

EFECTOS DE ANTAGONISTAS SELECTIVOS Y NO SELECTIVOS A RECEPTORES 5-HT_{2C} SOBRE LA ESTRUCTURA DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA EN RATAS*

*EFECTOS DE ANTAGONISTAS SELECTIVOS Y NO SELECTIVOS A
RECEPTORES 5-HT_{2C} SOBRE LA ESTRUCTURA DE LA CONDUCTA
ALIMENTARIA EN RATAS*

JUAN MANUEL MANCILLA-DÍAZ¹, RODRIGO ERICK ESCARTÍN-PÉREZ,
VERÓNICA ELSA LÓPEZ-ALONSO Y MELISSA RITO-DOMINGO.

LABORATORIO DE PSICOBIOLOGÍA DE LA ALIMENTACIÓN,
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FES-IZTACALCA.

RESUMEN

Se ha establecido que los receptores 5-HT_{2C} están involucrados en la ingesta de alimentos. Sin embargo, el rol de antagonistas selectivos y no selectivos a receptores 5-HT_{2C} aún no es claro. En el presente estudio se examinó el efecto de la serotonina (5-HT) sobre los patrones conductuales de alimentación de ratas pretratadas con RS-102221 (antagonista selectivo a receptores 5-HT_{2C}) o ciproheptadina (antagonista a receptores 5-HT_{2C/2A}). Los fármacos fueron administrados dentro del núcleo paraventricular hipotalámico (NPH). Los animales fueron mantenidos en un paradigma de auto-selección dietaria y con acceso libre a fuentes separadas de proteínas, carbohidratos, grasas y agua. Las ratas fueron mantenidas a una temperatura de 21 ± 1°C bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 h. Los resultados sugieren que el antagonista con mayor selectividad a receptores 5-HT_{2C} induce un bloqueo mayor al efecto hipofágico producido por la 5-HT en el NPH. Ambos antagonistas,

* Proyecto financiado por DGAPA, PAPIIT IN304406

1. Correspondencia: Dr. Juan Manuel Mancilla Díaz, Av. de los Barrios # 1, los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. CP. 54090. Telephone: +52(55) 5623 1298. Fax: +52(55) 5390 7604, e-mail: jmmd@servidor.unam.mx

selectivos y no selectivos, a receptores 5-HT_{2C} mostraron tener participación sobre la conducta alimentaria, principalmente en la expresión de la saciedad.

Palabras clave: 5-HT_{2C} — RS-102221 — Ciproheptadina —ingesta de alimentos — patrones alimentarios

ABSTRACT

It is known that the 5-HT_{2C} receptors are involved in the regulation of food intake. Nevertheless, the relative role of selective and nonselective 5-HT_{2C} receptor antagonists in the control of feeding behavior remains uncertain. In the present study, we examined the effects of serotonin (5-HT) on the feeding behavior patterns of rats pretreated with RS-102221 (5-HT_{2C} receptor selective antagonist) or cyproheptadine (5-HT_{2C/2A} receptor antagonist). The drugs were injected into the paraventricular hypothalamus nucleus (PVN). The animals were maintained in a self-selection feeding paradigm and provided with freely available and separate sources of protein, carbohydrate, fat, and water. The rats were kept at 21 ± 1°C on a 12 h light and 12 h dark cycle. Our results indicate that more selective 5-HT_{2C} antagonists induce a major blockade of the hypophagic effect produced by 5-HT in the PVN. Both, selective and nonselective 5-HT_{2C} receptors have shown participation in feeding behavior, mainly in the expression of satiation.

Keywords: 5-HT_{2C} — RS-102221 — Cyproheptadine —Food intake — Meal patterns

INTRODUCCIÓN

Varios estudios han subrayado que los receptores 5-HT_{2C} están involucrados en la regulación del consumo de alimentos (Fletcher & Coscina, 1993; Poeschla, Gibbs, Simansky & Smith, 1992). Sin embargo, el rol de estos receptores en la regulación de la conducta alimentaria, aún no ha sido establecido. Los fármacos agonistas a receptores 5-HT_{1B} o 5-HT₂ tales como el 5-methoxy-3-(1,2,3,6-tetrahydro-4-pyridinyl)H-indole (RU 24969), la 1-(3-chlorophenyl)piperazine (mCPP), la 1-[3-(trifluoromethyl)phenyl]piperazine (TFMPP) y el d 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI), suprinen el consumo de alimento en ratas privadas y no privadas (Heuring & Peroutka, 1987; Peroutka & Snyder, 1979; Leibowitz & Alexander, 1988; Voigt, Kienzle, Sohr, Rex & Fink, 2000; Blundell, 1984; Leibowitz, Weiss & Suh, 1990; Kłodzinska & Chojnacja-Wojcik, 1990).

La ciproheptadina (antagonista 5-HT_{2C}) se ha utilizado clínicamente para aumentar la ingestión de alimentos y el peso corporal en humanos (Noble, 1969; Silverstone & Schuyler, 1975). Sin embargo, también han sido reportados datos contradictorios (Konstandi, Dellia-Sfikaki & Varonos, 1996; Comer, Haney, Fischman & Foltin, 1997), en algunos casos se informa un aumento en la ingestión de alimentos (Shor-Posner, Grinker, Marinescu, Brown & Leibowitz, 1986), incrementos en la duración del primer episodio de alimentación (Baxter, Miller & Soroko, 1970), aumento en la ingestión de agua y ganancia de peso corporal (Ghosh & Parvathy, 1973); mientras que en otros trabajos no se reportan efectos sobre la ingestión de alimentos (Blavert, DeFeudis & Clostre, 1982; Fletcher, 1988). También se ha reportado que la acción anoréctica de la serotonina (5-HT) puede ser bloqueada por antagonistas a 5-HT como la mianserina (Mancilla-Díaz, Escartín-Pérez, López-Alonso & Cruz-Morales, 2002), metergolina (Fletcher, 1988), metilsergida (Fletcher, 1988; Kanarek & Dushkin, 1988); ritanserina (Massi & Marini, 1987; Fletcher, 1988) pero no por la ciproheptadina (Fletcher, 1988). Estas contradicciones pueden encontrar explicación en las diferencias metodológicas como las características de la dieta, disponibilidad de alimento vía de administración de los fármacos, drogas utilizadas; así como los procedimientos de monitoreo.

Ju y Tsai (1995) reportaron que al estudiar los mecanismos serotoninérgicos involucrados con la supresión de la ingestión de alimentos, observaron que la administración de ciproheptadina (4 mg/kg, i.p) en ratas, bloqueó el efecto anoréxico inducido por el 5-hidroxitriptófano (5-HTP), precursor de serotonina. Indicando estos resultados que la acción hipofágica del 5-HTP es mediada por receptores 5-HT₂.

Otros autores como Prelusky, Rotter, Thompson y Trenhol (1997) reportaron la capacidad de la ciproheptadina para bloquear el efecto anoréxico inducido por el deoxinivalenol (antagonista 5-HT). En pichones se reportó que la ciproheptadina bloqueó el efecto hipofágico inducido por la administración del agonista a serotonina, zimelidina (Tempel, Shor-Posner, Dwyer & Leibowitz, 1989).

Se ha establecido que los agonistas a receptores 5-HT con alta o moderada afinidad a los subtipos 5-HT₁ y 5-HT₂ afectan la conducta alimentaria. Sin embargo, el rol preciso de cada uno de los miembros de la familia de estos receptores (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}) en el control de la conducta alimentaria, así como el mecanismo fisiológico, neuroanatómico y conductual que subyace al efecto hipofágico, aún no es claro (Kennett, et al., 1996; Bonhaus, et al., 1997; De Vry & Schreiber, 2000). Algunos reportes (Halford, Wanninayake & Blundell, 1998; Mancilla-Díaz, Escartín-Pérez & López-Alonso, 2003; Mancilla-Díaz, Escartín-Pérez, López-Alonso, Floran-Garduño & Romano-Camacho, 2005; De Vry & Schreiber, 2000; Schreiber & De Vry, 2002) han sugerido que los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} son fuertes

candidatos para mediar la acción inhibitoria de la 5-HT sobre la conducta alimentaria.

Recientemente Hewitt, Lee, Dourish y Clifton (2002), reportaron que el agonista 5-HT_{2C} (Ro 60-0175) induce hipofagia a dosis dependientes sin afectar la secuencia de saciedad conductual. Por otro lado, Clifton, Lee y Dourish (2000) reportaron que la hipofagia inducida por el Ro 60-0175 está relacionada con un aumento en la latencia; así como una disminución en la duración y en la tasa local de alimentación. En estudios con ratones transgénicos (Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999) se ha reportado un aumento en la duración de los episodios alimentarios; así como una demora en la aparición de la conducta de descansar. También la supresión en la ingestión de alimento inducida por la d-fenfluramina es sensiblemente disminuida en ratones *knockout*.

Con base a lo anterior, la función específica de los receptores 5-HT_{2C} en el mecanismo regulador de la conducta alimentaria aún no ha sido totalmente establecida; ya que se conoce que la ciproheptadina tiene afinidad tanto por los receptores 5-HT_{2A} como por los 5-HT_{2C} (Bonhaus et al., 1997). Por otro lado, algunos fármacos como el RS-102221 han mostrado una mayor afinidad por los receptores 5-HT_{2C} en comparación con receptores 5-HT_{2A} o 5-HT_{2B}; lo cual hace que se tenga una ventaja farmacológica para el estudio de la función específica de este subtipo de receptores (5-HT_{2C}). Bajo esta línea de razonamiento, el propósito de este estudio fue examinar la participación de la ciproheptadina (agonista no selectivo 5-HT_{2A/2C}) y el RS-102221 (antagonista selectivo 5-HT_{2C}), así como los efectos de la 5-HT en los patrones de la conducta alimentaria en ratas pretratadas con ciproheptadina o RS-102221 en el núcleo paraventricular (NPH) de ratas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar de 200-230 g al inicio del experimento. Los animales fueron provistos por el Bioterio de la FES-Iztacala, UNAM. Todos los procedimientos del presente estudio fueron realizados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Dietas

Hidratos de carbono (harina de maíz Maseca, maíz nixtamalizado, Molinos Azteca de Chalco S.A. de C.V., planta Teotihuacan), proteínas (proteína aislada de soya 91.5% marca Supro 500 E, distribuido por Protein Technologies International, S.A. of C.V. Checkerboard Square, St. Louis, MO), grasas

(manteca vegetal Inca. Elaborado por Anderson Clayton & Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México). El agua fue enriquecida con Vitater, un suplemento vitamínico (hecho en México por Laboratorio Maver).

Fármacos

5-Hidroxitriptamina (5-HT), ciproheptadina (elaborados por Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) y RS-102221 (elaborado por Tocris). Las drogas fueron disueltas en una solución de NaCl al 0.9% y administradas en dosis de 2 μ mg/0.5 μ ml. Ambos fármacos fueron gradualmente inyectados dentro del NPH a una velocidad de 0.3 μ ml x 1 min, usando una jeringa Hamilton de 5 μ ml (Hamilton Co., Reno, NV) y un catéter de polietileno. Para asegurar una difusión completa de las sustancias el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía, luego fue retirada. Los fármacos se prepararon inmediatamente antes de su administración.

Cirugía estereotáctica

Los animales fueron anestesiados con hidrato de cloral (350mg/kg). Una vez anestesiados, se fijaron a un estereotáxico y se les implantó una cánula (1.5 cm de longitud), 2 mm por arriba del NPH del lado derecho. Las coordenadas sugeridas se tomaron del Atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986), posterior a bregma -1.40 mm; lateral a la línea media 0.3 mm y de profundidad a partir de dura madre 7.7 mm. Las coordenadas fueron corregidas previamente por ensayo y error en un grupo piloto, inyectando azul de metileno a través de la cánula guía hasta teñir el NPH. Posterior a la corrección, las coordenadas fueron las siguientes: posterior a bregma -1.30 mm; lateral a la línea media 0.4 mm y de profundidad a partir de dura madre -6.4 mm. Finalmente se aplicaron 50.000 u/kg, im de penicilina benzatínica para prevenir infecciones.

Procedimiento

Se colocaron a las ratas de manera aleatoria en cajas habitación, individuales, cada una de ellas con tres comederos y mantenidas en un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12x12 hr con libre acceso a agua y alimento. Los animales se pesaron a las 8:00 hr, una hora antes de iniciar el ciclo de oscuridad (9:00 hr). Las ratas tuvieron acceso a una dieta de fuentes separadas para carbohidratos, proteínas y grasas. Cada nutriente se cambió de lugar de acuerdo a un orden preestablecido, para evitar "preferencia de lugar". El tiempo bajo estas condiciones fue de una semana.

Después de lo anterior, los animales fueron sometidos a cirugía estereotáctica. Después de cuatro días, posterior a la cirugía (período de recuperación), los animales fueron asignados aleatoriamente a seis grupos de diez animales cada uno (control [Vh], 5-HT, ciproheptadina [CIPRO], RS-102221

[RS], pretratado con ciproheptadina [CIPRO+5-HT] y pretratado con RS-10221 [RS+5-HT]). Las ratas fueron inyectadas dentro de NPH de la manera siguiente:

- Salina seguida por salina (control)
- Salina seguida por 5-HT (5-HT)
- Salina seguida por ciproheptadina (CIPRO)
- Salina seguida por RS-10221 (RS)
- Ciproheptadina seguida de 5-HT (CIPRO + 5-HT) y RS-10221 seguida por 5-HT (RS+5-HT).

A todos los animales se les administraron dos inyecciones dentro del NPH, el tiempo entre una y otra administración fue de diez minutos, posteriormente fueron regresados a sus cajas habitación. Una vez iniciado el periodo de oscuridad se realizó un registro de duración continua de 20 min, al finalizar el registro se pesaron y llenaron los comederos (cuidando de recolectar lo que cayera del comedero) para determinar el consumo de alimento.

Las cajas habitación de los sujetos experimentales estaban conectadas a una computadora para recolectar los datos del registro continuo, auxiliados por un programa que permite cronometrar el momento de acceso a los comederos, al bebedero y el tiempo que permanece el sujeto en cada uno de ellos, consecuentemente también se conoce el alimento seleccionado por la rata. Al mismo tiempo se filmaron todos los sujetos a través de una cámara de circuito cerrado para bajas intensidades de luz, para cuantificar el tiempo que pasaban inactivos (descansando). Todo esto se realizó desde un cuarto contiguo para no interferir la conducta de los sujetos experimentales.

Medidas conductuales

Se consideró como un episodio alimenticio, a un período de alimentación no interrumpido por otra conducta. Los parámetros considerados a partir de esta primera definición fueron: frecuencia de los episodios alimentarios y duración de estos en segundos, tiempo entre episodios alimentarios, tasa local de la alimentación, beber y descansar. La frecuencia se definió como el número de episodios alimentarios presentes en un período de registro; la duración del episodio alimentario (s) quedó definida como el tiempo total de ingestión (de cada uno de los alimentos); el tiempo entre episodios alimentarios se definió como el tiempo que transcurre entre un episodio alimentario y otro; la tasa local de alimentación (g/s) se definió como la cantidad de alimento consumido (g) entre la duración de los episodios alimentarios (s); beber fue definido como el tiempo que permaneció el sujeto en contacto con el bebedero; y descansar como el tiempo en el que el sujeto se echaba en el extremo contrario a los comederos y se mantenía inmóvil. Además de los parámetros microestructurales también se calculó la ingestión de proteínas, de carbohidratos, de

grasas y el total ingerido en gramos. El análisis detallado de los parámetros alimentarios permite realizar registros de menor duración (20 min) en comparación con los registros de mayor duración (4 horas o monitoreo continuo).

Histología

Al finalizar las observaciones, los animales fueron perfundidos intracardialmente, primero con solución isotónica de NaCl al 0.9 % y luego con formalina al 10.0 %, para la remoción del cerebro, el cual se mantuvo 7 días en formol al 10.0 %. Posteriormente se realizaron cortes histológicos coronales de 70 μm de espesor con un vibratomo, para luego teñirlos con la técnica de Nissl y poder así verificar el sitio de implantación de la cánula.

Técnica de Nissl: Los cortes histológicos son adheridos con grenetina en un portaobjetos se lavan en agua y se tiñen por 5 minutos con una solución colorante de azul de metileno al 5%. Se extrae el exceso de colorante con dos lavados en agua destilada (2 min), se deshidratan en una serie creciente de alcohol por 2 minutos (etanol 70%, 96% y 100%) y se aclaran en xilol (5-10 min). Finalmente se aplica bálsamo de Canadá.

Análisis de resultados

Posterior a la verificación del sitio de implantación (Fig. 1), los grupos quedaron conformados de la manera siguiente: grupo control, n=8; grupo 5-HT, n=8; grupo CIPRO, n=8; grupo RS, n= 6; grupo CIPRO+5-HT, n=8 y grupo RS+5-HT, n=6.

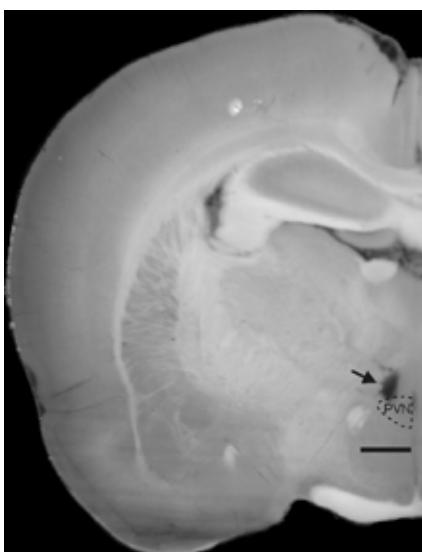


Figura 1. Fotografía que muestra el lugar de implantación de la cánula en el NPH. Las coordenadas se tomaron del Atlas Estereotáxico de Paxinos y Watson (1986). Los datos de los sujetos canulados en este sitio fueron considerados para el análisis de resultados.

Cada unidad de análisis (ingestión de proteínas, carbohidratos y grasas), así como cada uno de los parámetros de la estructura alimentaria (tiempo entre episodios alimenticios; duración de los episodios alimenticios; frecuencia de los episodios alimenticios; tasa local de alimentación; tiempo que dedican a beber agua y tiempo que dedican a descansar) se analizaron empleando un análisis de varianza de una entrada (ANOVA) y la comparación por pares se hizo con la prueba de Tukey. Los resultados se presentan en términos de las medias \pm el error estándar de la media (EEM) cada parámetro fue analizado por separado considerando los tratamientos como variable de agrupación. El procesamiento estadístico se llevó a cabo con el paquete denominado SPSS (versión 12.0 para Windows).

RESULTADOS

El análisis de los datos mostró que el consumo de carbohidratos (Fig. 2) fue afectado significativamente con la administración intra-paraventricular de los fármacos [$F(5, 38) = 7.5; P < 0.0001$]. La prueba de Tukey indicó que el tratamiento con 5-HT (grupo 5-HT) produjo una disminución significativa en la ingestión de carbohidratos en comparación con el grupo control (Vh). Cuando los animales fueron tratados con RS la ingestión de carbohidratos aumentó significativamente con respecto al grupo 5-HT y en los pretratados con RS (RS+5-HT) el efecto supresor inducido por la 5-HT fue prevenido significativamente al inicio del periodo natural de alimentación (oscuridad). Los grupos tratados con ciproheptadina (CIPRO) y con CIPRO+5-HT no mostraron diferencias significativas en la ingestión de carbohidratos con respecto a los grupos Vh y 5-HT. Sin embargo, con el tratamiento de RS, se observó una reducción significativa en la ingestión de carbohidratos en comparación con los grupos 5-HT, CIPRO y CIPRO+5-HT. La ingestión de grasas y proteínas permaneció sin efectos (Tabla 1).

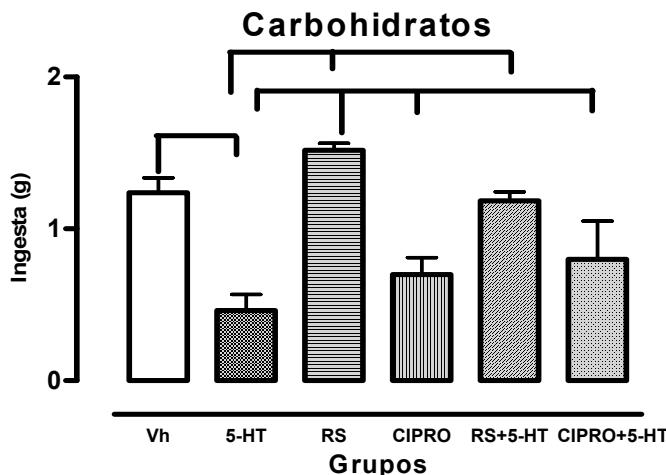


Figura 2. Los valores representan la media \pm EEM de la ingesta de carbohidratos en ratas con alimentación libre, seguido de la administración de Vehículo (Vh), 5-HT, RS o Cipro (ciproheptadina) y de los pretratamientos con RS (RS+5-HT) o ciproheptadina (cipro+5-HT). Las diferencias significativas fueron determinadas por un ANOVA de una vía [$F (5, 38) = 7.5; P < 0.0001$], seguido de la prueba *post hoc* Tukey. La línea vertical larga indica el grupo que la prueba *post hoc* Tukey está comparando y las líneas verticales cortas indican contra qué tratamiento(s) reportó diferencias significativas.

En relación con los patrones alimentarios se observó que la frecuencia de la ingestión de carbohidratos (Fig. 3) fue significativamente diferente entre los grupos [$F (5, 38) = 2.52; P < 0.05$]. Sin embargo, en la comparación múltiple (Tukey) no se observaron diferencias entre los tratamientos sobre la frecuencia, por lo que sólo es posible señalar una tendencia a aumentar la frecuencia en los grupos RS y RS+5-HT en comparación con los grupos restantes. La frecuencia del consumo de proteínas y grasas permaneció sin efectos (Tabla 1). El análisis estadístico reveló que la duración de los episodios alimentarios y la tasa local de alimentación de los tres nutrientes; así como el tiempo entre episodios alimentarios para proteínas y grasas no fue afectada. (Tabla 1). Sin embargo, en el grupo 5-HT se observa una clara tendencia a disminuir la duración de los episodios alimentarios de carbohidratos; el cual fue preventido en los grupos pretratados, RS+5-HT y CIPRO+5-HT (Tabla 1).

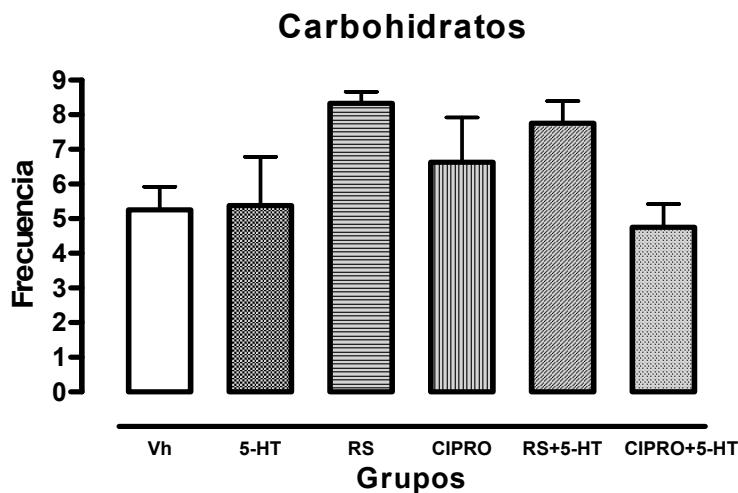


Figura 3. Los valores representan la media \pm EEM de la frecuencia de episodios de carbohidratos en ratas con alimentación libre, seguido de la administración de Vehículo (Vh), 5-HT, RS o Cipro (ciproheptadina) y de los pretratamientos con RS (RS+5-HT) o ciproheptadina (cipro+5-HT). La prueba ANOVA reveló diferencias estadísticas significativas entre grupos [$F=2.52 (5, 38)$]. $P \leq (0.0001)$. La prueba múltiple (Tukey) no reportó diferencias entre los tratamientos sobre la frecuencia.

	Vh	5-HT	Condiciones			CIPRO+5-HT
			RS	CIPRO	RS+5-HT	
Ingesta (g)						
Proteínas	0.11 ± 0.004	0.16 ± 0.006)	0.007 ± 0.003	0.18 ± 0.11	0.10 ± 0.004	0.009 ± 0.004
Grasas	0.71 ± 0.35	0.30 ± 0.13)	0.21 ± 0.007	0.26 ± 0.12	0.33 ± 0.008	0.30 ± 0.10
Frecuencia						
Proteínas	1.37 ± 0.62	1.25 ± 0.52	1.01 ± 0.44	1.62 ± 1.03	1.16 ± 0.98	1.12 ± 0.58
Grasas	1.25 ± 0.52	2.12 ± 1.07	3.00 ± 1.78	2.37 ± 1.83	2.83 ± 1.47	2.37 ± 0.77
Duración (s)						
Proteínas	34.4 ± 16.2	34.1 ± 15.8	10.5 ± 5.2	4.1 ± 2.5	9.7 ± 3.0	12.3 ± 7.4
Carbohidratos	101.6 ± 14.5	50.6 ± 7.8	97.2 ± 13.6	91.5 ± 27.2	96.8 ± 11.8	79.2 ± 36.4
Grasas	34.8 ± 16.3	42.9 ± 26.1	14.9 ± 1.6	3.6 ± 2.5	22.6 ± 4.7	45.6 ± 15.5
Tasa local de alimentación (g/s)						
Proteínas	0.0019 ± 0.0007	0.0047 ± 0.002	0.0037 ± 0.002	0.015 ± 0.01	0.0088 ± 0.003	0.0038 ± 0.002
Carbohidratos	0.013 ± 0.002	0.0075 ± 0.001	0.023 ± 0.002)	0.011 ± 0.003	0.023 ± 0.012	0.0094 ± 0.002
Grasas	0.016 ± 0.007	0.012 ± 0.007	0.014 ± 0.001	0.028 ± 0.01	0.017 ± 0.003	0.0069 ± 0.002
Tiempo entre episodios (s)						
Proteínas	769.9 ± 209.8	931 ± 176.2	997 ± 139.9	949.2 ± 165.2	1145.8 ± 54.1	921.7 ± 182.5
Grasas	1005 ± 128.6	933.3 ± 174.5	791.8 ± 159	786.2 ± 202.5	327.8 ± 176.6	569.2 ± 189.1

Tabla 1. Los resultados representan la media ± EEM de los parámetros de la estructura de la conducta alimentaria seguidos de la administración de Vehículo (Vh), 5-HT, RS o Cipro (ciproheptadina) y de los pretratamientos con RS (RS+5-HT) o ciproheptadina (CIPRO+5-HT). No se encontraron diferencias estadísticas significativas.

El análisis del tiempo entre episodios alimentarios para carbohidratos (Fig 4), mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos [$F (5, 38) = 3.76$; $P < 0.01$]. Las comparaciones múltiples mostraron que el tratamiento con 5-HT induce un aumento significativo sobre el tiempo entre episodios alimentarios para carbohidratos en comparación con los grupos 5-HT, RS, RS+5HT y CIPRO. Estos datos muestran la capacidad de la ciproheptadina y del RS-10221 para bloquear el efecto supresor inducido por la 5-HT sobre este parámetro de la conducta alimentaria. El grupo pretratado con ciproheptadina (CIPRO+5-HT) incremento el tiempo entre episodios alimentarios para carbohidratos en comparación con el grupo de CIPRO. Esta tendencia permite sugerir que el pretratamiento con ciproheptadina es incapaz de bloquear el efecto inducido por la 5-HT sobre el tiempo entre episodios, únicamente logra prevenir los efectos de la 5-HT.

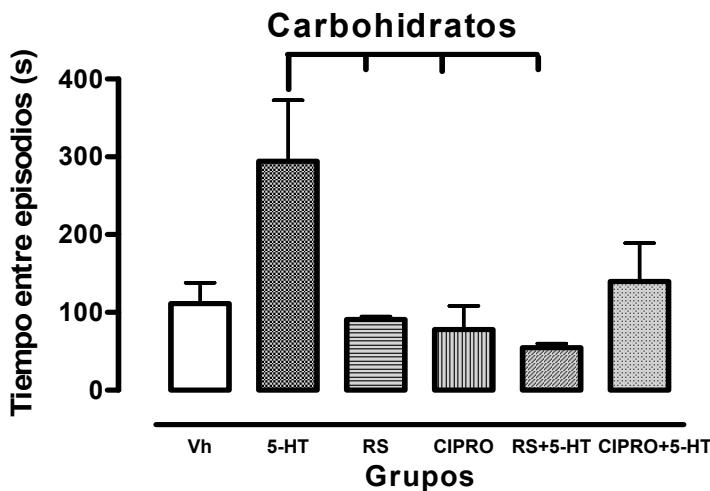


Figura 4. Los resultados representan la media \pm EEM del tiempo entre episodios alimentarios de carbohidratos en ratas con alimentación libre, seguido de la administración de Vehículo (Vh), 5-HT, RS o Cipro (ciproheptadina) y de los pretratamientos con RS (RS+5-HT) o ciproheptadina (cipro+5-HT). Las diferencias significativas fueron determinadas por un ANOVA de una vía [$F (5, 38) = 3.76$; $P < 0.01$], seguido de la prueba *post hoc* Tukey. La línea vertical larga indica el grupo que la prueba *post hoc* Tukey está comparando y las líneas verticales cortas indican contra que tratamiento(s) reportó diferencias significativas.

En la tabla 2 Se presentan los datos en términos de las medias \pm EEM en la duración de las conductas de beber y descansar. El análisis reveló diferencias significativas [$F(5, 38) = 4.08; P < 0.01$] en la duración de la conducta de beber. La prueba de Tukey señala que en el grupo RS se observó un aumento en la conducta de beber comparado con los grupos control (Vh), 5-HT y CIPRO+5-HT. En el grupo 5-HT se observó un aumento significativo [$F(5, 38) = 4.06; P < 0.01$] en la conducta de descansar, comparado con los grupos CIPRO y CIPRO+5-HT.

	Condiciones					
	Vh	5-HT	RS	CIPRO	RS+5-HT	CIPRO+5-HT
Conducta						
Beber (s)	33.5 \pm 8.7	22.1 \pm 4.4	146 \pm 9.9*	88.8 \pm 50.5	106.6 \pm 7.1	30.6 \pm 11.6
Descansar (s)	367.1 \pm 125.6	516.3 \pm 133.6 ^a	143.3 \pm 42	92.2 \pm 64.9	374.3 \pm 96.1	51.5 \pm 36

*Tabla 2. Los resultados representan la media \pm EEM de las conductas de beber y descansar en ratas con alimentación libre, seguido de la administración de Vehículo (Vh), 5-HT, RS (RS-10221) o CIPRO (ciproheptadina) y de los pretratamientos con RS-10221 (RS+5-HT) o ciproheptadina (CIPRO+5-HT). Las diferencias significativas fueron determinadas por un ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc Tukey. *P \leq (0.01) (RS vs Vh, 5-HT y CIPRO+5-HT) ^aP \leq (0.01) (5-HT vs CIPRO y CIPRO+5-HT); n=6-8 por grupo.*

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio replican y extienden los hallazgos previamente reportados, en relación a que la actividad serotoninérgica en el NPH de ratas tiene un efecto supresor sobre la conducta alimentaria y produce una disminución selectiva en la ingestión de carbohidratos, específicamente en el arranque del ciclo natural (oscuridad) de alimentación (Shor-Posner et al., 1993; Tempel et al., 1989). En el presente estudio, el efecto supresor de la 5-HT sobre la ingestión de carbohidratos fue prevenido por los antagonistas ciproheptadina (5-HT_{2C/2A}) y RS-10221 (5-H_{2C}) al arranque del ciclo natural de alimentación. El pretratamiento con RS-10221(antagonista selectivo 5-HT_{2C}) indujo un efecto más pronunciado comparado con el pretratamiento con ciproheptadina (antagonista no selectivo 5-HT₂). También fue observado que el tratamiento solo con RS-10221 fue más potente en aumentar la ingestión de carbohidratos que la ciproheptadina sola. Estos datos sugieren que la actividad, principalmente de los receptores 5-HT_{2C}, es necesaria para la expresión del efecto hipofágico inducido por la 5-HT. Con-

firmando hallazgos de investigaciones previas en las que se muestra que el receptor 5-HT_{2C} juega un papel preponderante en el control de la ingesta de alimento. Tecott et al. (1995) demostraron que los ratones mutantes o *knock-out* (faltos de receptores 5-HT_{2C}, al eliminar el gen que codifica para estos receptores), tienen sobrepeso comparados con ratones *wild type* (hermanos heterocigotos que no expresan la ausencia del receptor), ligando este efecto al incremento de la ingesta de alimento. Los agonistas no selectivos 5-HT_{2C} como m-CPP y TFMPP se reporta producen hipofagia (De Vry & Schreiber, 2000; Kennett & Curzon, 1988; Kennett, Dourish & Curzon, 1987; Walsh, Smith, Oldman, Williams, Goodall, Cowen, 1994), la cual es bloqueada por antagonistas selectivos de los receptores 5-HT_{2C} (Giorgetti & Tecott, 2004; Hewitt, et al., 2002).

El análisis de los datos sobre los patrones de la conducta alimentaria reveló que el grupo tratado con RS-10221 tendió a aumentar la frecuencia de los episodios alimentarios. También fue observado que en los grupos CIPRO y RS fue prevenido el aumento de los tiempos entre episodios alimentarios de carbohidratos, inducidos por la 5-HT. Pero el RS indujo un efecto más pronunciado en la prevención del tiempo entre episodios en comparación a la ciproheptadina. Estos datos sugieren que el rol de los receptores 5-HT₂ sobre el control serotoninérgico de la conducta alimentaria está directamente relacionado con la expresión de la saciedad.

En general, se ha reportado que los antagonistas a receptores 5-HT_{2C} no selectivos, tales como la mianserina y la metergolina (Kennett & Curzon, 1988) inducen un bloqueo mayor de los efectos hipofágicos en comparación con antagonistas a 5-HT_{2C} más selectivos como el SB 242,084 (De Vry & Schreiber, 2000). Nuestros datos contrastan con lo anterior; ya que en este estudio se observó un bloqueo mayor con el antagonista selectivo en comparación con el antagonista no selectivo, apoyando lo reportado por Kennett et al (1997). Estas diferencias, probablemente se relacionan a variables como la vía de administración, el género, las condiciones de acceso al alimento y la fase (luz-oscuridad) de registro (Schreiber & De Vry, 2002).

Por otro lado, los receptores 5-HT_{2C} mostraron tener participación en el control de la conducta de beber; ya que en la presente investigación se observó un aumento del tiempo que los sujetos dedican a esta conducta. En investigaciones previas se ha observado que la administración de algunos fármacos con actividad serotoninérgica produce cambios en el patrón temporal de la conducta de ingesta de agua. Investigaciones en donde se realiza el análisis temporal de la conducta alimentaria señalan que normalmente los animales ingieren alimento y posteriormente beben en el arranque del ciclo natural (oscuridad). Clifton et al. (2000) señalan que la administración Ro 600175 (agonista 5-HT_{2C}) invierte el patrón normal es decir los animales experimentales primero beben y después comen afectando la latencia para

iniciar la conducta de beber. Se ha visto que la administración de CP 94,253 (agonista 5-HT_{1B}) decrementa la frecuencia de los episodios para beber. También se ha reportado que los receptores 5-HT_{1B} tienen control sobre la cantidad de agua ingerida (Bouwknecht, van der Gugtena, Hijzena, Maesb, Henc & Olivier, 2001; Lee, Kennett, Dourish & Clifton, 2002). Los resultados de la presente investigación son una evidencia más de que el sistema serotoninérgico en particular el receptor subtipo 5-HT_{2C} del NPH está involucrado en el control del desarrollo temporal de la conducta de beber.

El aumento del tiempo para descansar inducido por la administración de la 5-HT fue bloqueado con el pretratamiento de ciproheptadina (CIPRO+5-HT) la administración de ciproheptadina redujo el tiempo dedicado a descansar. Estos datos concuerdan con investigaciones previas realizadas en nuestro laboratorio. Bajo un análisis de secuencia de saciedad conductual se demostró que la administración de 5-HT induce el desarrollo temprano del descanso en tanto que la ciproheptadina lo pospone. (López, Mancilla & Escartín, 2003) el pretratamiento con ketanserina (antagonista 5-HT_{2A/2C}) tendió a disminuir el tiempo de descanso inducido por la administración de 5-HT (Mancilla, Escartín & López, 2006). Halford, Wanninayake y Blundell (1998) señalan que algunos de los fármacos con actividad serotoninérgica como el MK-212 y pimozida pueden producir efectos sobre las conductas de descanso y consecuentemente inducir la reducción de la ingesta de alimento. Los resultados de la presente investigación sugieren que la conducta de descanso en parte está mediada por receptores 5-HT₂ del NPH.

Finalmente, los resultados del presente estudio mostraron que el antagonista selectivo a receptores 5-HT_{2C} tiene mayor capacidad para bloquear el efecto supresor que induce la 5-HT en el NPH. Ambos antagonistas a receptores 5-HT_{2C} (selectivo y no selectivo) mostraron tener participación sobre la conducta alimentaria, principalmente en la expresión de la saciedad.

REFERENCIAS

- Baxter, M.G., Miller, A.A. & Soroko, F.E. (1970). The effect of cyproheptadine on food consumption in the fasted rat. *British Journal of Pharmacology*, 39(1), 229P-230P.
- Blavert, N., DeFeudis, F.V. & Clostre, F. (1982). Inhibition of food intake in the rat by cyproheptadine. *Experientia*, 38(2), 264-265.
- Blundell, J.E. (1984). Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*, 23, 1537-1551.
- Bonhaus, D.W., Weinhardt, K.K., Taylor, M., Desouza, A., Mcneeley, P.M., Szczepansky, K., Fontana, D.J., Trinh, J., Rocha, C.L., Dawson, M.W., Flippin, L.A. & Eglen, R.M. (1997). RS-102221: A novel high affinity and selective, 5-HT_{2C} receptor antagonist. *Neuropharmacology*, 36, 621-629.

- Bouwknecht, J. A., van der Gugten, J., Hijzena, T.H., Maesb, R.A., Henc, R. & Olivier, B. (2001). Male and female 5-HT_{1B} receptor knockout mice have higher body weights than wildtypes. *Physiology and Behavior*, 74, 507– 516.
- Clifton, P.G., Lee, M.D. & Dourish, C.T. (2000). Similarities in the action of Ro 60-0175, a 5-HT_{2C} agonist, and D-fenfluramine and p-chloromethamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, 152, 256-67.
- Comer, S.D., Haney, M., Fischman, M.W. & Foltin, R.W. (1997). Cyproheptadine produced modest increase in total caloric intake by humans. *Physiology and Behavior*, 62(4), 831-839.
- De Vry, J. & Schreiber, R. (2000). Effects of selected serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonists on feeding behavior: possible mechanisms of action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 341-353.
- Fletcher, P.J. (1988). Increased food intake in sated rats induced by the 5-HT antagonists methysergide, metergoline and ritanserin. *Psychopharmacology*, 96, 237-242.
- Fletcher, P.J. & Coscina, D.V. (1993). Injecting 5-HT into the PVN does not prevent feeding induced by injecting 8-OH-DPAT into the raphe. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 46, 487-491.
- Ghosh, M.N. & Parvathy, S. (1973). The effect of cyproheptadine on water and food intake and on body weight in the fasted adult and weanling rats. *British Pharmacological Society*, 48(2), 328-329.
- Giorgetti, M. & Tecott, L. (2004). Contributions of 5-HT_{2C} receptors to multiple actions of central serotonin systems. *European Journal of Pharmacology*, 488, 1-9.
- Haldford, J.C.G., Wanninayake, C.D. & Blundell, J.E. (1998). Behavioral satiety sequences (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 61(2), 159-168.
- Heuring, R.E. & Peroutka, S.J. (1987). Characterization of ³H-5-HT binding in bovine caudate. *Journal of Neuroscience*, 7, 894-903.
- Hewitt, K.N., Lee, M.D., Dourish, C.T. & Clifton, P.G. (2002). Serotonin 2C receptor agonists and the behavioural satiety sequence in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71, 691-700.
- Ju, C.Y. & Tsai, C.T. (1995). Serotonergic mechanisms involved in the suppression of feeding by 5-HTP in rats. *Chinese Journal of Physiology*, 38, 235-40.
- Kanarek, R.B. & Dushkin, H. (1988). Peripheral serotonin administration selectively reduces fat intake in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 31, 113-122.
- Kennett, G.A. & Curzon, G. (1988). Evidence that hypophagia induced by mCPP and TFMPP requires 5-HT_{1C} and 5-HT_{1B} receptors: Hypophagia induced by RU 24969 only requires 5-HT_{1B} receptors. *Psychopharmacology*, 96, 93-100.
- Kennett, G., Dourish, C. & Curzon, G. (1987). 5-HT_{1B} agonists induce anorexia at a postsynaptic site. *European Journal of Pharmacology*, 141, 429-435.
- Kennett, G.A., Wood, M.D., Bright, F., Cilia, J., Piper, D.C., Gager, T., Thomas, D.T., Baxter, G.S., Forbes, I.T., Ham, P. & Blackburn, T.P. (1996). In vitro and in vivo profile of SB206553, a potent 5-HT_{2C}/5HT_{2B} receptor antagonist with anxiolytic-like properties. *British Journal of Pharmacology*, 117, 427-434.
- Kennett, G.A., Wood, M.D., Bright, F., Trail, B., Riley, G., Holland, V., Avenell, K.Y., Stean, T., Upton, N., Bromidge, S., Forbes, I.T., Brown, A.M., Middlemiss, D.N. &

- Blackburn, T.P. (1997). SB 242084, a selective and brain penetrant 5-HT_{2C} receptor antagonist. *Neuropharmacology*, 36, 609-620.
- Kłodzinska, A. & Chojnacja-Wojcik, E. (1990) Anorexia induced by M-trifluoromethyl-phenyl-piperazine (TFMPP) in rats. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy* 42, 17-43.
- Konstandi, M., Dellia-Sfikaki, A. & Varonos, D. (1996). Effect of cyproheptadine hydrochloride on ingestive behaviors. *Pharmacology Research*, 33(1), 35-40.
- Lee, M.D., Kennett, G.A., Dourish, C.T. & Clifton, P.G. (2002). 5-HT1B receptors modulate components of satiety in the rat: behavioural and pharmacological analyses of the selective serotonin_{1B} agonist CP-94,253. *Psychopharmacology* 164, 49-60.
- Leibowitz, S.F. & Alexander, J.T. (1988). Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Society of Biological Psychiatry*, 44, 851-864.
- Leibowitz, S.F., Weiss, G.F. & Suh, J.S. (1990). Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin inhibitory effect on feeding behavior. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 37, 735-742.
- López, A.V.E., Mancilla, D.J.M. & Escartín P.R.E. (2003). Efectos de la 5-HT en ratas pretratadas con mianserina o ciproheptadina sobre la secuencias de saciedad conductual. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 29(1), 13-30.
- Mancilla-Díaz, J.M., Escartín-Pérez, E., López-Alonso, V.E. & Cruz-Morales, S.E. (2002). Effect of 5-HT in mianserin-pretreated rats on the structure of feeding behavior. *European Neuropsychopharmacology*, 12(5), 445-451.
- Mancilla-Díaz, J.M., Escartín-Pérez, R.E. & López-Alonso, V.E. (2003). The effects of 5-HT in mianserin-pretreated or cyproheptadine-pretreated rats on the feeding behavior structure. *Eating and Weight Disorders/Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, 8(4), 268-173.
- Mancilla-Díaz, J.M., Escartín-Pérez, R.E., López-Alonso, V.E., Floran-Garduño, B. & Romano-Camacho, J.B. (2005). Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the hypophagic effect of 5-HT on the structure of feeding behavior. *Medical Science Monitor*, 11(3), 74-79.
- Mancilla, D.J.M., Escartín, P.R.E., López, A.V.E. (2006) Efectos de la 5-HT en ratas pretratadas con ketanserina sobre la estructura de la conducta alimentaria. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 32, 55-71.
- Massi, M. & Marini, S. (1987). Effect of the 5-HT2 antagonist ritanserin on food intake and on 5-HT-induced anorexia in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 26, 333-340.
- Noble, R.E. (1969). Effect of cyproheptadine on appetite and weight gain in adults. *Journal American Medical Association*, 209, 2054-2055.
- Paxinos, G. & Watson, Ch. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.
- Peroutka, S.J. & Snyder, S.H. (1979). Multiple serotonin receptors: Differential binding of ³H-serotonin, ³H-lysergic acid diethylamide and ³H-spiroperidol. *Molecular Pharmacology* 16, 687-699.
- Poeschla, B., Gibbs, J., Simansky, K.J. & Smith, G.P. (1992). The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT attenuates the satiating action of Cholecystokinin. *Pharmacology*,

- Biochemistry and Behavior*, 42, 541-543.
- Prelusky, D.B., Rotter, B.A., Thompson, B.K. & Trenhol, H.L. (1997). Effect of the appetite stimulant cyproheptadine on deoxynivalenol-induced reductions in feed consumption and weight gain in the mouse. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 32, 429-448.
- Schreiber, R. & De Vry, J. (2002). Role of 5-HT_{2C} receptors in the hypophagic effect of m-CPP, ORG 37684 and CP-94,253 in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26, 441-449.
- Shor-Posner, G., Grinker, J.A., Marinescu, C., Brown, O. & Leibowitz, S.F. (1986). Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. *Brain Research*, 17, 663-671.
- Shor-Posner, G., Ian, C., Brennan, G., Cohn, T., Moy, H., Ning, A. & Leibowitz, S.F. (1993). Self-selection albino rats exhibit differential preferences for pure macronutrient diets: Characterization of three subpopulations. *Physiology and Behavior*, 50, 1187-1195.
- Silverstone, T. & Schuyler, D. (1975). The effect of cyproheptadine on hunger caloric intake and body weight in man. *Psychopharmacology*, 40, 335-340.
- Tecott, L., Sun, L., Akana, Strack, A., Lowenstein, D.H., Dallman, M. & Julius, D. (1995) Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT2C serotonin receptors. *Nature*, 374, 542-546.
- Tempel, D.L., Shor-Posner, G., Dwyer, D. & Leibowitz, S.F. (1989) Nocturnal patterns of macronutrient intake in freely feeding and food deprived rats. *American Journal of Physiology*, 256, R541-R548.
- Vickers, S.P., Clifton, P.G., Dourish, C.T. & Tecott, H. (1999). Reduced satiating effect of d-fenfluramine in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. *Psychopharmacology*, 143, 309-314.
- Voigt, J.P., Kienzle, F., Sohr, R., Rex, A. & Fink, H.X. (2000). Feeding and 8-OH-DPAT-related release of serotonin in the rat lateral hypothalamus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 65, 183-189.
- Walsh, A., Smith, K., Oldman, A., Williams, C., Goodall, E. & Cowen, P. (1994). m-Chloropiperazine decreases food intake in a test meal. *Psychopharmacology*, 116, 120-122.