



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efectos de la dieta en la sensibilidad
al bostezo inducido por pramipexol en ratas
Sprague-Dawley de alto y bajo bostezo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

María Erika Hubierna Cordero

Codirectoras:

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Dra. Margarita Martínez Gómez

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2014



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efectos de la dieta en la sensibilidad
al bostezo inducido por pramipexol en ratas
Sprague-Dawley de alto y bajo bostezo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

María Erika Hubierna Cordero

Comité Tutorial

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez
Dra. Margarita Martínez Gómez
Dr. José Ramón Eguibar Cuenca
Dr. Francisco Castelán
Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán
Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2014

FINANCIAMIENTO

- Este trabajo de tesis fue realizado conjuntamente en el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Fue parcialmente financiado a través de los apoyos VIEP-BUAP de la DES 2012, 2013 y 2014 otorgados al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y a la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez. Asimismo, se recibió apoyo financiero mediante el proyecto CONACYT No. 106,694.
- Durante la realización de esta tesis María Erika Hubierna Cordero fue beneficiaria de la beca CONACYT No. 277505.
- La Maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional del CONACyT.

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco a la Maestría en Ciencias Biológicas con sede en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de postgrado en esta honorable institución.
- Al CONACYT por la beca No. 277505.
- A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el financiamiento a través de los apoyos VIEP-BUAP de la DES 2012, 2013 y 2014 otorgados al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y a la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez. Asimismo, se hace extensivo el agradecimiento al CONACYT por el apoyo económico mediante el proyecto No.106,694.
- A la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y a la Dra. Margarita Martínez-Gómez por la dirección de esta tesis. Asimismo, al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y al Dr. Francisco Castelán por enriquecer con su tutoría este proyecto de investigación. Le agradezco al Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán y al Dr. Jorge Rodríguez Antolín por su tiempo y dedicación en las excelentes observaciones a este proyecto y a la versión final del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Le extendiendo un agradecimiento singular a la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y la Dra. Margarita Martínez Gómez quienes como codirectoras de tesis me orientaron, apoyaron y corrigieron en mi labor científica con un interés y una entrega que sobrepasaron todas las expectativas que como alumna deposité en su persona.

Al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y al Dr. Francisco Castelán porque con sus conocimientos y críticas objetivas enriquecieron este proyecto de investigación, así como por su disposición en todo momento para resolver mis dudas.

Al Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán y al Dr. Jorge Rodríguez Antolín por su tiempo y dedicación en las excelentes observaciones a este proyecto y a la versión final del manuscrito.

A la Dra. Ma. del Carmen Cortés, M. en C. Araceli Ugarte, MVZ Omar Isidro y Lic. en Enf. Yanina García por su tiempo y apoyo en la observación conductual.

Al MVZ Omar Isidro Maldonado, M. en C. Mireya Palacios Soto, P. Lic. Biom. Estefanía Hernández por su ayuda al realizar las disecciones.

A la M. en C. Verónica García Villamar porque gracias a sus conocimientos, paciencia y apoyo incondicional logré realizar el análisis histológico.

Al Dr. Francisco Castelán por su apoyo para la medición de los perfiles metabólicos.

A mis compañeros y amigos de laboratorio la Mtra. Araceli, Omar, Yanina, Carlos, Mireya, Gibrán, Ana, Verónica, Irving, Laura, Ángeles y Octavio, quienes con su compañía, conocimientos, motivación y optimismo me ayudaron en los momentos más críticos de la tesis.

DEDICATORIA

A la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez y al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, no solo por su apoyo en la realización de esta tesis, sino por su amistad, su confianza y por haber permitido que aprendiera de su vasta experiencia.

A Jorge, mi compañero de vida quien ha sido el impulso y el pilar moral para la culminación de este proyecto, ya que con su apoyo constante y amor incondicional es un amigo y compañero inseparable, fuente de calma y consejo en todo momento.

A Edgar, mi amado hijo que desde que llego a mi vida ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme y poder llegar a ser un ejemplo para él.

A mis padres que con su amor y sabiduría siempre han estado presentes para apoyarme incondicionalmente en todos los aspectos.

A mis hermanos y sobrinos que siempre me han ofrecido el amor y la calidez de la familia a la cual amo.

RESUMEN

Es ampliamente conocido que el consumo continuo de drogas psicoestimulantes puede inducir sensibilización a los efectos conductuales de estas sustancias. Sin embargo, únicamente la recompensa de una droga no puede explicar porque algunos individuos se sensibilizan fácilmente mientras que otros son resistentes. Los factores que pueden determinar la susceptibilidad a la sensibilización incluyen la hiperactivación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal ante eventos estresantes y el estado nutricional. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios no consideran la variabilidad individual y utilizan modelos animales que no permiten dilucidar la contribución genética en la interrelación del estado nutricional con la respuesta y vulnerabilidad a la adicción.

En nuestro laboratorio diversos estudios conductuales realizados en las sublíneas de ratas de alto (HY del inglés High-yawning) y bajo bostezo (LY del inglés Low-yawning), indican que ante situaciones estresantes las ratas HY presentan respuestas conductuales y endócrinas asociadas a un mayor grado de ansiedad. En base a estos antecedentes, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar los efectos de una restricción alimenticia (10 g/día) y una dieta alta en grasa (34%) *ad libitum* en la sensibilidad al bostezo e hipotermia inducidos por pramipexol en las ratas macho HY y LY. Adicionalmente, como indicadores metabólicos medimos los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos, así como el porcentaje de adiposidad del epidídimo.

Los resultados que obtuvimos muestran que en ambas sublíneas, la restricción alimenticia disminuyó la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol, resultando un mayor efecto en las HY. La dieta alta en grasa aumentó dicha sensibilidad en las HY, pero no en las LY. En relación a los perfiles metabólicos, básicamente estos fueron mayores en la sublínea HY. La restricción de alimento disminuyó la glucosa y los triglicéridos, pero no el colesterol en las HY. Con la dieta alta en grasa se aumentó la glucosa en las HY, así como el colesterol y los triglicéridos en las dos sublíneas. En ambos regímenes alimenticios, la dieta estándar restauró los perfiles metabólicos, excepto el colesterol en las ratas LY con previo acceso a la dieta alta en grasa. El porcentaje de tejido adiposo del epidídimo no fue diferente entre los regímenes alimenticios, ni entre las sublíneas. Sin embargo, las ratas HY que

previamente accedieron a la dieta alta en grasa presentaron adipocitos de mayor tamaño en comparación con las ratas LY bajo la misma dieta y las HY con dieta estándar.

Por lo tanto, se sugiere que la sublínea HY podría ser un modelo adecuado para el estudio de la predisposición genética a los efectos de la dieta en la sensibilidad conductual inducida por agonistas dopaminérgicos. Asimismo, se propone que las ratas HY son un modelo de hiperglicemia y dislipidemia sin obesidad asociada a la dieta.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1 Dopamina	4
1.1.1 Síntesis, recaptura y metabolismo de la dopamina	4
1.1.2 Receptores para la dopamina	8
1.1.3 Circuitos dopaminérgicos	12
1.2 El sistema mesolímbico	13
1.2.1 Mecanismo de acción de las drogas de abuso en el sistema mesolímbico	15
1.2.2 Sensibilización dopaminérgica y conductual	16
1.3 La respuesta fisiológica al estrés	18
1.3.1 El estrés y la adicción	19
1.4 La conducta alimentaria	22
1.4.1 Regulación homeostática de la conducta alimentaria	22
1.4.2 Interacción de la regulación homeostática y el sistema mesolímbico	24
1.4.3 Efecto de la dieta en la sensibilización del sistema mesolímbico	26
2. ANTECEDENTES	30
2.1 Las sublíneas de ratas de alto bostezo HY y bajo bostezo LY de la cepa Sprague-Dawley	30
2.2 Diferencias conductuales y neuroendócrinas de las ratas HY y LY	30
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. HIPÓTESIS	34

5. OBJETIVOS	35
5.1 Objetivo general	35
5.2 Objetivos particulares	35
6. METODOLOGÍA	36
6.1 Animales	36
6.2 Dietas	36
6.3 Droga y observación conductual	37
6.4 Hipotermia	37
6.5 Perfiles metabólicos	37
6.6 Disección, fijación e inclusión del tejido adiposo del epidídimo ..	38
6.7 Corte y tinción con hematoxilina-eosina	38
6.8 Análisis de imágenes	38
6.9 Análisis estadístico de datos	39
7. RESULTADOS	41
7.1 Efecto de la dieta en el bostezo inducido por pramipexol en las ratas HY y LY	41
7.2 La restricción alimenticia aumenta la hipotermia inducida por pramipexol en las ratas HY y LY	45
7.3 Efecto de la dieta en el peso corporal de las ratas HY y LY	48
7.4 La dieta alta en grasa disminuye la ingesta de alimento de las ratas HY y LY	51
7.5 Efecto de la dieta en los perfiles metabólicos de las ratas HY y LY	54
7.6 La dieta alta en grasa induce hipertrofia en los adipocitos de las ratas HY y LY	57
7.7 Resumen de los efectos de la dieta en las ratas HY y LY	60

8. DISCUSIÓN	61
8.1 Modelo propuesto para la sublínea HY	68
8.2 Modelo propuesto para la sublínea LY	69
9. CONCLUSIONES	70
10. PERSPECTIVAS	71
11. REFERENCIAS	72
12. GLOSARIO DE TÉRMINOS	95
13. PUBLICACIONES	98

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Dopamina

La dopamina (3,4-dihidroxifeniletilamina) (Figura 1) es la principal catecolamina que actúa como neurotransmisor en el sistema nervioso central (SNC), ya que representa el 80% del contenido total de catecolaminas del cerebro. En la mayoría de las neuronas del SNC la dopamina actúa como precursor de la noradrenalina, solo 1 de cada 10^6 neuronas son deficientes del enzima dopamina β -hidroxilasa, encargado de transformar la dopamina en noradrenalina y en éstas neuronas es donde la dopamina actúa como neurotransmisor (Bannon y cols. 2001).

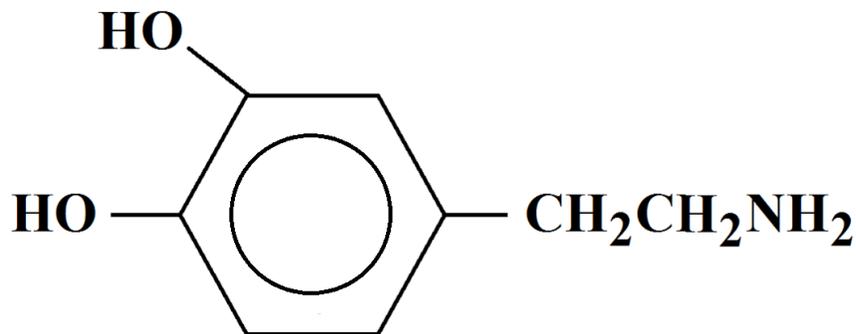


Figura 1. Estructura química de la dopamina. Según su estructura química, la dopamina es una feniletilamina. También se le denomina catecolamina debido a que presenta un grupo catecol o di-alcohol aromático (ilustrado a la izquierda).

1.1.1 Síntesis, recaptura y metabolismo de la dopamina

La dopamina no es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica, pero sí sus precursores, por lo tanto, su biosíntesis tiene lugar en el citosol de las terminales nerviosas dopaminérgicas (Fuxe 1965, Levitt y cols. 1965, Cooper y cols. 1996). El precursor de la dopamina es el aminoácido L-tirosina, adquirido a través de la dieta o bien a partir del aminoácido L-fenilalanina. La tirosina es transportada hasta el cerebro por sistemas de transporte de aminoácidos de baja afinidad y posteriormente llega a las neuronas dopaminérgicas desde el espacio extracelular a través de transportadores de aminoácidos de baja y alta afinidad (Nagatsu y cols. 1964).

Dentro de las neuronas, la síntesis se lleva a cabo en dos pasos: 1) el enzima citosólico tirosina hidroxilasa (TH) hidroxila a la L-tirosina a L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA), siendo esta la reacción limitante en la síntesis de dopamina, y 2) mediante el enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa (AADC) se produce una descarboxilación de L-DOPA para dar como producto final a la dopamina (Figura 2, Elsworth y Roth 1997).

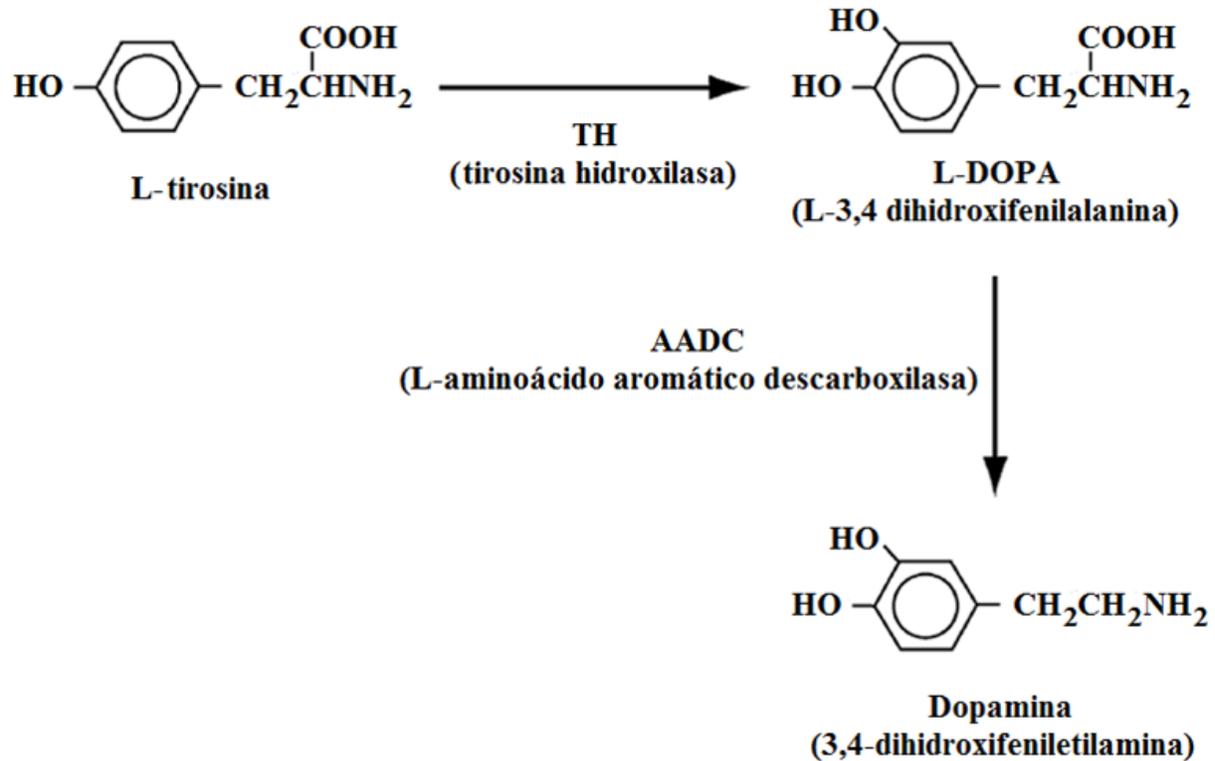


Figura 2. Síntesis de la dopamina. 1) El enzima tirosina hidroxilasa (TH) cataliza la formación de L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) a partir del aminoácido L-tirosina en las neuronas dopaminérgicas. 2) La L-DOPA es convertida en dopamina por la acción del enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa (AADC). Cabe mencionar que la TH es el enzima limitante en la síntesis de este neurotransmisor.

La dopamina recién sintetizada es almacenada en el interior de las vesículas sinápticas, adquiriendo una concentración de 10-10,000 veces superior a la del citosol. Tras la llegada de un potencial de acción se produce una entrada de iones calcio que facilitan la exocitosis de la dopamina (Elsworth y Roth 1997). Una vez liberada se puede unir a receptores pre y postsinápticos o quedar libre en el espacio sináptico, en este caso las terminales

dopaminérgicas cuentan con sistemas de transporte de alta afinidad que mantienen la homeostasis del neurotransmisor.

El transportador de dopamina (DAT) pertenece a la familia de proteínas transportadoras dependientes de sodio (Na^+) y cloro (Cl^-). El DAT es capaz de transportar a la dopamina de regreso a la neurona pre-sináptica, proceso que se denomina recaptura y constituye el principal mecanismo para la terminación de la transmisión sináptica en el SNC (Cooper y cols. 1996). La estequiometría del DAT indica que la dopamina es cotransportada al interior de la terminal con dos iones de Na^+ y un ión Cl^- (Attwell y Mobbs 1994). La principal fuerza que permite el proceso de recaptura es el gradiente electroquímico del Na^+ , el cual se mantiene a través de la actividad de la bomba Na^+/K^+ -ATPasa (Figura 3, Kanner y Schuldiner 1987).

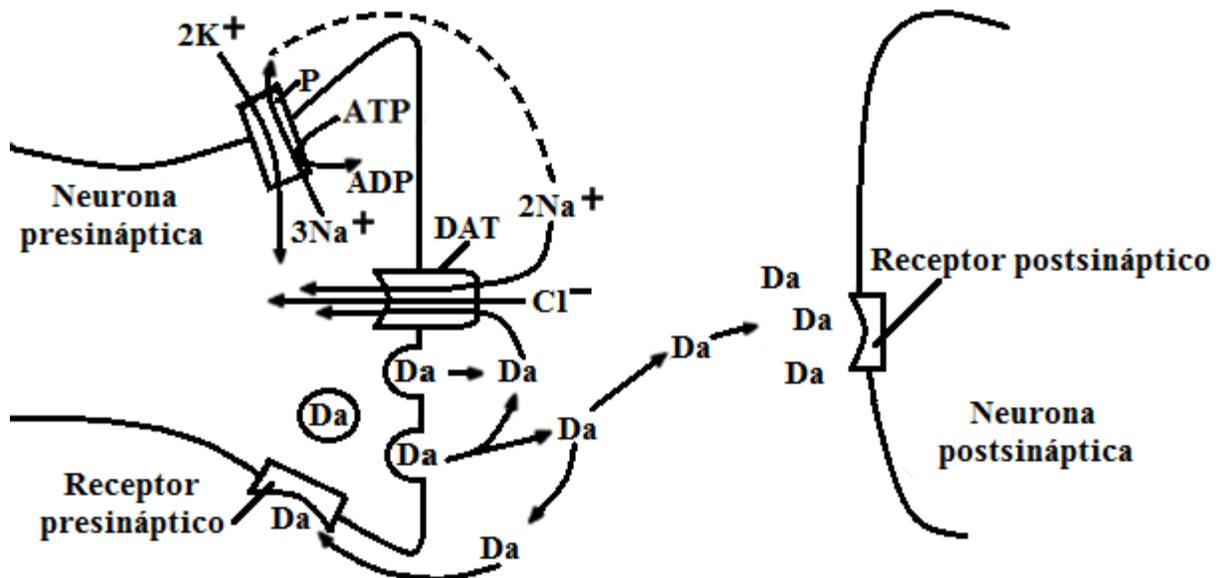


Figura 3. Función del transportador de dopamina en la transmisión sináptica. La dopamina (Da) liberada en el espacio sináptico se puede unir a receptores pre y postsinápticos. El neurotransmisor que queda libre es removido a través del transportador a dopamina (DAT). Este transloca 2Na^+ , 1Cl^- y a la Da al interior de la terminal pre-sináptica. La fuerza que permite la recaptura es el gradiente electroquímico del ión Na^+ , el cual se mantiene debido a la actividad de la bomba Na^+/K^+ -ATPasa.

Cabe señalar que la disfunción de la transmisión dopaminérgica relacionada al DAT ha sido implicada en múltiples desórdenes neurodegenerativos y psiquiátricos, incluyendo

esquizofrenia, desorden bipolar, enfermedad de Parkinson y adicción a drogas, entre otras (Mehler-Wex y cols. 2006, Mazei-Robison y cols. 2008).

Otro proceso por el que se mantiene la homeostasis de la dopamina es la biodegradación. Por un lado, si la dopamina recapturada no es protegida con la membrana vesicular, entonces se metaboliza por los sistemas enzimáticos intraneuronales. La metabolización se inicia con la desaminación oxidativa de la dopamina por parte del enzima monoaminoxidasa (MAO), que se localiza en la membrana externa mitocondrial, obteniéndose así el metabolito ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), este es liberado al espacio sináptico y es sustrato del enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT), que lo convierte en ácido homovanílico (HVA) (McGeer y cols. 1987, Cooper y cols. 1996). Por otro lado, la dopamina que no es recapturada experimenta la acción de la COMT ubicada extraneuronamente en la hendidura sináptica y se transforma en 3-metoxitiramina, la cual a su vez es metabolizada por la MAO, que termina transformándola en HVA (Figura 4, Feldman y cols. 1997).

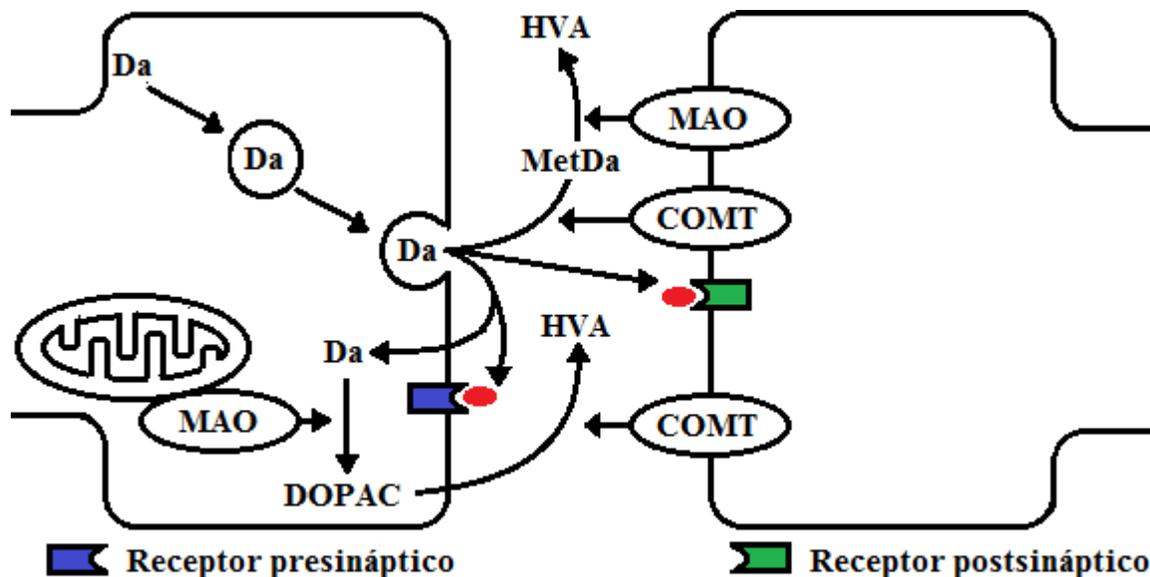


Figura 4. Biodegradación de la dopamina. 1) La dopamina (Da) recapturada es metabolizada en el interior de la terminal nerviosa por el enzima monoaminoxidasa (MAO), el metabolito resultante es el ácido dihidroxifenilacético (DOPAC). Este es liberado al exterior de la terminal para ser transformado en ácido homovanílico (HVA) a través de la acción del enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT). 2) La dopamina no recapturada es metabolizada por la COMT en 3-metoxitiramina (MetDa), metabolito que a su vez es sustrato de la MAO, que termina por convertirlo en HVA (Modificado de Siegel y Saprú 2006).

1.1.2 Receptores para la dopamina

Los receptores dopaminérgicos pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (Schwartz y cols. 1992). En base al tipo de proteína G al cual se acoplan, su estructura molecular, respuesta farmacológica y distribución anatómica, los receptores de dopamina han sido agrupados en dos familias: la familia D1, que comprende a los subtipos D1 y D5, y la familia D2 que incluye a los receptores D2, D3 y D4 (Kebahian y Calne 1979).

Con respecto a su estructura, los receptores de ambas familias presentan una región amino terminal extracelular glicosilada, un extremo carboxilo terminal intracelular y siete dominios transmembranales conectados de forma alterna por asas intracelulares (i1, i2, i3) y extracelulares (e1, e2, e3). El asa i3 y el extremo carboxilo terminal son las regiones que interaccionan con la proteína G. Por lo tanto, las diferencias presentes en estas regiones son la base de la interacción selectiva con un tipo particular de proteína G. Así, los receptores de la familia D1 se caracterizan por poseer una asa i3 corta y un carboxilo terminal largo (siete veces mayor que el correspondiente a los receptores de la familia D2), que particularmente se acoplan a proteínas G estimuladoras (G_s). En contraste, una estructura inversa (i3 larga y extremo carboxilo terminal corto) les permite a los receptores de la familia D2 acoplarse a proteínas G inhibitorias (G_i) y de tipo O (G_o) (Figura 5, Schwartz y cols. 1992, O'Dowd 1993).

El acoplamiento con un tipo distinto de proteínas G repercute directamente tanto en la función como en la vía de señalización de cada familia de receptores. Los que pertenecen a la familia D1 son postsinápticos (Neve y cols. 2004, Nieoullon y Amalric 2002) y la unión a su ligando activa el enzima adenilato ciclasa, lo que en consecuencia provoca la despolarización de la membrana plasmática con la subsecuente exocitosis de la dopamina (Marinissen y Gutkind 2001). En contraste, los receptores de la familia D2 pueden expresarse en terminales pre y postsinápticas (Dal Toso y cols. 1989) y su activación inhibe la AC. La señalización presináptica de estos autorreceptores puede suprimir la síntesis de dopamina mediante una disminución en la fosforilación de la tirosina hidroxilasa (Kehr y cols. 1972) o limitar la descarga del neurotransmisor a través de la hiperpolarización de la membrana (Farnebo y Hamberger 1971).

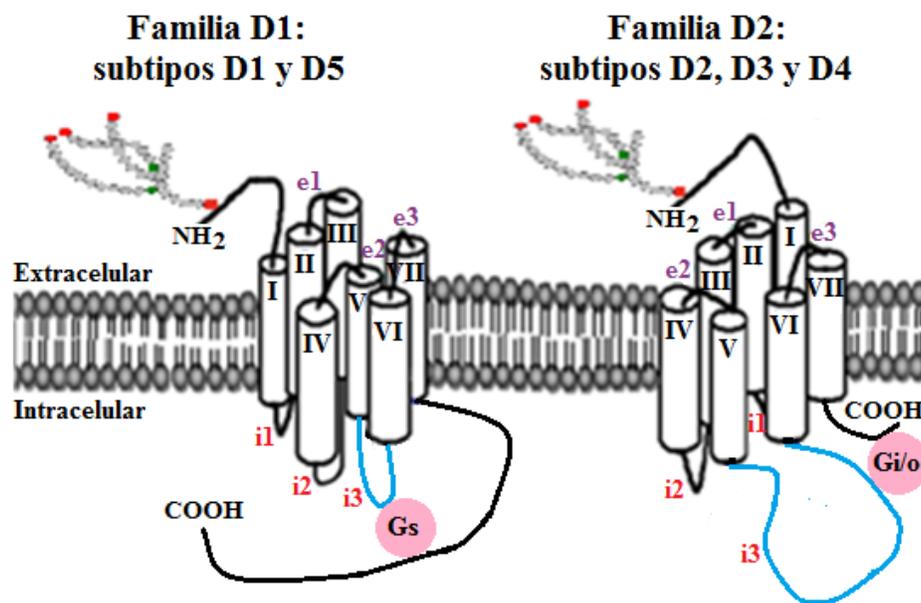


Figura 5. Familias de receptores a dopamina. La familia D1 se encuentra integrada por los receptores D1 y D5, mientras que la familia D2 se conforma por los receptores D2, D3 y D4. Los receptores de la familia D1 interactúan con las proteínas G_s mientras que los receptores de la familia D2 se acoplan a proteínas $G_{i/o}$ (modificado de Levant 1997).

Otra diferencia sustancial entre estos receptores es la afinidad diferencial por la dopamina. El subtipo D3 es el más afín (constante de inhibición $K_i=0.030$ nM), mientras que los receptores D1 y D2 presentan la menor afinidad por su ligando endógeno, ambos tienen una $K_i=2000$ nM (Figura 6, Feldman y cols. 1997, Missale y cols. 1998, Jaber y cols. 1996).

Ligando	Familia D1		Familia D2		
	D1	D5	D2	D3	D4
Dopamina K_i (μ M)	2000	250	2000	0.030	450
Agonista selectivo K_i (μ M)	SKF-38393 150	SKF-38393 100	Quinpirole 1400	Pramipexol 9.7×10^{-4}	Apomorfina 4
Antagonista selectivo K_i (μ M)	SCH-23390 0.35	SCH-23390 0.35	Haloperidol 0.60	Espiperona 0.60	Espiperona 0.08

Figura 6. Afinidad de los receptores de dopamina. En la familia D1, el receptor D5 es el de mayor afinidad por su ligando endógeno. El subtipo D3 no solo es el más afín a la dopamina en la familia D2, sino también de ambas familias. Constante de inhibición (K_i) (Modificado de Missale y cols. 1998).

La investigación de varias décadas ha hecho evidente que el entendimiento de la función de los receptores de dopamina presenta una estrecha relación con la localización anatómica y el nivel de expresión de cada subtipo. El receptor dopaminérgico D1 es el más abundante en el sistema nervioso central. Se distribuye a niveles altos en el tubérculo olfatorio, el caudado-putamen, el núcleo accumbens (NAc), las islas de Calleja, la amígdala, la sustancia nigra y el cerebelo (Gingrich y cols. 1992). Se expresa en las neuronas postsinápticas y está implicado en el control del movimiento, funciones cognitivas y funciones cardiovasculares. Además, se relaciona directamente con diversos efectos conductuales y moleculares inducidos por la cocaína, incluyendo la hiperactividad locomotora (Xu y cols. 1994).

Los receptores D2 presentan alta densidad en el caudado-putamen, el tubérculo olfatorio, el NAc, las islas de Calleja y el área tegmental ventral (ATV). También se encuentra en moderadas cantidades en la sustancia nigra reticulada (SNr) y compacta (SNc), la corteza cerebral (regiones prefrontal, entorrinal y cíngulo), el globo pálido, la amígdala, el tálamo, el hipotálamo e hipocampo (Meador-Woodruff y cols. 1991). La activación de este subtipo de receptor se caracteriza por incrementar la actividad locomotora y la hipotermia (revisado en Jackson y Westlind-Danielsson 1994). El gen de este receptor expresa dos isoformas: la corta o D2S y mediante un procesamiento alternativo genera la isoforma larga o D2L, la cual presenta 29 aminoácidos adicionales en la tercera asa intracelular (Giros y cols. 1989). Esta diferencia estructural entre las dos isoformas repercute directamente en una función diferencial, ya que D2L se asocia con la señalización postsináptica mientras que D2S participa en la señalización presináptica como auto-receptor, pues disminuye la fosforilación de la tirosina hidroxilasa (Missale y cols., 1998). Cabe señalar que la reducción en la función de esta última isoforma y el subsecuente aumento en la liberación de dopamina, a menudo se relaciona con la vulnerabilidad al abuso de drogas (Lee y cols. 2007).

Con respecto a la densidad de los receptores D2 se reporta una amplia variabilidad interindividual, la cual puede ser explicada por la influencia de factores ambientales y/o por los polimorfismos del gen que codifica para este receptor (Jönsson y cols. 1999). El polimorfismo TaqIA es el más estudiado debido a que se ha sugerido que sus variantes alélicas (TaqIA1/TaqIA1, TaqIA1/TaqIA2 y TaqIA2/TaqIA2) afectan la expresión del receptor D2 (Ritchie y Noble 2003, Fossella y cols. 2006). En esta línea, diversos estudios indican que los

individuos con una o dos copias del alelo TaqIA1 presentan de 30 a 40% menos receptores D2 cuando se comparan con aquellos individuos sin este alelo (Noble y cols. 1991, Thompson y cols. 1997, Jönsson y cols. 1999). Al mismo tiempo, esta reducción ha sido asociada con una predisposición genética de los individuos a desarrollar adicciones (Comings y cols. 1994) y obesidad (Epstein y cols. 2007).

El subtipo D3 presenta una distribución más restringida que el D2. Su expresión se limita principalmente a regiones límbicas incluyendo la concha del NAc, las islas de Calleja y el núcleo mamilar medial del hipotálamo. Las densidades intermedias se observan en el hipocampo, el neocórtex y la amígdala. Este subtipo está presente mayoritariamente en neuronas presinápticas. (Bouthenet y cols. 1991, Lévesque y cols. 1992, Murray y cols. 1994.). En contraste con el papel estimulador de los D2 en la locomoción, diversos estudios relacionan al D3 con la inhibición de esta actividad (revisado en Sokoloff y Schwartz 1995). Además, su expresión selectiva en estructuras que regulan las emociones y la alta expresión de su ácido ribonucleico mensajero (ARNm) en el NAc de adictos a la cocaína (Staley y Mash 1996) lo han colocado como una diana terapéutica en el tratamiento de la adicción a drogas de abuso.

El receptor D4 se localiza con alta densidad en la corteza frontal, el bulbo olfatorio, la amígdala y la retina (Cohen y cols. 1992, Defagot y cols. 1997). En densidades intermedias se observa en el caudado-putamen, mientras que densidades bajas o apenas detectables se han reportado en el hipotálamo y el hipocampo (Defagot y cols. 1997). Este subtipo se presenta en neuronas pre y postsinápticas (Feldman y cols. 1997).

La expresión del receptor D5 se restringe al hipocampo y a los núcleos lateral mamilar y parafascicular del tálamo (Meador-Woodruff y cols. 1992). Se localiza en las neuronas postsinápticas (Feldman y cols. 1997) y su función no se ha elucidado claramente.

En general, si se consideran los diversos mecanismos de transducción de señales de cada subtipo de receptor dopaminérgico y la diferente afinidad que cada uno presenta por su ligando endógeno, potencialmente se puede generar una creciente gama de respuestas a una misma sustancia. Esto refleja claramente la diversidad funcional que ejerce la dopamina, especialmente si se toma en cuenta la expresión diferencial de estos receptores en cada uno de los circuitos dopaminérgicos.

1.1.3 Circuitos dopaminérgicos

Los cuerpos celulares de las neuronas que contienen dopamina se localizan principalmente en el cerebro medio y controlan una gran variedad de funciones como la modulación de la actividad sensorial, la actividad motora, la actividad endocrina, el aprendizaje, la memoria, la emotividad, la efectividad y la motivación (Missale y cols. 1998). Estas acciones se llevan a cabo mediante la participación de cuatro circuitos principales: 1) nigroestriado, 2) mesolímbico, 3) mesocortical y 4) tuberohipofisario (Figura 7).

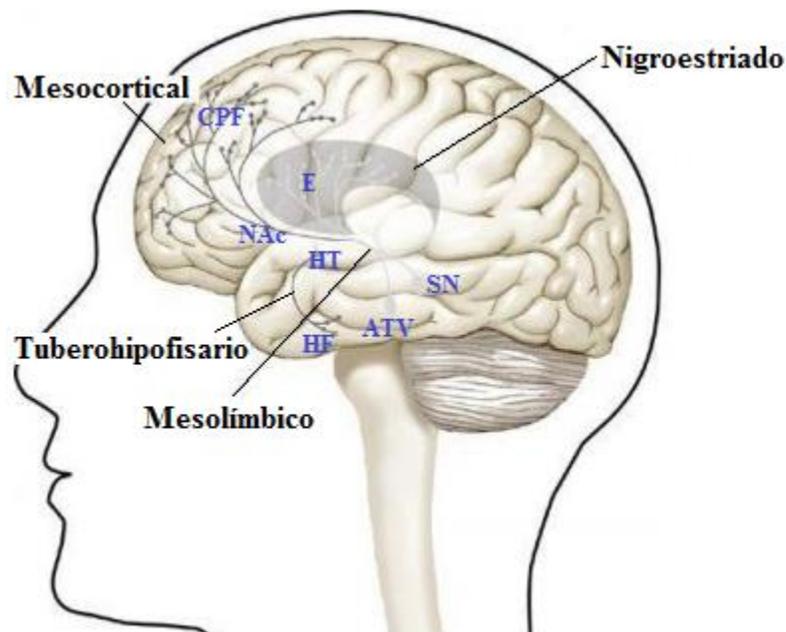


Figura 7. Circuitos dopaminérgicos en el sistema nervioso central. Nigroestriado: Se origina en la sustancia nigra (SN) que proyecta axones al núcleo caudado y al putamen del cuerpo estriado (E). Mesocortical: Los somas neuronales se encuentran en el área tegmental ventral (ATV) que envía proyecciones a la corteza prefrontal (CPF). Mesolímbico: Comienza en el ATV y sus proyecciones se distribuyen principalmente al núcleo accumbens (NAc). Tuberohipofisario: Este circuito surge en el hipotálamo (HT) que proyecta a la hipófisis (HF).

1) Nigroestriado. Se origina en la sustancia nigra, que es un núcleo de neuronas localizado en el mesencéfalo. Este núcleo se puede dividir en dos regiones: la reticulada, formada principalmente por neuronas GABAérgicas (ácido gamma-amino butírico) y la compacta, constituida por neuronas dopaminérgicas. Estas neuronas constituyen el principal tracto dopaminérgico en el cerebro y proyectan axones que proporcionan una densa inervación al núcleo caudado y al putamen del cuerpo estriado, aproximadamente un 80% de toda la

dopamina del cerebro se encuentra en el cuerpo estriado. Este sistema es el implicado en la regulación motora y la ejecución de tareas (Schultz 2002).

2) Mesocortical. En este circuito los somas neuronales se encuentran en el ATV, también localizada en el mesencéfalo. El ATV contiene neuronas dopaminérgicas que envían proyecciones a la corteza prefrontal medial, que incluye la corteza orbitofrontal y la corteza del cíngulo. Este circuito se encuentra relacionado con funciones como la memoria a corto plazo, la planificación y la elaboración de estrategias (Shirayama y Chaki 2006, Arias-Carrión y Pöppel 2007).

3) Mesolímbico. Al igual que el circuito anterior, se origina en el ATV, pero sus proyecciones axonales se distribuyen por el sistema límbico, principalmente se dirigen hacia el NAc y el tubérculo olfatorio, en menor medida se proyectan a la amígdala e hipocampo (Spanagel y Weiss 1999, Schultz 2002, Adinoff 2004, Shirayama y Chaki 2006). Este circuito es el sustrato neurobiológico de la predicción de la recompensa (Schultz 2000, Phillips y cols. 2007), la motivación para obtener la recompensa (McClure y cols. 2003, Phillips y cols. 2007) y la facilitación del aprendizaje condicionado (Fenu y Di Chiara 2003). Además, la hiperestimulación del circuito mesolímbico puede resultar en conductas de adicción (Wise 1996).

4) Tuberohipofisario. Se origina en el hipotálamo (núcleo arcuato principalmente) y se comunica con el lóbulo intermedio de la hipófisis y la eminencia media. Este sistema desempeña una función sustancial en la regulación de la liberación de hormonas pituitarias, especialmente la prolactina, ya que la dopamina inhibe su liberación (revisado en Ben-Jonathan y Hnasko 2001).

1.2 El sistema mesolímbico

Estructuralmente, el sistema mesolímbico está formado por un grupo de neuronas que se encuentra en el ATV, las cuales proyectan hacia el NAc, la corteza prefrontal (CPF), el hipocampo, la amígdala y el tubérculo olfatorio (Swanson 1982). El NAc se subdivide en las subregiones límbica y motora, conocidas como concha y núcleo, respectivamente (Heimer y cols. 1997). La concha del NAc se encuentra conectada con regiones cerebrales que tienen un

papel fundamental en la regulación de procesos emocionales y motivacionales, como el hipocampo, la amígdala, el núcleo dorsomedial del tálamo, el pálido ventral (PV) y el hipotálamo lateral (Koob y cols. 2004). El NAc recibe aferencias glutamatérgicas de la CPF, amígdala, hipocampo y tálamo dorsomedial (Georges y Aston-Jones 2001, Geisler y cols. 2007, Omelchenko y Sesack 2007). Este núcleo presenta dos vías de salida principales, las cuales son proyecciones GABAérgicas hacia el PV y el ATV/SN, que a su vez envían eferencias GABAérgicas al tálamo dorsomedial (Figura 8, Johnson y North 1992, Ikemoto y Wise 2004).

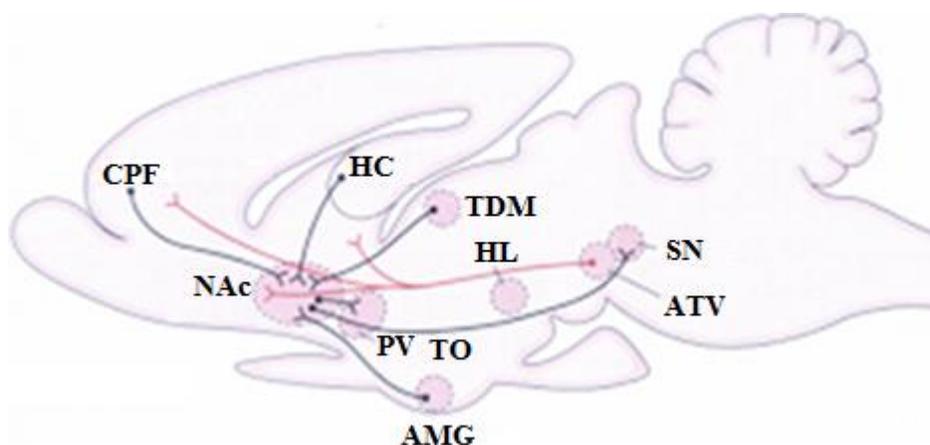


Figura 8. Sistema implicado en las vías de obtención de recompensa y reforzamiento positivo. El sistema dopaminérgico mesolímbico se origina en el grupo de células en el área tegmental ventral (ATV), la cual proyecta hacia el núcleo accumbens (NAc), el túbulo olfatorio (TO), amígdala (AMG) e hipocampo (HC). Corteza prefrontal (CPF), hipotálamo lateral (HL), pálido ventral (PV), sustancia nigra (SN), tálamo dorsomedial (TDM) (representación en cerebro de rata, modificado de Koob y Volkov 2010).

Un evento que proporciona recompensas o gratificaciones, es decir que es motivacionalmente relevante, induce que las proyecciones del ATV liberen dopamina a lo largo del circuito mesolímbico (Robinson y Berridge 1993, McClure y cols. 2003), este responde asignando recursos de atención y conducta a las relaciones predictivas (estímulos y consecuencias) ligadas con el evento, y al realizarlo facilita cambios celulares que establecen el aprendizaje asociado con el evento (Jay 2003). De esta forma, si el evento ocurre nuevamente el organismo emitirá una respuesta conductual dirigida hacia los resultados más deseables.

El sistema mesolímbico ha sido mantenido a lo largo de la evolución, debido a que conductas naturales placenteras como la alimentación, la reproducción y el cuidado parental, entre otras, deben reforzarse para la supervivencia de las especies. Sin embargo, al igual que los reforzadores naturales (e.g. alimento y agua), las drogas de abuso (e.g. cocaína y anfetamina) son capaces de producir efectos placenteros utilizando los mismos mecanismos neurobiológicos de los reforzadores naturales (Fernández-Espejo 2002). Aunque, sus efectos estimulantes sobre la liberación de dopamina en el NAc son significativamente mayores. Por ejemplo, los alimentos incrementan el nivel de este neurotransmisor en un 45%, en tanto que la anfetamina y la cocaína lo elevan hasta en un 500% (Hernandez y Hoebel 1988). En consecuencia, la disfunción del sistema mesolímbico está involucrada en la etiología y tratamiento de la adicción.

1.2.1 Mecanismo de acción de las drogas de abuso en el sistema mesolímbico

Desde la década de 1970 se hizo evidente que la administración aguda de la mayoría de las drogas de abuso, a través de su acción en las neuronas dopaminérgicas y GABAérgicas del AVT, aumenta los niveles de dopamina en la concha del NAc (Figura 9, Imperato y Di Chiara 1986, Di Chiara e Imperato 1988, Wise y Rompre 1989). A pesar de la diversidad del perfil farmacológico de las sustancias de abuso, se han propuesto tres mecanismos celulares subyacentes a su acción en el sistema mesolímbico:

1) El etanol, la morfina, la heroína, la marihuana, el ácido gamma-hidroxibutírico y las benzodiazepinas aumentan la dopamina indirectamente, mediante el silenciamiento de las neuronas GABAérgicas que inhiben a las neuronas dopaminérgicas del ATV (Figura 9, Johnson y North 1992, Cruz y cols. 2004).

2) Las drogas adictivas como la nicotina, incrementan directamente la liberación de dopamina en el NAc a través de la despolarización de las neuronas dopaminérgicas del ATV (Figura 9, Maskos y cols. 2005).

3) La cocaína y las anfetaminas actúan a través del DAT. La cocaína bloquea la recaptura de dopamina por la inhibición del DAT (Ritz y cols. 1987), mientras que las anfetaminas promueven la liberación no vesicular de este neurotransmisor mediante la

inversión funcional del DAT, el cual captura anfetaminas y libera dopamina (Figura 9, Jones y cols. 1998).

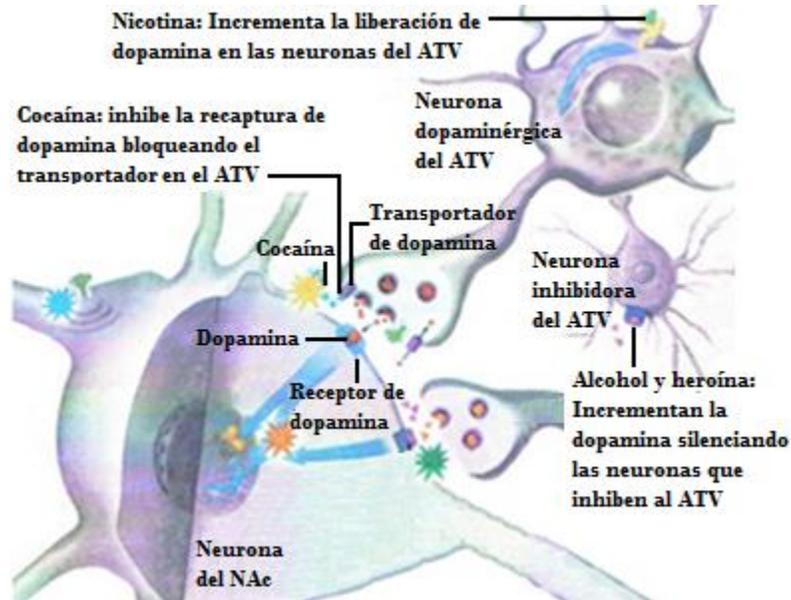


Figura 9. Mecanismos celulares de diversas drogas de abuso a través del sistema mesolímbico. El aumento de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens es el mecanismo de acción común para todas las drogas de abuso. Área tegmental ventral (ATV).

En última instancia, la hiperestimulación no natural del sistema mesolímbico con el consumo intermitente de drogas de abuso, produce cambios pre-sinápticos (mayor liberación de dopamina) y post-sinápticos que en conjunto inducen la sensibilización del circuito mesolímbico a los efectos motivacionales y gratificantes de tales sustancias.

1.2.2 Sensibilización dopaminérgica y conductual

En el NAc, la liberación de dopamina por drogas de abuso, induce una excitabilidad neuronal progresiva, que se observa como un aumento en la sensibilidad a la aplicación posterior del estímulo original. Esta sensibilidad se refuerza con el consumo crónico de la droga y se denomina sensibilización dopaminérgica (Pierce y Kalivas 1997, Cadoni y cols. 2000, Nestler 2004). Los eventos bioquímicos cerebrales que subyacen a la inducción de este proceso comienzan con el incremento en la liberación de dopamina de las neuronas del ATV que

desensibiliza los autorreceptores D2 y conlleva a la despolarización de la neurona (Nestler y cols. 1990). Esto activa los receptores D1 de las terminales presinápticas que en respuesta aumentan la liberación local de glutamato, que a su vez estimula en mayor medida a las neuronas dopaminérgicas del ATV (Wolf y Xue 1999). En conjunto, estos hechos constituyen el ciclo fundamental en la sensibilización a drogas psicoestimulantes.

Paralelamente a la sensibilización dopaminérgica, la exposición repetida a drogas de abuso da lugar a un incremento progresivo de sus efectos psicomotores y de búsqueda de la recompensa (Robinson y Becker 1986, Robinson y Berridge 1993). Este fenómeno se denomina sensibilización conductual y se caracteriza porque puede persistir durante meses o años después de que el tratamiento con drogas se interrumpa (Kolta y cols. 1985, Piazza y cols. 1989, Kalivas y Duffy 1993). Asimismo, se reporta que este proceso se acentúa si se administran dosis altas de forma intermitente, ya que administraciones continuas son relativamente ineficaces (Samaha y cols. 2002).

En los animales de laboratorio y el ser humano, dosis mayores de drogas potencialmente adictivas pueden aumentar la excitación, la atención y la actividad locomotora, resultando en un incremento de la exploración y los movimientos estereotipados. Estas conductas resultan fáciles de medir y al ser mediadas, al menos en parte, por los receptores de dopamina, los cuales también participan en la búsqueda y obtención de recompensas, proporcionan un excelente medio para el estudio de la sensibilización conductual (Wise y Bozarth 1987). Si bien la relativa contribución de cada receptor dopaminérgico aún no es totalmente esclarecida, la evidencia indica que los subtipos D2 y D3 participan en la mayoría de los efectos conductuales de las drogas de acción dopaminérgica, tanto terapéuticas como de abuso (revisado en Baladi y cols. 2012). Dentro de estos efectos el bostezo provee un excelente modelo para evaluar *in vivo* los cambios en la sensibilidad conductual putativos a los receptores D2/D3. Esto se debe a que la inducción farmacológica de esta conducta se media a dosis bajas del fármaco a través de la activación de los D3 y la subsecuente inhibición a dosis altas resulta de un incremento en la actividad de los D2 (Collins y cols. 2005, Collins y Woods 2007, Collins y cols. 2009, Collins y Eguibar 2010) presentes en el núcleo paraventricular del hipotálamo, que se sugiere es la estructura clave en la regulación del bostezo (Argiolas y Melis 1998).

Sin embargo, únicamente los efectos conductuales y de recompensa de una droga no pueden explicar por qué algunos individuos se sensibilizan fácilmente, mientras que otros son resistentes. Los factores que pueden alterar la respuesta a las drogas de abuso y determinar la susceptibilidad a la sensibilización incluyen la variabilidad genética, tal es el caso de la respuesta diferencial al estrés (Robinson 1988), y un factor adicional que recientemente ha tomado gran relevancia es la condición alimenticia (Krahn 1991, Holderness y cols. 1994, Piran y Robinson 2006). Lo anterior responde a que en la mayoría de los individuos sensibilizados se presentan dos procesos: 1) la sensibilización cruzada entre drogas y estrés (Antelman y cols. 1980, Antelman y Chiodo 1983, Robinson 1988), y 2) el incremento del valor incentivo de otras recompensas, incluyendo la comida altamente apetitosa (Wyvell y Berridge 2001).

1.3 La respuesta fisiológica al estrés

La respuesta al estrés constituye una cascada de acontecimientos que permiten al organismo realizar los cambios fisiológicos, metabólicos y/o conductuales que tienen como objetivo primordial la minimización de los efectos potencialmente perniciosos y la recuperación de la homeostasis (Dallman y Jones 1973). En mamíferos, el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) es el principal circuito relacionado con la respuesta al estrés. La estructura cerebral del hipotálamo junto con las regiones límbicas integran los estímulos emocionales, cognitivos, neuroendocrinos y autonómicos, y determinan la magnitud y duración de las respuestas neuronales, conductuales y hormonales ante situaciones estresantes. Durante la activación del eje HPA, las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo secretan el factor de liberación de corticotropina (CRF), el cual estimula la síntesis y liberación de la adrenocorticotropina (ACTH) en el lóbulo anterior de la pituitaria (Vale y cols. 1981). Una vez secretada, la ACTH viaja a través del torrente sanguíneo e induce la síntesis y liberación de glucocorticoides (cortisol en primates, corticosterona en roedores) en las glándulas adrenales (Figura 10, Dallman y Jones 1973).

Los glucocorticoides son potentes reguladores de la fisiología celular y del comportamiento, que alertan al organismo sobre un desequilibrio ambiental o fisiológico.

Consecuentemente, la activación del sistema HPA por períodos cortos es esencial para funciones vitales, pero la hiperactivación por exposición a estrés crónico y la subsecuente hipertrofia adrenal e incremento de los niveles basales de corticosterona en plasma, a menudo, se asocia con patologías tales como la adicción (Robinson y Becker 1986, Robinson y Berridge 1993).

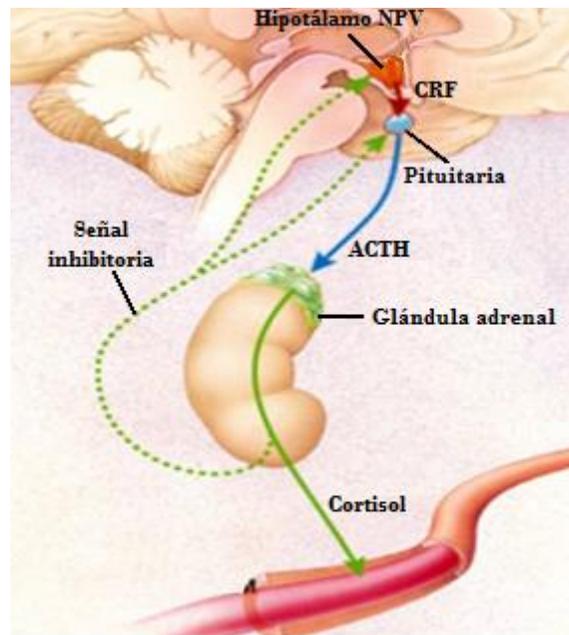


Figura 10. Regulación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal. En respuesta a situaciones estresantes el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) secreta el factor liberador de la corticotropina (CRF), que se transporta a través de los capilares del sistema circulatorio porta hipofisario al lóbulo anterior de la pituitaria o adenohipófisis. En respuesta esta libera adrenocorticotropina (ACTH), que a través del torrente sanguíneo se transporta a la corteza de las glándulas adrenales, donde estimula la secreción de glucocorticoides (cortisol en primates, corticosterona en roedores), los cuales a su vez regulan negativamente su propia liberación (modificado de Sadek y Nemeroff 2000).

1.3.1 El estrés y la adicción

Está ampliamente documentado que una consecuencia de la hiperactivación del sistema HPA, es el incremento de la actividad de las neuronas mesencefálicas dopaminérgicas (Thierry y cols. 1976, Deutch y cols. 1991). Por consiguiente, la repetida exposición a situaciones de estrés aumenta la motivación y/o la vulnerabilidad al consumo de sustancias de abuso, ya que sensibiliza al organismo a largo plazo a los efectos reforzantes de las mismas (Robinson y

Becker 1986, Kalivas y Stewart 1991, Robinson y Berridge 1993). Del mismo modo, los animales sensibilizados por las drogas pueden llegar a ser extremadamente sensibles al estrés, proceso que se conoce como sensibilización cruzada (Antelman y cols. 1980, Antelman y Chiodo 1983, Robinson 1988).

En roedores, este proceso ha sido demostrado tanto en estudios farmacológicos como en investigaciones donde utilizan estrés físico o social para analizar su influencia sobre la conducta adictiva. Por ejemplo, la inyección exógena de corticosterona aumenta la sensibilidad a los efectos de la cocaína (Mantsch y cols. 1998). En contraste, el tratamiento con un inhibidor de la corticosterona reduce la conducta de autoadministración de esta droga (Goeders y Guerin 1996). Asimismo, la intermitente exposición a diversos factores estresantes (aislamiento social, relaciones sociales de dominancia-sumisión, ambientes novedosos, inmovilización, descargas eléctricas en las patas, natación forzada y el pinchamiento de la cola, entre otros) induce sensibilización conductual y aumenta la autoadministración de drogas de abuso (Piazza y cols. 1989, Miczek y cols. 2004, Nikulina y cols. 2004, Lu y Shaham 2005, Lê y cols. 2005, Cleck y Blendy 2008, Sinha 2008).

Adicionalmente, se reporta que el conjunto de experiencias estresantes en etapas tempranas posee valor predictivo en la vulnerabilidad a la adicción a drogas de abuso. Esto responde a que las crías de ratas gestantes expuestas a estrés moderado presentan una mayor administración de sustancias psicoestimulantes, así como una alta respuesta conductual a estas drogas (Deminiere y cols. 1992, Henry y cols. 1995, Morley-Fletcher y cols. 2004, Koenig y cols. 2005, Park y cols. 2007, Kippin y cols. 2008, Thomas y cols. 2009, Mairesse y cols. 2012, Hausknecht y cols. 2013).

Interesantemente, la restricción crónica de alimento y el mantenimiento de bajo peso corporal se han identificado como variables que en su calidad de estresores incrementan sensibilidad del sustrato neural de la recompensa a los efectos de las drogas de abuso (Cabeza de Vaca y Carr 1998). En esta línea, diversas investigaciones han demostrado que los animales restringidos de alimento son más responsivos a los efectos locomotores y a la autoadministración de drogas de abuso (Campbell y Fibiger 1971, Carroll y Meisch 1984, Deroche y cols. 1993, Marinelli y cols. 1996). Asimismo, la evidencia indica que bajo esta condición alimenticia, el previo tratamiento con un inhibidor de la síntesis de corticosterona

reduce la tasa de autoadministración de cocaína (Campbell y Carroll 2001). Estos hallazgos sugieren que las neuroadaptaciones que participan en la sensibilización y el subsecuente proceso de adicción a drogas de abuso se activan específicamente por el estrés crónico a consecuencia del balance energético negativo persistente.

Por otra parte, la sobreingesta de comida altamente apetitosa también es considerada como una conducta adictiva. Esto responde a que comparte diversas similitudes con el abuso de drogas psicoestimulantes, siendo la activación del sistema mesolímbico la similitud más sustancial (revisado en Alsiö y cols. 2012). Por lo anterior, no es sorprendente que la hiperactivación del eje HPA también se asocie con la sensibilización a los efectos de recompensa del alimento apetitoso. Una prueba de ello es que el estrés físico moderado en ratas no altera la ingesta de alimento con características hedónicas limitadas, sin embargo, cuando el alimento disponible es rico en carbohidratos o grasas, entonces el estrés aumenta el consumo (revisado en Torres y Nowson 2007). Asimismo, bajo el modelo de estrés social de dominancia-subordinación, los sujetos subordinados incrementan en mayor medida la ingesta de alimento alto en grasa y el peso corporal, en comparación con los sujetos dominantes (Moles y cols. 2006).

Adicionalmente, se reporta que la vulnerabilidad al aumento de peso debido a la dieta puede ser predicha por el tipo de respuesta ante situaciones estresantes (Rossi y cols. 1997). Una de estas respuestas es la proactiva que se caracteriza por ser altamente impulsiva y estar mediada por la hiperestimulación del sistema nervioso simpático. En contraste, la respuesta pasiva o reactiva presenta una baja conducta exploratoria y una hiperactividad del eje HPA (revisado en Koolhaas y cols. 1999). Cuando las ratas proactivas y pasivas se alimentan con una dieta estándar, su peso corporal no presenta diferencias (Boersma y cols. 2009), pero al tener acceso a una dieta alta en grasa, los sujetos pasivos son más susceptibles a la ganancia de peso (Rossi y cols. 1997). Por lo tanto, la interacción del eje HPA con el consumo de alimento alto en calorías podría resultar en un factor de riesgo para el desarrollo de la adicción a la comida y la subsecuente obesidad.

En conclusión, el conjunto de evidencias mostradas sugiere que los individuos más vulnerables a desarrollar algún tipo de adicción, ya sea a drogas de abuso o comida apetitosa, son aquellos con una hiperactivación del eje HPA (basal o inducida), la cual finalmente

aumenta la sensibilidad a los efectos reforzantes de las recompensas a través de la acción de la respuesta al estrés en el circuito mesolímbico.

1.4 La conducta alimentaria

La conducta alimentaria es un comportamiento motivado dirigido a conseguir la energía necesaria para mantener el equilibrio homeostático del organismo (Geiselman 1996). Los cambios compensatorios en la ingesta y en el gasto energético se denominan en conjunto homeostasis energética. Su regulación es un proceso dual, integrado por los impulsos opuestos del apetito y la saciedad, que implica diversas redes neuronales, resultando las hipotalámicas las de mayor relevancia.

1.4.1 Regulación homeostática de la conducta alimentaria

A nivel del sistema nervioso central, la regulación homeostática se lleva a cabo en dos grupos de neuronas del núcleo arcuato (ARC) del hipotálamo: 1) las que expresan proopiomelanocortina/transcrito relacionado con cocaína y anfetamina (POMC/CART), y 2) las que expresan el péptido relacionado con agouti/neuropéptido Y (AgRP/NPY, Wynne y cols. 2005). POMC es la proteína precursora de las porciones alfa y beta de la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH y β -MSH), que actúan sobre los receptores de melanocortina (MC3R y MC4R) para activar una respuesta anorexígena (Biebermann y cols. 2006). Por el contrario, AgRP es un antagonista competitivo de MSH que promueve el consumo de alimento (Tolle y Low 2008). Particularmente, los efectos opuestos de ambos grupos neuronales son mediados, en parte, por las acciones contrarias sobre el mismo mecanismo de señalización, conocido como la vía central de las melanocortinas (Figura 11, Garfield y cols. 2009).

Esta vía responde a dos tipos de señales periféricas que controlan el balance energético: uno que actúa en el corto plazo y otro que lo realiza en el largo plazo (Badman y Flier 2005). El de corto plazo se encarga de regular el apetito o inicio y finalización de comidas individuales. Este responde fundamentalmente a señales gastrointestinales o factores de saciedad que se acumulan durante la alimentación y contribuyen a concluir la ingesta.

(Woods y cols. 1998). Las señales en el largo plazo o factores de adiposidad que se liberan en proporción a los depósitos energéticos del organismo se encargan del mantenimiento del peso corporal (Sánchez-Lasheras y cols. 2009). Dentro de este último grupo de señales se encuentran la insulina y la leptina. La primera es secretada por el páncreas en respuesta a una elevación de los niveles plasmáticos de glucosa, mientras que la leptina es secretada por los adipocitos, y su concentración plasmática se correlaciona positivamente con el nivel de adiposidad (Liuzzi y cols. 1999). Ambas hormonas son transportadas a través de la barrera hematoencefálica y al unirse a sus respectivos receptores en el ARC favorecen la expresión de POMC e inhiben la expresión de AgRP, acciones que en última instancia promueven la anorexia (Figura 11, Benoit y cols. 2002, Kitamura y cols. 2006).

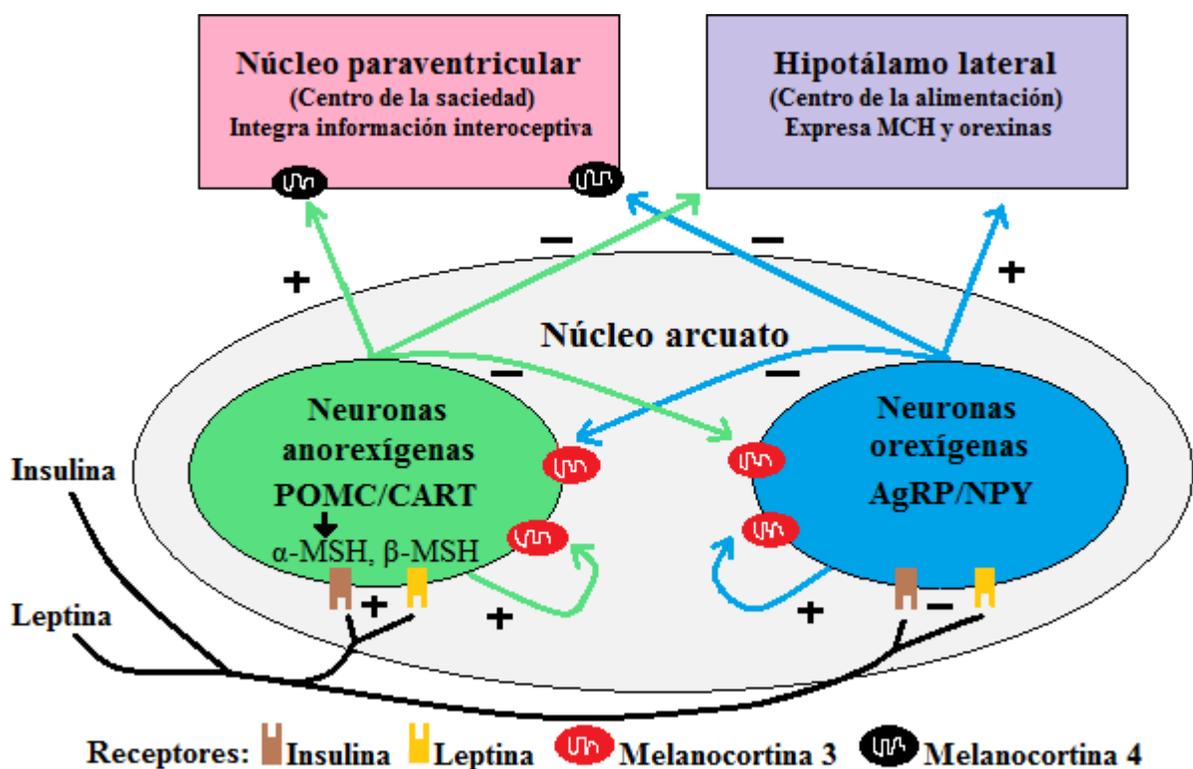


Figura 11. Regulación central del balance energético. En el mecanismo central que regula el peso corporal y el apetito, diversos núcleos intrahipotálamicos presentan numerosas interacciones entre sí para lograr el balance energético. Proopiomelanocortina (POMC), transcrito relacionado con cocaína y anfetamina (CART), porción alfa y beta de la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH y β -MSH), péptido relacionado con agouti (AgRP), neuropéptido Y (NPY), hormona concentradora de melanina (MCH). (+) estimulación, (-) inhibición.

Adicionalmente, el ARC proyecta hacia el núcleo paraventricular, considerado como el centro de la saciedad. Este integra la información interoceptiva gastrointestinal y de disponibilidad de sustratos y metabolitos, y optimiza la respuesta endócrina (secreción de hormonas pituitarias) y autonómica. Un segundo sitio de proyección del ARC es el hipotálamo lateral, que se considera como el centro de la alimentación puesto que contiene las poblaciones de neuronas que expresan la hormona concentradora de melanina (MCH) y las orexinas, las cuales incrementan la ingesta de alimento (Figura 11, Elias y cols. 1999).

Sin embargo, la conducta alimentaria no es regulada únicamente por nutrientes y requerimientos calóricos, pues adicionalmente responde a las propiedades reforzantes de los alimentos (estímulos placenteros y motivantes) a través de la activación del circuito de la recompensa. Por lo tanto, la aparición del comportamiento adaptativo de búsqueda y consumo de alimento resulta de una compleja interacción entre la regulación homeostática y el sistema mesolímbico (Saper y cols. 2002, Lutter y Nestler 2009).

1.4.2 Interacción de la regulación homeostática y el sistema mesolímbico

Una cualidad crucial de las propiedades reforzantes de la comida es su variabilidad, pues dependen del estado interno y/o la experiencia previa del sujeto (Hyde y Witherly 1993, Hetherington 1996, Swithers 1996, Berridge 2000). En el caso de la influencia del estado interno del individuo, es claro que el alimento es más recompensante para un animal cuando está privado que cuando no lo está (Nader y cols. 1997). Con respecto al efecto de la experiencia previa, el carácter recompensante de los alimentos resulta de un aprendizaje operante entre el alimento y sus consecuencias. Este procedimiento puede inducir que un estímulo adquiera el valor de reforzador positivo (e.g. comida altamente apetitosa), lo que en consecuencia incrementará la ingesta de alimento. (Ossenkopp y Eckel 1995, Bernstein 1999).

El correlato neurobiológico del componente de recompensa de la conducta alimentaria se localiza principalmente en las interacciones que presentan el sistema mesolímbico (por medio del NAc) y el hipotálamo lateral (a través de las neuronas MCH). Particularmente, el NAc y las neuronas MCH presentan aferencias y eferencias entre sí, lo que le confiere dos características únicas a las neuronas MCH: 1) activar al NAc con la finalidad de incrementar

el valor hedónico del alimento y 2) la información que reciben del NAc les permite participar activamente en el autoreforzamiento del circuito que regula la ingesta de alimento (Figura 12, Peyron y cols. 1998, Bittencourt y cols. 1992, Saito y cols. 2001, Marcus y cols. 2001). Paralelamente a esta interacción, se reporta que las señales periféricas que regulan el balance energético pueden modificar la sensibilidad del sistema mesolímbico. Por un lado, las orexigénicas (ghrelina) la incrementan, mientras que las anorexigénicas (leptina e insulina) la disminuyen (Lattemann 2008).

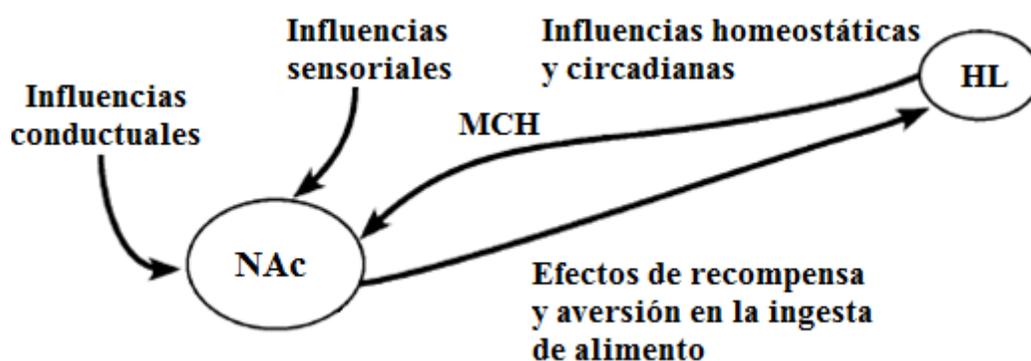


Figura 12. Interacciones del sistema mesolímbico y el sistema central regulador de la homeostasis energética. El núcleo accumbens (NAc) recibe principalmente información sensorial y conductual, mientras que el hipotálamo lateral (HL), considerado como el centro del hambre, es blanco de la información homeostática y circadiana. En la generación de la conducta alimentaria, la interacción entre estas dos estructuras es a través de las neuronas que expresan la hormona concentradora de melanina (MCH). Este grupo neuronal al estimular el NAc puede incrementar el valor hedónico del alimento. Además, la información que reciben del NAc les permite participar activamente en el autoreforzamiento del circuito que regula la ingesta de alimento (modificado de Saper y cols. 2002).

En consecuencia, la ingesta energética diaria no siempre se correlaciona con el gasto energético, lo que podría facilitar el desarrollo de alteraciones metabólicas como hiperglucemia, incremento del peso corporal, altos niveles de adiposidad (hiperplasia e hipertrofia), y/o dislipidemias (hipercolesterolemia e hipertriglicéridemia). Dichas alteraciones se consideran factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como obesidad, hipertensión y diabetes *mellitus*, entre otras (Blázquez y Quijada 1968, Glueck y cols. 1969, Kalaivanisailaja y cols. 2003, Winzell y Bo Ahrén 2004, Drolet y cols. 2008).

En términos evolutivos, la interacción de la regulación homeostática y el sistema mesolímbico representa una ventaja adaptativa que favorece la ingesta cuando el alimento alto en calorías se encuentra disponible. Esto en última instancia permite el almacenamiento de

energía (grasa corporal) para su uso cuando las fuentes de alimento sean escasas. Sin embargo, en las sociedades modernas, esta adaptación incluso puede representar una desventaja, ya que la ingesta excesiva de este tipo de alimentos induce respuestas neuroadaptativas similares a las que produce el uso de drogas de abuso en el circuito de la recompensa (revisado en Wang y cols. 2004). Por lo tanto, en los individuos vulnerables, el consumo de comida altamente calórica podría incrementar la sensibilidad a los efectos neuroquímicos y conductuales de las drogas psicoestimulantes (revisado en Keny 2011).

1.4.3 Efecto de la dieta en la sensibilización del sistema mesolímbico

Existen numerosos estudios que mediante la administración de drogas de acción dopaminérgica han evaluado el impacto del estado nutricional en la sensibilización de la neurotransmisión mesolímbica. Para ello, la mayoría de estos estudios se han enfocado en los efectos conductuales de las drogas que activan a los receptores D2 y D3 ya que estas conductas se identifican y miden de forma relativamente sencilla (Oei y cols. 1980, Carroll y cols. 1981, Deroche y cols. 1993, Pothos y cols. 1995, Patterson y cols. 1998, Carr y cols. 2003, Collins y cols. 2007, 2008, Wellman y cols. 2007, Davis y cols. 2008, Stamp y cols. 2008, Thanos y cols. 2008, Sevak y cols. 2008, Baladi y France 2009, Baladi y cols. 2011, McGuire y cols. 2011).

Con respecto a la restricción alimenticia, se ha documentado que esta se caracteriza por reducir la dopamina extracelular en el NAc (Pothos y cols. 1995), incrementar la expresión del receptor D2 en el estriado (Thanos y cols. 2008) y disminuir los niveles de expresión del ARNm del transportador a dopamina en el área tegmental ventral (Patterson y cols. 1998). Asimismo, se ha demostrado que esta condición alimenticia en respuesta a agonistas que actúan en los receptores D2 y D3, incrementa la locomoción (Carr y cols. 2003, Collins y cols. 2008) y disminuye el bostezo (Baladi y France 2009, Collins y cols. 2008). Además, el efecto inhibitorio en el bostezo inducido por agonistas de los receptores D2 y D3, puede ser revertido por un antagonista selectivo de los receptores D2, indicando que los cambios en la sensibilización son mediados por este subtipo de receptor (Collins y cols. 2008). Adicionalmente, se presenta una controversia con respecto al efecto de la restricción

alimenticia en torno a la sensibilización a la hipotermia inducida por agonistas dopaminérgicos, la cual es mediada por los receptores D2 (Collins y cols. 2007), pues algunos estudios indican que no la modifica (Baladi y France 2009, Baladi y cols. 2011), mientras que otros reportan una disminución (Collins y cols. 2008).

Conjuntamente, estos estudios sugieren que la restricción alimenticia podría modificar la potencia de los agonistas de acción directa D2/D3, a través de un incremento de la actividad del receptor D2. Lo anterior se correlaciona claramente con los altos niveles de expresión de este receptor en el estriado de individuos restringidos de alimento, en comparación con los animales no restringidos (Thanos y cols. 2008).

En relación a los agonistas dopaminérgicos de acción indirecta, como la cocaína, la restricción alimenticia, al igual que con los de acción directa, produce un incremento de los efectos locomotores (Deroche y cols. 1993, Stamp y cols. 2008). Asimismo, se ha evaluado la conducta de la autoadministración de drogas de abuso ante una restricción de alimento. Por ejemplo, en sujetos cuyo peso corporal fue reducido en un 75%, la ingesta de café y cigarrillos fumados se incrementó marcadamente (Franklin y cols. 1948). Del mismo modo, otras investigaciones han reportado que en animales de laboratorio con restricción alimenticia también se incrementa la autoadministración de las anfetaminas (Takahashi y cols. 1978), la heroína (Oei y cols. 1980) y la cocaína (Carroll y cols. 1981). En base a estos antecedentes, es claro que la restricción alimenticia puede alterar los efectos de drogas terapéuticas y de abuso de acción dopaminérgica

Por otro lado, no solo la cantidad de alimento sino también el tipo de dieta puede alterar el sistema dopaminérgico. Recientes estudios muestran que las ratas con consumo intermitente de comida altamente apetitosa, como la sacarosa y dieta alta en grasa, muestran síntomas conductuales y cambios neuroquímicos que son comparables con el abuso de drogas (Avena y cols. 2008, Johnson y Kenny 2010). Al respecto, numerosos estudios han documentado que individuos obesos (Wang y cols. 2001) e individuos que consumen crónicamente ya sea cocaína (Volkow y cols. 1993), metanfetamina (Volkow y cols. 2001), alcohol (Volkow y cols. 1996) o heroína (Wang y cols. 1997), presentan una reducción significativa de los receptores en el estriado. En base a esto, se ha postulado que los desórdenes de conductas compulsivas, tales como la ingesta compulsiva de comida y el abuso

de drogas, reflejan el denominado síndrome de déficit de recompensa (Blum y cols. 1996), el cual se especula es debido en parte a la reducción en la disponibilidad del receptor D2 (Comings y Blum 2000). Sin embargo, es probable que esta condición tenga sus bases genéticas en los polimorfismos de este subtipo de receptor.

En contraste con la restricción alimenticia, el consumo excesivo de sacarosa o dieta alta en grasa causa un incremento en la dopamina extracelular del NAc, que en suma a la disminución en la expresión del receptor D2 en el estriado y a un consumo intermitente de drogas de abuso, podría sensibilizar al sistema mesolímbico. En esta línea, diversos estudios sugieren que la comida alta en grasa incrementa la sensibilización conductual a los agonistas de acción directa en los receptores D2/D3. Por ejemplo, las ratas que fueron alimentadas con dieta alta en grasa, fueron más sensibles a los efectos conductuales mediados por los receptores D2 y D3, ya que la curva dosis-respuesta del bostezo inducido por quinpirole se desplazó hacia la izquierda (Baladi y France 2009). Además, Baladi y cols. (2011) al investigar si la dieta alta en grasa y el cambio en el peso corporal (incremento o decremento) modifican los efectos conductuales de agonistas dopaminérgicos de acción directa, encontraron que el incremento en la sensibilización a los efectos conductuales del quinpirole se debe al consumo de este tipo de dieta y no necesariamente al incremento del peso corporal. En este estudio al evaluar la tolerancia a la insulina, se encontró que después de dos semanas de alimentación con dieta alta en grasa, las ratas mostraron resistencia a la hipoglicemia inducida por insulina. Adicionalmente, se ha reportado que con la dieta alta en grasa no se presentan cambios en la hipotermia inducida por agonistas dopaminérgicos de acción directa, indicando que los cambios en la sensibilidad no son debidos a mecanismos farmacocinéticos (Baladi y France 2009, Baladi y cols. 2011).

Respecto a los agonistas dopaminérgicos de acción indirecta, se reporta que la sensibilización a algunos efectos de una sola dosis de anfetamina o cocaína se disminuye con la dieta alta en grasa (Wellman y cols. 2007, Davis y cols. 2008). En contraste, el estudio con un esquema de dosis crecientes de metanfetamina mostró que la sensibilización se incrementa con administraciones intermitentes de la droga (McGuire y cols. 2011). Sin embargo, aún se requieren estudios que permitan establecer claramente los efectos de la dieta alta en grasa en la respuesta a los agonistas de acción indirecta de los receptores a dopamina.

Aunque la interpretación de los estudios mencionados puede ser compleja, por el hecho de que la mayoría de los agonistas y antagonistas de acción directa disponibles para estudios de laboratorio presentan afinidad por más de un tipo de receptor a dopamina, se puede concluir que la sensibilidad a los efectos conductuales mediados por los receptores del subtipo D3 se disminuye con la restricción alimenticia, mientras que con la dieta alta en grasa se aumenta. Asimismo, en las respuestas que se llevan a cabo a través de los receptores D2 ocurre lo opuesto en cada condición alimenticia.

2. ANTECEDENTES

2.1 Las sublíneas de ratas de alto bostezo HY y bajo bostezo LY de la cepa Sprague-Dawley

En 1981 se estableció en el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla una sublínea consanguínea de ratas con una alta frecuencia de bostezo HY (del inglés High-yawning). Esta se obtuvo a partir de un macho de la línea Sprague-Dawley con una frecuencia de bostezo espontánea de 22 bostezos por hora (b/h), obtenido de un pie de cría proveniente de Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Esta sublínea presenta una frecuencia de bostezo espontáneo de 20 b/h en promedio y se ha mantenido a lo largo de más de 80 generaciones (Urbá-Holmgren y cols. 1990).

A partir de un pie de cría del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, INER, SSA, se obtuvo una segunda sublínea con baja frecuencia de bostezo espontáneo LY (del inglés Low-Yawning) con un promedio aproximado de 2 b/h. Mediante entrecruzamientos entre ratas HY y LY se determinó que este carácter está controlado por una sola unidad que se segrega (Urbá-Holmgren y cols. 1990). Sin embargo, a la fecha no se han establecido las bases genéticas de las diferencias en la expresión del bostezo entre ambas sublíneas.

Estas sublíneas han permitido estudiar la influencia de variables medio ambientales y de distintos tipos de fármacos sobre la frecuencia del bostezo (Anías y cols. 1984, Urbá-Holmgren y cols. 1993). A lo largo de estos estudios, se ha observado que conjuntamente con la alta y baja frecuencia de bostezo se han seleccionado otros caracteres, sugiriendo que podrían estar codificados por la misma región de ácido desoxirribonucleico.

2.2 Diferencias conductuales y neuroendócrinas de las ratas HY y LY

Estudios realizados en nuestro laboratorio muestran que las diferencias en el bostezo entre ratas HY y LY están asociadas con otros rasgos conductuales. Por ejemplo, el bostezo espontáneo e inducido farmacológicamente con agonistas dopaminérgicos se correlaciona positivamente con las erecciones del pene (Holmgren y cols. 1985, Eguibar y cols. 2003). Sin

embargo, al evaluar la conducta sexual masculina se encontró que el patrón conductual está desorganizado en su evolución espacio-temporal conductual en las ratas HY, pero no en las LY (Portillo y cols. 2010).

Por otro lado, se reporta que la inducción del aseo a través de estrés físico (Moyaho y cols. 1995) o mediante la administración de ACTH₁₋₂₄ (Eguibar y cols. 2004) muestra diferencias en la frecuencia, duración y ejecución de esta conducta entre las sublíneas. Las ratas HY presentan la mayor frecuencia, mientras que las LY exhiben la mayor duración. Con respecto a la ejecución, las ratas LY presentan la secuencia cefalocaudal característica del aseo, en cambio las ratas HY varían e interrumpen este orden con una prevalencia de los componentes caudales. Cabe mencionar, que el predominio de los rasgos en la conducta del aseo presentes en las HY se asocia con un mayor grado de estrés (Kalueff y Tuohimaa 2005).

Ante la exposición a un ambiente novedoso, las ratas HY se acicalan más que las ratas LY (Eguibar y Moyaho 1997). En la caja luz oscuridad, las ratas HY presentan un menor número de entradas al compartimento blanco en comparación con las ratas LY, lo que indica una aversión a espacios iluminados (Palacios 2014). Durante la prueba de campo abierto, las LY pasan mayor tiempo en el centro y deambulan más, en tanto que las HY pasan más tiempo en las esquinas y deambulan menos (Uribe 2010). La evaluación de la conducta en el laberinto en cruz elevado, muestra que las ratas HY exploran y pasan menos tiempo en los brazos abiertos, en comparación con las ratas LY (Uribe 2010, Palacios 2014). Asimismo, esta prueba permitió establecer una correlación negativa entre la frecuencia de bostezo y el tiempo pasado en los brazos abiertos, es decir las ratas que más bostezan también muestran un mayor grado de ansiedad (Uribe 2010).

Al evaluar la conducta materna de las ratas HY y LY, se halló que en ambas sublíneas, están presentes todos los componentes que se observan en las ratas de las cepas Sprague-Dawley y Wistar, los cuales son: construcción de nido, acarreo de las crías, lamido genital y amamantamiento (Ugarte y cols. 2011). Sin embargo, las hembras HY construyen nidos de menor calidad y pasan menos tiempo en el nido en comparación con las hembras LY y Sprague Dawley. Por otra parte, las HY muestran una mayor latencia de lamido de las crías, así como una mayor cantidad de reacarros y acarros atípicos (acarros de la cabeza, el abdomen y/o las extremidades y no de la piel del cuello como sucede normalmente). Cabe

señalar, que estas deficiencias en la conducta maternal presentan se asocian con la conducta semejante a la ansiedad y con respuestas al estrés, tales como mayor secreción de corticosterona, ACTH y factor liberador de la corticotropina (Caldji y cols. 1998, Clinton y cols. 2007, Wöhr y Schwarting 2008).

Las ratas HY y LY también presentan ciertas diferencias neuroendócrinas. Por ejemplo, en el NAc, las HY presentan mayor densidad de receptores D3, pero menor liberación de dopamina que las LY (Díaz-Romero 2007). Por otra parte, se ha documentado que el aclaramiento de los niveles de corticosterona, después de la inducción de estrés por restricción de movimiento durante 30 min, es más lento en las ratas HY, las cuales también presentan glándulas adrenales de mayor tamaño que las ratas LY (Uribe 2010).

En conjunto, los estudios anteriores muestran que las sublíneas HY y LY ante situaciones estresantes tienen respuestas conductuales y neuroendócrinas bien diferenciadas. Por una parte, las ratas HY presentan altos niveles de ansiedad e hiperactividad del eje HPA, lo que se asocia a una respuesta pasiva, mientras que las LY, muestran una baja ansiedad y mayor impulsividad, características que se relacionan a la respuesta proactiva (revisado en Koolhaas y cols.1999).

3. JUSTIFICACIÓN

En los seres humanos, el proceso de sensibilización a los efectos neuroquímicos y conductuales de las drogas de abuso resulta de las neuroadaptaciones inducidas por el repetido consumo de estas sustancias. Sin embargo, estas respuestas pueden variar en cada individuo. Entre las diferencias individuales que se asocian a la sensibilización se encuentran la respuesta diferencial a situaciones estresantes y recientemente el estado nutricional. Desafortunadamente la mayoría de los estudios ignoran la variabilidad individual y a menudo utilizan modelos animales que limitan la validez de estos estudios en humanos.

En nuestro laboratorio diversos estudios conductuales realizados en las sublíneas de ratas de alto (HY del inglés High-yawning) y bajo bostezo (LY del inglés Low-yawning), indican que ante situaciones estresantes las ratas HY presentan respuestas conductuales y endócrinas asociadas a un mayor grado de ansiedad, mientras que las LY muestran respuestas opuestas. En base a estos antecedentes, nosotros proponemos que las ratas HY y LY podrían resultar un modelo exitoso para investigar la contribución genética y su interrelación con el estado nutricional en la respuesta a drogas terapéuticas y en la vulnerabilidad hacia las drogas de abuso.

4. HIPÓTESIS

- H1. La restricción alimenticia disminuye la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol en las ratas HY y LY.

- H2. El libre acceso a una dieta alta en grasa incrementa la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol en las ratas HY y LY.

- H3. Las ratas HY son más sensibles a los efectos de la restricción alimenticia y la dieta alta en grasa en la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar los cambios en la sensibilidad al bostezo e hipotermia inducidos por el agonista dopaminérgico de acción directa, pramipexol, en ratas Sprague-Dawley de las sublíneas HY y LY bajo tres esquemas de alimentación: dieta estándar *ad libitum*, restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*.

5.2 Objetivos particulares

En las ratas HY y LY, antes, durante y después de la restricción alimenticia o dieta alta en grasa:

1. Evaluar el efecto de la dieta en la frecuencia de bostezo inducido por pramipexol.
2. Evaluar la hipotermia inducida por pramipexol.
3. Determinar los cambios en el peso corporal.
4. Evaluar la ingesta la ingesta de alimento.
5. Determinar los perfiles metabólicos.

Al finalizar el período experimental:

6. Evaluar el porcentaje del tejido adiposo del epidídimo de las ratas HY y LY con cada régimen alimenticio.
7. Comparar el tamaño de los adipocitos del tejido adiposo del epidídimo de las dos sublíneas con cada condición alimenticia.

6. METODOLOGÍA

6.1 Animales

Se emplearon 24 ratas macho, de los cuales 12 fueron de la sublínea HY y 12 de la sublínea LY, reproducidas al azar y con 60 días de edad. Las ratas se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos, cada uno conformado por 4 HY y 4 LY. Se colocaron por parejas en cajas de acrílico transparente (60 x 40 x 17 cm) con cama de viruta de madera estéril (Aspen Chip, EUA). Durante el periodo experimental las ratas se mantuvieron con libre acceso a agua purificada, $40 \pm 5\%$ de humedad, $21 \pm 1^\circ$ C de temperatura ambiental y un ciclo luz/oscuridad artificial de 12/12 horas, encendiéndose las luces a las 0700 horas.

6.2 Dietas

En los tres grupos, las dietas se suministraron diferencialmente en un periodo experimental de tres fases consecutivas:

1. Todos los individuos durante dos semanas tuvieron libre acceso a una dieta estándar (Lab Diet 5001, grasa=4.5%, proteína=23%, carbohidratos=34.43%, Kcal/g=4.07).
2. Cambio de dieta por cinco semanas. El grupo uno continuó con la dieta estándar *ad libitum*, el grupo dos fue restringido a 10 g/día de dieta estándar por cada rata y el grupo tres accedió libremente a una dieta alta en grasa (Harland Teklad TD06414, grasa=34.3%, proteína=23.5%, carbohidratos=27.3%, Kcal/g=5.1).
3. Los tres grupos nuevamente se alimentaron con dieta estándar *ad libitum* durante ocho semanas.

Para registrar la cantidad de alimento ingerido y el peso corporal, diariamente a las 0830 horas se retiró y pesó el alimento sobrante del día anterior, enseguida se pesó a cada una de las ratas. Posteriormente, a cada pareja de animales se le proporcionaron 150 g de alimento, a excepción de las ratas restringidas de alimento, ya que a estas solo se les suministraron 20 g de alimento por pareja.

6.3 Droga y observación conductual

Para inducir sensibilización conductual a los sujetos de estudio se utilizó el agonista dopaminérgico pramipexol (Sigma-Aldrich). Este es altamente selectivo y específico para la familia de receptores de dopamina D2, con preferencial afinidad por el subtipo D3. Las curvas dosis-respuesta se comenzaron 15 días antes del término de cada fase mediante un esquema de dosis acumulativas de pramipexol: vehículo (agua inyectable), 1, 3.2, 10, 32, 100, 320 y 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Estas se administraron intraperitonealmente en un volumen de 1 mL/Kg cada 48 horas a las 0900 horas. Posterior a la aplicación del fármaco, los individuos se colocaron en cajas de acrílico (21 x 15 x 21 cm) y durante 40 min se registró el número de bostezos.

6.4 Hipotermia

Al concluir la observación conductual, se registró la temperatura de cada uno de los animales por vía rectal. Esto se efectuó mediante la inserción en el recto de un termómetro digital de rápida respuesta lubricado previamente con vaselina.

6.5 Perfiles metabólicos

Los animales se mantuvieron en ayuno total (agua y alimento) durante ocho horas, a partir de la administración de la última dosis de pramipexol de cada curva dosis-respuesta. Al término del ayuno, se obtuvieron 400 μL de sangre a través de la vena de la cola de la rata, a excepción del día del sacrificio ya que la sangre se obtuvo por decapitación. Las muestras sanguíneas reposaron durante 30 min a temperatura ambiente. A continuación, las muestras se centrifugaron a 10,000 RPM durante 15 min y se recuperó el plasma, el cual se almacenó a -70°C hasta su uso. La medición de los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos se realizó a través del uso de reactivos comerciales siguiendo las instrucciones del fabricante (LiquiColor, Licon).

6.6 Disección, fijación e inclusión del tejido adiposo del epidídimo

Al término del periodo experimental, las ratas fueron sacrificadas por decapitación. Inmediatamente se realizó un corte ventral para descubrir y extirpar la grasa periférica del epidídimo izquierdo. El tejido se pesó y se fijó por inmersión en una solución de formalina neutra al 10% durante no menos de 20 días. Al concluir este periodo de tiempo, el tejido se deshidrató con etanol de concentraciones ascendentes (70, 80, 96 y 100%), y se aclaró en una solución de etanol-xileno (1:1) y otra de xileno. Finalmente, el tejido se impregnó e incluyó en Paraplast Plus (Sigma-Aldrich).

6.7 Corte y tinción con hematoxilina-eosina

En un microtomo Leica (RM2135) se obtuvieron cortes transversales de 7 μm de grosor del tejido adiposo. Los cortes fueron desparafinados sumergiéndolos serialmente en xileno, xileno-etanol (1:1), etanol de concentraciones descendentes (100, 96, 80, 70 y 60%) y agua. En seguida los cortes se tiñeron con hematoxilina de Harris durante 7 min. Posteriormente se sumergieron en agua corriente, etanol-ácido (etanol absoluto y ácido acético, 1:1), agua destilada, etano-amoniaco (etanol absoluto y amoníaco, 1:1) y agua destilada. A continuación, fueron teñidos con eosina durante 40 min, lavados con agua destilada y sumergidos serialmente en etanol al 96%, etanol al 100%, etanol-xileno (1:1) y xileno. Las preparaciones fueron cubiertas con Cytoseal-60 (Richard-Allan Scientific), observadas con el objetivo 40x en un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600) y fotografiadas con una cámara OLYMPUS a una resolución de 5.1 megapíxeles.

6.8 Análisis de imágenes

Con el software AxioVision Rel.4.8 se analizaron cinco fotografías del tejido adiposo del epidídimo de cada rata (120 fotografías en total). Para medir aleatoriamente el área vacuolar de los adipocitos se colocó en la pantalla una cuadrícula de 18 cuadrantes (6 x 3) y cada cuatro cuadrantes se consideró la vacuola del adipocito que abarcó la mayor parte del área del cuadrante, esto se realizó hasta acumular tres adipocitos en cada imagen.

6.9 Análisis estadísticos de datos

Los datos obtenidos en todos los casos fueron expresados como el promedio \pm error estándar de cuatro ratas. Para determinar las diferencias de cada parámetro evaluado dentro de cada sublínea y entre sublíneas, se utilizó una prueba de ANOVA de dos factores para medidas repetidas, seguida de una prueba de Tukey con una significancia de $P \leq 0.05$ (Sigma Plot v. 12.0). Los parámetros que se compararon fueron los siguientes:

- **Frecuencia de bostezo**

Se determinó si la frecuencia de bostezo de las ratas restringidas de alimento y con libre acceso a dieta alta en grasa era significativamente diferente de los mismos efectos en ratas con libre acceso a dieta estándar. Para determinar las diferencias entre las ratas HY y LY, la frecuencia de bostezo registrada con cada dosis en el grupo con dieta estándar fue considerada como el 100% y los registros con la restricción alimenticia o dieta alta en grasa se relacionaron con estos valores para obtener los porcentajes de cambio y realizar la comparación con cada régimen alimenticio.

- **Temperatura rectal**

Para evaluar la inducción de la hipotermia en cada curva dosis-respuesta de pramipexol, la temperatura con el vehículo fue comparada con los registros de cada dosis. Posteriormente, en cada sublínea se determinó si la temperatura de las ratas restringidas de alimento o con libre acceso a dieta alta en grasa era significativamente diferente de lo obtenido en el grupo con dieta estándar. Asimismo, durante el cambio de dieta se realizó una comparación entre las sublíneas con cada régimen alimenticio.

- **Peso corporal**

En cada sublínea, se comparó el peso corporal de las ratas con restricción alimenticia o libre acceso a dieta alta en grasa respecto a las ratas con dieta estándar *ad libitum* durante todo el periodo experimental. Entre las sublíneas, se comparó el porcentaje de cambio en el peso corporal en cada semana de los tres regímenes alimenticios. Para obtener el porcentaje de

cambio, se tomó el peso corporal registrado al inicio del estudio como el 100% y el peso al final de cada semana se relacionó con este valor para calcular el porcentaje de cambio respectivo.

- **Perfiles metabólicos**

En cada sublínea, se compararon los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos de las ratas restringidas de alimento o con libre acceso a dieta alta en grasa, respecto a las ratas con libre acceso a dieta estándar a través del estudio. Además, en cada parámetro metabólico, se evaluaron las diferencias entre las sublíneas en las tres fases del experimento.

- **Porcentaje de tejido adiposo del epidídimo**

Para obtener el porcentaje de tejido adiposo del epidídimo, se tomó el peso corporal del día de sacrificio como el 100% y el peso del tejido graso se relacionó con este valor para calcular el porcentaje respectivo. Posteriormente, se determinó si el porcentaje obtenido era diferente entre cada régimen alimenticio y entre sublíneas.

- **Área vacuolar de los adipocitos del tejido adiposo del epidídimo**

La determinación de las diferencias en el tamaño de los adipocitos se realizó a través de la cuantificación del área vacuolar de 15 adipocitos de cada rata. En cada sublínea, el área de los adipocitos de las ratas con previa restricción alimenticia o dieta alta en grasa *ad libitum* se comparó con el grupo de ratas que accedió libremente a la dieta estándar. Asimismo, se evaluaron las diferencias entre las sublíneas con cada régimen de alimentación.

7. RESULTADOS

7.1 Efecto de la dieta en el bostezo inducido por pramipexol en las ratas HY y LY

En las ratas HY y LY, pequeñas dosis de pramipexol incrementaron el bostezo y dosis altas lo disminuyeron, resultando en una curva dosis-respuesta en forma de U invertida (Figura 13).

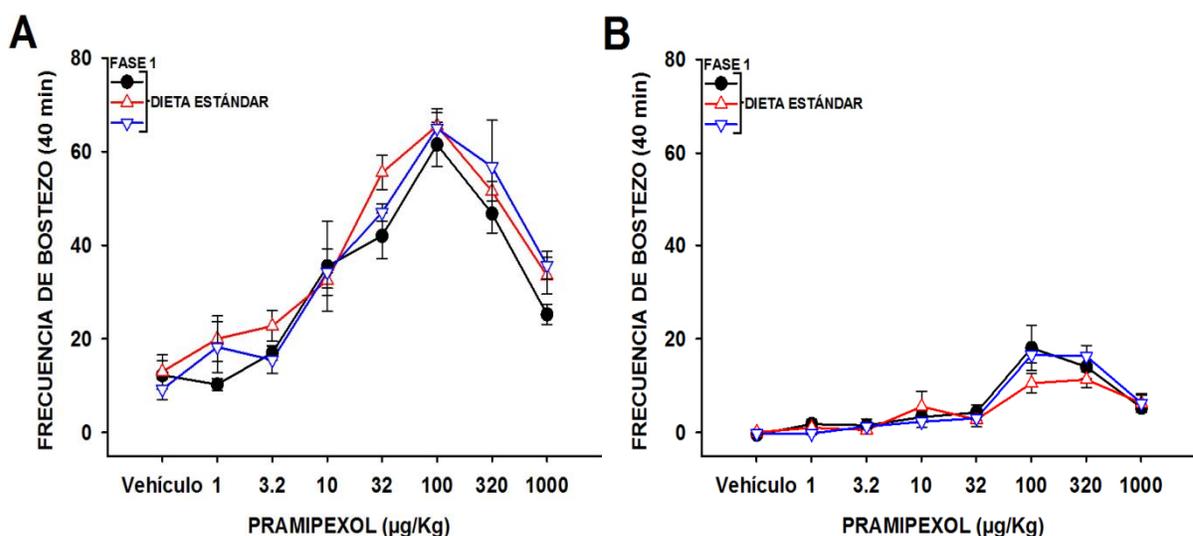


Figura 13. Frecuencia de bostezo inducido con pramipexol en ratas HY y LY. A) Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea HY. B) Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea LY. En ambas sublíneas de ratas, pequeñas dosis de pramipexol incrementaron el bostezo y dosis altas lo disminuyeron, resultando una curva dosis-respuesta en forma de U invertida. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=1.2$ $P=0.353$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=50.1$, $P<0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=9.3$ $P=0.007$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=17.3$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Pramipexol, $F_{(14,63)}=3.4$ $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$).

Durante la restricción alimenticia, el bostezo disminuyó significativamente en las ratas HY ($P=0.019$) y LY ($P<0.001$) y no se presentó la curva dosis-respuesta. Con el libre acceso a la dieta alta en grasa, en las ratas de la sublínea HY, el bostezo generado con la dosis de 100 $\mu\text{g/Kg}$ fue significativamente mayor que el del grupo de ratas que accedieron a la dieta estándar *ad libitum* (Figura 14). En la sublínea LY, no se presentaron diferencias significativas con esta dieta (Figura 14).

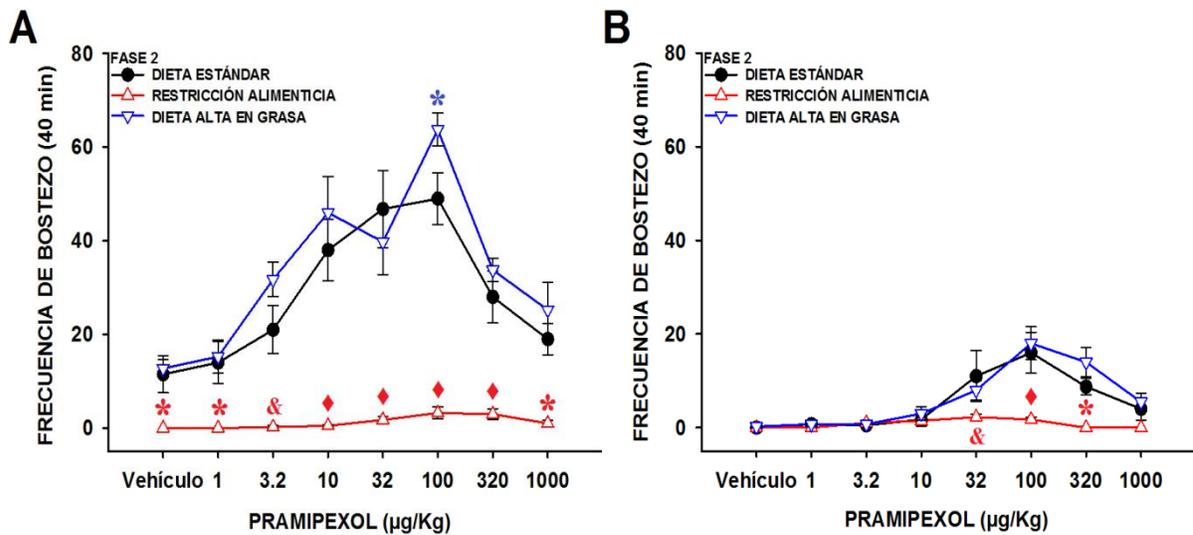


Figura 14. Efectos de una restricción alimenticia (10 g/día) y una dieta alta en grasa (34%) en el bostezo inducido por pramipexol en ratas HY y LY. A) Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea HY. **B)** Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea LY. La restricción alimenticia inhibió significativamente el bostezo inducido por pramipexol en ambas sublíneas. Con la dieta alta en grasa, las ratas HY presentaron un incremento significativo en bostezo generado con la dosis 100 µg/Kg. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=53.6$ $P<0.001$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=18.692$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Pramipexol, $F_{(14,63)}=4.3$ $P<0.001$ para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=9.3$ $P=0.007$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=17.3$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Pramipexol, $F_{(14,63)}=3.4$ $P<0.001$ para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, $\blacklozenge P\leq 0.001$, indican las diferencias obtenidas al comparar las ratas con restricción alimenticia (símbolos rojos) o dieta alta en grasa (símbolos azules) con las ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio.

Cuando las ratas con previa restricción alimenticia nuevamente tuvieron libre acceso a la dieta estándar, la frecuencia de bostezo de las ratas HY no presentó diferencias significativas con el grupo control ($P=0.715$), mientras que en la sublínea LY, la frecuencia fue significativamente con las dosis de 32 ($P=0.008$) y 320 µg/Kg ($P=0.008$), respecto al grupo con dieta estándar (Figura 15).

En relación con las ratas que anteriormente se alimentaron con dieta alta en grasa *ad libitum*, en la sublínea HY no se presentaron diferencias significativas con el grupo control, en tanto que en las ratas LY, el bostezo registrado con la dosis de 32 µg/Kg fue significativamente menor ($P=0.027$) respecto al grupo con dieta estándar (Figura 15).

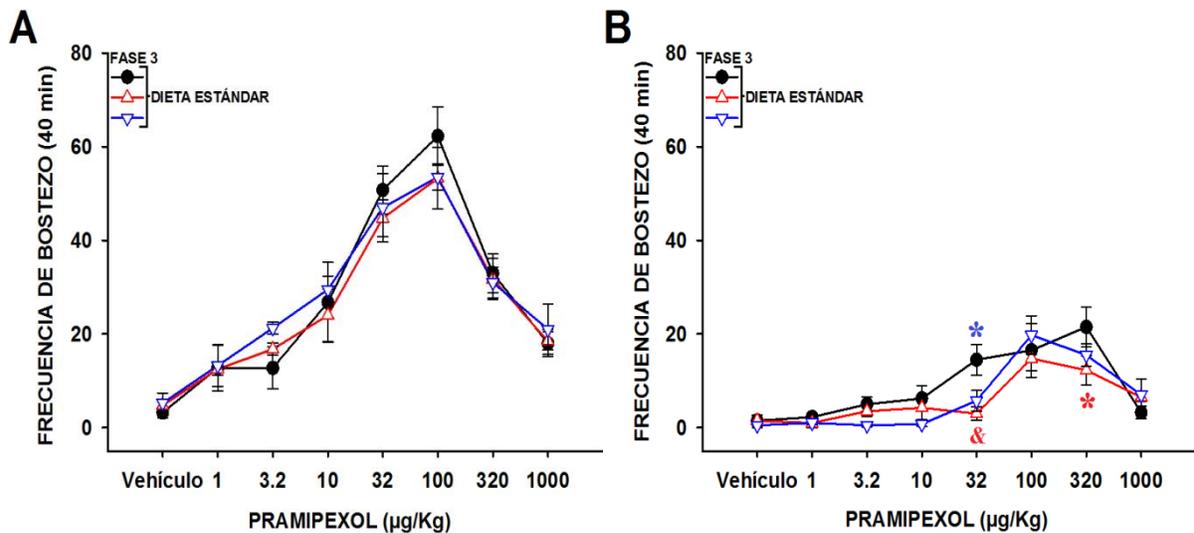


Figura 15. Frecuencia de bostezo inducido por pramipexol en ratas HY y LY después del consumo de una dieta alta en grasa y de una restricción alimenticia. A) Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea HY. B) Frecuencia de bostezo de las ratas de la sublínea LY. En las ratas con previa restricción de alimento, la realimentación con la dieta estándar restableció el bostezo en las ratas HY, mientras que en las LY, este parámetro con las dosis de 32 y 320 µg/Kg fue significativamente menor respecto al grupo control. En las ratas que previamente accedieron a la dieta alta en grasa, no se presentaron diferencias en la sublínea HY, en tanto que en las LY, el bostezo con la dosis de 32 µg/Kg fue menor comparado con el grupo control. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=0.4$, $P=0.715$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=37.9$, $P<0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=2.8$, $P=0.117$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=22.7$, $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, indican las diferencias obtenidas al comparar las ratas con restricción alimenticia (símbolos rojos) o dieta alta en grasa (símbolos azules) con las ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio.

La comparación entre las ratas de ambas sublíneas con restricción de alimento mostró que la inhibición del bostezo en las HY fue significativamente mayor con el vehículo (100%, $P=0.002$) y las dosis de pramipexol de 3.2 (98.8%, $P<0.001$) y 10 µg/Kg (98.7%, $P=0.007$, Figura 16). Con la dieta alta en grasa no se presentaron diferencias significativas entre las sublíneas ($P=0.738$, Figura 17).

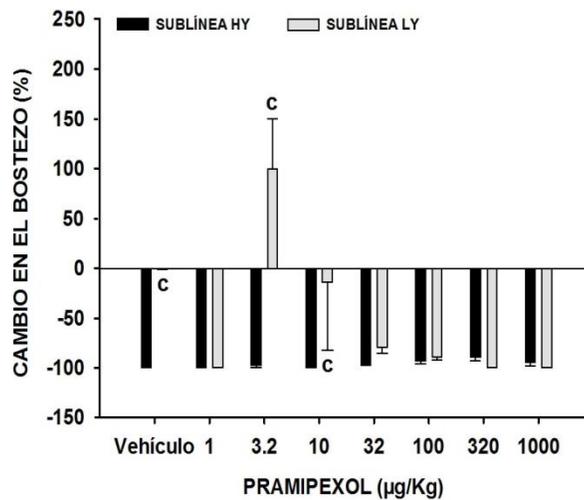


Figura 16. Efecto diferencial de la restricción alimenticia (10 g/día) en el bostezo inducido por pramipexol en ratas HY y LY. Cuando las ratas de las dos sublíneas fueron restringidas de alimento, la inhibición del bostezo fue significativamente mayor en las ratas HY con el vehículo y las dosis de pramipexol de 3.2 y 10 µg/Kg. En cada sublínea, la frecuencia de bostezo registrada con la dieta estándar se tomó como el 100% y los registros con restricción alimenticia se relacionaron con estos valores para calcular el porcentaje de cambio respectivo. Cada barra representa el promedio del porcentaje de cambio en el bostezo ± error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,63)}=26.6$, $P<0.001$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=8.1$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Pramipexol, $F_{(7,63)}=8.8$, $P<0.001$; posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). $cP\leq 0.001$.

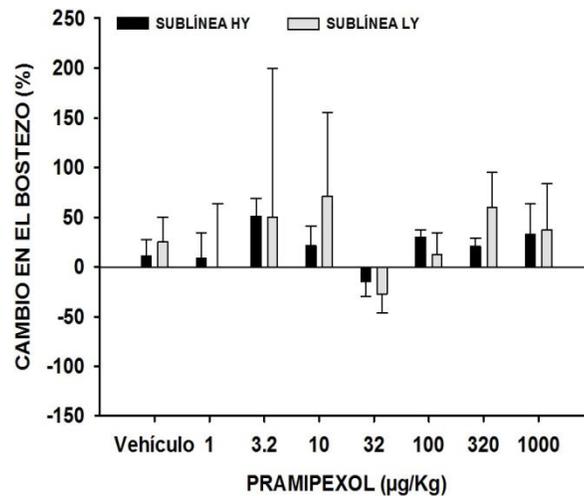


Figura 17. Comparación del efecto de la dieta alta en grasa (34%) *ad libitum* en el bostezo inducido por pramipexol en las sublíneas HY y LY. Con la dieta alta en grasa las sublíneas HY y LY no presentaron diferencias significativas. En cada sublínea, la frecuencia de bostezo registrada con la dieta estándar se tomó como el 100% y los registros con la dieta alta en grasa se relacionaron con estos valores para calcular el porcentaje de cambio respectivo. Cada barra representa el promedio del porcentaje de cambio en el bostezo ± error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,63)}=0.1$, $P=0.738$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=0.4$, $P=0.867$).

7.2 La restricción alimenticia aumenta la hipotermia inducida por pramipexol en las ratas HY y LY

La temperatura rectal de las ratas HY y LY con dieta estándar se disminuyó significativamente a partir de la dosis de 320 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de pramipexol ($P < 0.05$ en ambas sublíneas, Figura 18).

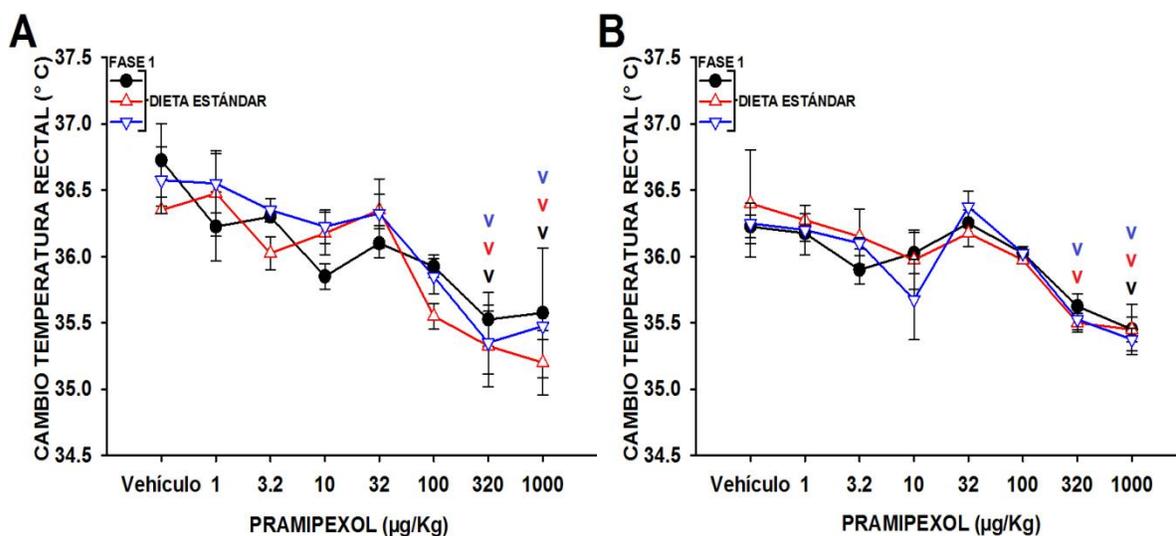


Figura 18. Hipotermia inducida por pramipexol en ratas HY y LY alimentadas con dieta estándar. A) Cambio de temperatura de las ratas HY. B) Cambio de temperatura de las ratas LY. Las dosis de 320 y 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de pramipexol disminuyeron significativamente la temperatura corporal de las ratas de ambas sublíneas. Cada símbolo representa el promedio de la temperatura rectal de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=1.4$, $P=0.291$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=12.7$, $P < 0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=0.1$, $P=0.896$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=14.9$, $P < 0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P < 0.05$). $vP < 0.05$, muestra las diferencias de cada dosis de pramipexol respecto al vehículo (dieta estándar en negro, restricción alimenticia en rojo y dieta alta en grasa en azul).

Con la restricción de alimento, la hipotermia con el vehículo y el pramipexol fue significativamente mayor respecto al grupo con dieta estándar, tanto en las ratas HY (32 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, $P < 0.001$) como en las LY (3.2, 10, 32 y 320 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, $P < 0.05$). Además, bajo esta condición alimenticia, la temperatura registrada con el vehículo no mostró diferencias significativas con las dosis de pramipexol en ambas sublíneas (Figura 19).

Respecto a la dieta alta en grasa, la hipotermia inducida en las HY con 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de pramipexol fue mayor que con el vehículo ($P < 0.05$), pero menor en comparación con el grupo control ($P=0.038$, Figura 19A). En la sublínea LY no se presentaron diferencias con el grupo control (Figura 19).

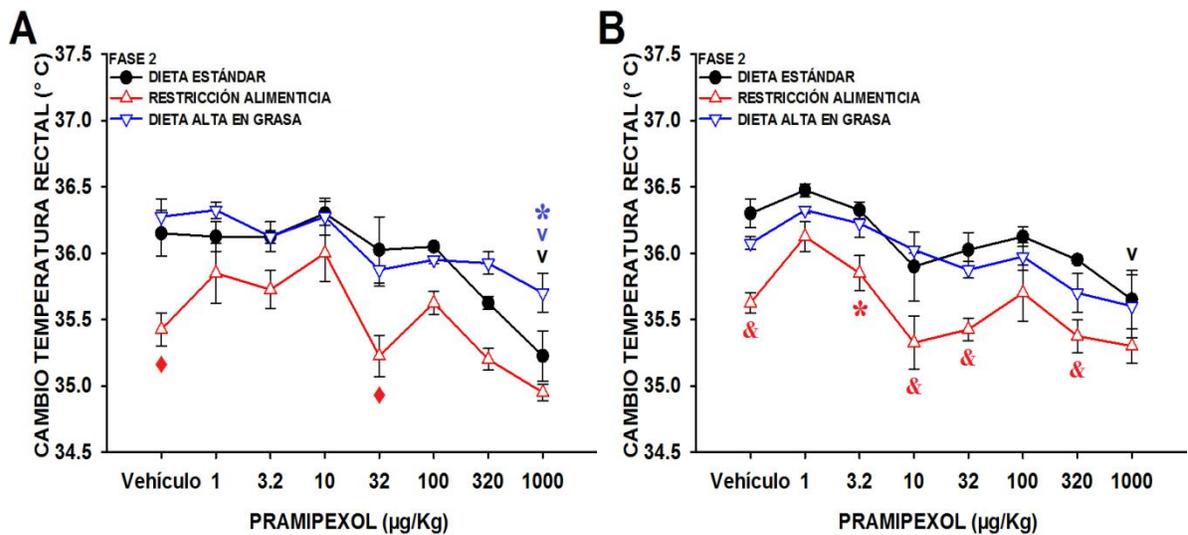


Figura 19. Efectos de la restricción alimenticia y la dieta alta en grasa en la hipotermia inducida por pramipexol en ratas HY y LY. A) Cambio de temperatura de las ratas HY. B) Cambio de temperatura de las ratas LY. La restricción alimenticia aumentó la hipotermia en ambas sublíneas, mientras que la dieta alta en grasa la disminuyó en las HY, pero no en las LY. Cada símbolo representa el promedio de cambio de la temperatura rectal de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=18.1$ $P<0.001$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=17.8$, $P<0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=27.4$ $P<0.001$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=11.5$, $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). 0.05, muestra las diferencias de cada dosis de pramipexol respecto al vehículo (dieta estándar en negro y dieta alta en grasa en azul). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, ♦ $P\leq 0.001$, indican las diferencias obtenidas al comparar las ratas con restricción alimenticia (símbolos rojos) o dieta alta en grasa (símbolos azules) con las ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio.

Cuando en ambas sublíneas se restauró la alimentación con dieta estándar *ad libitum*, la hipotermia registrada con el vehículo no presentó diferencias significativas con las dosis de pramipexol. Asimismo, los grupos con previa restricción alimenticia o dieta alta en grasa no mostraron diferencias con el grupo control (Figura 20).

La comparación entre las sublíneas mostró que con la restricción alimenticia las ratas HY presentaron una temperatura significativamente mayor con la dosis de 10 µg/Kg de pramipexol ($P=0.002$, Figura 21). Con la dieta alta en grasa, no se presentaron diferencias significativas (Figura 22).

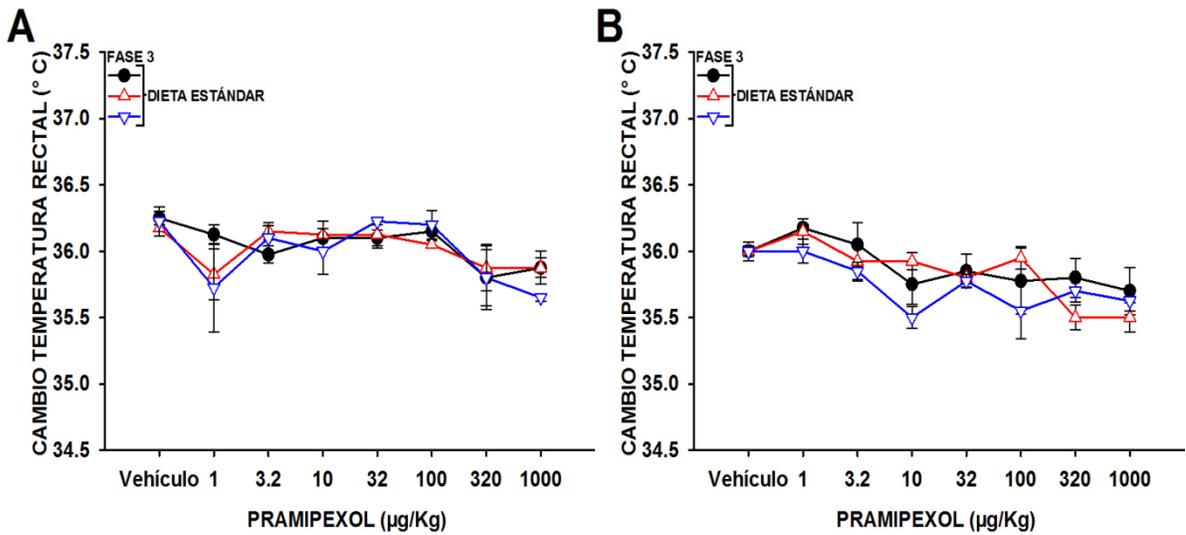


Figura 20. Hipotermia inducida por pramipexol en ratas HY y LY posterior al cambio de dieta. A) Cambio de temperatura de las ratas HY. B) Cambio de temperatura de las ratas LY. Al restaurarse la alimentación con la dieta estándar, la hipotermia en las ratas HY y LY no presentó diferencias significativas respecto al grupo control. Cada símbolo representa el promedio de la temperatura rectal de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,63)}=1.2$, $P=0.356$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=3.9$, $P=0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,63)}=4.3$ $P=0.048$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=6.2$, $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$).

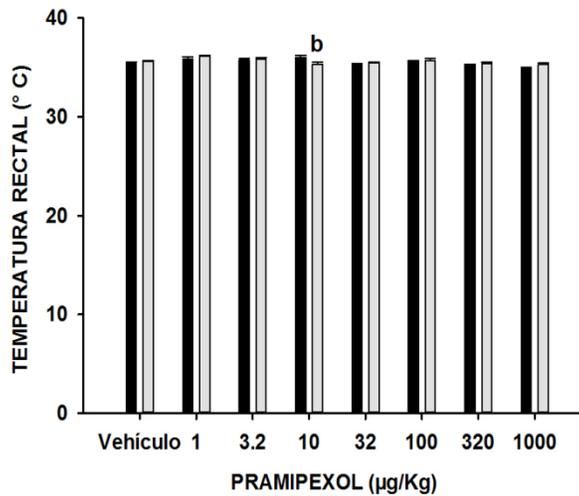


Figura 21. Evaluación de la hipotermia inducida por pramipexol en ratas HY y LY restringidas de alimento (10 g/día). Las ratas HY y LY con restricción alimenticia presentaron una diferencia significativa con la dosis de 10 µg/Kg de pramipexol. Cada barra representa la temperatura rectal promedio \pm error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,63)}=2.5$, $P=0.167$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=7.4$, $P<0.001$; Interacción Sublínea x Dosis $F_{(7,63)}=2.3$, $P=0.042$; posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). b $P\leq 0.010$.

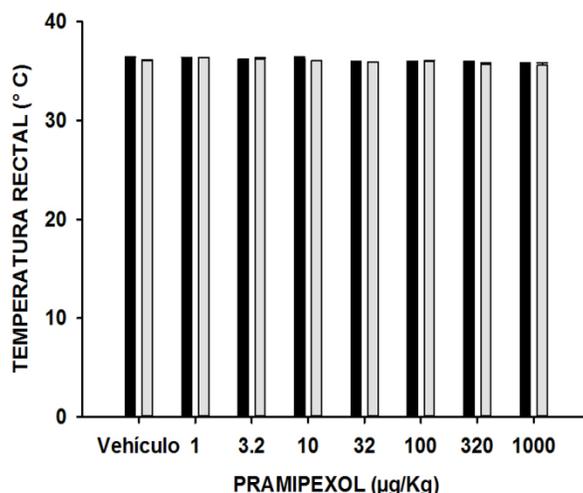


Figura 22. Comparación de la hipotermia inducida por pramipexol en ratas HY y LY con libre acceso a dieta alta en grasa (34%). Las ratas HY y LY alimentadas con dieta alta en grasa *ad libitum* no mostraron diferencias en la sensibilidad a la hipotermia inducida por pramipexol. Cada barra representa el promedio de la temperatura rectal \pm error estándar de cuatro ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,63)}=0.9$, $P=0.384$; Pramipexol, $F_{(7,63)}=10.7$, $P<0.001$; posteriormente se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$).

7.3 Efecto de la dieta en el peso corporal de las ratas HY y LY

Al concluir las cinco semanas de cambio de dieta, el peso corporal de las ratas HY que accedieron a la dieta estándar se incrementó en promedio 46.5 g, el cual fue significativamente diferente al obtenido con dieta alta en grasa ($P=0.004$) y con restricción alimenticia ($P<0.001$); el peso corporal con estos regímenes alimenticios aumentó 85.8 g y disminuyó 108.3 g, respectivamente. Cuando todas las ratas retomaron el libre acceso a la dieta estándar, los animales que siempre se alimentaron con dieta estándar *ad libitum* aumentaron en promedio 42.3 g, las ratas con previa restricción alimenticia incrementaron 182.3 g y aquellas que previamente comieron una dieta alta en grasa aumentaron 28.5 g (Figura 23A).

En relación a las ratas de la sublínea LY, al finalizar cinco semanas de acceso libre a dieta estándar o dieta alta en grasa, el peso corporal incrementó en promedio 75.8 g y 96.3 g, respectivamente. En las ratas con restricción alimenticia el peso corporal disminuyó 89.25 g y fue significativamente diferente ($P<0.001$) al mostrado por el grupo de ratas que durante las tres fases se alimentó con dieta estándar *ad libitum*. Al regresar a todos los animales al libre acceso a dieta estándar, las ratas que siempre accedieron a dieta estándar incrementaron 59 g,

las que previamente fueron restringidas de alimento ganaron 208.3 g y las que anteriormente se alimentaron con dieta alta en grasa aumentaron 41 g (Figura 23B).

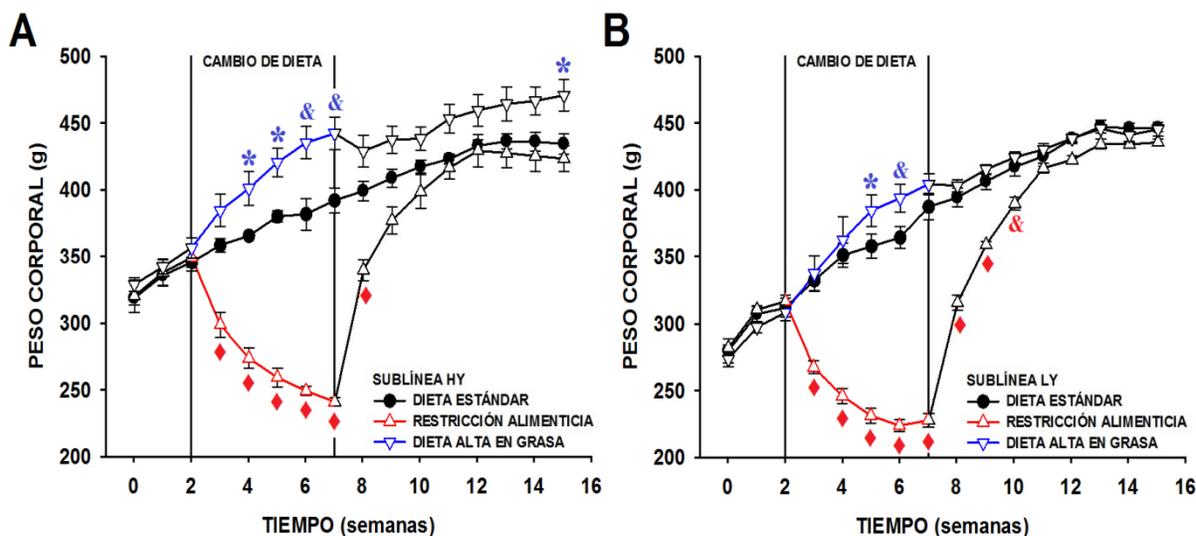


Figura 23. Efecto de la dieta la restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum* en el peso corporal de las ratas HY y LY. A) Peso corporal de ratas HY. B) Peso corporal de ratas LY. Las ratas HY con previa restricción alimenticia al retomar la dieta estándar *ad libitum* requirieron de dos semanas de dieta estándar *ad libitum* para no presentar diferencias con el grupo control. En el caso de las ratas LY con la misma condición alimenticia, no se presentaron diferencias con el grupo control a partir de cuatro semanas de acceso a dieta estándar. La dieta alta en grasa aumentó el peso de las ratas HY y LY después de dos y tres semanas; respectivamente. Las líneas verticales indican las tres fases del estudio. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas: Dieta, $F_{(2,135)}=20.4$, $P<0.001$; Semana, $F_{(15,135)}=322.2$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Semana, $F_{(30,135)}=63.9$, $P<0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,135)}=61.4$, $P<0.001$; Semana, $F_{(15,135)}=613.5$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Semana, $F_{(30,135)}=76.1$, $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, ♦ $P\leq 0.001$, indican las diferencias obtenidas al comparar las ratas con restricción alimenticia (símbolos rojos) y dieta alta en grasa (símbolos azules) con las ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio.

La comparación del cambio en el peso corporal entre las sublíneas, mostró que con la dieta estándar *ad libitum* se presentaron diferencias significativas a partir de la semana cuatro ($P=0.024$, HY=5.7% y LY=12.7%), las cuales persistieron hasta la semana siete ($P<0.001$, HY=13.3% y LY=24.3%), resultando las LY con los mayores incrementos (Figura 24).

Durante la restricción alimenticia, la disminución de peso corporal entre las ratas de ambas sublíneas no mostró diferencias significativas. Al retomar el libre acceso a dieta estándar, el cambio en el peso corporal de las ratas HY (72.8%) fue significativamente menor ($P=0.0149$) que el de las LY (83.3%) desde la semana 11 (Figura 25).

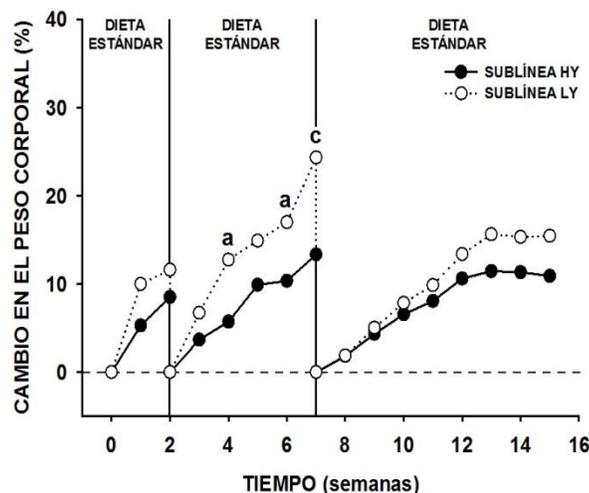


Figura 24. Evaluación del cambio en el peso corporal de ratas HY y LY alimentadas con dieta estándar *ad libitum*. El incremento de peso corporal con libre acceso a dieta estándar fue temporalmente mayor en las ratas LY. El peso corporal registrado al inicio de cada fase fue tomado como el 100% y el peso al finalizar cada semana se relacionó con este valor para calcular el porcentaje de cambio respectivo. Los valores obtenidos se presentan como el promedio de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=15.9$, $P=0.007$; Semana, $F_{(15,90)}=157.2$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=9.4$, $P<0.001$, seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). $aP\leq 0.05$, $cP\leq 0.001$.

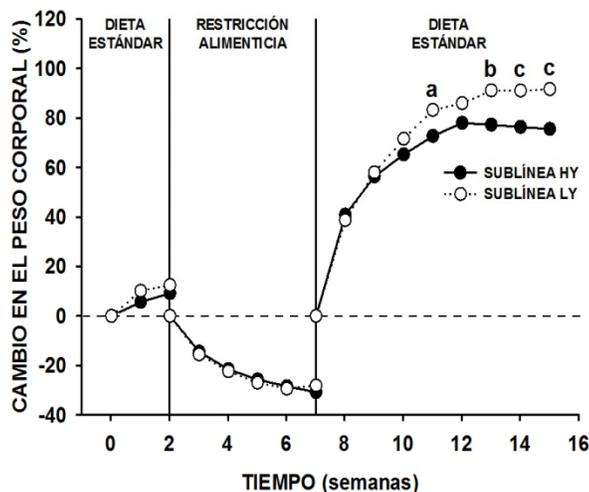


Figura 25. Evaluación del cambio en el peso corporal de ratas HY y LY restringidas a 10 g/día de dieta estándar. Durante la restricción de alimento, no existieron diferencias en la reducción de peso corporal. Al tener nuevamente libre acceso a dieta estándar, el incremento de peso corporal fue mayor en las ratas LY. El peso corporal registrado al inicio de cada fase fue tomado como el 100% y el peso al finalizar cada semana se relacionó con este valor para calcular el porcentaje de cambio respectivo. Los valores obtenidos se presentan como el promedio de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=20.6$, $P=0.004$; Semana, $F_{(15,90)}=865.7$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=22.8$, $P<0.001$, seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). $aP\leq 0.05$, $bP\leq 0.01$ y $cP\leq 0.001$.

Con la dieta alta en grasa, el aumento de peso corporal de las ratas HY (12.4%) y LY (17.8%) presentó diferencias significativas ($P=0.020$) después de dos semanas. Además, al ser realimentadas con dieta estándar *ad libitum* nuevamente el peso corporal de las ratas HY (5%) fue menor de forma significativa ($P=0.022$) que el de las LY (10.3%, Figura 26).

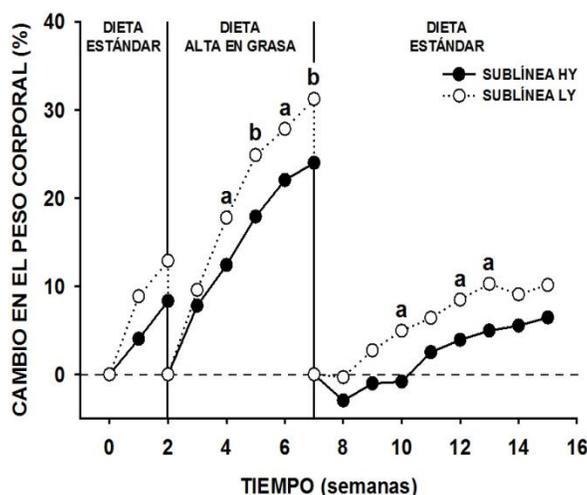


Figura 26. Evaluación del peso corporal de ratas HY y LY con dieta alta en grasa (34%) *ad libitum*. Con dos semanas con libre acceso a dieta alta en grasa, las ratas LY presentaron un incremento mayor de peso corporal. Después de siete semanas de regresar a la dieta estándar *ad libitum* ya no se presentaron diferencias entre las sublíneas. El peso corporal registrado al inicio de cada fase fue tomado como el 100% y el peso al finalizar cada semana se relacionó con este valor para calcular el porcentaje de cambio respectivo. Los valores obtenidos se presentan como el promedio de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=13.7$, $P=0.01$; Semana, $F_{(15,90)}=240$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=10.5$, $P<0.001$, seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). a $P\leq 0.05$, b $P\leq 0.01$.

7.4 La dieta alta en grasa disminuye la ingesta de alimento de las ratas HY y LY

Al acceder libremente a la dieta estándar, las ratas HY con previa restricción alimenticia incrementaron significativamente ($P<0.001$) la ingesta de alimento, posterior a la semana nueve no hubo diferencias, respecto al grupo de ratas con dieta estándar *ad libitum*. Durante la alimentación con dieta alta en grasa, las ratas HY disminuyeron significativamente el consumo de alimento ($P<0.001$), aunque con el regreso al libre acceso de dieta estándar ya no se presentaron diferencias a partir de la semana 11 (Figura 27A).

En las ratas LY previamente restringidas en la alimentación, el regreso a la dieta estándar aumentó significativamente la ingesta de alimento ($P<0.001$), la cual a partir de la semana 11 ya no presentó diferencias con el grupo de ratas con dieta estándar *ad libitum*. El

suministro de la dieta alta en grasa disminuyó significativamente ($P<0.001$) el consumo de alimento, que se restableció después de la segunda semana de retomar el libre acceso a la dieta estándar (Figura 27B).

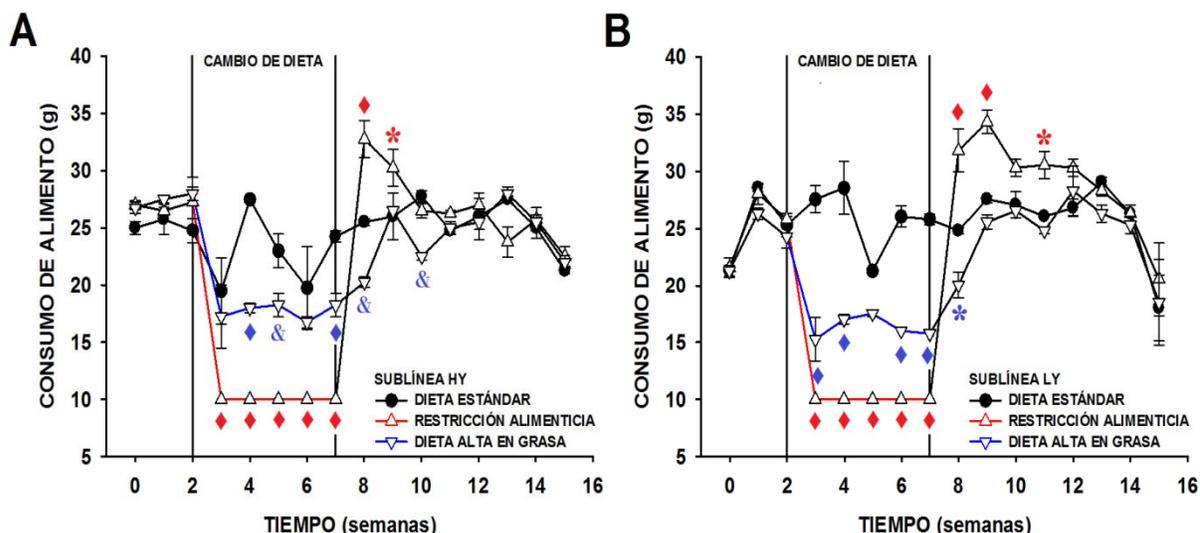


Figura 27. Ingesta de alimento de las ratas HY y LY antes, durante y después del cambio de dieta. En A) se muestra el consumo de alimento de las ratas HY, y en B) el de las LY. En las ratas HY y LY con previa restricción alimenticia, el regreso a la dieta estándar restableció el consumo de alimento. Con la dieta alta en grasa, la ingesta de alimento se disminuyó similarmente en las dos sublíneas. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,135)}=14.6$, $P=0.002$; Semana, $F_{(15,135)}=48.4$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Semana, $F_{(30,135)}=13.2$, $P<0.001$, para la sublínea HY; Dieta, $F_{(2,135)}=25.4$, $P<0.001$; Semana, $F_{(15,135)}=52.8$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Semana, $F_{(30,135)}=17.1$, $P<0.001$, para la sublínea LY; en ambas sublíneas se realizó una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, ♦ $P\leq 0.001$, indican las diferencias obtenidas al comparar las ratas con restricción alimenticia (símbolos rojos) y dieta alta en grasa (símbolos azules) con las ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio.

En el grupo de ratas que accedió a la dieta estándar durante todo el periodo experimental, se presentó una menor ingesta en las ratas HY en las semanas tres y seis ($P<0.001$), y a partir de la semana siete no hubo diferencias significativas con respecto a las LY (Figura 28).

Las ratas LY que fueron restringidas de alimento, al realimentarse con la dieta estándar *ad libitum* mostraron un consumo significativamente mayor que las HY ($P=0.008$, Figura 29).

El consumo de la dieta alta en grasa no difirió significativamente entre las sublíneas. Después de retomar la dieta estándar por tres semanas, la ingesta fue significativamente menor durante una semana en las HY ($P=0.045$, Figura 30).

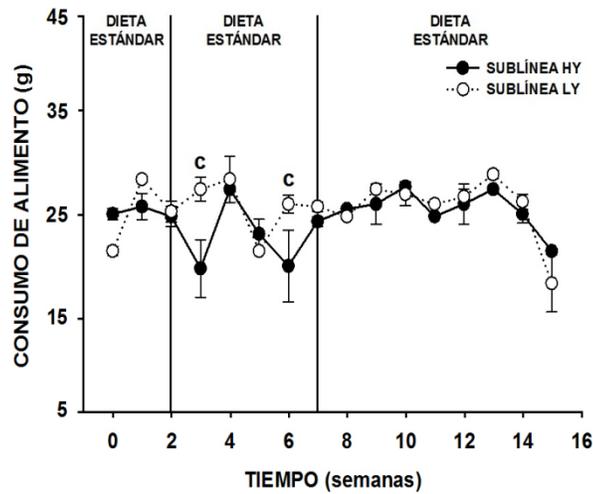


Figura 28. Consumo de dieta estándar *ad libitum* en las ratas HY y LY. La ingesta de dieta estándar en las ratas HY presentó disminuciones significativas en las semanas tres y seis, pero a partir de la semana siete no fue estadísticamente diferente de la sublínea LY. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=2.2$, $P=0.192$; Semana, $F_{(15,90)}=6.6$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=2.7$, $P=0.002$, seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). $cP\leq 0.001$.

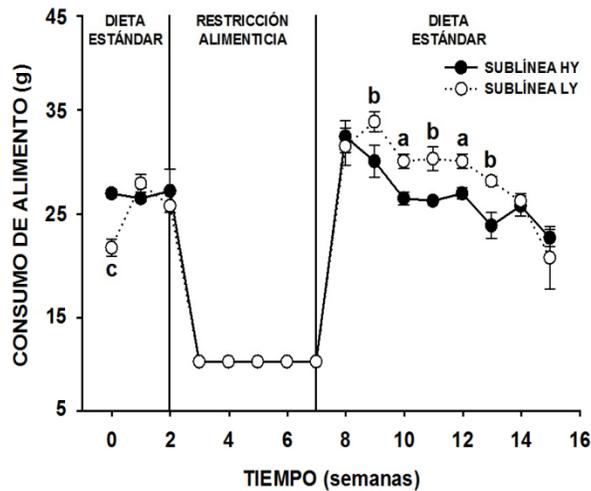


Figura 29. Consumo de alimento posterior a una restricción alimenticia (10 g/día de dieta estándar) en las ratas HY y LY. Las ratas LY presentaron un mayor consumo de dieta estándar después de la restricción alimenticia, aunque este ya no presentó diferencias con las HY a partir de la semana 14. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=1.9$, $P=0.211$; Semana, $F_{(15,90)}=153.3$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=3.7$, $P<0.001$, seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). $aP\leq 0.05$, $bP\leq 0.01$, $cP\leq 0.001$.

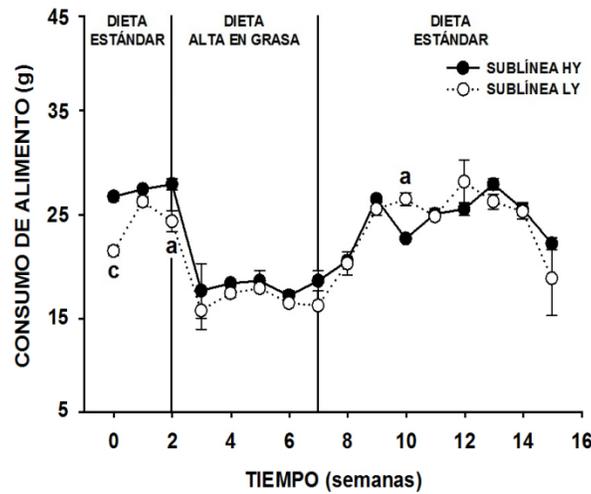


Figura 30. Efecto de las sublíneas HY y LY en la ingesta de una dieta alta en grasa. Durante el acceso a la dieta alta en grasa las ratas HY y LY presentaron una ingesta de alimento similar. Al retomar la dieta estándar, se presentó una disminución significativa en la ingesta de las ratas HY. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de cuatro ratas (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Sublínea, $F_{(1,90)}=5.5$, $P=0.057$; Semana, $F_{(15,90)}=29.1$, $P<0.001$, Interacción Sublínea x Semana, $F_{(15,90)}=2.1$, $P=0.015$, seguida de una prueba de Tukey, $P<0.05$). a $P<0.05$, c $P<0.001$.

7.5 Efecto de la dieta en los perfiles metabólicos de las ratas HY y LY

El nivel plasmático de glucosa se incrementó de forma significativa ($P=0.016$) en las ratas HY que se alimentaron con dieta alta en grasa. Al retomar la dieta estándar *ad libitum* este parámetro no presentó diferencias con el grupo control (Figura 31).

La comparación entre las sublíneas mostró que al finalizar la primera fase, el nivel de glucosa fue significativamente ($P=0.034$) mayor en las ratas de la sublínea HY. En la segunda fase, esta diferencia entre las HY y LY desapareció en los grupos con dieta estándar *ad libitum* o restricción alimenticia, y persistió en las ratas que tuvieron acceso a dieta alta en grasa ($P=0.002$). Al finalizar la tercera fase, no existieron diferencias significativas entre ambas sublíneas en ninguna de las dietas evaluadas (Figura 31).

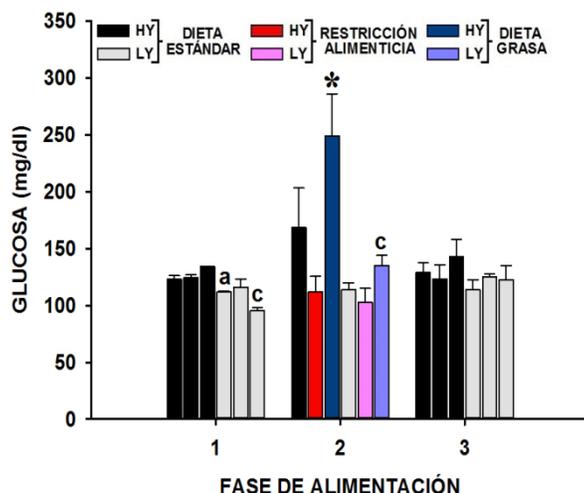


Figura 31. Nivel plasmático de glucosa de ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*. La dieta alta en grasa incrementó en las HY la concentración de glucosa circulante, la cual se restableció con el regreso a la dieta estándar. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de 4 ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,18)}=7.2$, $P=0.005$; Sublínea, $F_{(1,18)}=10.3$, $P=0.005$, Interacción Dieta x Sublínea, $F_{(2,18)}=2.7$, $P=0.091$; seguida de una prueba de Tukey, $P<0.05$). * $P<0.05$, indica las diferencias obtenidas al comparar con el grupo de ratas de la misma sublínea que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio. $cP<0.001$, indica las diferencias entre las sublíneas HY y LY.

La concentración circulante de colesterol se incrementó significativamente en las ratas HY ($P=0.002$) y LY ($P=0.012$) que fueron alimentadas con dieta alta en grasa. Al retomar el libre acceso a dieta estándar, el nivel de colesterol se restauró en las HY, pero no en las LY ($P=0.003$, Figura 32).

Al comparar entre las sublíneas, los análisis mostraron que al finalizar la primera fase, las ratas HY presentaron una concentración de colesterol significativamente más alta ($P<0.001$) que las LY. Al término de la segunda fase experimental, las diferencias entre ambas sublíneas desaparecieron en el grupo con dieta estándar y permanecieron en las ratas con restricción de alimento ($P=0.033$) y dieta alta en grasa ($P=0.007$). El nivel de colesterol al término del estudio, no mostró diferencias significativas entre las ratas HY y LY (Figura 32).

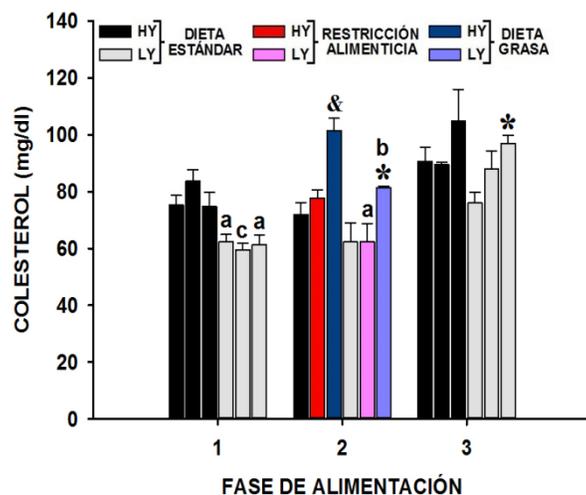


Figura 32. Concentración plasmática de colesterol circulante en ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*. La dieta alta en grasa aumentó el nivel plasmático de colesterol tanto en las HY como en las LY. Además, en las ratas LY el nivel permaneció alto aún con el regreso a dieta estándar. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de 4 ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,18)}=16.2$, $P<0.001$; Sublínea, $F_{(1,18)}=15.5$, $P<0.001$, Interacción Dieta x Sublínea, $F_{(2,18)}=0.6$, $P=0.557$; seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, indican las diferencias obtenidas al comparar con el grupo de ratas de la misma sublínea que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio. a $P\leq 0.05$, b $P\leq 0.01$, c $P\leq 0.001$, indican las diferencias entre las sublíneas HY y LY.

Los niveles plasmáticos de triglicéridos disminuyeron significativamente en las ratas HY ($P=0.030$) con restricción de alimento, y se incrementaron de forma significativa en las ratas HY ($P=0.003$) y LY ($P<0.001$) con la dieta alta en grasa. En ambas sublíneas, la realimentación con dieta estándar *ad libitum* restableció los niveles circulantes de triglicéridos (Figura 33).

Al finalizar la primera fase, la comparación entre las sublíneas mostró una concentración de triglicéridos significativamente mayor en las HY ($P<0.001$). Estas diferencias entre las sublíneas HY y LY perduraron al concluir la segunda fase en los grupos con libre acceso a dieta estándar ($P=0.031$) o dieta alta en grasa ($P=0.002$). Al tener nuevamente acceso a la dieta estándar *ad libitum*, los tres grupos de la sublínea HY presentaron niveles más altos de triglicéridos que las LY ($P<0.001$, Figura 33).

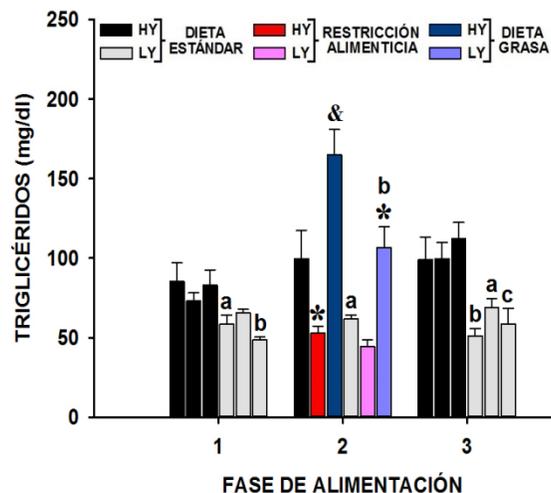


Figura 33. Comparación de los niveles plasmáticos de triglicéridos en ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y libre acceso a dieta alta en grasa. La restricción alimenticia disminuyó los triglicéridos en las ratas HY; en tanto que la dieta alta en grasa los incrementó tanto en las HY como en las LY. Cada símbolo representa el promedio \pm error estándar de 4 ratas. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,18)}=29.5$, $P<0.001$; Sublínea, $F_{(1,18)}=13.9$, $P=0.002$, Interacción Dieta x Sublínea, $F_{(2,18)}=2.4$, $P=0.117$; seguida de una prueba de Tukey, $P\leq 0.05$). * $P\leq 0.05$, & $P\leq 0.01$, indican las diferencias obtenidas al comparar con el grupo de ratas de la misma sublínea que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio. a $P\leq 0.05$, b $P\leq 0.01$, c $P\leq 0.001$, indican las diferencias entre las sublíneas HY y LY.

7.6 La dieta alta en grasa induce hipertrofia en los adipocitos de las ratas HY y LY

La prueba estadística mostró que el porcentaje de tejido adiposo periférico del epidídimo no se modificó de forma significativa en ninguna de las dietas evaluadas. Además, no presentó diferencias significativas entre las sublíneas (Figura 34).

Con respecto al tamaño de los adipocitos, las ratas HY que previamente accedieron a la dieta alta en grasa presentaron adipocitos 30.8% más grandes que el grupo de ratas HY que siempre accedió a la dieta estándar ($P<0.001$, Figura 35 y 36). Al comparar entre sublíneas, los grupos de ratas que se alimentaron con dieta alta en grasa presentaron diferencias significativas ($P<0.001$), resultando los adipocitos de las HY los de mayor tamaño (30.3%, Figuras 35 y 36).

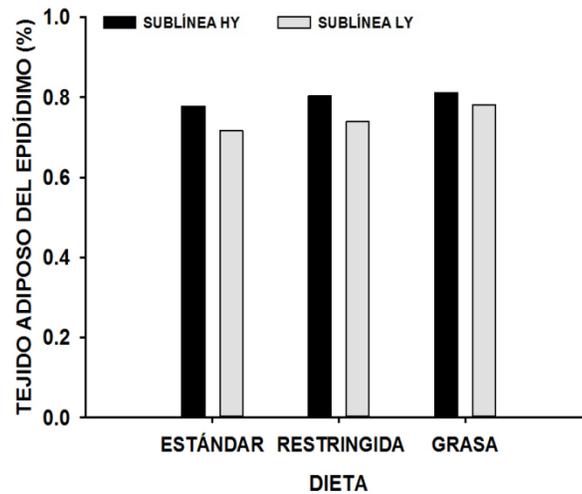


Figura 34. Evaluación del peso del tejido adiposo del epidídimo de ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*. El peso de la grasa del epidídimo no presentó diferencias significativas entre los diferentes regímenes alimenticios, ni entre las sublíneas. El peso corporal registrado al final del periodo experimental fue tomado como el 100% y el peso del tejido adiposo del epidídimo se relacionó con este valor para calcular el porcentaje respectivo. Los datos obtenidos se muestran como el promedio \pm error estándar de 4 ratas. (ANOVA de dos factores; Sublínea, $F_{(1,18)}=4.8$, $P=0.041$; Dieta, $F_{(2,18)}=1.4$, $P=0.267$; Sublínea x Grupo, $F_{(2,18)}=0.2$, $P=0.803$; seguida de una prueba de Tukey, $P \leq 0.05$).

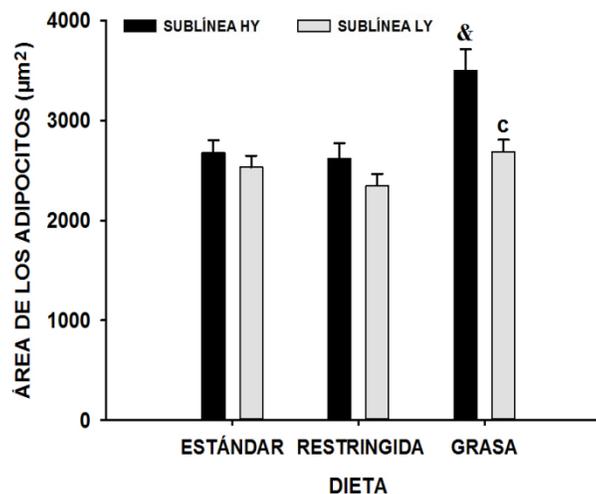


Figura 35. Comparación del tamaño de los adipocitos del tejido adiposo del epidídimo de ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*. El tamaño de los adipocito de ratas HY, previamente alimentadas con dieta alta en grasa *ad libitum*, presentó un incremento significativo del 30.8% ($P < 0.001$) en comparación al grupo con dieta estándar *ad libitum*. Este grupo también presentó adipocitos 30.3% ($P < 0.001$) más grandes que las LY con previa dieta alta en grasa. Los datos obtenidos se muestran como el promedio \pm error estándar de 60 adipocitos. (ANOVA de dos factores para medidas repetidas; Dieta, $F_{(2,354)}=10.1$, $P < 0.001$; Sublínea, $F_{(1,354)}=12.2$, $P < 0.001$; Interacción Dieta x Sublínea, $F_{(2,354)}=3.1$, $P=0.047$; seguida de una prueba de Tukey, $P \leq 0.05$). [&] $P < 0.01$, indica las diferencias obtenidas al comparar con el grupo de ratas que tuvieron libre acceso a dieta estándar a través del estudio, en la sublínea correspondiente; ^c $P < 0.001$, indica las diferencias entre las sublíneas HY y LY.

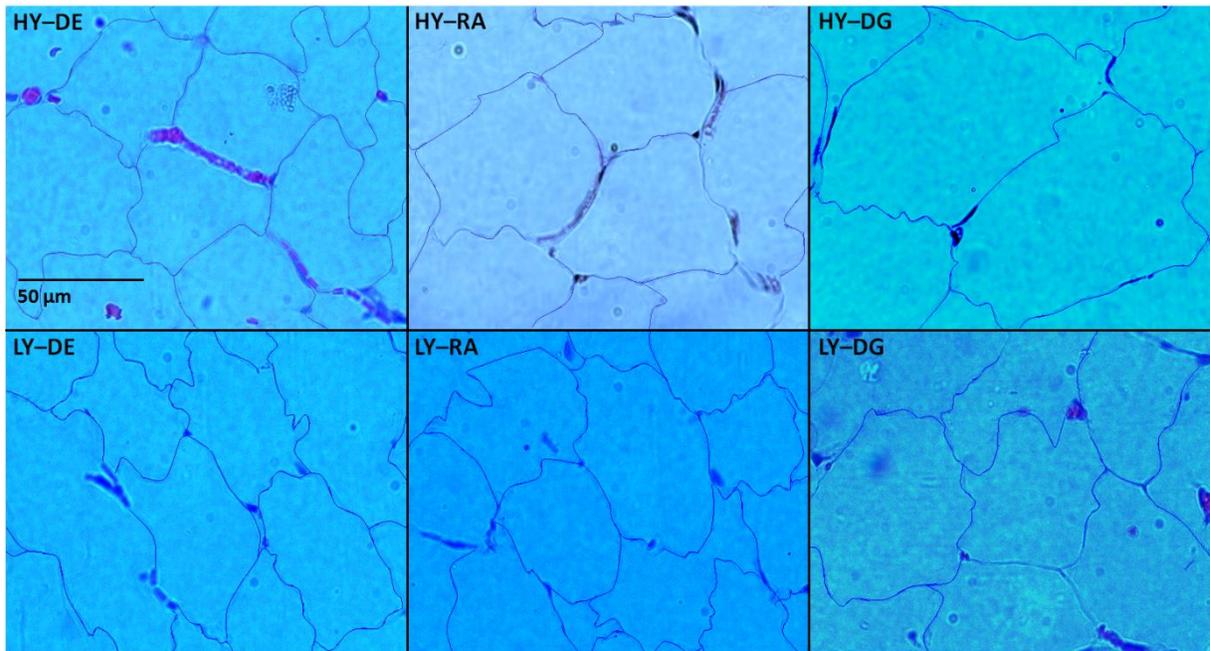


Figura 36. Análisis histológico del tejido adiposo del epidídimo de las ratas HY y LY con restricción alimenticia (10 g/día) y dieta alta en grasa *ad libitum*. Las ratas HY que previamente accedieron a dieta alta en grasa (DG) presentaron los adipocitos de mayor tamaño ($3,502.8 \mu\text{m}^2 \pm 210.1$). Dieta estándar (DE), restricción alimenticia (RA).

7.7 Resumen de los efectos de la dieta en las ratas HY y LY

Parámetro	Sublínea HY		Sublínea LY	
	Restricción alimenticia	Dieta alta en grasa	Restricción alimenticia	Dieta alta en grasa
Sensibilidad al bostezo	↓*	=	↓	=
Sensibilidad a la hipotermia	=	=	=	=
Peso corporal	↓	↑	↓	↑*
Glucosa	=	↑*	=	=
Colesterol	=	↑*	=	↑
Triglicéridos	↓	↑*	=	↑
Grasa del epidídimo	=	=	=	=
Tamaño de los adipocitos	=	↑*	=	=

HY: High-yawning, LY: Low-yawning

↑ Incremento, ↓ disminución, = sin cambios, respecto a la dieta estándar.

* Sublínea que presentó el mayor cambio.

8. DISCUSIÓN

En este estudio caracterizamos los efectos de una restricción alimenticia y una dieta alta en grasa en la sensibilidad al bostezo e hipotermia inducidos por el pramipexol en las ratas HY y LY. Adicionalmente, evaluamos los perfiles metabólicos de cada sublínea con cada régimen alimenticio. Las ratas HY y LY inicialmente fueron seleccionadas por su alta y baja frecuencia de bostezo, respectivamente. Sin embargo, los estudios muestran que también difieren en otras características conductuales y neuroendócrinas. Por ejemplo, en la respuesta ante agonistas dopaminérgicos y colinérgicos, las HY son las más sensibles. Además, ante ambientes estresantes las ratas HY muestran un comportamiento pasivo mientras que las LY responden proactivamente. En base a estos antecedentes, nosotros hipotetizamos que las HY podrían ser más propensas a desarrollar sensibilización a los efectos del pramipexol, así como alteraciones metabólicas relacionadas a la obesidad y al síndrome metabólico.

Nuestros resultados indican que en las dos sublíneas la restricción alimenticia disminuyó la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol, resultando un mayor efecto en las HY. Esto es consistente con estudios anteriores, en los cuales se utilizaron otras drogas de acción dopaminérgica (Collins y cols. 2008, Sevak y cols. 2008, Baladi y France 2009). El pramipexol es un agonista dopaminérgico selectivo y específico de la familia de receptores D2, con alta afinidad por los receptores D3. Este agonista induce bostezo con una curva dosis-respuesta en forma de U invertida (Collins y cols. 2005, 2008). Collins y cols. (2005) demostraron que la naturaleza bifásica de esta curva es debida a que el bostezo se induce por dosis pequeñas de ésta droga que activan los receptores D3 y se inhibe por la activación concomitante de los receptores D2 a dosis elevadas. Por lo tanto, en ratas con acceso restringido al alimento, el desplazamiento hacia abajo en la curva de dosis-respuesta podría deberse a: 1) la disminución de la sensibilidad en los receptores D3, o 2) a un aumento en el número o en la sensibilidad en los receptores D2, o 3) a la acción aditiva de ambos cambios. La comparación entre sublíneas sugiere que el primer proceso podría ser el que principalmente se lleve a cabo. Esto responde a que las ratas HY, a pesar de expresar mayor número de receptores D3 que las LY (Díaz-Romero 2007), fueron más sensibles a la inhibición del bostezo con el vehículo y dosis menores de pramipexol. Aunque, la validación de esta hipótesis requiere corroborar la sobreexpresión del subtipo D3 en el núcleo paraventricular,

que se postula como la estructura clave en la regulación del bostezo (Argiolas y Melis 1998), nuestro hallazgo sugiere que la sublínea HY es un modelo óptimo para identificar la participación del receptor D3 en los efectos conductuales de las drogas de acción dopaminérgica. Además, el restablecimiento del bostezo con la dieta estándar en las HY, indicaría que la inhibición fue un efecto de la restricción alimenticia. Sin embargo, en las LY, es probable que el comportamiento atípico que presentaron algunos individuos del grupo control ocultó el restablecimiento del bostezo con la dieta estándar.

Con la dieta alta en grasa, obtuvimos que la sensibilidad al bostezo se incrementó en las ratas HY, pero no en las LY. En nuestros resultados, la hipersensibilidad se hizo evidente con el aumento de hasta un 30% de la frecuencia de bostezo en la meseta de la curva-dosis respuesta (véase Figura 14A). Nuestros hallazgos coinciden parcialmente con lo reportado por otros estudios (Baladi y France 2009, Baladi y cols. 2011), ya que estos muestran que el aumento en la sensibilidad resultó en el desplazamiento hacia la izquierda de las porciones ascendente y descendente de la curva dosis-respuesta. Además, postulan que los cambios en estas porciones son resultado de un aumento en la sensibilidad de los receptores D3 y D2, respectivamente (Baladi y cols. 2011). Dado que en la sublínea HY, la porción descendente de la curva-dosis respuesta no fue diferente entre las ratas con dieta alta en grasa y dieta estándar, sugerimos que el aumento en la sensibilidad al bostezo fue mediado selectivamente por los receptores D3.

La sensibilización conductual se caracteriza porque puede persistir durante meses o años después de que el tratamiento con las drogas de abuso se interrumpe (Kolta y cols. 1985, Piazza y cols. 1989, Kalivas y Duffy 1993). Sin embargo, en nuestro estudio el aumento en la sensibilidad al bostezo fue solo temporal, pues al retomar la dieta estándar este efecto ya no se presentó en las HY. Una posible explicación a nuestros resultados podría radicar en el patrón temporal de exposición al fármaco. Pruebas previas en nuestro laboratorio mostraron que las ratas HY eran altamente responsivas a la inducción del bostezo con pramipexol, presentándose los efectos máximos durante los 40-60 min después de aplicada la droga. Además, diversos estudios reportan que dosis intermitentes y moderadas de drogas son más efectivas para inducir sensibilización, que una exposición continua a dosis altas o escalonadas (Vanderschuren y Kalivas 2000, Vezina y Leyton 2009). En base a estos antecedentes, y a que

la vida media del pramipexol es de 8-12 h (Eisenreich y cols. 2010) decidimos aplicar las dosis cada 48 horas y no cada 30-35 min como Collins y cols. (2008) o Baladi y France (2009). Sin embargo, esta temporalidad solo nos permitió realizar una curva dosis-respuesta durante las cinco semanas que las ratas accedieron a la dieta alta en grasa, mientras que Baladi y France (2009) obtuvieron una curva cada semana, es decir cinco en total. En consecuencia, es probable que la cantidad total de pramipexol administrado y/o la ausencia de acumulación de la droga entre cada dosis, no haya estimulado al sistema mesolímbico de forma suficiente para desarrollar la sensibilización al bostezo a largo plazo.

Por otro lado, obtuvimos que la restricción alimenticia incrementó la sensibilidad a la hipotermia inducida por el pramipexol en las ratas HY y LY. Nuestros resultados coinciden con Collins y cols. (2008) y difieren del estudio de Baladi y France (2009), donde se muestra un efecto nulo de la restricción de alimento en la hipotermia. Se reporta que la inhibición del bostezo y la hipotermia son efectos mediados a través de los receptores D2 (Chaperon y cols. 2003, Collins y cols. 2007, Collins y cols. 2008). Sin embargo, el hecho de que las HY hayan sido más sensibles a la inhibición del bostezo, pero no a la hipotermia, sugiere que la restricción alimenticia produce un efecto diferencial en las poblaciones de receptores D2. Estas poblaciones serían las que se localizan en el núcleo paraventricular, que se postula regula el bostezo (Argiolas y Melis 1998), y en el área preóptica, la cual participa en el control de la temperatura corporal (Lin y cols. 1982). Con la dieta alta en grasa, la sensibilidad a la hipotermia se disminuyó en las ratas HY, pero no en las LY. Esto supone una disminución en el número o sensibilidad de los receptores D2 que regulan la temperatura en la sublínea HY. Lo anterior sumado a los resultados obtenidos con el bostezo en las HY, sugiere que la dieta alta en grasa, al igual que la restricción alimenticia, tendría una acción diferencial en los receptores D2 de las estructuras ya mencionadas. Aunque, no descartamos la participación de otros mecanismos compensatorios en la regulación de la temperatura corporal.

En relación al peso corporal y la ingesta de alimento, estos fueron similares en las ratas HY y LY alimentadas con dieta estándar. Con la restricción alimenticia se disminuyó el peso corporal de las ratas HY y LY en proporciones similares, sin embargo, al retomar la dieta estándar se aumentó en mayor medida el peso e ingesta de alimento de las LY. Asimismo, durante la alimentación con dieta alta en grasa también las LY fueron las que presentaron el

mayor aumento en el peso corporal, a pesar de no diferir con las HY en la cantidad de alimento ingerido. Además, al retomar la dieta estándar, nuevamente las LY incrementaron en mayor medida su peso, aunque en este caso la ingesta de alimento también fue mayor respecto a las HY. Nuestros resultados coinciden con los estudios de Boersma y cols. (2009, 2010) quienes muestran que los individuos pasivos y proactivos no muestran diferencias en el peso corporal y consumo de alimento cuando se alimentan con una dieta estándar (Boersma y cols. 2009, 2010). Nosotros no encontramos referencias comparativas de individuos pasivos y proactivos bajo una restricción de alimento. Con la dieta alta en grasa, nuestros hallazgos son contrarios a los reportados por Rossi y cols. (1997) y Boersma y cols. (2010), pues obtuvieron que tanto la ingesta como el peso son mayores en los individuos pasivos. Una probable explicación a nuestros resultados se basa en que los animales pasivos y proactivos presentan marcadas diferencias en sus patrones de alimentación (Rossi y cols. 1997, Shepherd 2005). Se reporta que los sujetos pasivos al ser más ansiosos (Steimer y cols. 1997) y sensibles a estímulos ambientales se distraen más fácilmente durante la alimentación, por lo cual presentan una mayor frecuencia de comidas de tamaño reducido por día, en comparación con los sujetos proactivos (Rossi y cols. 1997, Shepherd 2005). Dado que las ratas HY y LY no difirieron en la ingesta, nosotros sugerimos que las diferencias en el peso corporal podrían deberse al patrón de consumo de cada sublínea.

Asimismo, no descartamos que nuestros resultados sean producto de diferencias fisiológicas entre las sublíneas. Particularmente, nos referimos al nivel de hormonas que se sabe pueden modificar el patrón de ingesta (insulina, leptina y ghrelina) y al mismo tiempo actuar a nivel del sistema mesolímbico (Foglewicz y cols. 1998, Patterson y cols. 1998, Palmiter 2007). Incluso, se sugiere que el tiempo de tránsito intestinal del alimento podría ser un factor relevante, pues se reporta que este parámetro es menor en los sujetos pasivos respecto a los proactivos (revisado en Boersma y cols. 2011). Sin embargo, para corroborar estas hipótesis se requieren estudios que evalúen la variación individual del patrón de ingesta y los niveles de las hormonas que lo regulan, así como la fisiología intestinal.

Por otra parte, al valorar los perfiles metabólicos encontramos que con la dieta estándar las ratas HY presentaron mayores niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos (Figuras 31, 32 y 33). En contraste, con la restricción alimenticia los niveles de glucosa y

triglicéridos fueron similares entre las sublíneas, no así el colesterol que continuo alto en las HY. Además, al retomar la dieta estándar la similitud entre las sublíneas se mantuvo. Nuestros resultados con la dieta estándar coinciden de forma parcial con estudios previos donde se indica que basalmente los animales pasivos y proactivos no difieren en los niveles de glucosa, sin embargo, los sujetos pasivos presentan altas concentraciones de colesterol, triglicéridos e insulina (Boersma y cols. 2009). Si bien, los mecanismos subyacentes a estas diferencias aún no se han elucidado, nosotros suponemos los altos niveles de glucocorticoides presentes en las HY, y en general en el fenotipo pasivo, podrían tener un papel sustancial. Esta suposición se basa en que los glucocorticoides pueden inducir por diversas vías la resistencia a la insulina (revisado en Peeke y Chrousos, 1995, Dimitriadis y cols. 1997). Alteración que su vez es asociada con una dislipidemia caracterizada por el aumento en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (revisado en Ginsberg y cols. 2005). Esta idea toma fuerza en función de que Boersma y cols. (2009) reportan altos índices de insulina en los sujetos pasivos. Sin embargo, para probar esta hipótesis en nuestro modelo experimental se requiere que en estudios futuros se evalúe el nivel de corticosterona, insulina y lipoproteínas de alta y baja densidad.

Otro factor que consideramos pudo influir en nuestros resultados es que al inicio del estudio las ratas HY presentaron un mayor peso corporal que las LY a pesar de contar con la misma edad (2 meses). Esta idea surgió a raíz de que las ratas HY y LY no exhibieron diferencias en los niveles de glucosa y triglicéridos cuando su peso fue similar en respuesta a la restricción alimenticia. Estos resultados coinciden con la evidencia donde se indica que la disminución de peso corporal se reconoce como una terapia natural que normaliza los niveles de insulina, glucosa, colesterol y triglicéridos (Mahoney y cols. 2006, revisado en Holloszy y Fontana 2007). Sin embargo, la hipótesis de las diferencias en el peso incluso podría fortalecer lo que anteriormente planteamos, con respecto a que las HY probablemente sean resistentes a la insulina. Esto responde a que la reducción de peso en individuos con resistencia a la insulina es ampliamente utilizada para disminuir los triglicéridos y las lipoproteínas de baja densidad (revisado en Ginsberg y cols. 2005). En cualquier caso, dado que al regresar a la dieta estándar los perfiles metabólicos continuaron siendo similares entre las dos sublíneas, nosotros concluimos que la restricción de alimento tuvo un efecto benéfico

en el metabolismo de las HY, ya que compensó y normalizó la mayoría de los perfiles metabólicos.

Con el consumo de la dieta alta en grasa se aumentó la glucosa, colesterol y triglicéridos en las HY, mientras que en las LY solo se incrementaron los dos últimos parámetros. Resultando la sublínea HY la que presentó los niveles más altos en los tres perfiles metabólicos. Está ampliamente establecido que los principales efectos de la dieta alta en grasa en los perfiles metabólicos son la reducción de la absorción de la glucosa, que a su vez incrementa la concentración circulante de sí misma y de la insulina, así como aumentos en los niveles de colesterol y triglicéridos (revisado en Buettner y cols. 2007). Sin embargo, en los estudios relacionados al metabolismo, uno de los objetivos principales es identificar y caracterizar los factores que predisponen a un individuo a las enfermedades metabólicas. Nosotros encontramos que las ratas HY son más propensas a incrementar sus perfiles metabólicos cuando se exponen a una dieta alta en grasa. Esto coincide con el estudio de Boersma y cols. (2010), que al utilizar esta dieta encontró que las ratas pasivas, comparadas con las proactivas, presentan mayor nivel plasmático de glucosa y desarrollan resistencia a la insulina, aunque, los perfiles lipídicos no fueron evaluados. Bajo este régimen alimenticio, nuestros resultados muestran que la dieta no es el único factor involucrado en el desarrollo de alteraciones metabólicas, ya que las LY a pesar de la dieta alta en grasa no incrementaron la glucosa y aunque los perfiles de lípidos presentaron aumentos estos fueron menores a los de las HY. Las hipótesis que suponemos dan origen a estas diferencias son muy similares a las expuestas en los anteriores regímenes alimenticios.

La evaluación del tejido adiposo del epidídimo reveló que el porcentaje no se modificó con ninguna de las dietas evaluadas y que tampoco presentó diferencias entre las sublíneas. Sin embargo, el tamaño de los adipocitos fue mayor en las ratas HY con previo acceso a la dieta alta en grasa. Nuestros resultados son parcialmente contradictorios a las investigaciones donde se utiliza dieta alta en grasa, ya que estos reportan un incremento de grasa visceral (Woods y cols. 2003, revisado en Buettner y cols. 2007, Boersma y cols. 2010). Esto podría ser una consecuencia del pequeño tamaño de la muestra ($n=4$), ya que en todos los regímenes alimenticios se presentó una tendencia no significativa a presentar mayor tamaño en las HY, por lo que al aumentar el tamaño muestral es probable que las diferencias significativas se

presenten. Esta suposición se fortalece con el hecho de que los altos niveles de glucocorticoides en sinergia con la insulina favorecen la expansión del tejido adiposo (revisado en Bjorntorp 2001). Además, Boersma y cols. (2010) reportan que bajo una alimentación con dieta alta en grasa, las ratas pasivas tienen una mayor deposición de grasa en el epidídimo que las proactivas (Boersma y cols. 2010).

Otra posible explicación a nuestros resultados es que la dieta alta en grasa incrementó el tejido adiposo como reportan los antecedentes (Woods y cols. 2003, revisado en Buettner y cols. 2007, Boersma y cols. 2010), pero las ocho semanas subsecuente al finalizar el cambio de dieta habrían revertido estos efectos, y la hipertrofia presente en las HY sería un remanente de dichos efectos. Sin embargo, para probar esto se requiere medir en cada fase del estudio los niveles de leptina, la cual es un indicador del contenido de tejido adiposo, y/o evaluar el tejido adiposo al finalizar el cambio de dieta, es decir sin que haya reingesta a la dieta estándar.

En resumen, este estudio demostró que la restricción alimenticia disminuyó la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol en ambas sublíneas, resultando más sensibles las HY. Con este régimen alimenticio, la sensibilidad a la hipotermia se incrementó de forma similar en ambas sublíneas. La alimentación con la dieta alta en grasa aumentó la sensibilidad al bostezo en las ratas HY, pero no en las LY. Además, la sensibilidad a la hipotermia fue similar en ambas sublíneas. Asimismo, en condiciones basales, la sublínea HY presentó perfiles metabólicos considerados factores de riesgo para enfermedades metabólicas. Sin embargo, estos se normalizaron con la restricción alimenticia y exacerbaron con la dieta alta en grasa. Interesantemente, esta dieta hipertrofió los adipocitos de las HY, sin aumentar el nivel de adiposidad del epidídimo y el peso corporal. En base a los resultados obtenidos se sugiere que la sublínea HY podría ser un modelo adecuado para el estudio de la predisposición genética a los efectos de la dieta en la sensibilidad conductual inducida por agonistas dopaminérgicos. Adicionalmente, se propone que las ratas HY son un modelo de hiperglicemia y dislipidemia sin obesidad asociada a la dieta.

8.1 Modelo propuesto para la sublínea HY

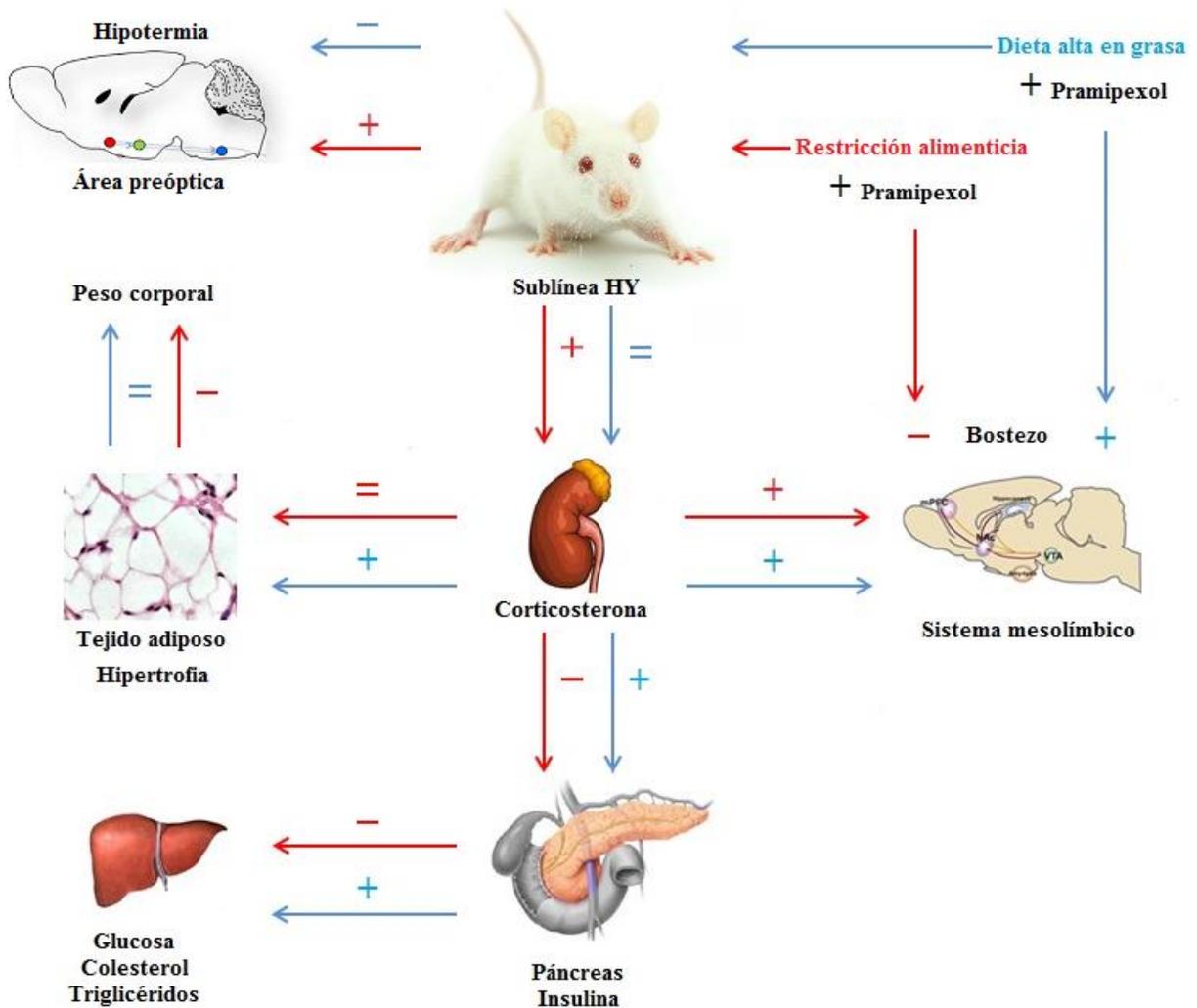


Figura 37. Representación esquemática del modelo propuesto para la sublínea HY. Las ratas HY se caracterizan por una respuesta pasiva ante situaciones estresantes, la cual se asocia a una hiperactivación del eje HPA. Nuestros resultados muestran que esta sublínea es más sensible a los efectos de la dieta alta en grasa en el bostezo inducido por pramipexol. También, se demostró que las ratas HY presentan perfiles metabólicos considerados factores de riesgo para enfermedades metabólicas, los cuales se normalizan con la restricción alimenticia y se exacerban con la dieta alta en grasa.

8.2 Modelo propuesto para la sublínea LY

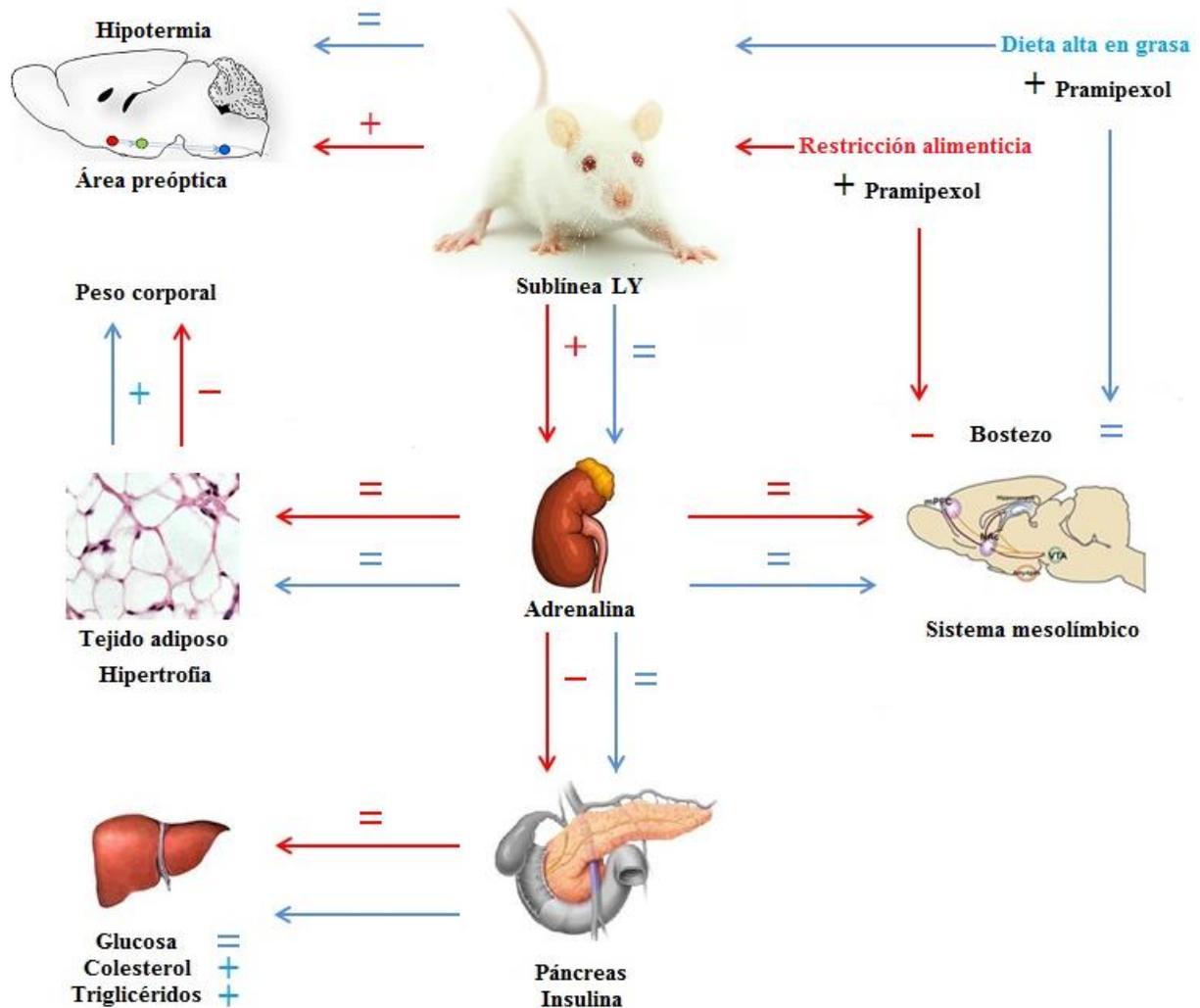


Figura 38. Representación esquemática del modelo propuesto para la sublínea LY. La respuesta proactiva ante situaciones de estrés es una característica de las ratas LY. Este tipo de respuesta se asocia a un sistema nervioso simpático hiperactivo. Nuestros resultados muestran que esta sublínea es menos sensible a los efectos de la dieta alta en grasa, tanto en la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol como en el nivel de glucosa e hipertrofia del tejido adiposo.

9. CONCLUSIONES

1. La restricción alimenticia disminuyó la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol en las ratas HY y LY.
2. El libre acceso a una dieta alta en grasa incrementó la sensibilidad al bostezo inducido por pramipexol en la sublínea HY, pero no en las LY.
3. Las ratas HY fueron más sensibles al efecto inhibitorio de la restricción alimenticia en el bostezo inducido por pramipexol.

10. PERSPECTIVAS

- Incluir un grupo control de ratas de la cepa Sprague-Dawley.

En las ratas HY, LY y Sprague-Dawley:

- Evaluar los efectos de la restricción alimenticia y dieta alta en grasa bajo un esquema de dosis acumulativas de pramipexol, que permita la obtención de una curva-dosis efecto semanal.
- Determinar los niveles de insulina, leptina, ghrelina y corticosterona en cada fase del experimento anterior.
- Evaluar otros depósitos de tejido adiposo.
- Determinar el nivel de expresión de los receptores dopaminérgicos D2 y D3 en el hipotálamo y en el estriado.

11. REFERENCIAS

Adinoff B. 2004. Neurobiologic processes in drug reward and addiction. *Harvard Review of Psychiatry* 12:305-320.

Alsiö J, Olszewski PK, Levine AS, Schiöth HB. 2012. Feed-forward mechanisms: Addiction-like behavioral and molecular adaptations in overeating. *Frontiers in Neuroendocrinology* 33:127-139.

Anías J, Holmgren B, Urbá-Holmgren, Eguibar JR. 1984. Circadian variation of yawning behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 44:179-186.

Antelman SM, Chiodo LA. 1983. Amphetamine as a stressor. In: Creese I (ed) *Stimulants: neurochemical, behavioral and clinical perspectives*. Raven Press, New York, pp 269-299.

Antelman SM, Eichler AJ, Black CA, Kocan D. 1980. Interchangeability of stress and amphetamine in sensitization. *Science* 207:329-331.

Argiolas A, Melis MR. 1998. The neuropharmacology of yawning. *European Journal of Pharmacology* 343:1-16.

Arias-Carrión O, Pöppel E. 2007. Dopamine, learning, and reward-seeking behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 67:481-488.

Attwell D, Mobbs P. 1994. Neurotransmitter transporters. *Current Opinion in Neurobiology* 4:353-359.

Avena NM, Rada P, Hoebel BG. 2008. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32:20-39.

Badman MK, Flier JS. 2005. The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. *Science* 307:1909-1914.

Baladi MG, Daws LC, France CP. 2012. You are what you eat: influence of type and amount of food consumed on central dopamine systems and the behavioral effects of direct- and indirect-acting dopamine receptor agonists. *Neuropharmacology* 64:76-86.

Baladi MG, France CP. 2009. High fat diet and food restriction differentially modify the behavioral effects of quinpirole and raclopride in rats. *European Journal of Pharmacology* 610:55-60.

Baladi MG, Newman AH, France CP. 2011. Influence of body weight and type of chow on the sensitivity of rats to the behavioral effects of the direct-acting dopamine receptor agonist quinpirole. *Psychopharmacology* 217:573-585.

Bannon MJ, Michelhaugh SK, Wang J, Sacchetti P. 2001. The human dopamine transporter gene: gene organization, transcriptional regulation, and potential involvement in neuropsychiatric disorders. *European Neuropsychopharmacology* 11:449-455.

Ben-Jonathan N, Hnasko RM. 2001. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocrine Reviews* 22:724-763.

Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. 2002. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *The Journal of Neuroscience* 22:9048-9052.

Bernstein IL. 1999. Taste aversion learning: a contemporary perspective. *Nutrition* 15:229-234.

Berridge KC. 2000. Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24:173-198.

Biebermann H, Castañeda TR, van Landeghem F, von Deimling A, Escher F, Brabant G, Hebebrand J, Hinney A, Tschöp MH, Grüters A, Krude H. 2006. A role for beta-melanocyte-stimulating hormone in human body-weight regulation. *Cell Metabolism* 3:141-146.

Bittencourt JC, Presse F, Arias C, Peto C, Vaughan J, Nahon JL, Vale W, Sawchenko PE. 1992. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. *The Journal of Comparative Neurology* 319:218-245.

Bjorntorp P. 2001. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obesity Reviews* 2:73-86.

Blázquez E, Quijada C. 1968. The effect of a high-fat diet on glucose, insulin sensitivity and plasma insulin in rats. *Journal of Endocrinology* 42:489-494.

Blum K, Cull JG, Braverman ER, Comings DE. 1996. Reward deficiency syndrome. *American Scientist* 84:132-145.

Boersma GJ, Benthem L, van Dijk G, Scheurink AJ. 2011. Individual variation in the (patho)physiology of energy balance. *Physiology & Behavior* 103:89-97.

Boersma GJ, Benthem L, van Dijk G, Steimer TJ, Scheurink AJ. 2010. Coping style predicts the (in) sensitivity for developing hyperinsulinemia on a high fat diet in rats. *Physiology & Behavior* 100:401-407.

Boersma GJ, Scheurink AJ, Wielinga PY, Steimer TJ, Benthem L. 2009. The passive coping Roman low avoidance rat, a non-obese rat model for insulin resistance. *Physiology & Behavior* 97:353-358.

Bouthenet ML, Souil E, Martres MP, Sokoloff P, Giros B, Schwartz JC. 1991. Localization of dopamine D3, receptor mRNA in rat by using *in situ* hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2, receptor mRNA. *Brain Research* 564:203-219.

Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. 2007. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity* 15:798-808.

Cabeza de Vaca S, Carr KD. 1998. Food restriction enhances the central rewarding effect of abused drugs. *The Journal of Neuroscience* 18:7502-7510.

Cadoni C, Solinas M, Di Chiara G. 2000. Psychostimulant sensitization: differential changes in accumbal shell and core dopamine. *European Journal of Pharmacology* 388:69-76.

Caldji C, Tannenbaum B, Sharma S, Francis D, Plotsky PM, Meaney MJ. 1998. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of behavioral fearfulness in adulthood in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 95:5335-5340.

Campbell BA, Fibiger HC. 1971. Potentiation of amphetamine-induced arousal by starvation. *Nature* 233:424-425.

Campbell UC, Carroll ME. 2001. Effects of ketoconazole on the acquisition of intravenous cocaine self-administration under different feeding conditions in rats. *Psychopharmacology* 154:311-318.

Carr KD, Tsimberg Y, Berman Y, Yamamoto N. 2003. Evidence of increased dopamine receptor signaling in food-restricted rats. *Neuroscience* 119:1157-1167.

Carr KD. 2002. Augmentation of drug reward by chronic food restriction: Behavioral evidence and underlying mechanisms. *Physiology & Behavior* 76:353-364.

Carroll ME, France CP, Meisch RA. 1981. Intravenous self-administration of etonitazene, cocaine and phencyclidine in rats during food deprivation and satiation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 217:241-247.

Carroll ME, Meisch RA. 1984. Increased drug-reinforced behavior due to food deprivation. *Advances in Behavioral Pharmacology* 4:47-88.

Chaperon F, Tricklebank MD, Unger L, Neijt HC. 2003. Evidence for regulation of body temperature in rats by dopamine D2 receptor and possible influence of D1 but not D3 and D4 receptors. *Neuropharmacology* 44:1047-1053.

Cleck JN, Blendy JA. 2008. Making a bad thing worse: adverse effects of stress on drug addiction. *The Journal of Clinical Investigation* 118:454-461.

Clinton SM, Vazquez DM, Kabbaj M, Kabbaj MH, Watson SJ, Akil H. 2007. Individual differences in novelty-seeking and emotional reactivity correlate with variation in maternal behavior. *Hormones and Behavior* 51:655-664.

Cohen AI, Todd RD, Harmon S, O'Malley KL. 1992. Photoreceptors of the mouse retina possess D4 receptors coupled to adenylyl cyclase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 89:12093-12097.

Collins GT, Calinski DM, Newman AH, Grundt P, Woods JH. 2008. Food restriction alters N'-propyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazole-2,6-diamine dihydrochloride (pramipexole)-induced yawning, hypothermia, and locomotor activity in rats: evidence for sensitization of dopamine D2 receptor-mediated effects. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 325:691-697.

Collins GT, Eguibar JR. 2010. Neuropharmacology of yawning. *Frontiers of Neurology and Neuroscience* 28:90-106.

Collins GT, Newman AH, Grundt P, Rice KC, Husbands SM, Chauvignac C, Chen J, Wang S, Woods JH. 2007. Yawning and hypothermia in rats: Effects of dopamine D3 and D2 agonists and antagonists. *Psychopharmacology* 193:159-170.

Collins GT, Truccone A, Haji-Abdi F, Newman AH, Grundt P, Rice KC, Husbands SM, Greedy BM, Enguehard-Gueiffier C, Gueiffier A, Chen J, Wang S, Katz JL, Grandy DK, Sunahara RK, Woods JH. 2009. Proerectile effects of dopamine D2-like agonists are mediated by the D3 receptor in rats and mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 329:210-217.

Collins GT, Witkin JM, Newman AH, Svensson KA, Grundt P, Cao J, Woods JH. 2005. Dopamine agonist-induced yawning in rats: a dopamine D3 receptor-mediated behavior. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 314:310-319.

Collins GT, Woods JH. 2007. Drug and reinforcement history as determinants of the response-maintaining effects of quinpirole in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 323:599-605.

Comings DE, Blum K. 2000. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Progress in Brain Research* 126:325-341.

Comings DE, Muhleman D, Ahn C, Gysin R, Flanagan SD. 1994. The dopamine D2 receptor gene: a genetic risk factor in substance abuse. *Drug and alcohol dependence* 34:175-180.

Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. 1996. *The biochemical basis of neuropharmacology*. Editorial Oxford University Press Inc. New York. pp. 293-351.

Cruz HG, Ivanova T, Lunn ML, Stoffel M, Slesinger PA, Lüscher C. 2004. Bi-directional effects of GABA(B) receptor agonists on the mesolimbic dopamine system. *Nature Neuroscience* 7:153-159.

Dal Toso R, Sommer B, Ewert M, Herb A, Pritchett DB, Bach A, Shivers BD, Seeburget PH. 1989. The dopamine D2 receptor: two molecular forms generated by alternative splicing. *The European Molecular Biology Organization Journal* 8:4025-4034.

Dallman MF, Jones MT. 1973. Corticosteroid feedback control of ACTH secretion: Effect of stress-induced corticosterone secretion on subsequent stress responses in the rat. *Endocrinology* 92:1367-1375.

Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. 2005. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain, Behavior, and Immunity* 19:275-280.

Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, Tschop MH, Lipton JW, Clegg DJ, Benoit SC. 2008. Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral Neuroscience* 122:1257-1263.

Defagot MC, Malchiodi EL, Villar MJ, Antonelli MC. 1997. Distribution of D4 dopamine receptor in rat brain with sequence-specific antibodies. *Brain Research* 45:1-12.

Deminiere JM, Piazza PV, Guegan G, Abrous N, Macari S, Le Moal M, Simon H. 1992. Increased locomotor response to novelty and propensity to intravenous amphetamine self-administration in adult offspring of stressed mothers. *Brain Research* 586:135-139.

Deroche V, Piazza PV, Casolini P, Le Moal M, Simon H. 1993. Sensitization to the psychomotor effects of amphetamine and morphine induced by food restriction depends on corticosterone secretion. *Brain Research* 611:352-356.

Deutch AY, Lee MC, Gillham MH, Cameron DA, Goldstein M, Iadarola MJ. 1991. Stress selectively increases fos protein in dopamine neurons innervating the prefrontal cortex. *Cerebral Cortex* 1:273-292.

Di Chiara G, Imperato A. 1988. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 85:5274-5278.

Díaz-Romero M. 2007. Estudio de estructuras dopaminérgicas-estriatales y meso-límbicas: su participación en la conducta de aseo y bostezo de las ratas de alto y bajo bostezo de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Dimitriadis G, Leighton B, Parry-Billings M, Sasson S, Young M, Krause U, Bevan S, Piva T, Wegener G, Newsholme EA. 1997. Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of

glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. *The Biochemical Journal* 321: 707-712.

Drolet R, Richard C, Sniderman AD, Mailloux J, Fortier M, Huot C, Rheaume C, Tchernof A. 2008. Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women. *International Journal of Obesity* 32:283-291.

Eguibar JR, Barajas M, Moyaho A. 2004. Genotype-dependent effect of ACTH1-24 on grooming and yawning in two inbred strains of rats. *Neuropeptides* 38:283-288.

Eguibar JR, Moyaho A. 1997. Inhibition of grooming by pilocarpine differs in high- and low-yawning sublimes of Sprague–Dawley rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 58:317-322.

Eguibar JR, Romero-Carbente JC, Moyaho A. 2003. Behavioral differences between selectively bred rats: D1 versus D2 receptors in yawning and grooming. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 74:827-832.

Eisenreich W, Sommer B, Hartter S, Wolfgang HJ. 2010. Pramipexole extended release: a novel treatment option in Parkinson's disease. *Parkinson's Disease* 4061:612-619.

Elias CF, Aschkenasi C, Lee C, Kelly J, Ahima RS, Bjorbaek C, Flier JS, Saper CB, Elmquist JK. 1999. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron* 23:775-786.

Elsworth JD, Roth RH. 1997. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 144:4-9.

Epstein LH, Temple JL, Neaderhiser BJ, Salis RJ, Erbe RW, Leddy JJ. 2007. Food reinforcement, the dopamine D2 receptor genotype, and energy intake in obese and nonobese humans. *Behavioral Neuroscience* 121:877-886.

Farnebo LO, Hamberger B. 1971. Drug-induced changes in the release of 3H-monoamines from field-stimulated rat brain slices. *Acta Physiologica Scandinavica* 371:35-44.

Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. 1997. Principles of neuropsychopharmacology. Editorial Sinauer Associates Inc. Massachusetts. pp. 1-25.

- Fenu S, Di Chiara G. 2003. Facilitation of conditioned taste aversion learning by systemic amphetamine: role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors. *European Journal of Neuroscience* 18:2025-2030.
- Fernández-Espejo E. 2002. Bases neurobiológicas de la drogadicción. *Revista de Neurología* 34:659-664.
- Figlewicz DP, Patterson TA, Johnson LB, Zavosh A, Israel PA, Szot P. 1998. Dopamine transporter mRNA is increased in the CNS of Zucker fatty (fa/fa) rats. *Brain Research Bulletin* 46:199-202.
- Fossella J, Green AE, Fan J. 2006. Evaluation of a structural polymorphism in the ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1) gene and the activation of executive attention networks. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience* 6:71-78.
- Franklin JC, Scheile BC, Brozek J, Keys A. 1948. Observations on human behavior in experimental semistarvation and rehabilitation. *Journal of Clinical Psychology* 4:28-45.
- Fuxe K. 1965. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. IV. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. *Acta Physiologica Scandinavica* 64:37-38.
- Garfield AS, Lam DD, Marston OJ, Przydzial MJ, Heisler LK. 2009. Role of central melanocortin pathways in energy homeostasis. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 20:203-215.
- Geiselman PJ. 1996. Control of food intake. A physiologically complex, motivated behavioral system. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 25:815-829.
- Geisler S, Derst C, Veh RW, Zahm DS. 2007. Glutamatergic afferents of the ventral tegmental area in the rat. *The Journal of Neuroscience* 27:5730-5743.
- Georges F, Aston-Jones G. 2001. Potent regulation of midbrain dopamine neurons by the bed nucleus of the stria terminalis. *The Journal of Neuroscience* 21:160.
- Gingrich JA, Dearry A, Falardeau P, Bates MD, Fremeau RT, Caron MG. 1992. Localization and molecular cloning of D1 dopamine receptor. *Neurochemistry International* 20:9-15.

Ginsberg H, Zhang YL, Hernandez-Ono A. 2005. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Archives of Medical Research* 36: 232-240.

Giros B, Sokoloff P, Riou JF, Emorine LJ and Schwartz JC. 1989. Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature* 342:923-926.

Glueck C, Levy R, Fredrickson D. 1969. Immunoreactive insulin, glucose tolerance, and carbohydrate inducibility in Types II, III, IV, and V hyperlipoproteinemia. *Diabetes* 18:739-747.

Goeders NE, Guerin GF. 1996. Effects of surgical and pharmacological adrenalectomy on the initiation and maintenance of intravenous cocaine self-administration in rats. *Brain Research* 722:145-152.

Hausknecht K, Haj-Dahmane S, Shen RY. 2013. Prenatal stress exposure increases the excitation of dopamine neurons in the ventral tegmental area and alters their responses to psychostimulants. *Neuropsychopharmacology* 38:293-301.

Heimer L, Alheid G, de Olmos JS, Groenewegen HJ, Haber SN, Harlan RE, Zahm DS. 1997. The Accumbens: beyond the core-shell dichotomy. En: *The neuropsychiatry of limbic and subcortical disorders*. Salloway S, Malloy P, Cummings JL (eds.) Editorial American Psychiatric Press. Washington DC. pp. 43-70.

Henry C, Guegant G, Cador M, Arnould E, Arsaut J, Le Moal M, Demotes-Mainard J. 1995. Prenatal stress in rats facilitates amphetamine-induced sensitization and induces long-lasting changes in dopamine receptors in the nucleus accumbens. *Brain Research* 685:179-186.

Hernandez L, Hoebel BG. 1988. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sciences* 42:1705-1712.

Hetherington M. 1996. Sensory-specific satiety and its importance in meal termination. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 20:113-117.

Holderness CC, Brooks-Gunn J, Warren MP. 1994. Co-morbidity of eating disorders and substance abuse review of the literature. *The International Journal of Eating Disorders* 16:1-34.

- Holloszy J, Fontana L. 2007. Caloric restriction in humans. *Experimental Gerontology* 42:709-712.
- Holmgren B, Urbá-Holmgren R, Trucios N, Zermeño M, Eguibar JR. 1985. Association of spontaneous and dopaminergic induced yawning and penile erections in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 22:31-35.
- Hyde RJ, Witherly SA. 1993. Dynamic contrast: a sensory contribution to palatability. *Appetite* 21:1-16.
- Ikemoto S, Wise RA. 2004. Mapping of chemical trigger zones for reward. *Neuropharmacology* 1:190-201.
- Imperato A, Di Chiara G. 1986. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 239:219-228.
- Jaber M, Robinson SW, Misale C, Caron MG. 1996. Dopamine receptor and brain function. *Neuropharmacology* 35:1503-1519.
- Jackson DM, Westlind-Danielsson A. 1994. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacology & Therapeutics* 64:291-369.
- Johnson PM, Kenny PJ. 2010. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature Neuroscience* 13:635-641.
- Johnson SW, North RA. 1992. Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of Physiology* 450:455-468.
- Jones SR, Gainetdinov RR, Wightman RM, Caron MG. 1998. Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter. *The Journal of Neuroscience* 18:1979-1986.
- Jönsson EG, Nothen MM, Grunhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P, Sedvall GC. 1999. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molecular Psychiatry* 4:290-296.

- Kalaivanisailaja J, Manju V, Nalini N. 2003. Lipid profile in mice fed a high-fat diet after exogenous leptin administration. *Polish Journal Pharmacology*. 55:763-769.
- Kalivas PW, Duffy P. 1993. Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. *The Journal of Neuroscience* 13:266-275.
- Kalivas PW, Stewart J. 1991. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Research Reviews* 16:223-244.
- Kalueff AV, Tuohimaa P. 2005. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods* 143:169-177.
- Kanner BI, Schuldiner S. 1987. Mechanism of transport and storage of neurotransmitters. *Critical Reviews in Biochemistry* 22:1-38.
- Kebabian JW, Calne DB. 1979. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277:93-96.
- Kehr W, Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Atack C. 1972. Evidence for a receptor-mediated feedback control of striatal tyrosine hydroxylase activity. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 24:744-747.
- Kenny PJ. 2011. Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron* 69:664-679.
- Kippin TE, Szumlinski KK, Kapasova Z, Rezner B, See RE. 2008. Prenatal stress enhances responsiveness to cocaine. *Neuropsychopharmacology* 33:769-782.
- Kitamura T, Feng Y, Kitamura YI, Chua SC Jr, Xu AW, Barsh GS, Rossetti L, Accili D. 2006. Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake. *Nature Medicine* 12:534-540.
- Koenig JI, Elmer GI, Shepard PD, Lee PR, Mayo C, Joy B, Hercher E, Brady DL. 2005. Prenatal exposure to a repeated variable stress paradigm elicits behavioral and neuroendocrinological changes in the adult offspring: potential relevance to schizophrenia. *Behavioural Brain Research* 156:251-261.

Kolta MG, Shreve P, De Souza V, Uretsky NJ. 1985. Time course of the development of the enhanced behavioral and biochemical responses to amphetamine after pretreatment with amphetamine. *Neuropharmacology* 24:823-829.

Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, O'Dell LE, Parsons LH, Sanna PP. 2004. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 27:739-749.

Koob GF, Volkow ND. 2010. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35:217-238.

Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MA, Blokhuis HJ. 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23:925-935.

Krahn DD. 1991. The relationship of eating disorders and substance abuse. *Journal of Substance Abuse* 3:239-253.

Lattemann, D. 2008. Endocrine links between food reward and caloric homeostasis. *Appetite* 51: 452-455.

Lê AD, Harding S, Juzysch W, Funk D, Shaham Y. 2005. Role of alpha-2 adrenoceptors in stress-induced reinstatement of alcohol seeking and alcohol self-administration in rats. *Psychopharmacology* 179:366-373.

Lee B, Groman S, London ED, Jentsch JD. 2007. Dopamine D2/D3 receptors play a specific role in the reversal of a learned visual discrimination in monkeys. *Neuropsychopharmacology* 32:2125-2134.

Levant B. 1997. The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacological Reviews* 49:231-252.

Lévesque D, Diaz J, Pilon C, Martres MP, Giros B, Souil E, Schott D, Morgat JL, Schwartz JC, Sokoloff P. 1992. Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 89:8155-8159.

- Levitt M, Spector S, Sjoerdsma A, Udenfriend S. 1965. Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 23:1493-1501.
- Lin MT, Chandra A, Tsay BL, Chern YF. 1982. Hypothalamic and striatal dopamine receptor activation inhibits heat production in the rat. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 242:471-481.
- Liuzzi A, Savia G, Tagliaferri M, Lucantoni R, Berselli ME, Petroni ML, De Medici C, Viberti GC. 1999. Serum leptin concentration in moderate and severe obesity: relationship with clinical, anthropometric and metabolic factors. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 23:1066-1073.
- Lu L, Shaham Y. 2005. The role of stress in opiate and psychostimulant addiction: evidence from animal models. En: *Handbook of Stress and the Brain*. Steckler T, Kalin N, Reul J (eds.) Editorial Elsevier. San Diego, CA. pp. 315-332.
- Lutter M, Nestler EJ. 2009. Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. *The Journal of Nutrition* 139:629-632.
- Mahoney LB, Denny CA, Seyfried TN. 2006. Caloric restriction in C57BL/6J mice mimics therapeutic fasting in humans. *Lipids in Health and Disease* 18:5-13.
- Mairesse J, Vercoutter-Edouart AS, Marrocco J, Zuena AR, Giovine A, Nicoletti F, Michalski JC, Maccari S, Morley-Fletcher S. 2012. Proteomic characterization in the hippocampus of prenatally stressed rats. *Journal of Proteomics* 75:1764-1770.
- Mantsch JR, Saphier D, Goeders NE. 1998. Corticosterone facilitates the acquisition of cocaine self-administration in rats: opposite effects of the type II glucocorticoid receptor agonist dexamethasone. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 287:72-80.
- Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. 2001. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology* 435:6-25.

Marinelli M, Le Moal M, Piazza PV. 1996. Acute pharmacological blockade of corticosterone secretion reverses food restriction-induced sensitization of the locomotor response to cocaine. *Brain Research* 724:251-255.

Marinissen, MJ, Gutkind JS. 2001. G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends in Pharmacological Sciences* 22:368-375.

Maskos U, Molles BE, Pons S, Besson M, Guiard BP, Guilloux JP, Evrard A, Cazala P, Cormier A, Mameli-Engvall M, Dufour N, Cloëz-Tayarani I, Bemelmans AP, Mallet J, Gardier AM, David V, Faure P, Granon S, Changeux JP. 2005. Nicotine reinforcement and cognition restored by targeted expression of nicotinic receptors. *Nature* 436:103-107.

Mazei-Robison MS, Bowton E, Holy M, Schmudermaier M, Freissmuth M, Sitte HH, Galli A, Blakely RD. 2008. Anomalous dopamine release associated with a human dopamine transporter coding variant. *The Journal of Neuroscience* 28:7040-7046.

McClure SM, Berns GS, Montague PR. 2003. Temporal prediction errors in a passive learning task activate human striatum. *Neuron* 38:339-346.

McGeer PL, Eccles JC, McGeer EG. 1987. *Molecular neurobiology of the mammalian brain*. Editorial Plenum Press. New York. pp. 265-317.

McGuire BA, Baladi MG, France CP. 2011. Eating high-fat chow enhances sensitization to the effects of methamphetamine on locomotion in rats. *European Journal of Pharmacology* 658:156-159.

Meador-Woodruff JH, Mansour A, Grandy DK, Damask SP, Civelli O, Watson SJ Jr. 1992. Distribution of D5 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Neuroscience Letters* 145:209-212.

Meador-Woodruff JH, Mansour A, Healy DJ, Kuehn R, Zhou QY, Bunzow JR, Akil H, Civelli O, Watson SJ Jr. 1991. Comparison of the distributions of D1 and D2 dopamine receptor mRNAs in rat brain. *Neuropsychopharmacology* 5:231-242.

1 Mehler-Wex C, Riederer P, Gerlach M. 2006. Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of

Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotoxicity Research* 10:167-179.

Miczek KA, Covington HE, Nikulina EM, Hammer RP. 2004. Aggression and defeat: persistent effects on cocaine self-administration and gene expression in peptidergic and aminergic mesocorticolimbic circuits. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 27:787-802.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews* 78:189-225.

Moles A, Bartolomucci A, Garbugino L, Conti R, Caprioli A, Coccorello R, Rizzi R, Ciani B, D'Amato FR. 2006. Psychosocial stress affects energy balance in mice: modulation by social status. *Psychoneuroendocrinology* 31:623-633.

Morley-Fletcher S, Puopolo M, Gentili S, Gerra G, Macchia T, Laviola G. 2004. Prenatal stress affects 3,4-methylenedioxymethamphetamine pharmacokinetics and drug-induced motor alterations in adolescent female rats. *The European Journal of Pharmacology* 489:89-92.

Moyaho A, Eguibar JR, Diaz JL. 1995. Induced grooming transitions and open field behaviour differ in high- and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Animal Behavior* 50:61-72.

Murray AM, Ryoo HL, Gurevich E, Joyce JN. 1994. Localization of dopamine D3 receptors to mesolimbic and D2 receptors to mesostriatal regions of human forebrain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 91:11271-11275.

Nader K, Bechara A, van der Kooy D. 1997. Neurobiological constraints on behavioral models of motivation. *Annual Review of Psychology* 48:85-114.

Nagatsu T, Levitt M, Uderfriend S. 1964. Tyrosine hydroxylase: the initial step in norepinephrine biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry* 239:2910-2917.

Nestler EJ, Terwilliger RZ, Walker JR, Sevarino KA, Duman RS. 1990. Chronic cocaine treatment decreases levels of the G protein subunits $G_{i\alpha}$ and $G_{o\alpha}$ in discrete regions of the rat brain. *Journal of Neurochemistry* 55:1079-1082.

Nestler EJ. 2004. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 1:24-32.

- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. 2004. Dopamine receptor signaling. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research* 24:165-205.
- Nieouillon A, Amalric M. 2002. Brain dopamine receptors: molecular aspects and functional implications. *Revue Neurologique* 158:59-68.
- Nikulinaa EM, Covington HE, Ganschowb L, Hammer RP, Miczeka KA. 2004. Long-term behavioral and neuronal cross-sensitization to amphetamine induced by repeated brief social defeat stress: Fos in the ventral tegmental area and amygdala. *Neuroscience* 123:857-865.
- Noble EP, Blum K, Ritchie T, Montgomery A, Sheridan PJ. 1991. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Archives of General Psychiatry* 48:648-654.
- O'Dowd BF. 1993. Structures of dopamine receptors. *Journal of Neurochemistry* 60:804-816.
- Oei TP, Singer G, Jefferys D. 1980. The interaction of a fixed time food delivery schedule and body weight on self-administration of narcotic analgesics. *Psychopharmacology* 67:171-176.
- Omelchenko N, Sesack SR. 2005. Laterodorsal tegmental projections to identified cell populations in the rat ventral tegmental area. *The Journal of Comparative Neurology* 483:217-235.
- Ossenkopp KP, Eckel LA. 1995. Toxin-induced conditioned changes in taste reactivity and the role of the chemosensitive area postrema. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 19:99-108.
- Palacios M. 2014. Efectos de ansiolíticos en ratas de alto bostezo (HY), bajo bostezo (LY) y ratas de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Palmiter RD. 2007. Is dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior? *Trends in Neurosciences* 30:375-381.
- Park MK, et al. 2007. Age, sex and early environment contribute to individual differences in nicotine/acetaldehyde-induced behavioral and endocrine responses in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 86:297-305.

Patterson TA, Brot MD, Zavosh A, Schenk JO, Szot P, Figlewicz DP. 1998. Food deprivation decreases mRNA and activity of the rat dopamine transporter. *Neuroendocrinology* 68:11-20.

Peeke PM, Chrousos GP. 1995. Hypercortisolism and obesity. *Annals of the New York Academy Sciences* 771:665-676.

Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. 1998. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *The Journal of Neuroscience* 18:9996-10015.

Phillips PEM, Walton ME, Jhou TC. 2007. Calculating utility: preclinical evidence for cost-benefit analysis by mesolimbic dopamine. *Psychopharmacology* 191:483-495.

Piazza PV, Deminière JM, Le Moal M, Simon H. 1989. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 245:1511-1513.

Pierce RC, Kalivas PW. 1997. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Research* 25:192-216.

Piran N, Robinson S. 2006. The association between disordered eating and substance use and abuse in women: a community-based investigation. *Women and Health* 44:1-20.

Portillo W, Camacho F, Eguibar JR, Paredes RG. 2010. Behavioral characterization of non-copulating male rats with high spontaneous yawning frequency rate. *Behavioural Brain Research* 214:225-230.

Pothos EN, Hernandez L, Hoebel BG. 1995. Chronic food deprivation decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens: Implications for a possible neurochemical link between weight loss and drug abuse. *Obesity Research* 3:525-529.

Reid M, Hetherington M. 1997. Relative effects of carbohydrates and protein on satiety: a review of methodology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21:295-308.

Ritchie T, Noble EP. 2003. Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics. *Neurochemical research* 28:73-82.

Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg SR, Kuhar MJ. 1987. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 237:1219-1223.

Robinson TE, Becker JB.1986. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research* 396:157-198.

Robinson TE, Berridge KC.1993. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research* 18:247-291.

Robinson TE. 1988. Stimulant drugs and stress: Factors influencing individual differences in the susceptibility to sensitization. En: *Sensitization in the nervous system*. Kalivas PW, Barnes CD (eds.) Editorial Telford Press. Caldwell, NJ. pp. 145-173.

Rossi R, Driscoll P, Langhans W. 1997. Differential circadian eating patterns in two psychogenetically selected strains of rats fed low-, medium-, and high-fat diets. *Behavior Genetics* 27:565-572.

Sadek N, Nemeroff C. 2000. Update on the neurobiology of depression. <http://www.medscape.org/>

Saito Y, Cheng M, Leslie FM, Civelli O. 2001. Expression of the melanin-concentrating hormone (MCH) receptor mRNA in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology* 435:26-40.

Samaha AN, Li Y, Robinson TE. 2002. The rate of intravenous cocaine administration determines susceptibility to sensitization. *The Journal of Neuroscience* 22:3244-3250.

Sánchez-Lasheras C, Köhner AC, Brüning JC. 2009. Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology* 31:4-15.

Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. 2002. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* 36:199-211.

Schultz W. 2002. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36:241-263.

Schultz, W. 2000. Multiple reward signals in the brain. *Nature Reviews Neuroscience* 1:199-207.

Schwartz JC, Giros B, Martres MP, Sokoloff P. 1992. The dopamine receptor family: molecular biology and pharmacology. *Seminars in the Neurosciences* 4:99-108.

- Sevak RJ, Koek W, Owens WA, Galli A, Daws LC, France CP. 2008. Feeding conditions differentially affect the neurochemical and behavioral effects of dopaminergic drugs in male rats. *European Journal of Pharmacology* 592:109-115.
- Shepherd R. 2005. Influences on food choice and dietary behavior. *Forum of Nutrition* 57:36-43.
- Shirayama Y, Chaki S. 2006. Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents. *Current Neuropharmacology* 4:277-291.
- Siegel A, Sapru HN. 2006. The reticular formation. En: *Essential Neuroscience*. Siegel A, Sapru HN (eds.) Editorial Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania. pp. 427-444.
- Sinha R. 2008. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Annals of the New York Academy Sciences* 1141:105-130.
- Sokoloff P, Schwartz JC. 1995. Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends in Pharmacological Sciences* 16: 270-275.
- Spanagel R, Weiss F. 1999. The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends in Neurosciences* 22:521-527.
- Staley JK, Mash DC. 1996. Adaptive increase in D3 dopamine receptors in the brain reward circuits of human cocaine fatalities. *The Journal of Neuroscience* 16:6100-6106.
- Stamp JA, Mashoodh R, van Kampen JM, Robertson HA. 2008. Food restriction enhances peak corticosterone levels, cocaine-induced locomotor activity, and Δ FosB expression in the nucleus accumbens of the rat. *Brain Research* 1204:94-101.
- Steimer T, la FS, Schulz PE. 1997. Neuroendocrine correlates of emotional reactivity and coping in male rats from the Roman high (RHA/Verh)- and low (RLA/Verh)-avoidance lines. *Behavior Genetics* 27:503-512.
- Swanson LW. 1982. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: A combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin* 9:321-353.

Swithers SE. 1996. Effects of oral experience on rewarding properties of oral stimulation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 20:27-32.

Takahashi RN, Singer G, Oei TP. 1978. Schedule induced self-injection of D-amphetamine by naïve animals. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 9:857-861.

Thanos PK, Michaelides M, Piyis YK, Wang GJ, Volkow ND. 2008. Food restriction markedly increases dopamine D2 receptor (D2R) in a rat model of obesity as assessed with in-vivo muPET imaging ([¹¹C] raclopride) and in-vitro ([³H] spiperone) autoradiography. *Synapse* 62:50-61.

Thierry AM, Tassin JP, Blanc G, Glowinski J. 1976. Selective activation of the mesocortical DA system by stress. *Nature* 263:242-244.

Thomas MB, Hu M, Lee TM, Bhatnagar S, Becker JB. 2009. Sex-specific susceptibility to cocaine in rats with a history of prenatal stress. *Physiology & Behavior* 97:270-277.

Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggott M, Lloyd S, Perry EK, Morris CM, Perry RH, Ferrier IN, Court JA. 1997. D2 dopamine receptor gene (DRD2) TaqI A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor adibinding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics* 7:479-484.

Tiberi M1, Jarvie KR, Silvia C, Falardeau P, Gingrich JA, Godinot N, Bertrand L, Yang-Feng TL, Freneau RT Jr, Caron MG. 1991. Cloning, molecular characterization and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: Differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 88:7491-7495.

Tolle V, Low MJ. 2008. In vivo evidence for inverse agonism of Agouti-related peptide in the central nervous system of proopiomelanocortin deficient mice. *Diabetes* 57:86-94.

Torres S, Nowson C. 2007. Relationship between stress, eating behavior and obesity. *Nutrition* 23:11-12.

Ugarte A, Eguibar JR, Cortés M del C, León-Chávez BA, Melo AI. 2011. Comparative analysis of maternal care in the high-yawning (HY) and low-yawning (LY) sublines from Sprague-Dawley rats. *Developmental Psychobiology* 53:105-117.

Urbá-Holmgren R, Santos A, Holmgren B, Eguibar JR. 1993. Two inbred rat sublimes that differ in spontaneous yawning behavior also differ in their responses to cholinergic and dopaminergic drugs. *Behavioural Brain Research* 56:155-159.

Urbá-Holmgren R, Trucios N, Holmgren B, Eguibar JR, Gavito A, Cruz G, Santos G. 1990. Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research* 40:29-35.

Uribe CA. 2010. Determinación de las respuestas conductuales ante situaciones de estrés de en ratas de alto y bajo bostezo de la línea Sprague-Dawley. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. 1981. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science* 213:1394-1397.

Vanderschuren LJ, Kalivas PW. 2000. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology* 151:99-120.

Vezina P, Leyton M. 2009. Conditioned cues and the expression of stimulant sensitization in animals and humans. *Neuropharmacology* 1:160-168.

Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Ding YS, Sedler M, Logan J, Franceschi D, Gatley J, Hitzemann R, Gifford A, Wong C, Pappas N. 2001. Decreased brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in orbitofrontal cortex. *The American Journal of Psychiatry* 158:2015-2021.

Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Hitzemann R, Logan J, Schlyer DJ, Dewey SL, Wolf AP. 1993. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse* 14:169-177.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Hitzemann R, Ding YS, Pappas N, Shea C, Piscani K. 1996. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* 20:1594-1598.

- Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS, Logan J, Abumrad NN, Hitzemann RJ, Pappas NS, Pascani K. 1997. Dopamine D2 receptors availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 16:174-182.
- Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, Netusil N, Fowler JS. 2001. Brain dopamine and obesity. *The Lancet* 357:354-357.
- Wang GJ, Volkow ND, Thanos PK, Fowler JS. 2004. Similarity between obesity and drug addiction as assessed by neurofunctional imaging: a concept review. *Journal of Addictive Diseases* 23:39-53.
- Wellman PJ, Nation JR, Davis KW. 2007. Impairment of acquisition of cocaine self-administration in rats maintained on a high-fat diet. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 88:89-93
- Winzell MS, Ahrén B. 2004. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 53:215-219.
- Wise RA, Bozarth MA. 1987. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review* 94:469-492.
- Wise RA, Rompre PP. 1989. Brain dopamine and reward. *Annual Review of Psychology*. 40:191-225.
- Wise RA. 1996. Neurobiology of addiction. *Current Opinion in Neurobiology* 6:243-251.
- Wöhr M, Schwarting RKW. 2008. Maternal care, isolation-induced infant ultrasonic calling, and their relations to adult anxiety-related behavior in the rat. *Behavioral Neuroscience* 122:310-330.
- Wolf ME, Xue CJ. 1999. Amphetamine-induced glutamate efflux in the rat ventral tegmental area is prevented by MK-801, SCH-23390, and ibotenic acid lesions of the prefrontal cortex. *Journal of Neurochemistry* 1999; 73:1529-1538.
- Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Schwartz MW. 1998. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 280:1378-1383.

Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. 2003. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *Journal of Nutrition* 133:1081-1087.

Wynne K, Stanley S, McGowan B, Bloom S. 2005. Appetite control. *Journal of Endocrinology* 184:291-318.

Wyvell CL, Berridge KC. 2001. Incentive sensitization by previous amphetamine exposure: increased cue-triggered "wanting" for sucrose reward. *The Journal of Neuroscience* 21:7831-7840.

Xu M, Hu XT, Cooper D C, Moratalla R, Graybiel AM, White FJ, Tonegawa S. 1994. Elimination of cocaine-induced hyperactivity and dopamine-mediated neurophysiological effects in dopamine D1 receptor mutant mice. *Cell* 79:945-955.

11. GLOSARIO DE TÉRMINOS

AADC: L-aminoácido aromático descarboxilasa

ACTH: adrenocorticotropina

AgRP: péptido relacionado con agouti

AMG: amígdala

ARC: núcleo arcuato del hipotálamo

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ATV: área tegmental ventral

CART: transcrito relacionado con cocaína y anfetamina

COMT: enzima catecol-O-metiltransferasa

CPF: corteza prefrontal

CRF: factor de liberación de corticotropina

D1: subtipo de receptor de dopamina de la familia D1

D2: subtipo de receptor de dopamina de la familia D2

D2L: isoforma larga del receptor D2

D2S: isoforma corta del receptor D2

D3: subtipo de receptor de dopamina de la familia D2

D4: subtipo de receptor de dopamina de la familia D2

D5: subtipo de receptor de dopamina de la familia D1

DAT: transportador de dopamina

DOPAC: ácido dihidroxifenilacético

Familia D1: familia de receptores de dopamina conformada por los subtipos D1 y D5

Familia D2: familia de receptores de dopamina conformada por los subtipos D2, D3 y D4

GABA: ácido gamma-amino butírico

Gi: proteína G inhibitoria

Gs: proteína G estimuladora

HC: hipocampo

HF: hipófisis

HPA: eje hipotalámico-pituitario-adrenal

HT: hipotálamo

HL: hipotálamo lateral

HVA: ácido homovanílico

HY: sublínea de ratas con alta frecuencia de bostezo (20 bostezos por hora)

Ki: constante de inhibición

L-DOPA: L-tirosina a L-3,4 dihidroxifenilalanina

LY: sublínea de ratas con baja frecuencia de bostezo (2 bostezos por hora)

MAO: enzima monoaminooxidasa

MC3R: receptor de melanocortina 3

MC4R: receptor de melanocortina 4

MCH: hormona concentradora de melanina

MetDA: 3-metoxitiramina

α -MSH: porción alfa de la hormona estimulante de los melanocitos

β -MSH: porción beta de la hormona estimulante de los melanocitos

NAc: núcleo accumbens

NPV: núcleo paraventricular del hipotálamo

NPY: neuropéptido Y

POMC: proopiomelanocortina

PV: pálido ventral

RHA: sublínea de ratas Roman de alta evitación (del inglés Roman high-avoidance)

RLA: sublínea de ratas Roman de baja evitación (del inglés Roman low-avoidance)

SN: sustancia nigra

SNC: sistema nervioso central

SNc: sustancia nigra compacta

SNr: sustancia nigra reticulada (SNr)

TaqIA: polimorfismo del gen d2

TaqIA1: variante alélica del polimorfismo TaqIA

TaqIA2: variante alélica del polimorfismo TaqIA

TDM: tálamo dorsomedial

TH: tirosina hidroxilasa

TO: tubérculo olfatorio

12. PUBLICACIONES

Cartel 42



Cambios en la sensibilidad dopaminérgica debidos a la dieta en ratas Sprague-Dawley

Erika Hubierna Cordero¹, Ma. del Carmen Cortés², José Ramón Eguibar² y Margarita Martínez-Gómez^{3,4}

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala

²Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

El sistema dopaminérgico es uno de los elementos cruciales en el trastorno adictivo, cuya implicación e importancia se han confirmado repetidamente con los estudios realizados en este campo. Estudios experimentales sobre roedores han puesto de manifiesto que la administración aguda de psicoestimulantes, el alcohol y los opiáceos provoca un incremento en la actividad del sistema dopaminérgico de la recompensa, que en individuos vulnerables puede significar el inicio del proceso adictivo.

El abuso de sustancias muestra una elevada comorbilidad con los trastornos alimenticios y debido a que algunos alimentos y medicamentos pueden activar sistemas de dopamina en común, la nutrición, es un factor que podría afectar los efectos de los fármacos que actúan sobre los sistemas dopaminérgicos.

Se ha demostrado en ratas, que la restricción alimenticia incrementa, y una dieta alta en grasas disminuye la sensibilidad de los efectos conductuales y moleculares inducidos por drogas agonistas dopaminérgicas que actúan sobre el receptor D2. En contraste, en relación al receptor D3, se reportó que la restricción alimenticia suprime, y una dieta rica en grasas aumenta la frecuencia de conductas inducidas por las drogas agonistas del sistema dopaminérgico, entre las que destaca el bostezo, que se incrementa por acción de agonistas de los receptores D3

En el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla se cuenta con dos sublíneas de ratas de la cepa Sprague-Dawley que difieren en su frecuencia de bostezo producido en forma espontánea, una de ellas es denominada High-Yawning (HY) o ratas de alto bostezo que en promedio bostezan 20 veces/hora, la otra sublínea es nombrada Low-Yawning (LY) o de bajo bostezo y su promedio es de tan solo 2 bostezos/hora. En consecuencia, estas cepas isogénicas nos permiten realizar experimentos encaminados a explicar cómo se medían diversas conductas a nivel del sistema nervioso central.

Aunque cualquier relación causal entre el abuso de sustancias y los trastornos alimentarios, aún no es bien entendida, su estudio en las ratas HY y LY podría ser relevante para deducir el impacto de la nutrición sobre el uso de drogas terapéuticas y recreativas. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es

3-6 de octubre de 2012. Tlaxcala, México.

evaluar los cambios en la sensibilidad dopaminérgica debidos a la dieta en ratas HY y LY de la cepa Sprague-Dawley.

Para la realización de este proyecto, emplearemos ratas machos de 2 meses de edad con aproximadamente 250 g de peso corporal de las sublíneas HY y LY de la cepa Sprague-Dawley. Las ratas se colocarán por grupos de 3 a 4 animales, en cajas de acrílico transparente (60 x 40 x 17 cm) con cama de viruta de madera estéril (Aspen, Chip, EUA). Durante todo el periodo experimental las ratas serán pesadas y se les mantendrá con libre acceso a agua purificada. Se mantendrá un ciclo luz/oscuridad artificial de 12:12 horas, encendiéndose las luces a las 0700. Emplearemos un total de 24 animales; 12 HY y 12 LY.

El periodo experimental constará de 3 fases: fase 1) durante dos semanas todos los individuos tendrán libre acceso a una alimentación estándar (TD.7912.15 Teklad LM-485 Mouse/Rat Sterilizable Diet); fase 2) durante dos semanas 8 individuos (4 HY y 4 LY) continuarán con el acceso libre a una dieta estándar, igual número de individuos serán restringidos a 10 g/día de dieta estándar y por último 8 ratas (4 HY y 4 LY) tendrán acceso libre a una dieta rica en grasa (TD0614 Adjusted Calories Diet 60/Fat); fase 3) durante dos semanas todos los individuos tendrán libre acceso a una dieta estándar.

En cada una de las fases, de cada grupo experimental se obtendrá una curva dosis-efecto con el agonista dopaminérgico específico D3, pramipexole (rango de las dosis de 1-1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ i.p.), las cuales serán administradas a las 0900 cada 48 horas.

Las conductas que se observarán durante 60 min inmediatamente después de la aplicación de la droga serán: bostezo, aseo, rascado, erecciones del pene y movimientos masticatorios. Para su observación los individuos se colocarán en cristalizadores cilíndricos.

Los datos obtenidos serán analizados estadísticamente mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con una significancia de $p < 0.05$, seguida de la prueba de Tukey.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CONACyT el apoyo otorgado a través de la Beca para Estudios de Maestría No. 485953. Al Laboratorio de neurofisiología de la conducta y control motor de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto, y al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Parcialmente financiado por VIEP-BUAP SAL/G/2012, CONACyT 106694 otorgado a JRE.

C - 174 Cambios en la sensibilidad dopaminérgica debidos a la dieta en ratas Sprague-Dawley

Hubierna-Cordero E (1), Cortés MC (2), Eguibar JR (2), Martínez-Gómez M (3), (4). (1) Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, (2) Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, (3) Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala (4) Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

La dopamina (DA) media, los efectos de reforzamiento positivo cuando se consumen algunas drogas o bien alimentos. Debido a esta convergencia, el estado nutricional puede alterar los efectos neuroquímicos y conductuales de drogas de acción directa e indirecta en los sistemas dopaminérgicos. Diversas investigaciones han reportado que la restricción alimenticia disminuye la sensibilidad a algunos efectos conductuales de agonistas dopaminérgicos. Recientemente se está comenzando a elucidar que no sólo la cantidad de alimento, sino también el tipo de alimento, es un factor sustancial en la modificación de los efectos conductuales de tales drogas. Estudios realizados en ratas sugieren que la ingesta de una dieta alta en grasa incrementa la sensibilidad a los efectos conductuales producidos por agonistas directos (e.g. quinpirole) e indirectos (e.g. cocaína) del receptor a DA. Estudios previos han demostrado que las ratas más sensibles a los efectos de las drogas y comida altamente apetitosa (e.g. grasa y azúcar), presentan un sistema dopaminérgico y un eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal hiperactivos. Por lo tanto, el objetivo de nuestro proyecto fue evaluar en ratas Sprague-Dawley de las sublíneas HY (del inglés High-Yawning) y LY (Low-Yawning), las cuales difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo (20 y 2 bostezos/hora respectivamente), los efectos de una restricción alimenticia (10 g/día) y de una dieta alta en grasa ad libitum en la sensibilidad a los efectos conductuales de un agonista dopaminérgico de acción directa como es el pramipexol. Nuestros resultados muestran que al término del cambio de dieta, el peso corporal de las ratas HY y LY presentó cambios significativos entre las sublíneas y condiciones alimenticias (Figura 1). La restricción alimenticia en ambas sublíneas disminuyó la sensibilidad a inducir bostezo provocado por pramipexol e incrementó la hipotermia inducida por esta droga. En contraste, en las dos sublíneas con libre acceso a la dieta alta en grasa no se modificó la sensibilidad al bostezo e hipotermia inducidos por pramipexol. Estos resultados apoyan la hipótesis de que los cambios en la sensibilidad de los sistemas dopaminérgicos debidos al estado nutricional podrían representar un factor importante para entender las diferencias individuales en la respuesta a drogas terapéuticas y recreacionales.

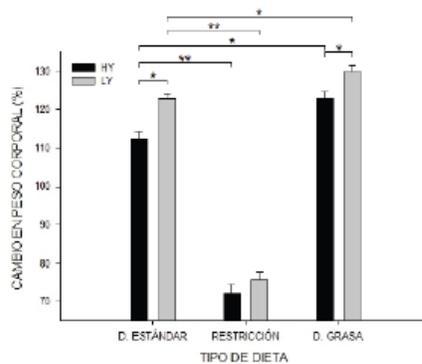


Figura 1. Efecto de la dieta en el peso corporal de ratas HY y LY. Las ratas fueron tratadas durante 5 semanas con dieta estándar, dieta alta en grasa o acceso restringido a dieta estándar (10 g/día). El peso corporal registrado al inicio del cambio de dieta fue tomado como el 100% y el cambio de peso corporal al final de las 5 semanas se relacionó con este valor para calcular el porcentaje respectivo. Los valores obtenidos se presentan como el promedio \pm error estándar de 4 ratas (* $P < 0.005$, ** $P < 0.001$).

Agradecimientos:

Se agradece al CONACyT el apoyo otorgado a través de la Beca para Estudios de Maestría No. 277505. Al Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto y al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Parcialmente financiado por VIEP-BUAP SAL/G/2012, CONACyT 106694 otorgado a JRE.



IV Iberoamerican Congress on Neuroimmunomodulation
& I National Congress on Neuroinmunoenocrinology

Puebla, Pue. México, October 2013



High fat diet and food restriction differentially modify the behavioral effects of pramipexole in High-yawning and Low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats

Hubierna-Cordero E¹, Cortés MC², Eguibar JR², Martínez-Gómez M^{3,4}.

¹Universidad Autónoma de Tlaxcala, ²Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

ABSTRACT

One important feature of the susceptibility to dopaminergic sensitization by addiction, it pertains to individual differences. The induction of sensitization is determined by a number of individual factors, including genes, sex hormones, individualized patterns of drug exposure, nutritional status, stress hormones, etc. Dopamine (DA) mediates, in part, the positive reinforcing effects of some drugs and some foods. Because of this convergence, nutritional status can alter neurochemical and behavioral effects of drugs of direct and indirect action on dopaminergic systems. In this line, several studies have reported that food restriction decreases sensitivity to some behavioral effects of direct-acting dopamine agonists. Recently, it is beginning to elucidate not only the amount of food, but also the type of food, is a substantial factor in the modification of the behavioral effects of such

drugs. For example, studies in rats suggest that the intake of high-fat diet increases the sensitivity to some behavioral effects of direct agonists (eg. quinpirole) and indirect (eg. cocaine) DA receptor. On the other hand, once sensitized, most individuals show cross-sensitization. Even more intriguing, cross-sensitization can occur between drugs and nondrug stress. Several investigations have shown that the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal increases motivation and/or vulnerability to substance abuse, sensitizing the body to its reinforcing effects. Consequently, stress-drug cross-sensitization might be especially important in influencing stress-precipitated relapse, as well as initial susceptibility to addiction. Behavioral studies conducted in two sublines of Sprague-Dawley rats, selectively bred for high- (HY) and low-yawning (LY) frequency, found that HY rats are more vulnerable to certain types of stressors compared with LY rats. In rats, direct-acting dopamine receptor agonists produce yawning and hypothermia. This study used drug-induced yawning and body temperature, to examine changes in sensitivity of HY and LY rats to effects of the D3 agonist, pramipexole with free access to normal chow, restricted access (10 g/day) to normal chow, or free access to a high fat chow. After five weeks of diet change, food restriction in both sublines decrease the sensitivity pramipexole-induced yawning and hypothermia increase induced by this drug. In contrast, in the two sublines, free access to high-fat diet did not alter sensitivity of rats to pramipexole-induced yawning and pramipexole-induced hypothermia. In conclusion, these results support that changes in the sensitivity of DA systems due to nutritional status could represent an important factor in understanding of individual differences in response to therapeutic drugs and in vulnerability to drug abuse.

Keywords: Food restriction; High fat chow; High-yawning; Low-yawning; Sensitization.

Efectos de la restricción alimenticia y dieta alta en grasa en la sensibilidad a los efectos conductuales del pramipexol en ratas Sprague-Dawley de las sublíneas de alto y bajo bostezo.



Hubierna-Cordero E¹, Cortés MC², EguibarJR², Martínez-Gómez M^{3,4}, Castelán F³.

¹*Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala,*

²*Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,*

³*Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala,*

⁴*Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México*

La dopamina (DA) es un factor clave en el desarrollo de las adicciones tanto a drogas de abuso como a la comida apetitosa con alto contenido de grasas y azúcares. Se ha mostrado también que el estado nutricional puede alterar la sensibilidad a drogas con acción sobre el sistema dopaminérgico mesolímbico. Es importante destacar que la sensibilidad a los agonistas dopaminérgicos directos como el quinpirole e indirectos como la cocaína, disminuye al restringir el alimento y aumentan con una dieta alta en grasa. El bostezo inducido por dopaminérgicos es muy adecuado para evaluar los efectos de la dieta sobre este neurotransmisor. El objetivo fue evaluar los efectos del pramipexol en un grupo con restricción alimenticia (10 g/día) y otro con una dieta alta en grasa ad libitum, en ratas de las sublíneas HY (del inglés, High-Yawning) y LY (del inglés, Low-Yawning), las cuales difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo. Nuestros resultados muestran que en ambas sublíneas el bostezo inducido por pramipexol disminuye en ratas bajo restricción alimenticia, pero no se presentaron cambios significativos con la dieta alta en grasa. Mientras que los niveles basales de glucosa, colesterol y triglicéridos en plasma son mayores en las HY que en las LY. La administración de una dieta alta en grasa incrementó los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en ambas sublíneas, la glucosa se incrementó en las HY y se mantuvo sin cambios en las LY. Al volver a dieta estándar, se revirtieron los niveles de glucosa y triglicéridos, pero no los de colesterol. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el estado nutricional y las diferencias individuales pueden ser factores importantes en la sensibilidad a drogas dopaminérgicas terapéuticas y recreacionales.

Parcialmente financiado por la VIEP-BUAP salud 2014 a favor de JREC y MCCS.



La dieta remodela diferencialmente el tejido adiposo de las ratas Sprague-Dawley de las sublíneas de alto y bajo bostezo

Erika Hubierna-Cordero¹, Ma. del Carmen Cortés², José R. Eguibar², Margarita Martínez-Gómez^{3,4}, Francisco Castelán³.
¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ²Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

El remodelado del tejido adiposo es una respuesta metabólica fundamental para compensar las fluctuaciones en el balance energético. Así, el ayuno se relaciona con una reducción de este tejido, mientras que el consumo de una dieta altamente calórica resulta en una expansión, a través de los mecanismos de hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos. Particularmente, el segundo mecanismo a menudo se relaciona con el desarrollo de obesidad. Además, si esta es intra-abdominal se considera un factor de riesgo en la ocurrencia del síndrome metabólico. Cabe señalar que en el hombre, la mayor proporción de grasa abdominal es omental, pero en el roedor macho, los depósitos grasos de mayor tamaño son los gonadales unidos al epidídimo.

No obstante, estudios experimentales con roedores en ambientes obesogénicos muestran que algunos individuos no presentan estas respuestas, mientras que otros son más vulnerables a desarrollar obesidad inducida por la dieta. En esta línea, se reporta que un factor relevante en dicha vulnerabilidad es el proceso de sensibilización dopaminérgica, el cual consiste en la sensibilización a largo plazo del circuito mesolímbico dopaminérgico a los efectos reforzantes de las recompensas, incluyendo la comida altamente apetitosa.

Por otro lado, numerosas investigaciones farmacológicas y conductuales demuestran que en animales laboratorio, este tipo de sensibilización se puede inducir mediante la administración intermitente de drogas agonistas de acción dopaminérgica y/o la repetida exposición ante eventos estresantes. Del mismo modo, existe evidencia que indica una predisposición genética a la sensibilización a consecuencia de un eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) hiperactivo.

En conjunto, estos estudios sugieren que los modelos animales con activación diferencial del eje HPA son un excelente medio para evaluar la contribución de las diferencias genéticas en las respuestas metabólicas ante desbalances energéticos. Entre estos modelos se encuentran las ratas de alto bostezo o HY (del inglés high-yawning), y su contraparte, es decir las de bajo bostezo o LY (del inglés low-yawning).

Estudios previos reportan que las ratas HY y LY no solo exhiben diferencias en la frecuencia de bostezo, sino también a nivel del eje HPA. Por ejemplo, al confrontar situaciones estresantes, las ratas HY ejecutan respuestas conductuales altamente reactivas, en tanto que las LY responden proactivamente. Además, las ratas HY, en comparación con las LY, presentan hipertrofia adrenal y una restauración más lenta de los niveles de corticosterona posterior a la inducción de la repuesta al estrés. En base a estos antecedentes, se propuso que las ratas HY y LY también podrían diferir metabólicamente, en

particular, las HY serían más propensas a presentar los mecanismos patofisiológicos de adiposidad que caracterizan a la obesidad.

Para poner a prueba esta hipótesis nosotros evaluamos los efectos de una restricción alimenticia (10 g/día de dieta estándar con 5 % de grasa) y una dieta alta en grasa (34 %) *ad libitum* en el peso y la estructura histológica del tejido adiposo del epidídimo de las ratas HY y LY tratadas con el agonista dopaminérgico, pramipexol.

La realización de este estudio requirió el empleo de 24 ratas macho (12 HY y 12 LY) de dos meses de edad. Se distribuyeron de forma aleatoria en tres grupos y se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio. Las dietas se suministraron de la siguiente forma: Fase 1. Durante dos semanas todos los individuos tuvieron libre acceso a una dieta estándar (Lab Diet 5001, grasa = 4.5 %). Fase 2. El grupo uno continuó con la dieta estándar *ad libitum*, el grupo dos fue restringido a 10 g/día de dieta estándar por cada rata y el grupo tres accedió libremente a una dieta alta en grasa (Harland Teklad TD06414, grasa = 34.3 %). Fase 3. Los tres grupos nuevamente se alimentaron con dieta estándar *ad libitum* durante ocho semanas. Para inducir sensibilización dopaminérgica, se realizó una curva dosis-efecto con pramipexol (vehículo, 0.001 - 1 mg/Kg) en cada una de las fases, aplicando una dosis cada 48 h. Al término del periodo experimental se realizó la disección, fijación e inclusión del tejido adiposo del epidídimo. A través del uso de un micrótopo Leica (RM2135) se obtuvieron cortes transversales de 7 µm de grosor, que se tiñeron con hematoxilina-eosina. A cada corte se le tomaron fotografías y mediante el programa de análisis de imágenes Axion Vision v. 4.8 se cuantificó aleatoriamente el área vacuolar de los adipocitos.

Nuestros resultados muestran que el porcentaje de tejido adiposo del epidídimo no fue diferente de forma significativa con la restricción alimenticia o dieta alta en grasa dentro de cada sublínea. Asimismo, no existieron diferencias significativas entre las sublíneas HY y LY con ninguna de las dietas evaluadas. Sin embargo, en las ratas HY, la dieta alta en grasa, en comparación con la dieta estándar, incrementó de forma significativa ($P < 0.01$) el tamaño de los adipocitos, el cual también fue mayor ($P < 0.001$) al de las ratas LY alimentadas con dieta grasa. En conclusión, estos resultados sugieren que el remodelado del tejido adiposo en las ratas HY y LY no depende únicamente de la dieta, sino de una sinergia entre esta y los determinantes genéticos.

AGRADECIMIENTOS

Beca CONACyT No. 277505 otorgada a EHC. Parcialmente financiado por proyectos VIEP-BUAP SAL 2014 para MCC y JRE.



La dieta modifica diferencialmente los niveles de glucosa y triglicéridos en ratas de alto y bajo bostezo

¹Hubierna-Cordero Erika (estudiante de posgrado),²Cortés Sánchez María del Carmen,
^{2,3}Eguibar Cuenca José Ramón, ^{4,5}Martínez-Gómez Margarita, ⁴Castelán Francisco

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx

²Instituto de Fisiología, BUAP

³Dirección General de Investigación de la VIEP, BUAP

⁴Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx

⁵Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Diversos estudios muestran que los factores genéticos y recientemente el estado nutricional, son algunas diferencias individuales que modifican la respuesta a drogas de acción dopaminérgica, tanto terapéuticas como de abuso. Al mismo tiempo, las condiciones alimentarias, tales como la restricción alimenticia y la dieta alta en calorías modifican el peso corporal y los niveles circulantes de glucosa y triglicéridos. Dado que las ratas de las sublíneas High-Yawning (HY) y Low-Yawning (LY) presentan un alto grado de isogenicidad, así como diferentes estilos de afrontar condiciones de estrés, resulta importante valorar sus disimilitudes en factores metabólicos bajo distintos regímenes dietéticos. Por lo tanto, el objetivo de este proyecto fue evaluar los niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos antes, durante y después de una restricción alimenticia (10 g/día de dieta estándar con 5% de grasa) y una dieta alta en grasa (34%) *ad libitum*. Nuestros resultados muestran que antes del cambio de dieta, los niveles de glucosa y triglicéridos eran mayores en las ratas HY. La restricción alimenticia, en ambas sublíneas no modificó la glucosa, aunque disminuyó el de triglicéridos, los cuales al reanudar el libre acceso a dieta estándar se restauraron a los valores iniciales en las LY, pero se incrementaron en las HY. En contraste, la dieta alta en grasa aumentó la glucosa en las dos sublíneas y los triglicéridos únicamente en las LY. Sin embargo, al regresar a la dieta estándar *ad libitum*, ambos parámetros no fueron diferentes a los valores iniciales en las dos sublíneas, es decir se revirtió el efecto debido a la dieta. Estos resultados sugieren que la relación del estado nutricional con los factores genéticos podría tener un papel transcendental en el desarrollo de obesidad y en la respuesta diferencial a drogas terapéuticas o de abuso.

Parcialmente financiado por proyectos VIEP-BUAP SAL 2014 para MCC y JRE. Hubierna-Cordero Erika es becaria de CONACyT No. 277505.



High fat diet and food restriction differentially modify the behavioral effects of pramipexole in High-yawning and Low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats

Erika Hubierna-Cordero^{1,2}, Ma. del Carmen Cortes², José R Eguibar², Margarita Martínez-Gómez^{3,4}, Francisco Castelán³.

¹Universidad Autónoma de Tlaxcala

²Institute of Physiology, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

³Tlaxcala Center for Behavioral Biology, Universidad Autónoma de Tlaxcala

⁴Institute for Biomedical Research, Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 5-66, Puebla, Puebla, C.P.72430, México.

The important role of dopamine (DA) in mediating feeding behavior and the positive reinforcing effects of some drugs is well recognized. Because of this convergence, nutritional status might impact the sensitivity to the neurochemical and behavioral effects of drugs acting on DA systems as well as the development of sensitization to these drugs. In this regard, several studies report that food

other hand, once sensitized, most individuals show cross-sensitization. Even more intriguing, cross-sensitization can occur between drugs and nondrug stress. Consequently, stress-drug cross-sensitization might be especially important in the initial susceptibility to addiction. Behavioral studies conducted in two sublines of Sprague-Dawley rats, selectively bred for high- (HY) and low-yawning (LY) frequency, found that HY rats are more vulnerable to certain types of stressors compared with LY rats. Therefore, our study used drug-induced yawning to examine changes in sensitivity of HY and LY rats to effects of the D3 agonist, pramipexole with free access to normal chow, restricted access (10 g/day) to normal chow, or free access to a high fat chow. Results show that food restriction in both sublines decrease the sensitivity pramipexole-induced yawning. In contrast, in the two sublines, free access to high-fat diet did not alter sensitivity of rats to pramipexole-induced yawning. It also revealed that the basal levels of glucose, cholesterol and triglycerides are higher in rats HY subline. Furthermore, administration of high fat diet increased the concentration of glucose, cholesterol and triglyceride in rats HY, although in rats LY only increased levels of cholesterol and triglycerides, but not glucose. Additionally, in both sublines the return to standard diet, reversed glucose and triglycerides levels, but not the cholesterol. These results support the hypothesis that nutritional status and individual differences represent transcendental factors that could to contribution of changes in the sensitivity of dopamine systems to therapeutic and recreational drugs.

