoselección dietaria, se observó una reducción de la ingesta de carbohidratos en los grupos UCN2 y ADX, y en grasa en el grupo UCN2. Este resultado es acorde al reportado por Bligh et al. (1991), ellos demostraron que la adrenalectomía ocasionó una disminución de la ingesta de alimento, principalmente de los carbohidratos y la grasa. Por otro lado, Kumar et al. (1988), encontraron un efecto supresor de la ingesta de alimento particularmente sobre la selección de carbohidratos al inicio de la fase de oscuridad en ratas ADX bajo un paradigma de autoselección dietaria.

Estos autores también demostraron que la administración de corticosterona, revierte el efecto hipofágico de la ADX, confirmando que esta hormona ejerce control sobre el consumo de alimento. Con respecto a la disminución del consumo de grasas observado en la presente investigación, este efecto es similar al reportado por Bligh et al. (1991), tras una adrenalectomía en ratas macho Sprague-Dawley, observó una disminución significativa del consumo de grasa.

Por lo tanto, los resultados de la presente investigación con respecto a la ingesta de alimento sugieren que los receptores $CRH2\alpha$ del NPV median la hipofagia inducida por la adrenalectomía y por la UCN2 en las ratas ADX. Por otra parte, la estimulación central de los receptores $CRH2\alpha$ no sólo influyó sobre la ingesta de alimento, también afectó el desarrollo típico de la SSC. En la presente investigación la afectación de la SSC podría atribuirse a la manipulación de dos variables: 1) a la administración de los fármacos y 2) a la cirugía ADX.

A pesar de que los sujetos experimentales del grupo SHAM ingirieron alimento, en la SSC no se encontró el desarrollo típico como se hubiera esperado. En este grupo la conducta de actividad fue elevada, además de presentar dos periodos de transición entre la conducta de descanso y la de alimentación. Estudios previos en nuestro laboratorio en ratas con cirugía estereotáxica, bajo las mismas condiciones experimentales (dieta, periodo de luz/oscuridad y temperatura) y con tratamiento de solución salina administrada intra-NPV han presentado una SSC típica (López et al., 2007, López et al., 2009).

Sin embargo, en el caso del presente reporte, la actividad fue elevada. Al respecto Halford, Wanninayake y Blundell (1998), mencionan que el aumento de una conducta como la actividad que retrasa el inicio del reposo y fragmenta la conducta alimentaria en numerosos episodios de corta duración que se extienden a través de todo el período de observación puede ser considerada como disruptiva. Estos efectos se han observado con la administración de fármacos como la d-anfetamina (agente liberador de dopamina), el RU-24969 (agonista 5-HT_{1A/1B}), el DOI (agonista 5-HT₂) y varios agonistas dopaminérgicos administrados centralmente (Lievens et al., 2009). Aunque en la presente investigación sólo se administró solución salina intra-NPV al grupo SHAM, el desarrollo de la SSC se vio afectado, posiblemente este efecto esté relacionado con el estrés producido por la manipulación experimental.

En el caso del grupo ADX se encontró que la SSC presentó un desarrollo típico. El desarrollo típico de la SSC se caracteriza por presentar principalmente conducta de alimentación en los primeros episodios del registro conductual, seguida de actividad y acicalamiento, para finalmente presentarse descanso (Halford et al., 1998). En este grupo la actividad fue menor a la observada en el grupo SHAM, esto podría estar en relación a lo que mencionan Briones, Castillo y Picazo (2009), la extirpación de las glándulas adrenales induce un efecto ansiolítico.

Posiblemente en la presente investigación, el manejo experimental (falsa cirugía) en el grupo SHAM esté causando un efecto estresor, motivo por el cual no se observó la SSC típica, pero mejora en el grupo ADX debido al efecto ansiolítico inducido por la extirpación de las glándulas adrenales.

La administración de la urocortina 2 interrumpió el patrón típico de la SSC debido a la aparición temprana de la conducta de descanso, ésta fue observada en los primeros minutos del registro conductual. Evidencias previas señalan que la CRH está relacionada con la modulación del ciclo sueño-vigilia (Opp, 1995; Opp 1997). Opp (1997) reportó que ratas LEW (deficientes en la síntesis y secreción de CRH hipotalámica) pasan menos tiempo en vigilia y más en la etapa de sueño de ondas lentas. El investigador concluye que la CRH regula y/o modula el sueño y la vigilia. Por otro lado, Grammatopoulos et al. (2002) señalan que los antagonistas de los receptores CRH2 pueden utilizarse en el tratamiento de desórdenes del sueño.

La conducta alimentaria, la conducta de actividad y la conducta de acicalarse pueden presentarse de forma discreta en períodos posteriores a la observación, de manera que nuestros resultados sugieren que el efecto hipofágico de la urocortina 2 se debió a un estado de sedación y no al proceso de satisfacción. La satisfacción entendida como el proceso que permite dar por terminada la ingesta de alimento derivada de las condiciones fisiológicas, metabólicas y sensoriales normales (Blundell, Rogers & Hill, 1985).

Asimismo, la administración de la ASV-30 incrementó la ingesta de alimento en las ratas ADX, el periodo de transición entre la conducta de alimentarse y la de descanso se recorrió a la derecha con respecto al grupo ADX, es decir se prolongó el proceso de satisfacción, el patrón conductual fue el típico de la SSC. En este grupo, también se observó la disminución de la actividad con respecto al grupo SHAM. En concordancia con el efecto ansiolítico inducido por la cirugía ADX, Radulovic, Ruhman, Liepold y Spiess (1999), reportaron que la administración de CRH en el *Septum Lateral* incrementó la conducta de ansiedad después de 30 minutos, mientras que la administración de ASV-30 redujo la actividad motora. En el caso del grupo pretratado se observó el patrón típico de la SSC, es decir las conductas se presentaron en orden, alimentación, acicalarse, actividad y finalmente el descanso. Estos resultados sugieren que el antagonista ASV-30 previno la interrupción de la SSC producida por la Urocortina.

12. CONCLUSIONES

- En la presente investigación se encontró que la adrenalectomía redujo la ingesta de alimento al inicio del ciclo natural de oscuridad.
- La administración del antagonista ASV-30 revirtió el efecto hipofágico de los carbohidratos inducido por la ADX.
- La administración de la urocortina 2 mostró una disminución en la ingesta de carbohidratos y grasas en las ratas ADX.
- El pretratamiento con el antagonista ASV-30 en las ratas ADX previno el efecto anorexigénico de la urocortina 2.
- El análisis de la SSC evidenció que el efecto anorexigénico de la urocortina se debió a la interrupción de la SSC, como consecuencia del desarrollo temprano de la conducta de descanso.
- La administración del pretratamiento con ASV30+UCN previno la interrupción de la SSC inducida por la urocortina 2 en las ratas ADX.
- Con respecto al grupo sham, es necesario continuar investigando para determinar las causas de la interrupción de la SSC.
- Con base a estos resultados, se sugiere que los receptores CRH2 α no sólo median el efecto anorexigénico de la CRH, también están relacionados con la modulación del desarrollo de la saciedad conductual.
- Estos resultados constituyen un aporte importante para la caracterización funcional de los receptores de CRH2 α .

13. PERSPECTIVAS

Con base en la evidencia que arrojó la presente investigación, para futuras investigaciones se sugiere contrastar los efectos de la modificación de la SSC. Para esto, se podría recurrir a un diseño factorial de 3x4, en el cual se tendrían dos variables independientes, la primera sería el nivel de la manipulación de la cirugía ADX (presencia, ausencia y falsa cirugía) y la segunda correspondería al tipo de tratamiento con el fármaco (salina, urocortina, asv-30 y el pretratamiento). Lo anterior con la finalidad de evaluar de forma independiente, el efecto que está teniendo tanto la variable cirugía, así como la administración del fármaco para la disminución de la ingesta y la modificación de la SSC, aportándose así, información para aclarar si la falsa cirugía alteró o no el desarrollo de la SSC, como consecuencia del estrés y/o molestias post-cirugía. Además, se podrían realizar pruebas bioquímicas para conocer el nivel de corticosterona de los animales y así poder conocer con mayor precisión si la modificación de la SSC en las ratas con falsa cirugía se alteró por causa de estrés.

Finalmente, debido a que los animales pasan por una doble cirugía (estereotáxica y ADX), lo cual es sumamente invasivo, se considera que una alternativa para sustituir la cirugía ADX, es que se utilicen bloqueadores de CRH, ACTH y/o de glucocorticoides, esto para la inhibición del eje HPA y así mismo, del feedback negativo de los glucocorticoides en el núcleo paraventricular hipotalámico, dando como resultado, un procedimiento y metodología menos invasiva para los animales experimentales.

14. BIBLIOGRAFÍA

- ✚ Adler, G., Smas, C., Fiandaca, M., Frim, D. & Majzoub, J. (1990). Regulated expression of the human corticotropin releasing hormone gene by cyclic AMP. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 70, 165–174.
- ✚ Aguilera, G. & Liu, Y. (2012). The molecular physiology of CRH neurons. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 33, 67-84.
- ✚ Anne, K., Martin, N. & Bloom, S. (2009). Regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arquivos Brasileiros de Endocrinología y Metabologia*, 53(2), 120-128.
- ✚ Arce, V., Catalina, P. & Mallo, F. (2006). *Endocrinología*. (3ra. Ed.). España: Universidad de Santiago de Compostela.
- ✚ Asakawa, A., Inui, A., Ueno, N., Makino, S. & Fujino, S.(1999). Urocortin reduces food intake and gastric emptying in lean and *ob/ob* obese mice. *Gastroenterology*, 116(6), 1287-1292.
- ✚ Bakshi, V., Newman, S., Smith-Roe, S., Jochman, K. & Kalin, N. (2007) Stimulation of lateral septum CRF2 receptors promotes anorexia and stress-like behaviors: Functional Homology to CRF1 receptors in basolateral amygdale. *The Journal of Neuroscience*, 27(39), 10568-10577.
- ✚ Bazhan, N. & Zelena, D. (2013). Food-intake regulation during stress by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Brain Research Bulletin*, 95, 46-53.
- ✚ Bligh, M., De Stefano, M., Kramlik, S., Douglass, L., Dubuc, P. & Castonguay, T. (1990). Adrenal modulation of the enhanced fat intake subsequent to fasting. *Physiology & Behavior*, 48(3), 373-381.

- ✚ Bligh, M., Douglass, L. & Castonguay, T. (1991). Corticosterone modulation of dietary selection patterns. *Physiology & Behavior*, 53, 975-982.
- ✚ Blundell, J., Rogers, P. & Hill, A. (1985). Behavioural structure and mechanisms of anorexia: calibration of natural and abnormal inhibition of eating. *Brain Research Bulletin*, 15, 371–376.
- ✚ Briones, A., Castillo, M. & Picazo, O. (2009). Adrenalectomy modifies the hippocampal 5-HT_{1A} receptors and the anxiolytic-like effect of 8-OH-DPAT in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 92 (1), 182–189.
- ✚ Cañedo, S. (2005). Secreción endocrina. En: R. Drucker (Ed.). *Fisiología Médica*. (1ra. Ed.). (pp. 387- 405). México: Manual Moderno.
- ✚ Chotiwat, C. & Harris, R. (2008). Antagonism of specific corticotropin-releasing factor receptor subtypes selectively modifies weight loss in restrained rats. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295, 1762-1773.
- ✚ Connan, F., Lightman, S., Landau, S., Wheeler, M., Treasure, J. & Campbell, I. (2007). An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa: The role of CRH and AVP. *Journal of Psychiatric Research*, 41, 131-143.
- ✚ Currie, P., Coiro, C., Duenas, R., Guss, J., Mirza, A. & Tal, N. (2011). Urocortin I inhibits the effects of ghrelin and neuropeptide Y on feeding and energy substrate utilization. *Brain Research*, 1385, 127-134.

- ✚ Dallman, M., Warne, J., Foster, M. & Pecoraro, N. (2007). Glucocorticoids and insulin both modulate caloric intake through actions on the brain. *Journal of Physiology*, 583(2), 431–436.
- ✚ Dautzenberg, F., Kilpatrick, G., Hauger, R. & Moreau, J. (2001). Molecular biology of the CRH receptors- in the mood. *Peptides*, 22, 753-760.
- ✚ Dawson, J., Taylor, M. & Reide, P. (2001). *Lo esencial en farmacología*. (2a. Ed.) España: Elsevier.
- ✚ Drolet, G. & Rivest, S. (2001). Corticotropin-releasing hormone and its receptors; an evaluation at the transcription level in vivo. *Peptides*, 22, 761-767.
- ✚ Duval, F., González, F. & Rabia, H. (2010). Neurobiología del estrés. *Revista Chilena de Neuro-psiquiatría*, 48(4), 307-318.
- ✚ Germano, C., Castro, M., Rorato, R., Laguna, M., Antunes, J., Elías, C. & Elías, L. (2007). Time course effects of adrenalectomy and food intake on cocaine and amphetamine-regulated transcript expression in the hypothalamus. *Brain Research*, 1166, 55-64.
- ✚ Godfrey, R. & Julien, M. (2005). Urbanisation and health. *Clinical Medical*, 5, 137-141.
- ✚ González, M., Ambrocio, K. & Sánchez, S. (2006). Regulación neuroendocrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético. *Investigación en Salud*, 8(3), 191-200.

- ✚ Grammatopoulos, D. & Chrousos, G. (2002). Functional characteristics of CRH receptors and potential clinical applications of CRH-receptor antagonists. *TRENDS in Endocrinology & Metabolism*, 13 (10), 436-443.
- ✚ Griebel, G., Perrault, G. & Sanger, D. (1998). Characterization of the behavioral profile of the non-peptide corticotropin-releasing factor receptor antagonist CP-154,526 in anxiety models in rodents. Comparison with diazepam and buspirone. *Psychopharmacology*, 138, 55–66.
- ✚ Grill, H., Markison, S., Ginsberg, A. & Kaplan, J. (2000). Long-term effects on feeding and body weight after stimulation of forebrain or hindbrain CRH receptors with urocortin. *Brain Research*, 867, 19-28.
- ✚ Guyton, A. (1994). *Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso. Neurociencia básica. (2a. Ed.)* España: Editorial Médica Panamericana.
- ✚ Haldford, J.C.G., Wanninayake, C.D. & Blundell, J.E. (1998). Behavioral satiety sequences (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 61(2), 159-168.
- ✚ He, X., Treacy, M., Simmons, D., Ingraham, H., Swanson, L. & Rosenfeld, M. (1989). Expression of a large family of POU-domain regulatory genes in mammalian brain development. *Nature*, 340, 35-42.
- ✚ Heilig, M. & Koob, G. (2007). A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *TRENDS in Neurosciences*, 30, 399-406.

- ✚ Herman, J., Ostrander, M., Mueller, N. & Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 29(8), 1201–1213.
- ✚ Hillebrand, J., De Wied, D. & Adan, R. (2002). Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. *Peptides*, 23(12), 2283-2306.
- ✚ Hiriart, M. & García, J. (2005). Principios generales y fisiología celular del sistema endocrino. En: R. Drucker (Ed.). *Fisiología Médica* (pp. 493-510). México: Manual Moderno.
- ✚ Keck, M., Welt, T., Wigger, A., Renner, U., Engelmann, M. & Holsboer, F. (2001). The anxiolytic effect of the corticotropin-releasing hormone 1 receptor antagonist R121919 depend on innate emotionality in rats. *European Journal of Neurosciences*, 13, 373-380.
- ✚ Kinney, J., Scruggs, B. & Avery, D. (2001). Peripheral administration of urocortin suppresses operant responding for food reward. *Peptides*, 22(4), 583-587.
- ✚ Koob, G. (2010). The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Research*, 1314, 13-14.
- ✚ Kumar, B., Papamichael, M. & Leibowitz, F. (1986). Feeding and macronutrient selection patterns in rats: Adrenalectomy and corticosterone replacement. *Physiology & Behavior*, 42, 581-589.

- ✚ La Fleur, S. (2006). The effects of glucocorticoids on feeding behavior in rats. *Physiology and Behavior*, 89, 110-114.
- ✚ Latchman, D. (2002). Urocortin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34, 907-910.
- ✚ Laugero, K. (2004). Reinterpretation of basal glucocorticoid feedback: implications to behavioral and metabolic disease. *Vitamins & Hormones*, 69, 1-29.
- ✚ Lievens, S., Verbaeys, I., Flo, G., Briers, R., Decuypere, E. & Cokelaere, M. (2009). Disruption of the behavioral satiety sequence by simmondsin. *Appetite*, 52, 703-710.
- ✚ Liu, Y., Kamitakahara, A., Kim, A. & Aguilera, G. (2008). Cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate responsive element binding protein phosphorylation is required but not sufficient for activation of corticotropin-releasing hormone transcription. *Endocrinology*, 149, 3512–3520.
- ✚ Lodge, N., Lelas, S., Wen Li, Y., Molski, T., Grace, J., Sivarao, D., Post-Munson, D., Healy, F., Bronson, J., Hartz, R., Macor, J. & Zaczek, R. (2013). Pharmacological and behavioral characterization of the novel CRF1 antagonist BMS-763534. *Neuropharmacology*, 67, 284-293.
- ✚ López, V., Mancilla, M. & Escartín, R. (2002). Secuencia de saciedad conductual: Un análisis de la conducta de alimentación. *Revista mexicana de análisis de la conducta*, 28, 131-144.

- ✚ López, V., Mancilla, M., Rito, M., González, B. & Escartín, R. (2007). The effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} receptor agonists on behavioral satiety sequence in rats. *Neuroscience Letters*, 416, 285-288.
- ✚ López, V., Mancilla, J., Rito, M., Escartín, R. & Jiménez, A. (2009). Caracterización de la conducta alimentaria inducida por Agonistas 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}. *Revista mexicana de análisis de la conducta*, 35, 13-30.
- ✚ Maciag, C., Dent, G., Gilligan, P., He, L., Dowling, K. & Ko, T. (2002). Effects of a non-peptide corticotropin-releasing factor antagonist (DMP 696) on the behaviour and endocrine sequelae of maternal separation. *Neuropsychopharmacology*, 26, 574–582.
- ✚ Maniam, J. & Morris, M. (2012). The link between stress and feeding behavior. *Neuropharmacology*, 63 (1), 97-110.
- ✚ McEwen, B. & Sapolsky, R. (1995). Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology*, 5 (2), 205-216.
- ✚ Martínez, H., Montenegro, P., Restrepo, J., Rondón, F., Quintana, G. & Iglesias, A. (2010). Historia de los glucocorticoides. *Asociación Colombiana de Reumatología*, 17(3), 147-171.
- ✚ Ohata, H., Suzuki, K., Oki, Y. & Shibasaki, T. (2000). Urocortin in the ventromedial hypothalamic nucleus acts as an inhibitor of feeding behavior in rats. *Brain Research*, 861(1), 1-7.

- ✚ Ohata, H. & Shibasaki, T. (2004). Effects of urocortin 2 and 3 on motor activity and food intake in rats. *Peptides*, 25, 1703-1709.
- ✚ Oki, Y. y Sasano, H. (2004). Localization and physiological roles of urocortin. *Peptides*, 25, 1745-1749.
- ✚ Opp, M.R. (1995). Corticotropin-releasing hormone involvement in stressor-induced alterations in sleep and in the regulation of waking. *Adances in Neuroimmunology*, 5, 127-143.
- ✚ Opp, M.R. (1998). Rat strain differences suggest a role for corticotropin releasing hormone in modulating sleep. *Physiology & Behavior*, 63, 67–74.
- ✚ Paxinos, G. & Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotactic Coordinates*. NY: Academic Press.
- ✚ Pelleymounter, M., Joppa, M., Ling,N. & Foster, A. (2004). Behavioral and neuroendocrine effects of the selective CRF2 receptor agonists urocortin II and urocortin III. *Peptides*, 25(4), 659-66.
- ✚ Rorato, R., Castro, M., Borges, B., Benedetti, M., Germano, C., Antunes, J. & Elías, L. (2008). Adrenalectomy enhances endotoxemia-induced hypophagia: higher activation of corticotrophin-releasing-factor and proopiomelanocortin hypothalamic neurons. *Hormones & Behavior*, 54, 134-142.
- ✚ Rosenzweig, M., Leiman, A. & Breedlove, M. (2001). *Psicología Biológica. Una introducción a la Neurociencia Conductual, Cognitiva y Clínica*. (1ra. Ed.) España: Ariel.

- ✚ Routh, V., Stern, J. & Horwitz, B. (1995). Adrenalectomy Increases Serotonin Turnover in Brains of Obese Zucker Rats. *Physiology and Behavior*, 58(3), 491-499.
- ✚ Radulovic, Ruhman, Liepold, y Spiess (1999). Modulation of learning and anxiety by corticotropin-releasing factor (CRF) and stress: differential roles of CRF receptors 1 and 2. *Journal of Neuroscience*, 19, 5016–5025.
- ✚ Sánchez, J. (2005). Perfil fisiológico de la leptina. *Colombia Médica*, 36(1), 50-59.
- ✚ Schwartz, D. & Hoebel, B. (1988). Effect of phenylpropanolamine on diet selection in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 31(3), 721-723.
- ✚ Seasholtz, A., Thompson R. & Douglass, J. (1988). Identification of a cyclic adenosine monophosphate-responsive element in the rat corticotrophin releasing hormone gene. *Molecular Endocrinology*, 2, 1311–1319.
- ✚ Serra, H., Roganoviche, J. y Rizzo, L. (2012). Glucocorticoides: Paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Medicina*, 72(2), 158-170.
- ✚ Silva, J. (2008). Restricción alimentaria y sobrealimentación, un modelo de la neurociencia afectiva. *Revista Médica Chilena*, 136, 1336-1342.
- ✚ Smagin, G. & Dunn, A. (2000). The role of CRF receptor subtypes in stress-induced behavioural responses. *European Journal of Pharmacology*, 405, 199-206.

- ✚ Spiess, J., Dautzenberg, F., Sydow, S., Hauger, R., Ruhmann, A., Blank, T. & Radulovic, J. (1998). Molecular properties of the CRF receptor. *TRENDS in Endocrinology & Metabolism*, 9 (4), 140-145.
- ✚ Spina, M., Merlo-Pich, E., Chan, R., Basso, A., Rivier, J., Vale, W., & Koob, G. (1996). Appetite-Suppressing effects of urocortin, a CRF-related neuropeptide. *Science*, 273, 1561-1564.
- ✚ Steckler, T. & Holsboer, F. (1999). Corticotropin-releasing hormone receptor subtypes and emotion. *Society of Biological Psychiatry*, 46, 1480-1508.
- ✚ Stanley, S., Wynne, K., McGowan, B. & Bloom, S. (2005). Hormonal Regulation of Food Intake. *Physiological Reviews*, 85, 1131–1158.
- ✚ Takahashi, L., Peng, S., Livanov, V., Graciani, N. & Arneric, S. (2001). Antagonism of CRF 2 receptors produces anxiolytic behavior in animal models of anxiety. *Brain Research*, 902, 135-142.
- ✚ Tanaka, C., Asakawa, A., Ushikai, M., Sakoguchi, T., Amitani, H., Terashi, M., Cheng, K., Chaolu, H., Nakamura, N. & Elnui, A. (2009). Comparison of the anorexigenic activity of CRF family peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 390, 887-891.
- ✚ Tempel, D. & Leibowitz, S. (1989). PVN steroid implants: Effect on feeding patterns and macronutrient selection. *Brain Research Bulletin*, 23, 553-560.
- ✚ Tempel, D., Yamamoto, M., Kim, T. & Leibowitz, S. (1991). Effects of adrenalectomy on macronutrient selection patterns in the rat. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 40, 861-866.

- ✚ Torres, E., Costa, L., De Castro, M., Antunes, J. & Elias, L. (2009). Hypotalamic oxytocin neurons modulate hypophagic effect induced by adrenalectomy. *Hormones and Behavior*, 56, 532-538.
- ✚ Torres, E., Costa, L., Silva, M., Castro, M., Antunes, J., Elias, L. 2010. Corticotrophin-releasing factor mediates hypophagia after adrenalectomy, increasing meal-related satiety responses. *Hormones and Behavior*, 58 (5), 714–719.
- ✚ Uribe, F., Gómez, J., Mesa, L. & Lezcano, L. (2005). Ejes neuroendocrinos del estrés, síndrome metabólico y alteraciones psiquiátricas del síndrome de Cushing. *Iatreia*, 18(4), 431-445.
- ✚ Valdés, E.H., Valladares, F. & Macías, Z.A. (2009) Componentes de los alimentos: su papel en la alimentación. En: A., López, y K., Franco (Eds.). *Comportamiento alimentario: Una perspectiva multidisciplinar (pp. 178-201)*. México: Editorial Universitaria.
- ✚ Wang, C., Mullet, M., Glass, M., Billington, C., Levine, A., & Kotz, C. (2001). Feeding inhibition by urocortin in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280 (2), 473-480.
- ✚ Wang, L., Stengela, A., Goebela, M., Martineza, V., Gourcerola, G., Rivierb, J. & Tachéa, Y. (2011). Peripheral activation of corticotropin-releasing factor receptor 2 inhibits food intake and alters meal structures in mice. *Peptides*, 32, 51–59.

- ✚ Watts, A. (2005). Glucocorticoid regulation of peptide genes in neuroendocrine CRH neurons: A complexity beyond negative feedback. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(3), 109-130.
- ✚ Weltemler, A. & Ryabinin, A. (2006). Urocortin 1 in the dorsal raphe regulates food and fluid consumption, but not ethanol preference in C57BL/6J mice. *Neuroscience*, 137, 1439–1445.
- ✚ Woods, S., Seeley, R., Porte, D. & Schwartz, M. (1998). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*, 280, 1378-1383.
- ✚ Yakabi, K., Noguchi, M., Ohno, S., Ro, S., Onouchi, T., Ochiai, M., Takabayashi, H., Takayama, K., Harada, Y., Sadakane, C. & Hattori, T. (2011). Urocortin 1 reduces food intake and ghrelin secretion via CRF2 receptors. *American Journal of Physiology, Endocrinology and metabolism*, 301, 72-82.
- ✚ Yen, S., Jaffe, R. & Barbieri, R. (2001). *Endocrinología de la reproducción, fisiología, fisiopatología y manejo clínico*. (1ra. Ed.). México: Médica Panamericana.
- ✚ Zhang, R., Nakanishi, T., Ohgushi, A., Ando, R., Yoshimatsu, T., Denbow, D. & Furuse, M. (2001). Suppression of food intake induced by corticotropin-releasing factor family in neonatal chicks. *European Journal of Pharmacology*, 427, 37–41.
- ✚ Zhao, L., Donaldson, C., Smith, G. & Vale, W. (1997). The structures of the mouse and human urocortin genes (Ucn and UCN). *Genomics*, 50 (1), 23–33.

- ✚ Zorrilla, E., Valdez, G., Nozulak, J., Koob, G. & Markou, A. (2002). Effects of antalarmin, a CRF type 1 receptor antagonist, on anxiety like behavior and motor activation in the rat. *Brain Research*, 952, 188-199.
- ✚ Zorrilla, E., Heiling, M., De Wit, H. & Shaham, Y. (2013). Behavioral, biological, and chemical perspective on targeting CRF1 receptor antagonists to treat alcoholism. *Drug and Alcohol Dependence*, 128, 175-186.
- ✚ Zoumakis, E., Grammatopoulos, D. & Chrousos, G. (2006). Corticotropin-releasing hormone receptor antagonists. *European Journal of Endocrinology*, 155, 85-91.