

EFECTOS DE LA 5-HT EN RATAS PRETRATADAS CON MIANSERINA O CIPROHEPTADINA SOBRE LA SECUENCIAS DE SACIEDAD CONDUCTUAL¹

*EFFECTS OF 5-HT IN MIANSERIN-PRETREATED
OR CYPROHEPTADINE-PRETREATED RATS
ON THE BEHAVIORAL SATIETY SEQUENCES*

LÓPEZ-ALONSO V.E., MANCILLA-DÍAZ J.M., ESCARTÍN-PÉREZ R.E.²
LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA DE LA ALIMENTACIÓN
FES IZTACALA, UNAM

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue determinar los efectos de la 5-HT en ratas pretratadas con ciproheptadina (antagonista de los receptores 5-HT₂) y de la mianserina (antagonista de los receptores 5-HT_{2A/2C}), administradas 10 min antes que la 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico (NPH), sobre los parámetros de la secuencia de saciedad conductual (SSC). Los animales estuvieron bajo un paradigma de autoselección dietaria, con acceso libre a fuentes separadas para proteínas, carbohidratos y grasas. Los resultados sugieren un efecto supresor de la ingestión de carbohidratos al administrar la 5-HT, éste efecto fue prevenido por el pretratamiento de ciproheptadina y de mianserina. El análisis de la SSC producida por los pre-tratamientos de ciproheptadina y mianserina, sugieren que la prevención de los efectos inducidos por la 5-HT sobre la ingestión de alimento se debieron a que el proceso conductual de la satisfacción se demoró con ambos pre-tratamientos, pero afectando parámetros conductuales distintos.

Palabras clave: serotonina, ciproheptadina, mianserina, secuencia de saciedad, ingesta de alimento.

1. Artículo recibido el 2 de febrero de 2003 y aceptado el 15 de marzo de 2003.

2. Financiado por DGAPA IN304300. Correspondencia: Verónica Elsa López Alonso. FES Iztacala, UNAM. Proyecto de Nutrición, UIICSE. Av. De los Barrios # 1, los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. CP.54090. Telephone 5623 1115 Ext. 110 Fax: 5390 7604. e-mail: vlopez@campus.iztacala.unam.mx

ABSTRACT

The intention of the present work was to determine the effects of the 5-HT in rats pretreated with cyproheptadine (5-HT₂ receptors antagonist) and mianserin (5-HT_{2A/2C} receptors antagonist), administered 10 min before the 5-HT in the hypothalamic paraventricular nucleus (NPH), on the parameters of behavioral satiety sequences. The animals were maintained on a self-selection feeding paradigm and provided with freely available and separate sources of protein, carbohydrate and fat. The results suggest a suppression effect of the ingestion of carbohydrates when administering the 5-HT. This effect was prevented by the mianserin and cyproheptadine pre-treatments. The analysis of the behavioral satiety sequences produced by the pre-treatments of cyproheptadine and mianserin, suggests that the prevention of the effects induced by the 5-HT on food intake was due to delay of the satiation processes with both pre-treatments, affecting different parameters of behavior.

Key words: serotonin, cyproheptadine, mianserin, behavioral satiety sequences, food intake.

Actualmente está bien documentado que los niveles de serotonina (5-HT) en el hipotálamo medio influyen en el control de la conducta de alimentación, en los patrones temporales de alimentación, en la auto-selección de macronutrientes y en el peso corporal (Wurtman & Wurtman, 1977; 1979a; 1979b; Blundell, 1984; 1986; Curzon, 1990; Leibowitz, Weiss & Suh, 1990; Simansky 1996; Leibowitz & Alexander, 1998). Sin embargo, la identificación de los subtipos de receptores 5-HT que median estos efectos aún no es clara; se sabe que los agonistas de los receptores de 5-HT, con alta o moderada afinidad a los subtipos 5-HT₁ y/o 5-HT₂ afectan la ingestión de alimento. Sin embargo, se desconoce el papel específico que juega cada uno de los receptores (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}), en el control de la conducta de ingesta así como el papel de los mecanismos fisiológicos, neuroanatómicos y conductuales implicados en los efectos hipofágicos de estos componentes (De Vry, Eckel, Kuhl & Schreiber, 2000).

Algunos estudios en los que se han utilizado agonistas 5-HT con actividad mixta a los receptores 5-HT_{1B/2C} como la TFMPP (1-[3-(trifluorometil)fenil]piperazina), la m-CPP (1-[3-clorofenil]piperazina) y con actividad a los receptores 5-HT_{2A/2C} como el DOI (1-[2,5-dimetoxi-4-iodofenil]-2-aminopropano), reportaron haber inducido hipofagia al administrarlos directamente en el hipotálamo. Estos resultados sugieren que los receptores subtipo 5-HT_{1B/2A/2C} están involucrados en la regulación de la conducta de alimentación (Currie & Coscina, 1998; Hutson, Donohue & Curzon; 1988; Samanin & Grignaschi, 1996). Por otro lado, Klodzinska & Chojnacka-Wojcik (1990), en-

contraron que la ritanserina y la ketanserina, las cuales poseen actividad antagónica 5-HT_{2C} y 5-HT_{2A}, revirtieron significativamente los efectos hipofágicos inducidos por la TFMPP, concluyendo con estos resultados que los receptores 5-HT_{2C} fueron los responsables de haber inducido la hipofagia.

Por otra parte, investigaciones en las que se han utilizado ratones y ratas como sujetos experimentales y se les ha administrado *d*-fenfluramina sugieren una relación diferente de los subtipos de receptores 5-HT relacionados con la alimentación. Los estudios en los que se usaron ratas señalan que la activación de los receptores 5-HT_{2C} tienen una participación importante, en tanto que los receptores 5-HT_{1B} no son significativos, contrariamente en las investigaciones en las que se utilizaron ratones transgénicos la activación de ambos receptores 5-HT_{2C} y 5-HT_{1B} parecen jugar un papel importante en la acción de la *d*-fenfluramina (Hewitt, Lee, Colin, Dourish & Clifton, 2002).

Un factor limitante en la investigación del compromiso que guardan los receptores 5-HT₂ sobre el control de la conducta de alimentación ha sido la falta de antagonistas selectivos, los antagonistas más utilizados en las investigaciones han sido la mianserina, la ritanserina, la mesulergina y la metisergida; las cuales poseen una afinidad similar por los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} (Bonhaus, Weinhardt, Taylor, Desouza, Mcneeley, Szczepansky, Fontana, Trinh, Rocha, Dawson, Flippin & Eglen, 1997). En el caso de la mianserina (antagonista de los receptores 5-HT_{2A/2C}), se ha reportado que ésta incrementa la ingesta de alimento (Egan, Earley & Leonard, 1979; Dourish; Clark; Fletcher & Iversen, 1989), atenúa los efectos hipofágicos de agonistas de los receptores 5-HT_{1B/2C} como la *m*-CPP y la TFMPP (Kennett & Curzon, 1988; Klodzinska & Chojnacka-Wójcik, 1990); del agonista de los receptores 5-HT₂, DOI (Currie, Saxena & Tu, 1999) y del inhibidor de la recaptura de 5-HT, fluoxetina (Grignaschi & Samanin, 1992). Otro antagonista 5-HT no selectivo que también se ha utilizado ampliamente es la ciproheptadina, la cual tiene una alta afinidad por los receptores 5-HT₂, clínicamente ha sido utilizada para aumentar la ingestión de alimento y el peso corporal en humanos (Noble, 1969; Silverstone & Schuyler, 1975). Sin embargo, en los roedores el efecto de la ciproheptadina es contradictorio; ya que en algunas investigaciones se reportan aumentos en la ingestión de alimento (Shor-Posner, Grinker, Marinescu, Brown & Leibowitz, 1986; Kaur & Kulkarni, 2001) y en otras se muestra que no afecta o que disminuye ésta (Blavert, DeFeudis & Clostre, 1982; Fletcher, 1988).

Por otro lado, en algunas investigaciones los efectos hipofágicos inducidos por la administración de fármacos serotoninérgicos han sido típicamente atribuidos a la aceleración del proceso de saciedad, algunos investigadores han sugerido que los fármacos que liberan la 5-HT como la fenfluramina y los que estimulan los receptores 5-HT_{2C} y/o 5-HT_{1B} específicamente incrementan la saciedad en ratas (Simansky & Vaidya, 1990; Clifton, Barnfield & Curzon,

1993; Kitchner & Dourish, 1994; Samanin & Grignashi, 1996; Halford, Wanninayake & Blundell, 1998). Una herramienta que puede contribuir a aclarar si la hipofagia inducida por un fármaco se debe al desarrollo de la saciedad o a reacciones colaterales adversas como náusea, sedación, hiperactividad y/o paladeabilidad del alimento, es el análisis denominado Secuencias de Saciedad Conductual (SSC); a través del cual es posible identificar la progresión de las conductas en el tiempo, así la secuencia conductual posterior a la alimentación de la rata se caracteriza por la presencia de conductas activas como es el desplazarse en la caja habitación, rascarse y acicalarse, seguidas de un período largo de tiempo en donde predominan las conductas de descanso y/o sueño (McGuirk, Muscat & Willner, 1992; Gao, Harvey, Mook & Zeigler, 1998; Halford y cols., 1998; Vickers, Clifton, Dourish & Tecott, 1999).

Para caracterizar el compromiso que guarda cada uno de los receptores 5-HT sobre el control de la conducta alimentaria y su relación con los diversos mecanismos conductuales, incluyendo los efectos sobre la saciedad y el apetito, es necesario realizar estudios farmacológicos utilizando metodologías de investigación que permitan esclarecer los resultados contradictorios con los que actualmente se cuenta al emplear antagonistas de la 5-HT. Por lo que el propósito del presente trabajo fue determinar los efectos de la 5-HT y del pretratamiento de la ciproheptadina (antagonista de los receptores 5-HT₂) y de la mianserina (antagonista de los receptores 5-HT_{2A/2C}) administradas 10 min antes que la 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico (NPH), sobre los parámetros de la secuencia de saciedad conductual.

MÉTODO

Sujetos

Se utilizaron 40 ratas macho de la cepa Wistar de 200-230 g al inicio del experimento. Los animales fueron provistos por el Bioterio de la UNAM campus Iztacala.

Dieta

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 (mantequilla vegetal Inca. Elaborado por Anderson Clayton & Co. S.A. de C.V., Tultitlán, Estado de México).

Fármacos

5-Hidroxitriptamina (5-Hydroxytryptamine, creatinine sulfate salt), ciproheptadina (cyproheptadine, hydrochloride), y mianserina (mianserin hydrochloride), de Sigma Chemical Co., St. Louis, MO. Los fármacos fueron disueltos en solución salina a una dosis de 2 mg/1 ml de solución salina antes de su aplicación; los fármacos se infundieron a una velocidad de 0.4 ml/1 min. Para asegurar una difusión completa de las sustancias, el microinyector permaneció un minuto adicional dentro de la cánula guía, luego fue retirada. La administración de los fármacos se realizó con una jeringa digital para fluidos de alta precisión (Hamilton's Digital Syringe).

PROCEDIMIENTO

Se colocaron a las 40 ratas de manera aleatoria en cajas habitación individuales, con tres comederos y mantenidas en un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12x12 hr con libre acceso a agua y comida, la temperatura del laboratorio se mantuvo en promedio a 21°C. Los animales se pesaron una hora antes de iniciar el ciclo de oscuridad (8:00 hr). Las ratas tuvieron acceso a una dieta de fuentes separadas para carbohidratos, proteínas y grasas. Cada nutrimento 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 se anestesiaron con hidrato de cloral (450 mg/kg, i.p.). Una vez anestesiados, se fijaron a un estereotáxico y se les implantó una cánula (1.5cm de longitud), 2mm por arriba del NPH del lado derecho. Es necesario aclarar que las coordenadas fueron corregidas previamente por ensayo y error en un grupo de ratas que no fue considerado para el análisis de resultados, inyectando azul de metileno a través de la cánula guía hasta teñir el NPH. Las coordenadas sugeridas se tomaron del Atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1986), posterior a bregma -1.40; lateral a la línea media 0.3 y de profundidad a partir de dura madre -7.7. Finalmente se aplicaron 50.000 U/kg, v.i.m. de penicilina benzatínica para prevenir infecciones.

Después de cuatro días (período de recuperación), los 40 animales se asignaron aleatoriamente a cuatro grupos de diez animales cada uno: 1) vehículo + vehículo, 2) vehículo + 5-HT, 3) ciproheptadina + 5-HT y 4) mianserina + 5-HT. La aplicación intracerebral de 5-HT se realizó 10 min antes de iniciar el período de oscuridad (8:00 hr); la ciproheptadina o mianserina se administraron diez minutos antes de la 5-HT. En esta fase se realizó un registro de duración continua que tuvo una duración de 40 min, al finalizar el registro se pesaron y rellenaron los comederos (cuidando de recolectar lo que cayera del comedero).

Las cajas habitación de los sujetos experimentales estaban automatizadas y conectadas a una computadora para recolectar los datos del registro continuo, auxiliados por un programa computarizado 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, para cuantificar el tiempo que pasaban inactivos (descansar), todo esto se realizó desde un cuarto contiguo para no interferir con la conducta de los sujetos experimentales.

Finalmente 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 15 días en formol al 10.0 %. Posteriormente se realizaron cortes histológicos coronales de 60 m de espesor con un vibratomo, para luego teñirlos con la técnica de Nissl y poder así verificar el sitio de implantación.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Posteriormente a la verificación del sitio de implantación, los grupos quedaron conformados por el siguiente número de sujetos: grupo 1) vehículo + vehículo (control), $n=9$; grupo 2) vehículo + 5-HT ($n=9$); grupo 3) ciproheptadina + 5-HT ($n=8$) y grupo 4) mianserina + 5-HT ($n=8$).

Para realizar el análisis de la secuencia de saciedad conductual, los 40 minutos de registro continuo fueron divididos en 8 segmentos de 5 minutos cada uno y se analizaron considerando las siguientes categorías conductuales: conducta de alimentación (definida como el tiempo que dedicaron las ratas para alimentarse en segundos), conducta de beber (tiempo que permanecieron en contacto con el bebedero, en segundos), conductas de descanso (tiempo en el que las ratas permanecieron inactivas, en segundos), y conductas activas (tiempo que dedicaron para acicalarse, desplazarse dentro de la caja-habitación y husmear, en segundos).

Las medias \pm S.E.M, de cada unidad de análisis fueron comparadas (ingestión (g) de proteínas, carbohidratos y grasas, así como cada uno de los parámetros de las secuencias de saciedad conductual), con un análisis de varianza de una entrada (ANOVA), la comparación por pares se hizo con la prueba de Tukey (López-García & Ato-García, 1994). El procesamiento estadístico se llevó a cabo con el paquete denominado SPSS (versión 8.0 para windows).

RESULTADOS

Ingestión (g)

En la figura 1 se presentan los resultados obtenidos con los fármacos en términos de las medias de ingestión de proteínas, carbohidratos y grasas. Los datos obtenidos para la ingestión de proteínas no revelaron diferencias estadísticas significativas, sin embargo se observó que la 5-HT facilitó el aumento de la ingesta de éstas comparado con el grupo control. En la ingestión de carbohidratos se encontraron diferencias significativas [$F(3,31)=5.746$; $p<0.009$]; en la comparación por pares se observó una disminución de la ingestión en el grupo vehículo + 5-HT en comparación con el grupo vehículo + vehículo ($p<0.007$ en la prueba Tukey HSD). El pretratamiento con ciproheptadina y mianserina, previno el efecto supresor de la 5-HT sobre la ingestión de carbohidratos. En la ingestión de grasas no se observaron diferencias estadísticas significativas, sin embargo se observa una tendencia a disminuir la ingesta de éstas al administrar la 5-HT.

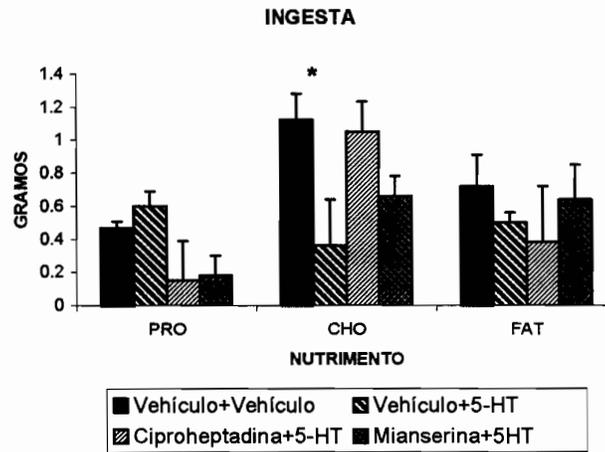


Figura 1. Representación de la media \pm el error estándar de la ingestión en gramos de proteínas, carbohidratos y grasas de los grupos Vehículo+Vehículo, Vehículo +5-HT, Ciproheptadina+5-HT y Mianserina+5-HT. * $p<0.01$. () Indica entre que grupos se encontraron las diferencias con la Prueba de Tukey.

PARÁMETROS DE LA SECUENCIA DE SACIEDAD CONDUCTUAL

Conducta de alimentación

En el grupo vehículo + vehículo la incidencia de la conducta de alimentarse (ver figura 2A) va declinando paulatinamente a través del tiempo (P1 a P6). Con respecto al grupo vehículo + 5-HT, el tiempo que los animales dedicaron para alimentarse se observó desde P1 a P8, aunque en los primeros dos periodos el tiempo fue menor al observado en el grupo vehículo + vehículo, a partir de P3 aumentó. En el grupo Ciproheptadina + 5-HT el tiempo dedicado para alimentarse se incrementó con respecto al grupo vehículo + vehículo desde P1, el análisis estadístico reveló diferencias significativas en P6 [$F(3,31) = 2.86, p < 0.05$], en la comparación por pares se observó un incremento significativo del tiempo que dispusieron las ratas para alimentarse con respecto al grupo vehículo + vehículo ($p < 0.042$ en la prueba Tukey HSD). En cuanto al grupo Mianserina + 5-HT, el tiempo empleado para alimentarse es mayor con respecto al grupo vehículo + vehículo, principalmente de P1 a P4, posteriormente hay un descenso del tiempo de P5 a P8, pero continua ligeramente por arriba del grupo vehículo + vehículo. El análisis estadístico reveló diferencias significativas en P2 [$F(3,31) = 5.21, p < 0.005$], en la comparación por pares se observó un incremento significativo del tiempo que utilizaron las ratas para alimentarse con respecto al grupo vehículo + 5-HT ($p < 0.002$ en la prueba Tukey HSD).

Conductas activas

En el grupo vehículo + vehículo la presencia de conductas activas (ver figura 2B) aumentaron de P1 a P3 y tendieron a disminuir de P4 a P8. En el grupo vehículo + 5-HT se observó un aumento de conductas activas con respecto al grupo vehículo + vehículo (en P1 y P2), disminuyendo paulatinamente con el tiempo por debajo del grupo vehículo + vehículo (de P3 a P8). Con respecto al grupo vehículo + 5-HT, en P4 se encontraron diferencias significativas [$F(3,31) = 4.276, p < 0.013$], en la comparación por pares se observó que la actividad disminuyó en relación al grupo vehículo + vehículo ($p < 0.015$ en la prueba Tukey HSD). En cuanto al grupo Ciproheptadina + 5-HT, la conducta de actividad disminuyó a través del tiempo de P1 a P8 en comparación al grupo vehículo + vehículo. En P3 se encontraron diferencias significativas [$F(3,31) = 4.169, p < 0.014$], en la comparación por pares se observó que la actividad del grupo Ciproheptadina + 5-HT disminuyó en relación al grupo vehículo + vehículo ($p < 0.038$ en la prueba Tukey HSD). En el grupo mianserina + 5-HT, se observó que el tiempo dedicado a la actividad tiende a disminuir con respecto al tiempo (P1 a P8), al compararlo con el grupo vehículo + vehículo. También se

encontró que el tiempo de actividad es menor a excepción del período P5, en donde la media de tiempo obtenido para cada grupo fue muy parecida. Encontrando diferencias estadísticas significativas en P2 [$F(3,31) = 4.246$, $p < 0.013$], en P3 [$F(3,31) = 4.169$, $p < 0.014$] y en P4 [$F(3,31) = 4.276$, $p < 0.013$], en la comparación por pares en P2 se observó que la actividad del grupo mianserina + 5-HT disminuyó en relación a los grupos vehículo + vehículo ($p < 0.038$ en la prueba Tukey HSD), y al vehículo + 5-HT ($p < 0.012$ en la prueba Tukey HSD). En la comparación por pares de P3 se observó que la actividad del grupo mianserina + 5-HT disminuyó en relación al grupo vehículo + vehículo ($p < 0.038$ en la prueba Tukey HSD). En la comparación por pares de P4 se observó que la actividad del grupo mianserina + 5-HT disminuyó en relación al grupo vehículo + vehículo ($p < 0.034$ en la prueba Tukey HSD).

Es necesario hacer notar que en ambos grupos pre-tratados, el tiempo de actividad disminuyó en relación al grupo vehículo + vehículo y tendió a incrementar en el período P5 (ver figura 2B), obteniendo medias cercanas al grupo vehículo + vehículo (vehículo + vehículo, 181.88 ± 43.44 ; grupo mianserina + 5-HT, 184.25 ± 37.34 y grupo ciproheptadina + 5-HT, 156.14 ± 34.21), para posteriormente disminuir y dar paso al desarrollo de la conducta de descanso.

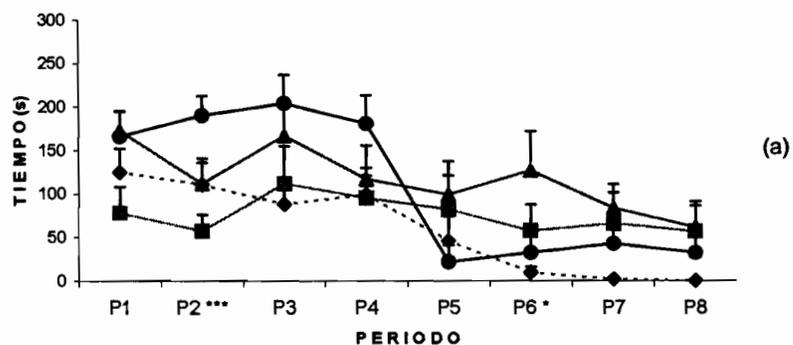
Conductas de descanso

Al observar la figura 3A, se aprecia que las conductas de descanso tienden a incrementar con el tiempo (P1 a P8) en los cuatro grupos. Aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas se observó que en el grupo vehículo + 5-HT las conductas de descanso se desarrollaron paulatinamente desde P1 hasta P8, en este grupo las conductas de descanso obtuvieron las medias más altas en todos los períodos de observación al ser comparadas con respecto a los otros tres grupos. El grupo en donde se observaron las medias más bajas de conductas de descanso fue el pretratado con ciproheptadina, lo cual indica que en este grupo las conductas de descanso se van posponiendo. El desarrollo de la conducta de descanso del grupo al que se le administró el pre-tratamiento de mianserina se desarrolló de forma parecida al grupo control. En ambos grupos pre-tratados, el tiempo que dedicaron a descansar las ratas fue menor al del grupo vehículo + 5-HT.

Conducta de beber

En la conducta de beber (ver figura 3B) no se encontraron diferencias estadísticas significativas, los cuatro grupos mostraron una tendencia a disminuir con el tiempo (P1 a P8). En términos generales, el tiempo dedicado a esta conducta es menor en los tres grupos experimentales con respecto al grupo control.

CONDUCTA DE ALIMENTACION



CONDUCTAS ACTIVAS

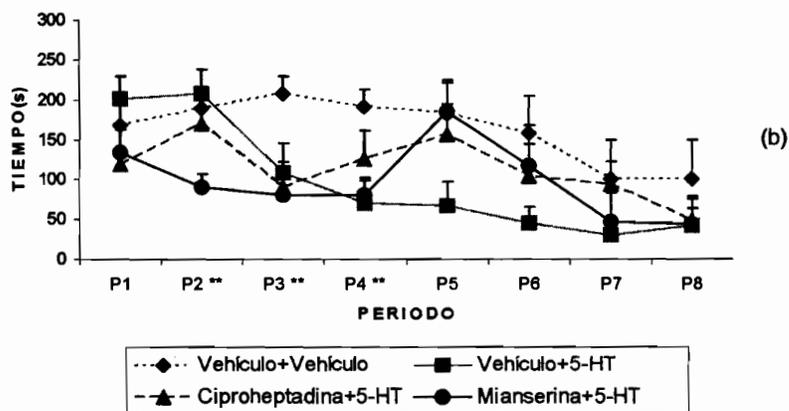


Figura 2. Representación de la media \pm el error estándar de los grupos Vehículo+Vehículo, Vehículo+5-HT, 5-HT+Ciproheptadina y Mianserina+5-HT de 8 periodos de observación de los parámetros Conducta de Alimentación en segundos (A) y Conductas Activas en segundos (B). * $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, *** $p < 0.01$. ([]) Indica entre que grupos se encontraron las diferencias con la Prueba de Tukey.

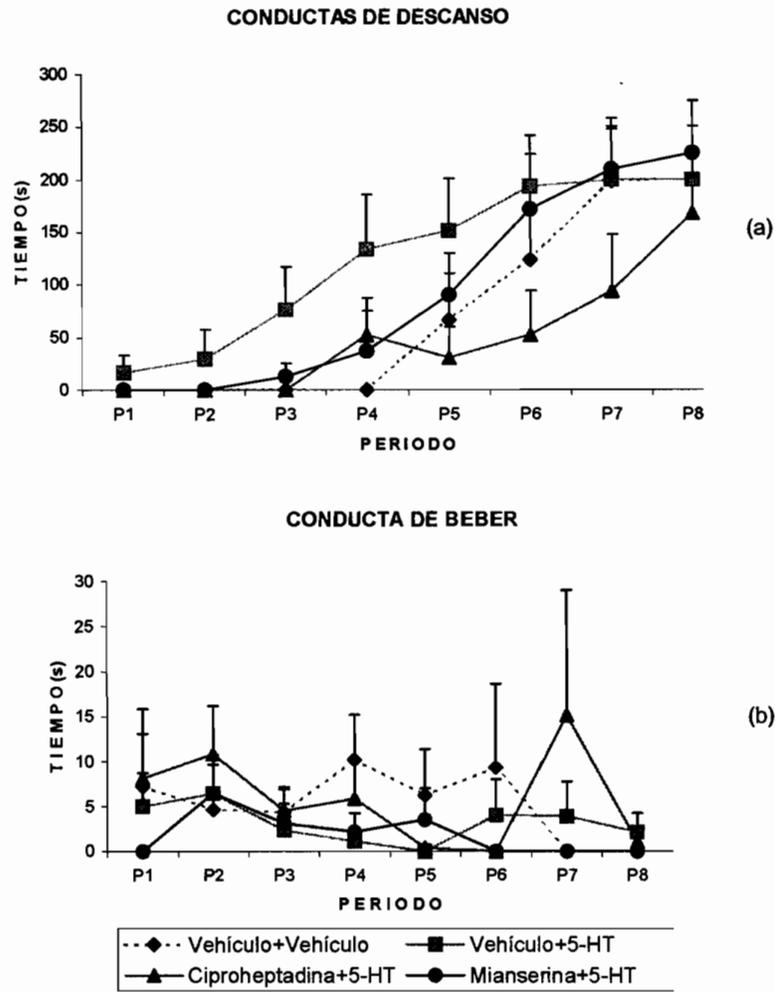


Figura 3. Representación de la media \pm el error estándar de los grupos Vehículo+Vehículo, Vehículo +5-HT, Ciproheptadina+5-HT y Mianserina+5-HT de 8 períodos de observación de los parámetros Conducta de Descanso en segundos (A) y Conducta de Beber en segundos (B). No se encontraron diferencias estadísticas significativas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados de la presente investigación, con respecto a la ingesta de alimento, concuerdan con estudios previos que han mostrado que la administración de 5-HT suprime la ingestión de alimento, principalmente a través de una disminución en la ingestión de carbohidratos (Wurtman & Wurtman, 1977; 1979a; b). Así mismo se sabe que la administración de 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico en ratas causa una disminución selectiva en la ingestión de carbohidratos (Shor-Posner, Ian, Brennan, Cohn, Moy, Ning & Leibowitz, 1993; Tempel Shor-Posner, Dwyer & Leibowitz, 1989; Mancilla, Escartín & López, 2001).

En el presente estudio, la disminución selectiva de la ingestión de carbohidratos debido a la administración de 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico, fue prevenido con el pretratamiento de ciproheptadina; mientras que la ingestión de proteínas y grasas no fue alterada. Los datos de este trabajo son consistentes con los reportados por Gunturkun, Grothues, Hautkappe, Vise, Wawrzyniak y Zwilling (1989); Ju y Tsai (1995) y Kaur y cols. (2001), en estas investigaciones reportaron que la administración de la ciproheptadina antagonizó el efecto anoréctico de la zimelidina (agonista 5-HT), del 5-Hidroxitriptófano (5-HTP, precursor de la 5-HT), de la OB200G (preparación polihierbal con posible acción serotoninérgica) y de la fluoxetina. Con el pretratamiento de mianserina, la supresión en la ingestión de carbohidratos debido a la administración central de 5-HT, también fue prevenida, la ingestión de proteínas y grasas no fue alterada significativamente. Estos resultados consolidan los reportes de algunas investigaciones en donde se ha reportado que la mianserina bloquea los efectos hipofágicos de la fluoxetina (Grignaschi y cols., 1992). del CCK-8 (Poeschla, Gibbs, Simansky, Greenberg & Smith, 1993); del DOI (Aulakh, Hill, Yoney & Murphy, 1992; Currie y cols., 1999), los de la m-CPP y la TFMPP (Kennett y cols., 1988; Klodzinska y cols., 1990), y los de la 5-HT (Mancilla, Escartín, López & Cruz, 2002).

En los cuatro grupos, se observó que el patrón de las secuencias de saciedad conductual, es el señalado por Vickers y cols. (1999), como el patrón típico, es decir, posteriormente a la alimentación se observa la presencia de conductas activas como locomoción, rascarse, acicalarse, seguidas de períodos largos de conductas de descanso y/o sueño.

El efecto hipofágico de la 5-HT, se debió al desarrollo prematuro de la SSC. Conductualmente la administración de la 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico ocasionó la reducción del tiempo que las ratas emplearon para alimentarse, un incremento inicial de conductas activas y la reducción posterior de éstas, seguidas de un rápido avance de las conductas de descanso. Este patrón conductual sugiere que la inhibición de la conducta de alimentación al administrar la 5-HT, corresponde con el incremento de la saciedad

(inhibición postingestiva de alimento). Estos resultados concuerdan con los reportados por Clifton, Barnfield y Philcox (1989) y Willner, McGuirk, Phillips y Muscat (1990), quienes al administrar fluoxetina (inhibidor de la recaptura de 5-HT), encontraron un desarrollo temprano de las secuencias de saciedad conductual y consecuentemente la terminación prematura de la conducta consumatoria. Por otro lado, los resultados de la presente investigación también concuerdan con Vickers y cols. (1999), quienes demuestran que en los primeros momentos de observación la *d*-fenfluramina reduce significativamente la cantidad de alimento debido al incremento de la saciedad en ratones; el desarrollo de la SSC se caracterizó por la declinación de la conducta de alimentación, incremento de las conductas activas y de las de descanso. Aunque ambos pre-tratamientos previnieron los efectos de la 5-HT, conductualmente lo hicieron de forma distinta. Los dos pre-tratamientos afectaron el tiempo que las ratas dedicaron para alimentarse, sin embargo la distribución en el tiempo fue diferente ya que el grupo que recibió el pre-tratamiento con mianserina previno los efectos de la 5-HT incrementando apreciablemente el tiempo para alimentarse al inicio de la observación. En tanto que el grupo que recibió el pre-tratamiento de ciproheptadina afectó incrementando significativamente el tiempo de alimentación en los periodos finales de la observación. Probablemente estas diferencias en el tiempo se deban a la estimulación de receptores 5-HT₁, se sabe que la actividad de la 5-HT en relación a la conducta de alimentación se manifiesta a través del ciclo de luz/oscuridad y es causada por cambios temporales en respuesta a la estimulación de los receptores 5-HT₁ en el hipotálamo medio, la actividad más fuerte de la serotonina es al inicio del periodo de alimentación, justo en la transición entre el periodo de luz y oscuridad (Leibowitz y cols., 1998). Por otro lado, también el término del periodo de alimentación se presentó en periodos distintos, el grupo al que se le administró el pre-tratamiento de mianserina terminó más tempranamente su periodo de alimentación que el que recibió el pre-tratamiento de ciproheptadina. Estos resultados pueden estar relacionados con la interacción de otros sistemas de receptores, las evidencias señalan que la 5-HT regula el proceso de terminación de la ingestión de carbohidratos y que la 5-HT puede interactuar antagónicamente con la norepinefrina y los α_2 -noradrenérgicos en el núcleo paraventricular hipotalámico (Leibowitz y cols., 1998; Mancilla y cols. 2002).

Tanto el pre-tratamiento de mianserina como el de ciproheptadina redujeron la presencia de conductas activas al inicio de la observación, sin embargo el pre-tratamiento con mianserina afectó tres periodos; mientras que el pre-tratamiento con ciproheptadina afectó sólo un periodo, al parecer la mianserina tuvo mayor sensibilidad sobre las conductas activas, la reducción de la actividad en los periodos iniciales facilitó la presencia de la conducta de alimentación en el grupo que recibió el pre-tratamiento con mianserina. Posteriormente

te la actividad se incrementó con la administración de ambos pre-tratamientos para dar paso a las conductas de descanso. Estos resultados concuerdan con los presentados por Gleason, Lucaites, Shanon Nelson & Leander (2001), quienes bloquearon los efectos de hipolocomoción inducidos por la administración de la m-CPP con mianserina en tanto que la ciproheptadina no fue capaz de revertir significativamente estos efectos. Bonhaus y cols. (1997) también señalan haber revertido los efectos de hipolocomoción inducidos por la m-CPP con mianserina. Existen también otros reportes en los que se señala puntualmente que los receptores 5-HT_{2C} están mediando la actividad locomotora (Kennett, Wood, Glen, Grewal, Forbes, Gadre & Blackburn, 1994; Kennett, Wood, Bright, Cilia, Piper Gager, Thomas, Baxter, Forbes, Ham & Blackburn, 1996; Bonhaus y cols, 1997; Barnes & Sharp, 1999).

Por otra parte, aunque en la presente investigación no se encontraron diferencias significativas en las conductas de descanso el pre-tratamiento de ciproheptadina tendió a posponer el desarrollo de la conducta de descanso y facilitó la presencia de la conducta de alimentación lo cual sugiere, que el proceso conductual de la satisfacción (terminación del intervalo de alimentación) se va demorando. Este patrón conductual producido por el pretratamiento de ciproheptadina es consistente con el encontrado por Vickers y cols (1999), en ratones transgénicos (ratones que funcionalmente carecen de receptores 5-HT_{2C}), previamente se ha reportado que estos ratones tiene sobrepeso al ser comparados con un ratón "normal" y este incremento del peso corporal ha sido asociado al incremento de la ingesta de alimento. El patrón de la SSC encontrado por Vickers en estos animales en comparación con animales "normales" fue un incremento de la conducta de alimentación y la demora de las conductas de descanso, sugiriendo que este patrón explica la obesidad observada en estos ratones. A diferencia de los resultados obtenidos con la ciproheptadina en la presente investigación la mianserina parece no afectar el desarrollo de las conductas de descanso.

En conclusión, el efecto hipofágico inducido por la administración de 5-HT en el núcleo paraventricular hipotalámico, se debió al desarrollo prematuro de la SSC. Conductualmente ocasionó la reducción del tiempo que las ratas emplearon para alimentarse, un incremento inicial de conductas activas y la reducción posterior de éstas, seguidas de un rápido desarrollo de las conductas de descanso. El análisis de la SSC producida por los pre-tratamientos de ciproheptadina y mianserina, sugieren que el bloqueo de los efectos inducidos por la 5-HT se debieron a que el proceso conductual de la satisfacción se pospuso con ambos pre-tratamientos pero afectando parámetros conductuales distintos, posiblemente debido a la mediación de receptores 5-HT_{2C}. El pre-tratamiento con mianserina incremento el tiempo de alimentación y retraso principalmente la presencia de las conductas activas; lo cual permitió que, el tiempo dedicado para ingerir alimento, fuera más largo al inicio de la observa-

ción; mientras que la conducta de descanso no fue afectada. En tanto que la ciproheptadina incremento el tiempo de alimentación, retraso las conductas activas y pospuso el desarrollo de las conductas de descanso aunque no de forma significativa, sin embargo esto permitió la presencia de la conducta de alimentación hasta el final de la medición. Los resultados obtenidos en los parámetros conductuales de alimentación y conductas activas sugieren que la prevención del efecto hipofágico inducido por la 5-HT, al administrar el pre-tratamiento de mianserina y el pre-tratamiento de ciproheptadina es mediado posiblemente por receptores 5-HT_{2C}.

REFERENCIAS

- Aulakh, C.S., Hill, J.L., Yoney, H.T. & Murphy, D.L. (1992). Evidence for involvement of 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptors in the food intake suppressant effects of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI). *Psychopharmacology*, 109(4), 444-448.
- Barnes, N.M. & Sharp, T. (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38, 1083-1152.
- 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.
- Blundell, J.E. (1986). Serotonin manipulation and the structure of feeding behaviour. *Appetite*, 7, 39-56.
- Bonhaus, D.W., Weinhardt, K.K., Taylor, M., Desouza, A., Mcnealey, 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(4/5), 621-629.
- Currie, P.J., Saxena, N. & Tu, A.Y. (1999). 5-HT(2A/2C) receptor antagonists in the paraventricular nucleus attenuate the action DOI on NPY-stimulated eating. *Neuroreport*, 10(14), 3033-3036.
- Currie, P.J. & Coscina, D.V. (1998). 5-Hydroxytryptaminergic receptor agonists: effects on neuropeptide Y potentiation of feeding and respiratory quotient. *Brain Research*, 803, 212-217.
- Curzon, G. (1990). Serotonin and appetite. *Annals of the New York Academy Sciences*, 600, 521-530.
- Clifton, P.G., Barnfield, A.M. & Philcox, L. (1989). A behavioural profile of fluoxetine-induced anorexia. *Psychopharmacology*, 97, 89-95.
- Clifton, P.G., Barnfield, A.M., & Curzon G. (1993). Effects of food deprivation and mCPP treatment on the microstructure of ingestive behaviour of male and female rats. *Journal of Psychopharmacology*, 7, 257-264.

- De Vry, J., Eckel, G., Kuhl, E. & Scriber, R. (2000). Effects of serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonist in a conditioned taste aversion paradigm in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 66(4), 797-802.
- Dourish, C.T., Clark, M.L., Fletcher, A. & Iversen S.D. (1989). These findings suggest that DOI-induced suppression of food intake is mediated by stimulation of both 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptors. *Psychopharmacology*, 97(1), 54-58.
- Egan, J., Earley, C.J. & Leonard, B.E. (1979). The effect of amitriptyline and mianserine (Org. GB94) on food motivated behaviour of rats trained in a runway: Possible correlation with biogenic amine concentration in the limbic system. *Psychopharmacology*, 61, 143-147.
- Fletcher, P.J. (1988) Increased food intake in satiated rats induced by the 5-HT antagonists methysergide, metergoline and ritanserin. *Psychopharmacology*, 96, 237-242.
- Gao, P., Harvey, M., Mook, G. & Zeigler P. (1998). A «pre-satiety sequence» in rats drinking sucrose solutions. *Physiology and Behavior*, 65(2), 355-359.
- Grignaschi, G. & Samanin, R. (1992) Role of serotonin and catecholamines in brain in the feeding suppressant effect of fluoxetine. *Neuropharmacology*, 31, 445-449.
- Gunturkun, O., Grothues, A., Hautkappe, A., Vise, F., Wawrzyniak, N. & Zwillig, U. (1989). Serotonergic modulation of ingestive behavior in pigeons. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 32(2), 415-20.
- Gleason, S.D., Lucaites, V.L., Shanon, H.E., Nelson, D.L. & Leander, J.D. (2001). m-CPP hypolocomotion is selectively antagonized by compounds with high affinity for 5-HT_{2C} receptors but not 5-HT_{2A} or 5-HT_{2B} receptors. *Behavioural Pharmacology*, 12(8), 613-620.
- 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.
- 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.
- Hutson, P.H., Donohue, T.P., Curzon, G. (1988) Infusion of the 5-Hydroxytryptamine agonists RU24969 and TFMPP into the paraventricular nucleus of the hypothalamus causes hypophagia. *Psychopharmacology*, 97, 550-552.
- 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(4), 235-40.
- Kaur, G. & Kulkarni, S.K. (2001). Investigations on possible serotonergic involvement in effects of OB-200G (polyherbal preparation) on food intake in female mice. *European Journal of Nutrition*, 40(3), 127-133.

- Kennett, G.A. & Curzon G. (1988). Evidence that mCPP may have behavioural effects mediated by central 5-HT_{1C} receptors. *British Journal of Pharmacology*, *94*, 137-147.
- Kennett, G.A., Wood, M.D., Glen, A., Grewal, S., Forbes, I., Gadre, A., & Blackburn, T.P. (1994) In vivo properties of SB200646A, a 5-HT_{2C/2B} receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology*, *111*, 797-802.
- 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.
- Kitchener, S.J. & Dourish, C.T. (1994) An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptor agonist using the post-prandial satiety sequence in rats. *Phycopharmacology*, *113*, 369-377.
- Klodzinska, A. & Chojnacza-Wojcik, E. (1990) Anorexia induced by M-trifluoromethyl-phenyl-piperazine (TFMPP) in rats. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*, *42* (Suppl. 1), 17-43
- Leibowitz, S.F. & Alexander J.T. (1998). 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's inhibitory effect on feeding behavior. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *37*, 735-742.
- López-García, J.J. & Ato-García, M. (1994). Modelos de diseño experimental. En M. Ato-García & J. J. López-García (Coords.). *Fundamentos de estadística con SYSTAT* (pp. 281-344). Madrid: RA-MA.
- Mancilla, D.J.M., Escártin, P.E. & López, A.V.E. (2001) Efectos de la 5-HT con pretratamiento de ciproheptadina sobre la estructura de la conducta alimentaria en ratas. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, *27*(1), 47-63.
- Mancilla-Díaz, J.M., Escártin-Pérez, R.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
- McGuirk, J., Muscat, R. & Willner, P. (1992). Effects of the 5-HT uptake inhibitors, femoxetine and paroxetine, and a 5-HT_{1A/B} agonist, eltoprazine, on the behavioural satiety sequence. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *41*, 801-805.
- 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*. New York: Academic Press.

- Poeschla, B., Gibbs, J., Simansky, K.J. & Smith, G.P. (1993). The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT attenuates the satiating action of Cholecystokinin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *42*, 541-543.
- Samanin, R. & Grignaschi, S. (1996). Role of 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in satiety and animal models of eating disorders. En: S.J. Cooper & P.G. Clifton (Eds.). *Drug receptor subtypes and ingestive behaviour*. (pp. 39-58). London: Academic Press.
- Shor-Posner, G., Grinker, J.A., Marinescu, C., Brown, O. y 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.
- Simansky, K.J. & Vaidya, A.H. (1990). Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonist. *Brain Research Bulletin*, *25*, 953-960.
- Simansky, K.J. (1996). Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behavioural Brain Research*, *73*, 37-42.
- 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 L.H. (1999). Reduced satiating effect of d-fenfluramine in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. *Psychopharmacology*, *143*, 309-314.
- Willner, P., McGuirk, J., Phillips, G. & Muscat, R. (1990). Behavioural analysis of the anorectic effects of fluoxetine and fenfluramine. *Psychopharmacology*, *102*, 273-277.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1979 a). Drugs that enhance serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. *Life Sciences*, *24*, 895-904.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1979 b). Fenfluramine and other serotonergic drugs depress food intake and carbohydrate consumption while sparing protein consumption. *Current Medical Research Opinion*, *6* (Suppl. I), 28-33.
- Wurtman, J.D. & Wurtman, R.J. (1977). Fenfluramine and fluoxetine spare protein consumption while suppressing caloric intake by rats. *Science*, *198*, 1178-1180.