



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO  
NACIONAL**

**UNIDAD COAPA**

**Departamento de Farmacobiología**

**“Efectos de un protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo  
atracción (PICITA) sobre el funcionamiento del circuito mesolímbico  
dopaminérgico. Diferencias entre cepa y sexo”**

Tesis que presenta:

**M. en C. Helena Papacostas Quintanilla.**

Para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias en:**

**Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Directores de tesis: Dra. Carolina López Rubalcava

Dr. Víctor Manuel Ortiz Ortega

Ciudad de México, México

Marzo, 2019

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Psicofarmacología y Trastornos de la Alimentación del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Coapa, bajo la dirección de la Dra. Carolina López Rubalcava y el Dr. Víctor Manuel Ortiz Ortega. Durante la realización se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca de doctorado No. 424822, el proyecto CB-2010/155255

A mi Chata

Sé que me acompañas siempre, sin embargo, te extraño todos los días.

## Agradecimientos

A la Dra. Carolina López Rubalcava por haberme recibido en la gran familia que es el Laboratorio 17, por haberse atrevido a aprender conmigo y siempre apoyarme en mis locuras. Por haberme cuidado siempre y no dejado que perdiera la salud, ni la cordura durante el doctorado.

Al Dr. Víctor Manuel Ortiz Ortega, por haberme apoyado y guiado durante todo el proceso del doctorado. Siempre con una sonrisa y la mejor disposición de ayudar. Sus consejos tanto personales como profesionales fueron clave para el desarrollo de mi tesis.

A la Dra. Anayansi por el apoyo, guía, colaboraciones y comentarios durante el doctorado. Desde la maestría su presencia en mi comité sinodal fue siempre una delicia.

A la Dra. Erika Estrada por todo el apoyo, por los comentarios y dirección durante la creación y desarrollo de mi proyecto de investigación.

A la Dra. Gabriela Rodríguez Manzo por sus siempre afilados, pero bien intencionados comentarios y correcciones. Mis textos, conclusiones y avances no hubieran mejorado de la manera en que lo hicieron sin su apoyo.

A la Dra. Lamas por ser no sólo una gran guía académica sino una gran amiga y ejemplo a seguir.

Al Dr. Galván por recibirme en su laboratorio, por dejarme aprender electrofisiología, por las colaboraciones, los jalones de orejas y la amistad.

Al Dr. Vinicio, la Dra. Janet y al Dr. Alonso por la amistad y apoyo durante todo el tiempo que he estado en el CINVESTAV, su presencia en el departamento siempre hizo que fuera más amena la estancia.

A mis compañeros de Laboratorio Héctor, Melissa, Elena, Jessica, Candy, José Juan, Sol, Isabel, Saúl, Carolina y Ernesto por las risas, comilonas y aprendizajes a lo largo de estos años.

A Gabriel por las enseñanzas, paciencia, reflexiones, risas y cariño. Sin ti nada de esto hubiera sido posible. Mis logros son en gran parte tuyos. Agradezco en el alma que te hayas cruzado en mi camino.

Brenda E. por la eterna sonrisa sin importar la situación, por ayudarme con las complejidades del alma y recordarme que siempre podemos seguir adelante, sólo es cuestión de volver a empezar.

A Brenda V., Isabella y Javo por ser mis cómplices durante todo este proceso, no tengo palabras para agradecer tanto amor.

A Luis R. y Ana C. por aguantar mis locuras, por hacerme reír y permitirme sacar lo parte más ácida de mi personalidad. Por no dejarme tirar la toalla.

A mis alumnas Arantxa, Daniela V., Daniela R., Tania y Karina por el apoyo durante la realización de los experimentos y la amistad. De ustedes aprendí más de lo que ustedes aprendieron de mí.

A mi madre Gloria y a mi padre Luis, por permitirme caer, aprender y siempre estar para ayudar a levantarme. No tengo palabras para agradecer todo lo que me han dado, son mi espina dorsal. Comparto este logro con ustedes.

A Alcibíades por haberme dado la vida y enseñarme a salirme del patrón sin miedo, solo precaución.

A mis tíos, primos y sobrinos, siempre tenerlos cerca es un privilegio, tengo a la mejor familia del mundo.

A mis hermanos Andreas, Rosa, Ariadne, Athenea, Gabriela y Alexis por una historia de vida juntos, y por todas las aventuras que sé, seguiremos teniendo.

A mis hermanos de vida Ana Cecilia, Gabriela, Rodrigo, Aura, Puma, Rojo, Gerardo, Violetta, Erika, Alejandra, Matilde, Annalissa, Citlali, Víctor, María Andrea, Jimena, Aurora, Carolina, Rubí, Niall y Heberto, gracias totales.

A Erick A. por ayudarme a sonreír estos últimos meses y apoyarme en mis locuras.

## Contenido

Agradecimientos .....	4
Índice de Ilustraciones.....	3
Índice de Figuras .....	4
Índice de Tablas.....	6
Abreviaturas.....	7
Resumen .....	9
Abstract .....	10
Marco teórico.....	11
Conducta de ingesta en atracón .....	11
Prevalencia de la conducta de ingesta en atracón .....	11
Comorbilidad con otras enfermedades psiquiátricas.....	12
Fármacos usados para el tratamiento de los trastornos de la conducta alimentaria en cuya etiología participa la conducta de ingesta en atracón. ....	12
Neurobiología de la conducta de ingesta en atracón .....	13
Modulación de la conducta alimentaria.....	13
Control homeostático .....	13
Control hedónico de la alimentación .....	15
Principales hormonas y péptidos involucrados en el control de la conducta alimentaria.....	19
Papel de la Dopamina en el control de la conducta de ingesta.....	21
Modelos animales usados para el estudio de la conducta de ingesta .....	21
Características de las ratas de la cepa WKY .....	22
Justificación.....	23
Hipótesis .....	23
Objetivo General .....	23
Objetivos Específicos .....	23
1. Determinar la influencia del sexo y la cepa en la respuesta al PICITA.....	23
2. Evaluar los cambios en la excitabilidad intrínseca de las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF producidos por el PICITA, así como su respuesta a DA. ....	23
3. Evaluar el papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón. ....	23
Materiales y métodos.....	24
Materiales.....	24
Animales.....	24

Métodos .....	24
Protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo atracón (PICITA) .....	24
Determinación de la distensión estomacal teórica.....	25
Laberinto elevado en cruz (LEC) .....	25
Campo Abierto (CA) .....	25
Prueba de preferencia a sacarosa .....	26
Registro electrofisiológico de célula completa.....	26
Análisis estadístico .....	27
Diseño Experimental .....	28
Determinación de la influencia del sexo y la cepa en la respuesta al PICITA. ....	28
Evaluación los cambios en la excitabilidad intrínseca de las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF producidos por el PICITA, así como su respuesta a DA. ....	28
Evaluación del papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón. ....	28
Resultados.....	30
Determinación de la influencia del sexo y la cepa sobre la respuesta a un Protocolo de Inducción de la Conducta de Ingesta tipo Atracón (PICITA) .....	30
Comparación del consumo calórico promedio entre cepas, sexos y tratamiento .....	30
Consumo calórico durante los periodos de prueba.....	31
Consumo de sacarosa durante los periodos de prueba.....	32
Comparación entre la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba del PICITA ....	35
Curva de crecimiento durante el PICITA .....	35
Prueba de preferencia a sacarosa.....	36
Desarrollo de la conducta tipo ansiedad durante PICITA.....	37
Evaluación de los cambios electrofisiológicos basales, así como en la respuesta a DA, producidos por el PICITA, en las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF.....	38
Efecto del PICITA sobre las propiedades basales y la respuesta a DA de las neuronas espinosas medianas del NAcSh.....	38
Efecto del PICITA sobre las propiedades basales y la respuesta a DA de las neuronas piramidales de la CPF.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Evaluar el papel de los receptores de DA en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Comparación del efecto del antagonismo de los receptores dopaminérgicos en el desarrollo de la conducta de ingesta en atracón.....	38

Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre el desarrollo de conducta tipo ansiedad .....	41
Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la movilidad de los animales .....	41
Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la curva de crecimiento de los animales .....	43
Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la excitabilidad intrínseca de las MSN del NAcSh. ....	43
Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la excitabilidad intrínseca de las neuronas PYR de la CPF. ....	44
Discusión .....	46
Evaluación del protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo atracón. ....	46
Diferencias por cepa y sexo en la respuesta al PICITA. ....	46
Diferencias en el sistema dopaminérgico de las ratas de la cepa WKY.....	48
Núcleo Accumbens.....	48
Amígdala.....	49
Desarrollo de la conducta tipo ansiedad durante el PICITA .....	50
Efecto del PICITA sobre las neuronas espinosas medianas del NAcSh.....	50
Efecto del PICITA sobre las neuronas piramidales de la CPF. ....	51
Efecto del antagonismo no específico de los receptores de DA sobre el desarrollo del PICITA .....	52
Efecto del antagonismo no específico de los receptores de DA sobre el desarrollo de tolerancia producido por la exposición al PICITA.....	52
Conclusión.....	52
Limitaciones .....	53
Perspectivas .....	54
Bibliografía .....	55

## Índice de Ilustraciones

<b>Ilustración 1: Diagrama que muestra el modelo dicotómico e integrativo de los factores involucrados en la modulación de la conducta alimentaria. Modificado de Münzberg et al. 2016. ....</b>	<b>13</b>
<b>Ilustración 2: Anatomía básica del hipotálamo de la rata en sección longitudinal (A; el caudal se encuentra a la derecha) y en secciones frontales (B) para mostrar las principales regiones implicadas en la homeostasis energética. ARC, núcleo arcuato; DMH, núcleo dorsomedial del hipotálamo; LHAA, área hipotalámica lateral; PVN, núcleo paraventricular; Pit, Pituitaria; VMH, núcleo ventromedial del hipotálamo. Modificada de (Williams et al., 2000).....</b>	<b>15</b>

Ilustración 3: Esquema simplificado del circuito mesolímbico dopaminérgico del cerebro del roedor mostrando las principales conexiones dopaminérgicas, glutamatérgicas y GABAérgicas del VTA y del NAc .Modificado de (Russo & Nestler, 2013). .....	16
Ilustración 4: Diagrama de las principales células del NAc. Somatostatina (SOM), calretinina (CALB), Parvoalbúmina (PV). Modificado de (Russo & Nestler, 2013) .....	18
Ilustración 5: Diagrama del PICITA usado en este trabajo de investigación.....	25
Ilustración 6: Esquema del laberinto elevado en cruz. ....	26
Ilustración 8: Resumen de los efectos producidos por el PICITA sobre el circuito mesolímbico dopaminérgico. El PICITA en la corteza prefrontal provoca una disminución de la resistencia de entrada y disminuye la respuesta excitatoria de las neuronas piramidales a DA, así como una disminución en la amplitud de los potenciales de acción. En la amígdala provoca una disminución en las concentraciones de DA liberadas en respuesta al consumo de azúcar y en el NAc produce una disminución en las concentraciones de DA liberada como respuesta al consumo de sacarosa, un aumento en su metabolismo, así como una disminución en la respuesta excitatoria producida por DA.....	54

## Índice de Figuras

Figura 1: Comparación del consumo calórico total entre grupo control y grupo con acceso a sacarosa, durante la duración del PICITA. A) Hembras Wistar, B) Hembras WKY, C) Machos Wistar y D) Machos WKY. En todas las gráficas el grupo control se muestra, usando líneas de color gris, como media $\pm$ E.E. Los días de prueba se encuentran marcados con una flecha. ANOVA de dos vías con Holm- Sidak por panel, tomando como factores de variación el tiempo y el tratamiento, n= 10 a 14 animales por grupo. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.....	31
Figura 2: Comparación del curso temporal del consumo calórico por sexo y cepa durante los periodos de prueba. A) Hembras Wistar, B) Hembras WKY, C) Machos Wistar y D) Machos WKY. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm Sidak por panel usando como factores de variación el tiempo y el tratamiento, n= 10 a 12 animales por grupo. *P<0.5, **P<0.01, ***P<0.001.....	32
Figura 3: Promedio de las calorías consumidas durante los doce periodos de prueba del PICITA normalizados por el peso de los animales. ANOVA de dos vías con Sidak, n= 10 a 14 animales por grupo, ***P<0.001.....	33
Figura 4: Comparación por sexo y cepa del consumo de sacarosa durante los periodos de prueba. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm-Sidak, usando como factores de variación el sexo/cepa y el tiempo, n= 10 a 12 animales por grupo. *P<0.5, **P<0.01, ***P<0.00.....	33
Figura 5: Comparación del promedio de consumo de sacarosa durante el PICITA, ANOVA de dos vías con Holm-Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa, n=10 a 12 animales por grupo, *P<0.05, **P<0.001, ***P<0.001 .....	34
Figura 6: Comparación de variación de la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba del PICITA. A) Comparación entre hembras de ambas cepas, B) Comparación entre sexos de la cepa WKY, C) Comparación entre sexos de la cepa Wistar y D) Comparación entre machos de ambas cepas. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm-Sidak usando como factores de variación el tiempo y la cepa/sexo. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. ....	34
Figura 7: Comparación de la variación de la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba del PICITA. ANOVA de dos vías con Holm Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa. ***P<0.001.....	35
Figura 8: Curva de crecimiento de los animales durante el PICITA. ANOVA de dos vías con Holm Sidak, n=10 a 12 animales por grupo. No se encontraron diferencias entre los grupos. ....	36
Figura 9: Prueba de preferencia a sacarosa. ANOVA de dos vías con Holm Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. ....	36

Figura 10: Efecto del PICITA sobre la conducta tipo ansiedad evaluada en el modelo de c en cruz. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak por panel, usando como factores de variación la cepa y el tratamiento. N=10 a 12 animales por grupo, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.....	37
Figura 12: Efecto del PICITA sobre la excitabilidad de las neuronas espinosas medianas cuyo soma se localiza en el del NAcSh. A) Diagrama de localización de las neuronas estudiadas B) trazos representativos de las series de PA evocados con un pulso despolarizante de 400 pA de animales control como animales expuestos al PICITA (SBLB), así como el efecto de un baño extracelular de DA (50µM) sobre la frecuencia de disparo. C) Comparación de la frecuencia de disparo de las ratas control con ratas sometidas al PICITA. D) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s. E) Efecto de un baño extracelular de DA sobre la frecuencia de disparo de ratas control (E1) y ratas sometidas al PICITA (E2). ANOVA de dos vías con Holm- Sidak, n=13 células por grupo. **P<0.05, *** P<0.001).....	39
Figura 13: Efecto del PICITA sobre la excitabilidad de las neuronas piramidales cuyo soma se localiza en la capa 6 de la CPF. A) Diagrama que muestra la localización de las neuronas estudiadas B) Trazos representativos de series de PA evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y el efecto excitatorio de DA en estas mismas condiciones. C) Comparación de la frecuencia basal de disparo de ratas control y sometidas al PICITA. D) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s E) Comparación de la frecuencia de disparo de las neuronas piramidales en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA (50µM) en ratas control y ratas sometidas al PICITA. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak *P<0.05, **P<0.01). .....	40
Figura 14: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores dopaminérgicos sobre el desarrollo de la CIA durante los tres últimos periodos de prueba del PICITA. A) Comparación del consumo de sacarosa. B) Comparación del volumen total de alimentos consumidos, normalizado por la capacidad gástrica teórica de los animales. C) Comparación de las calorías consumidas por las ratas control y las ratas sometidas al PICITA en ausencia y presencia del antagonista no selectivo de los receptores de DA. D) Comparación del consumo de chow durante los últimos tres periodos de prueba del PICITA en presencia y ausencia del antagonista no selectivo de los receptores de DA. A-B) T de Student, n=10 animales por grupo. *P<0.05, **P<0.001. C-D) ANOVA de dos vías con Holm- Sidak usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco, n=10 animales por grupo. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. ....	41
Figura 15: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores dopaminérgicos durante el desarrollo de la CIA, en la prueba de LEC. A-B) Entradas y tiempo que los animales pasaron en los brazos abiertos del laberinto. C-D) Entradas y tiempo que los animales pasaron en los brazos cerrados del laberinto. ANOVA de dos vías con Holm- Sidak usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco, n=10 animales por grupo. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. ....	42
Figura 16: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA sobre la movilidad general en la prueba de CA. ANOVA de dos vías usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco usado. No se encontraron diferencias significativas. ....	42
Figura 17: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA sobre la curva de crecimiento de los animales. ANOVA de dos vías para medidas repetidas. No se encontraron diferencias entre los grupos. ...	43
Figura 18: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el desarrollo del PICITA, sobre la modulación de la excitabilidad intrínseca de las MSN. A1) Trazos representativos de series de PA evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA. A2) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s. A3) Comparación de la frecuencia en presencia y ausencia de DA en ratas tratadas con haloperidol. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak *P<0.05.....	44
Figura 19: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el desarrollo del PICITA, sobre la modulación de la excitabilidad intrínseca de las PYR de la CPF. B1) Trazos representativos de series de PA	

evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA.  
 B2) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s. B3) Comparación de la frecuencia en presencia y ausencia de DA en ratas tratadas con haloperidol.  
 ANOVA de dos vías con Holm-Sidak \*P<0.05. .... 45

## Índice de Tablas

Tabla 1: neurotransmisores y neuropéptidos hipotalámicos que han sido relacionados con el control del apetito.  
 Modificada de (Williams, Harrold, and Cutler 2000) ..... 21  
 Tabla 2: Comparación por sexo y cepa del consumo calórico durante la duración del PICITA. ANOVA de tres vías usando como factores de variación la cepa, el sexo y el tratamiento, n= 10 a 12 animales por grupo. \*P<0.5, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001. .... 30

## Abreviaturas

5HT	Serotonina
ACC	Corteza del Cíngulo Anterior
AgRP	Péptido Relacionado al Gen Agouti
AMY	Amígdala
AN	Anorexia Nervosa
BED	Trastorno por Atracóns (Binge Eating Disorder)
BN	Bulimia Nervosa
CA	Campo Abierto
CCK	Colecistoquinina
CIA	Conducta de Ingesta en Atracón
CPF	Corteza Prefrontal
CR	Coefficiente Respiratorio
DA	Dopamina
DMH	Núcleo dorsomedial del hipotálamo
DPFC	Corteza Prefrontal Dorsal
DSM-V	Manual Diagnóstico y Estadístico para las Enfermedades Mentales, Quinta Edición.
GABA	Ácido- $\gamma$ -Aminobutírico
GLP-1	Péptido Parecido al Glucagón 1
GLUT 4	Transportadores de Glucosa 4
GSHR	Receptor Secretagogo de la Hormona de Crecimiento 1
HPLC	Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (High-Performance Liquid Chromatography)
HVM	Núcleo ventromedial del hipotálamo
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina
LEC	Laberinto Elevado en Cruz
LHA	Hipotálamo Lateral
mRNA	Ácido Ribonucleico Mensajero
MSH	Hormona estimulante de melanocitos
NA	Noradrenalina
NAc	Núcleo Accumbens
NAcC	Centro del Núcleo Accumbens
NAcSh	Corteza del Núcleo Accumbens
ARC	Núcleo Arcuato
PVN	Núcleo Paraventricular
NPY	Neuropéptido Y
NT	Neurotransmisor
OFC	Corteza Orbital
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Potencial de Acción
PICITA	Protocolo de Inducción de la Conducta de Ingesta Tipo Atracón
POMC	Proopiomelanocortina
PYY	Péptido YY

RMP	Potencial de Membrana en Reposo (Resting Membrane Potential)
RN	Resistencia de Entrada
SBLB	Conducta de Ingesta de Azúcar en Atracón (Sugar Binging-Like Behaviour)
SN	Substancia Nigra
TCA	Trastorno de la Conducta Alimentaria
TMR	Tasa Metabólica en Reposo
VTA	Área ventral tegmental (Ventral tegmental area)
WKY	Wistar-Kyoto

## Resumen

**Introducción:** Los episodios de atracón son definidos como el consumo de una gran cantidad de alimento en un periodo corto de tiempo. Se encuentran relacionados con trastornos de la conducta alimentaria (TCA) como la Bulimia Nervosa (BN) y el Trastorno por Atracóns (BED por sus siglas en inglés), y tienen una alta comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos como ansiedad y depresión. Actualmente se desconoce la neurobiología de la conducta de ingesta en atracón (CIA), pero existe la teoría de que un desbalance entre el control hedónico y homeostático de la alimentación podría estar involucrado en este fenómeno. La corteza del núcleo accumbens (NAcSh) juega un rol esencial en el control hedónico de la alimentación, sin embargo, su papel en la modulación de esta conducta se desconoce. Por lo tanto, el principal objetivo de este trabajo fue esclarecer el efecto de la dopamina (DA) y del Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) sobre la modulación que ejerce el NAcSh sobre la CIA. Por otro lado, debido a la complejidad etiológica de las conductas patológicas de la alimentación, es necesario validar modelos animales que nos permitan estudiar estas enfermedades de manera más integral; por lo que otro objetivo de este proyecto fue investigar si una cepa de animales con mayor predisposición para el desarrollo de conductas tipo ansiedad y tipo depresión también era más propensa al desarrollo de la CIA; y si al igual que en los seres humanos, las hembras eran más propensas al desarrollo que los machos.

**Métodos:** Se usaron ratas hembra y macho de la cepa Wistar y Wistar-Kyoto (WKY) de 6 semanas de edad que fueron sometidas al protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo atracón (PICITA) (acceso intermitente a una solución con sacarosa al 30%, 2 horas al día, 3 veces por semana, por 4 semanas). Una vez instaurada la conducta se evaluó la conducta tipo ansiedad con las pruebas de laberinto elevado en cruz (LEC) y campo abierto (CA), y se obtuvieron tejidos para la medición de las concentraciones tisulares de DA a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), además de la medición de tolerancia a DA con la técnica de registro electrofisiológico de célula completa

**Resultados:** Las hembras de la cepa WKY mostraron una ingesta calórica elevada desde el primer periodo de prueba, que superó el 100% de la capacidad gástrica, y produjo un aumento de la conducta tipo ansiedad cuando los alimentos palatables no se encontraron disponibles. Por otro lado, el registro de célula completa mostró que el PICITA provocó un desbalance en la vía de neurotransmisión dopaminérgica, causando tolerancia a su efecto excitador en la corteza prefrontal (CPF) y en el NAcSh, así como un aumento en la excitabilidad intrínseca de la CPF. Fenómeno que fue prevenido por completo con la administración de Haloperidol en la CPF, y sólo parcialmente en el NAcSh.

**Conclusión:** Las hembras de la cepa WKY pueden ser consideradas como un modelo animal de conducta de ingesta de azúcar en atracón (SBLB por sus siglas en inglés). El consumo intermitente de azúcar produjo tolerancia a DA en la CPF y en el NAcSh, la cual al bloquear la neurotransmisión dopaminérgica es prevenido por completo en la CPF y parcialmente en el NAcSh evidenciando una participación de otras vías de neurotransmisión en esta área cerebral.

## Abstract

**Introduction:** Binge eating episodes are defined as eating large amounts of food in a short period of time, have been related with the symptomatology of eating disorder like BN and BED, and have very high comorbidity with anxiety and depression. The neurobiology of binge eating remains unknown, but an unbalance between the hedonic and homeostatic components of the control of eating behavior has been proposed as a plausible cause. It is known that the NAcSh plays an important role in the definition of the hedonic value of eating behavior, but its role over binge episodes is not clear. Therefore, the main goal of this work was to study the effect of DA and GABA over the modulation mediated by the NAcSh over the development of SBLB. Also, due to the complex nature of the development of aberrant eating behaviors, the validation of animal models that better replicate binge eating behavior is imperative. Therefore, the second goal of this work was to compare if a rat strain is known to be prone to develop anxiety- and depression-like behavior was also more propense to develop SBLB, and if sex played a role in the behavior.

**Methods.** Female and male Wistar and WKY rats of six weeks of age were subjected to the SBLB inducing protocol. Briefly, rats were exposed to 2h of access to a sucrose solution (30%), 3 times per week for 4 weeks. Once the behavior was developed, we measured the development of anxiety-like behavior using the LEC and CA. Tissue concentrations of DA in reward-related areas was measured using as HPLC, as well as the development of DA tolerance using whole cell patch clamp recordings.

**Results:** Female WKY showed an increased caloric intake, stomach distention, and development of anxiety-like behavior. On the other hand, the SBLB inducing protocol produced tolerance to the excitatory effect of DA in the NAcSh and the CPF, as well as increased intrinsic excitability in CPF; a phenomenon that in the NAcSh was partially reversed by the administration of Haloperidol and prevented in the CPF.

**Conclusion:** Female WKY rats can be considered as an animal model of SBLB. The intermittent access to sucrose solution produced DA tolerance in NacSh and CPF, as well as increased intrinsic excitability in this brain area. The blockage of the dopaminergic transmission during the SBLB inducing protocol, in the PCF totally prevented the changes observed. In the Nacsh, the prevention was partial, suggesting the involvement of other neurotransmission pathways in the development of this phenomenon in this specific brain area.

## Marco teórico

### Conducta de ingesta en atracón

Un episodio de atracón es definido por el Manual Diagnóstico y Estadístico para las Enfermedades Mentales (DSM-V por sus siglas en inglés) como el consumo de una gran cantidad de alimento (hasta estar incómodamente lleno), en un periodo corto de tiempo (menor a 2 horas), asociado a una sensación de pérdida de control sobre la alimentación (American Psychiatric Association, 2013). Esta conducta forma parte esencial de la etiología de la Bulimia nervosa (BN) y el Trastorno por atracones (BED), así como de la Anorexia Nervosa (AN) del subtipo purgativa (American Psychiatric Association, 2013; Latner, Mond, Kelly, Haynes, & Hay, 2014; Schreiber-Gregory et al., 2013).

En general durante los episodios de atracón se consumen alimentos palatables (con un alto contenido de lípidos, de hidratos de carbono simples o una mezcla de ambos), que han sido relacionados con el desarrollo de la obesidad y otras enfermedades metabólicas asociadas al exceso de tejido adiposo en el cuerpo (Hudson et al., 2010; Kessler et al., 2013; Schulte, 2016).

### Prevalencia de la conducta de ingesta en atracón

Debido a que no existen estudios que nos indiquen el número de personas que presentan la conducta de ingesta en atracón (CIA), una manera en que podemos estimarla es haciendo referencia a las prevalencias de las enfermedades con sintomatologías relacionadas como los trastornos de la conducta alimentaria (TCA), o en su defecto, a las encuestas que evalúan a la CIA como conducta de riesgo para el desarrollo de éstas.

A nivel mundial, de acuerdo a la Encuesta de Salud Mental de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia de BED es del 1.4% de la población, mientras que la de la BN es de 0.8% (Kessler et al., 2013), siendo más común el diagnóstico de ambas alrededor de los 20 años y teniendo en general una mayor persistencia la BN (6.5 años) que el BED (4.3 años).

En México no existen estudios suficientes para indicarnos con claridad la prevalencia de estos trastornos, pero se ha calculado que en la Ciudad de México, en el grupo etario de 12 a 17 años, la prevalencia de BN es del 1.0% de la población, y del BED de 1.4% (Benjet, Méndez, Borges, & Medina-Mora, 2012).

Por otro lado, un análisis de las conductas consideradas como de riesgo para el desarrollo de los TCA, mostró que la CIA llevada a cabo dos o más veces por semana, en mujeres de 15 a 19 años, a nivel nacional tuvo una prevalencia de 3.5% de la población (Unikel-Santoncini et al., 2010). Sin embargo, la Encuesta Nacional de Salud del año 2006 nos indica que la presencia de estas conductas puede ser mucho más alta, ya que reportan una prevalencia en mujeres del 9.4% y en hombres del 8.8% de la población (Barriguete-Meléndez et al., 2009).

Cabe mencionar que la prevalencia de los TCA que han sido relacionados con la CIA es mayor en mujeres que en hombres con una relación de 10:1 para BN y de 3:1 para BED (American Psychiatric Association, 2013; Benjet et al., 2015; Kessler et al., 2013).

También es importante recalcar que la prevalencia del BED aumenta de manera proporcional con el Índice de Masa Corporal (IMC), sin importar el sexo y edad de los mismos (Kessler et al., 2013), además de tener una alta heredabilidad (Thornton, Mazzeo, & Bulik, 2012)

Comorbilidad con otras enfermedades psiquiátricas.

Los TCA presentan una alta comorbilidad (alrededor del 80% de los pacientes) con otros trastornos psiquiátricos descritos en el DSM-V (C. A. Davis, 2015). En el caso del BED se ha reportado una alta comorbilidad con el desorden bipolar, la depresión y la ansiedad y, en menor grado, con el uso de sustancias adictivas (American Psychiatric Association, 2013; D. F. Becker & Grilo, 2014; von Hauswoltff-Juhlin, Brooks, & Larsson, 2015). En el caso de la BN se ha reportado una comorbilidad del 30% con el uso de sustancias adictivas, así como una alta comorbilidad con ansiedad y depresión, y en menor proporción con la personalidad bipolar (American Psychiatric Association, 2013). En ambos casos, es común que los pacientes diagnosticados con TCA hayan tenido alguna vez o se encuentren en tratamiento farmacológico para el control de alguna de estas enfermedades (C. A. Davis, 2015).

Fármacos usados para el tratamiento de los trastornos de la conducta alimentaria en cuya etiología participa la conducta de ingesta en atracón.

Hasta el momento, el tratamiento farmacológico de la CIA se ha enfocado en la reducción de la impulsividad, los atracones y de los sentimientos negativos asociados a los mismos, e incluso algunos medicamentos han sido efectivos para su control a corto plazo (Amianto, Ottone, Abbate Daga, & Fassino, 2015).

Los medicamentos que han mostrado ser efectivos en el control de la depresión son los más usados para el tratamiento de BN y, debido a que los antidepresivos tricíclicos pueden tener efectos orexigénicos, es más común el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) para el alivio de los síntomas asociados a este trastorno como son la ansiedad, depresión, los episodios de atracón, y las conductas compensatorias. Mención especial merece la fluoxetina, que es el único medicamento aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para el tratamiento de la BN y ha mostrado ser efectiva para la disminución tanto en el número de atracones, como de los síntomas negativos asociados a éstos (Amianto et al., 2015; Bello & Yeomans, 2018).

En el caso de BED, los ISRS han mostrado eficacia para la disminución del número de episodios de atracón, así como la ansiedad y depresión asociada, sin embargo sus efectos han sido menores a los obtenidos con del uso de tratamientos no farmacológicos (Vocks et al., 2009). Por ello se ha propuesto el uso de otro tipo de sustancias, entre las que destaca la lisdexanfetamina, aprobada por la FDA en el año 2015 y hoy en día representa el único tratamiento aprobado para este trastorno (Bello & Yeomans, 2018).

La lisdexanfetamina es un compuesto inactivo que actúa como un profármaco de la dextroanfetamina (amina simpaticomimética no-catecolaminérgica) comúnmente usada para el tratamiento del trastorno por déficit de atención. Este medicamento ha mostrado ser efectivo para la disminución los episodios de atracón y de sus síntomas asociados. Sin embargo, la lisdexanfetamina tiene potencial adictivo, por lo que su uso requiere de una estricta vigilancia. Además, puede representar tolerancia cruzada en los pacientes con antecedentes de uso de drogas de abuso o alto consumo de azúcares simples en su dieta (Bello & Yeomans, 2018; Holderness, Brooks-Gunn, & Warren, 1994; Peat et al., 2017)

Cabe mencionar que, en ambos trastornos, los medicamentos usados para su alivio no atacan de manera directa su etiología, sino los síntomas asociados. Además de que representan las únicas opciones de tratamiento, por lo que continuar con la investigación de sustancias activas con posibilidades terapéuticas es imperativo.

## Neurobiología de la conducta de ingesta en atracón

La ingesta de alimentos es una conducta esencial para la supervivencia, y se encuentra estrictamente regulada por factores homeostáticos y hedónicos. Actualmente existen muy pocos reportes que nos indiquen cuáles pueden ser los cambios neurobiológicos involucrados en el desarrollo de la CIA. Sin embargo, se ha propuesto que una mala comunicación o interacción entre el componente hedónico y el componente homeostático en la modulación de la conducta alimentaria podrían ser la causa (Dieguez, 2018; Kenny, 2011).

### Modulación de la conducta alimentaria

En los seres humanos, la modulación de la conducta alimentaria se da a través de la interacción de los sentidos, las emociones, la memoria y el estado fisiológico del individuo (Haber, 2011). Por varios años se ha hablado de la participación de dos componentes en el control de la conducta alimentaria: el control homeostático mediado principalmente por el hipotálamo y que toma en cuenta el estado de nutrición del individuo; y el control hedónico, regulado por el circuito mesolímbico dopaminérgico y que responde a la capacidad de los alimentos de producir placer (Lowe & Butryn, 2007; Zilberter, 2015). En un principio se hablaba de estos dos componentes de manera separada (modelo dicotómico), sin embargo, hoy en día se ha propuesto un modelo integrativo, en donde a través de señales mixtas, hormonales y mediadas por neurotransmisores o neuropéptidos, y centros de integración como el núcleo accumbens (NAc), el área ventral tegmental (VTA) y el hipotálamo lateral (LHA) (Münzberg, Qualls-Creekmore, Yu, Morrison, & Berthoud, 2016).

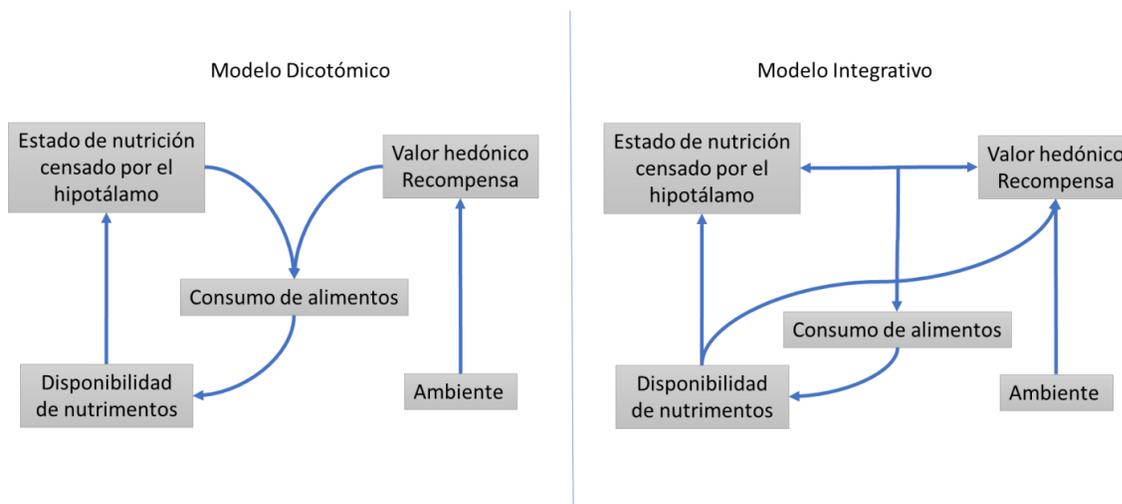


Ilustración 1: Diagrama que muestra el modelo dicotómico e integrativo de los factores involucrados en la modulación de la conducta alimentaria. Modificado de Münzberg et al. 2016.

### Control homeostático

El control homeostático de la alimentación ha sido descrito como el encargado de censar el estado de nutrición del individuo (porcentaje de masa magra, masa grasa, densidad ósea, hidratación y capacidad de absorción de nutrimentos), así como la disponibilidad de nutrimentos en sangre, producto de la ingesta de alimentos, para aumentar o disminuir la ingesta de alimentos acorde a sus necesidades. Está mediado principalmente pero no exclusivamente, por áreas cerebrales del hipotálamo entre las que destacan en núcleo arcuato (ARC), el núcleo paraventricular (PVN), los núcleos ventro y dorso medial, y el hipotálamo lateral (LHA)

## *Áreas cerebrales que conforman el control homeostático de la alimentación*

### Núcleo arcuato (ARC)

El ARC se encuentra localizado en el hipotálamo medio basal, en la base del tercer ventrículo y encima de la eminencia media. En esta región, la barrera hematoencefálica se encuentra modificada para permitir el paso de péptidos provenientes de la circulación periférica, por lo que este núcleo cerebral es uno de los encargados de censar las concentraciones de las hormonas producidas en el organismo (leptina, insulina, glucagón, entre otras), para así modular la conducta de ingesta de acuerdo con las concentraciones de estas. En este núcleo cerebral se han estudiado dos poblaciones de neuronas, aquellas que expresan proopiomelanocortina (POMC) y en general tienen un efecto anorexigénico (disminución del apetito), y aquellas que expresan péptido relacionado al gen agouti (AgRP)/ neuropéptido Y (NPY) y tienen un efecto orexigénico (aumento del apetito) aparte de disminuir el gasto energético (Sato et al., 1997; Schwartz, Figlewicz, Baskin, Woods, & Porte Daniel, 1992; Van Den Pol, 2003; Williams, Harrold, & Cutler, 2000).

### Núcleo paraventricular (PVN)

El PVN está ubicado sobre el núcleo dorso medial del hipotálamo, y en él convergen muchas vías implicadas en la modulación de la homeostasis energética. Recibe proyecciones de las neuronas productoras de NPY del ARC y otras que contienen orexinas provenientes del hipotálamo lateral, hormona estimulante de melanocitos  $\alpha$ -MSH (derivada de POMC) y péptido estimulante del apetito galanina (Palkovits, 2003). La estimulación de las neuronas NPY del ARC aumenta la liberación de NPY en el PVN, provocando un aumento en la ingesta de alimentos. Si esta liberación se lleva a cabo de manera constante, los animales pueden llegar a presentar obesidad (Stanley, Kyrkouli, Lampert, & Leibowitz, 1986). La liberación del neuropéptido  $\alpha$ -MSH en este mismo núcleo produce la reducción de la ingesta de alimentos, a través de la activación de sus receptores MC3R y MC4R. La delección de estos receptores produce obesidad (Butler et al., 2000).

### Núcleo ventromedial del hipotálamo (HVM)

El HVM se ubica en la parte media del hipotálamo por debajo del PVN. Se ha reportado que la leptina ejerce su función anorexigénica sobre este núcleo ya que al ser lesionado se producen síndromes de hiperfagia y obesidad (Palkovits, 2003).

### Hipotálamo lateral (LHA)

Durante los años 50's el LHA fue nombrado "el centro de control de la alimentación" debido a que lesiones en esta área cerebral producen afagia y adipsia (Anand & Brobeck, 1951), y a que su estimulación eléctrica provoca un aumento de la ingesta de alimento (Delgado & Anand, 1953). Posteriormente, en las década de los sesentas, se propuso que esta área cerebral también participaba en el control hedónico de la alimentación debido a que los animales con lesiones en ella mostraron reacciones aversivas al consumo de alimentos palatables (Teitelbaum & Epstein, 1962).

Hoy en día el LHA es considerado un sitio clave para la integración de los componentes homeostático y hedónico de la conducta alimentaria (Leigh & Morris, 2018). Regula la conducta de búsqueda de alimento y la motivación para la obtención de la mismo, (Alonso-Alonso et al., 2015; Dianne P Figlewicz, Bennett-Jay, Kittleson, Sipols, & Zavosh, 2011). Además una subpoblación de neuronas de esta región participan en el control hedónico de la alimentación a través de proyecciones heterogéneas (glutamatérgicas y GABAérgicas) que unen el LHA con el VTA (Nieh et al., 2015, 2016).

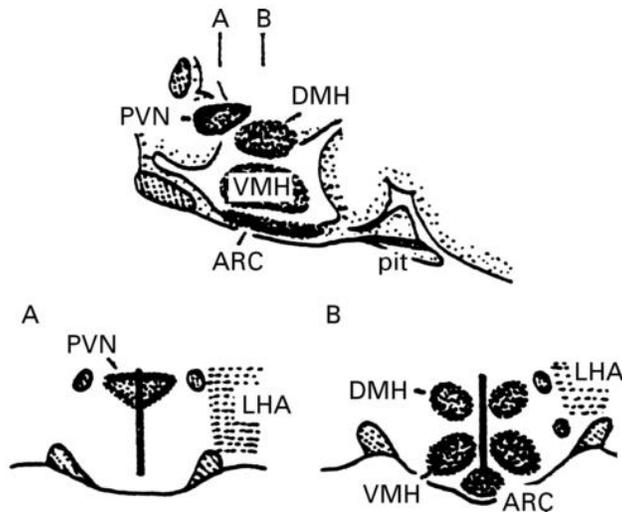


Ilustración 2: Anatomía básica del hipotálamo de la rata en sección longitudinal (A; el caudal se encuentra a la derecha) y en secciones frontales (B) para mostrar las principales regiones implicadas en la homeostasis energética. ARC, núcleo arcuato; DMH, núcleo dorsomedial del hipotálamo; LHA, área hipotalámica lateral; PVN, núcleo paraventricular; Pit, Pituitaria; VMH, núcleo ventromedial del hipotálamo. Modificada de (Williams et al., 2000)

### Control hedónico de la alimentación

La conducta alimentaria es modulada no sólo por los factores homeostáticos de la alimentación; también los factores hedónicos, controlados por el circuito mesolímbico dopaminérgico, juegan un papel.

La razón por la cual un estímulo es considerado como placentero se debe a una combinación de factores socioculturales (memoria placenteras o aversivas, cultura, desarrollo personal, entre otros), y fisiológicos (codificación de estímulos sensoriales, liberación de neurotransmisores, neuromoduladores, entre otros), que en conjunto producen un aprendizaje (Berridge & Kringelbach, 2008, 2015; Kelley, 2004). Los principales componentes que influyen en este proceso son:

- El “Liking”: es el componente hedónico de una respuesta producida por un estímulo considerado como placentero, y que en general forma parte del inicio de la búsqueda y obtención de la recompensa.
- El “wanting”: representa la motivación de un individuo para obtener un estímulo placentero.
- El aprendizaje: asociaciones, representaciones y predicción con respecto a futuras recompensas basados en experiencias pasadas. Pueden ser divididas entre aquellas que son explícitas e implícitas (Berridge & Kringelbach, 2015; Leknes & Tracey, 2010).

### El circuito mesocorticolímbico

El circuito mesocorticolímbico está formado por las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio, las cuales liberan DA de manera tónica en el NAc y CPF. Cuando se da un estímulo placentero e incluso cuando se presenta una “pista” de que podría presentarse este estímulo, la liberación de DA en estas áreas aumenta dándose de manera fásica (Hernandez & Hoebel, 1988). Cuando la liberación de DA se da de manera fásica se activan preferentemente a los receptores de la familia D1-like, y cuando esta se da de manera tónica se activan los receptores D2-like (Dreyer, Herrik, Berg, & Hounsgaard, 2010; Goto & Grace, 2005). La familia de receptores D1-like se encuentra acoplados a proteínas  $G_q$ , por lo aumentan la producción de AMP cíclico, produciendo un incremento en la excitabilidad intrínseca de la célula en la que

se encuentran, mientras que la familia de receptores D2-like se encuentran acoplados a proteínas G<sub>i</sub>, produciendo un efecto inhibitorio (Kelley, 2004; Russo & Nestler, 2013; Undieh, 2010).

Por otro lado, se ha descrito que las neuronas dopaminérgicas procedentes del VTA también inervan zonas de la amígdala (AMY), conocida por mediar procesos de estrés y aversión pero que también participa en la modulación de la conducta de ingesta de alimentos (Anderberg, Anefors, Bergquist, Nissbrandt, & Skibicka, 2014); y el hipocampo, involucrado en procesos de aprendizaje (Lisman & Grace, 2005; McNamara & Dupret, 2017). Todas las zonas antes mencionadas interactúan entre sí de una manera muy compleja; un ejemplo de ello son las proyecciones glutamatérgicas provenientes de la CPF, AMY, e hipocampo, y que modulan la actividad de las MSN en el NAc (Qi et al., 2016). Todas las áreas antes mencionadas también son moduladas de manera local por varios tipos de interneuronas GABAérgicas, y en el NAc además se suman las interneuronas colinérgicas. Además, varias de estas áreas reciben proyecciones serotoninérgicas del núcleo de rafé y tienen receptores para neuropéptidos provenientes del hipotálamo (Russo & Nestler, 2013), mostrando una red de interacciones compleja que modifica sus interacciones dependiendo del tipo e intensidad del estímulo.

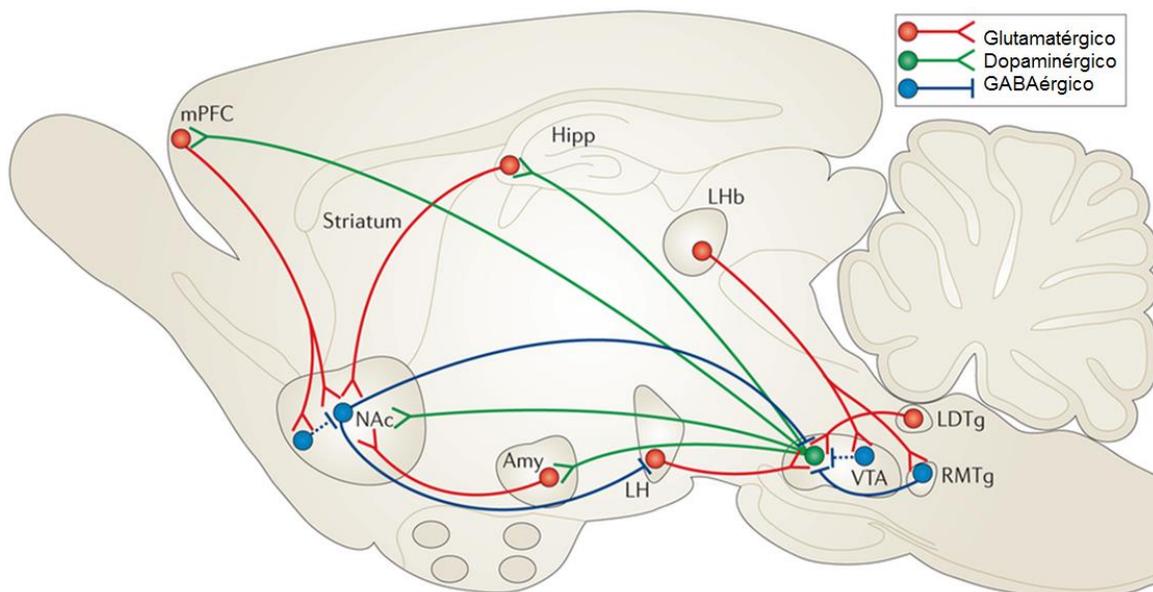


Ilustración 3: Esquema simplificado del circuito mesolímbico dopaminérgico del cerebro del roedor mostrando las principales conexiones dopaminérgicas, glutamatérgicas y GABAérgicas del VTA y del NAc. Modificado de (Russo & Nestler, 2013).

### Neuronas dopaminérgicas del cerebro medio

Las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio se encuentran divididas entre el VTA y la sustancia negra (SN) y, tomando como base hacia donde envían sus proyecciones y sus características químicas, estas células también pueden dividirse en los estratos dorsal y ventral. Las células del estrato dorsal (que incluyen al VTA y una pequeña parte de la SN) son positivas a calbindina y contienen relativamente poca mRNA del transportador de DA y de los receptores D2-Like. Envían proyecciones hacia el estriado ventral, la corteza, el hipotálamo y la AMY (Haber, Ryoo, Cox, & Lu, 2004).

Las células del estrato ventral son negativas a calbindina y tienen concentraciones de mRNA del transportador de DA y de receptores D2-Like mayores a aquellas del estrato dorsal, y proyectan principalmente, al estriado dorsal (Haber, 2011; Haber et al., 2004). Ambos estratos de neuronas

dopaminérgicas reciben proyecciones provenientes, principalmente, del estriado, el globo pálido y el tallo cerebral, aunque también se ha reportado que la CPF, la porción dorsal del núcleo de rafe y el locus coeruleus ejercen influencias sobre estas neuronas. Por otro lado, la mayoría de las proyecciones provenientes de las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio, tienen como destino el estriado, aunque también inervan zonas de la corteza, el hipotálamo, AMY e hipocampo (Haber, 2011).

### Corteza prefrontal

La CPF está organizada de manera jerárquica y puede ser dividida en regiones de acuerdo con su función; la corteza orbital (OFC) que está involucrada en la evaluación de la probabilidad, magnitud y valor de una recompensa; la corteza del cíngulo anterior (ACC) que está involucrada en el procesamiento de la recompensa, las emociones y la motivación; la corteza prefrontal dorsal (DPFC), que está involucrada en procesos cognitivos o funciones ejecutivas; y las áreas premotoras y motoras que se encuentran involucradas en la planeación y ejecución del movimiento (Fuster, 2008; Haber, 2011). La CPF recibe proyecciones noradrenérgicas provenientes del locus coeruleus, proyecciones serotoninérgicas provenientes de los núcleos de rafe, y proyecciones dopaminérgicas provenientes del VTA; estas últimas inervan principalmente las capas más profundas de la corteza (5 y 6).

Se ha propuesto que la CPF ejerce control tanto sobre el valor hedónico de los alimentos como en el control de la homeostasis energética a través de la modulación del NAc (Fuster, 2008). Se ha reportado que las lesiones en la zona orbital de la CPF producen hiperfagia, probablemente provocado por la falta de control sobre los núcleos hipotalámicos encargados del control homeostático de la alimentación (Fuster, 2008), y que un aumento en las concentraciones de DA en esta área puede sobrepasar el control homeostático de la alimentación, provocando ingesta de alimentos en ausencia de hambre (Volkow, Wang, Tomasi, & Baler, 2013).

### Amígdala (AMY)

La AMY es históricamente conocida por su participación en el reconocimiento y la modulación de las emociones negativas como el miedo y la ansiedad, aunque también participa en la modulación de las emociones positivas, entre ellas las placenteras, y de manera especial en el aprendizaje relacionado a las mismas (Baxter & Murray, 2002; Spiegler & Mishkin, 1981).

Se ha demostrado que la porción basolateral de la AMY se encuentra involucrada de manera importante en la asociación de espacios, objetos o ambientes con el valor recompensante de los alimentos, ya que animales con lesiones en esa zona presentan un menor aprendizaje al ser sometidos a paradigmas de condicionamiento (Hatfield, Han, Conley, Gallagher, & Holland, 1996).

### Núcleo Accumbens (NAc)

El NAc es un núcleo cerebral localizado en el estriado, debajo del tercer ventrículo, anterior al borde posterior de la comisura anterior, y se extiende dorsolateralmente hacia el caudado putamen. Este núcleo está formado por la zona central (NAcC), involucrada, principal pero no exclusivamente, en el control de la parte motora-sensorial asociada a la motivación para la obtención de una recompensa, y la corteza (NAcSh) involucrada en el procesamiento del valor hedónico de la misma (Barrot et al., 2000; Di Chiara, 2002; Ferrario, 2017; Ferrario et al., 2016; Opland, Leininger, & Myers, 2010).

En el NAc coexisten tres tipos de neuronas: las MSN principales neuronas de proyección, las interneuronas colinérgicas y tres subtipos de interneuronas GABAérgicas: las positivas a parvalbúmina, las positivas a somatostatina y las positivas a calretinina (revisado por Russo & Nestler, 2013). Las MSN pueden ser

clasificadas en aquellas que expresan los receptores de la familia D1-Like, y que proyectan hacia el VTA de manera directa, y cuya activación ha sido asociado con el refuerzo positivo y la recompensa, y las que expresan receptores de la familia D2-like que han sido asociadas al desarrollo de aversión y que hacen primero sinapsis con neuronas GABAérgicas del globo pálido ventral antes de modular la excitabilidad de las neuronas dopaminérgicas del VTA (Hikida, Morita, & Macpherson, 2016).

Por otro lado se ha propuesto que las interneuronas colinérgicas presentes en el NAc también se encuentran involucradas en el control de la alimentación y recompensa, ya que el aumento en la excitabilidad de estas interneuronas disminuye la ingesta de alimento palatable, así como la motivación para su búsqueda y obtención (Aitta-aho et al., 2017; Collins et al., 2019)

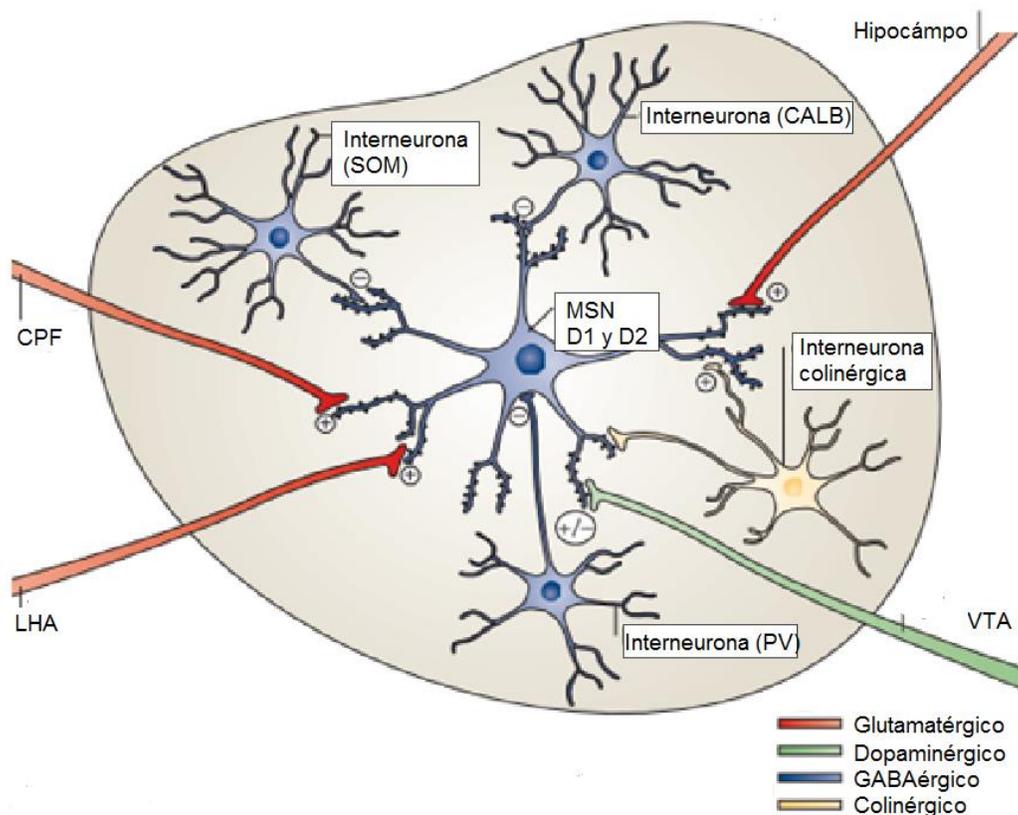


Ilustración 4: Diagrama de las principales células del NAc. Somatostatina (SOM), calretinina (CALB), Parvoalbúmina (PV). Modificado de (Russo & Nestler, 2013)

Cambios plásticos en el NAc producidos por la dieta.

Se sabe que el mantener a ratas con una dieta con alto contenido de hidratos de carbono simples y lípidos por 20 semanas produce un incremento en la expresión de receptores AMPA permeables a calcio en el NAcC (Oginsky, Goforth, Nobile, Lopez-Santiago, & Ferrario, 2016), y que en tan solo 10 días de consumo este mismo tipo de dieta es capaz de cambiar la excitabilidad intrínseca de las MSN (Oginsky, Maust, Corthell, & Ferrario, 2016). Por otro lado, la restricción de alimentos potencia el efecto producido por las drogas de abuso y los agonistas de los receptores

D1-Like a través del aumento de los receptores a glutamato tipo AMPA permeables a calcio (Ouyang et al., 2017), y que 36 horas de restricción de alimento posterior a un mes de acceso diario e intermitente a sacarosa produce una disminución en las concentraciones de DA y un aumento en las concentraciones de acetilcolina en el NAcC, aparte de aumentar la conducta tipo ansiedad y producir síntomas parecidos a los provocados por la abstinencia a opioides (Avena, Bocarsly, Rada, Kim, & Hoebel, 2015).

Principales hormonas y péptidos involucrados en el control de la conducta alimentaria.

#### *Neuropéptidos*

##### *Proopiomelanocortina (POMC)*

La POMC es un polipéptido del cual deriva el péptido anorexigénico  $\alpha$ -MSH. Las neuronas que producen POMC, presentes en el ARC, son activadas por la leptina, e inhibidas por la insulina y grelina (Chen, Lin, Kuo, & Knight, 2015). La inhibición continua de las neuronas POMC produce un aumento de la ingesta de alimentos y, por lo tanto, un aumento en el peso corporal, mientras que su activación produce un aumento de la conducta de ingesta (Atasoy, Betley, Su, & Sternson, 2012; Sun et al., 2016; Zhan et al., 2013).

##### *Neuropéptido Y (NPY)*

El NPY se expresa en neuronas cuyos somas se encuentran localizados en el ARC y proyectan al PVN, el núcleo dorsomedial del hipotálamo y el LHA. Estas neuronas contienen receptores para leptina e insulina, y liberan NPY en sus áreas de proyección en respuesta a la disminución de la concentración de estas hormonas, contribuyendo así a la homeostasis energética produciendo hambre. Este neuropéptido, al ser inyectado en el PVN, produce el mayor efecto orexigénico hasta ahora conocido. También inhibe la termogénesis y su administración repetida induce obesidad (Williams et al., 2000).

##### *Péptido Relacionado al Gen Agouti (AgRP)*

El AgRP actúa como antagonista competitivo en los receptores a melanocortina 3 y 4, cuyo ligando endógeno es  $\alpha$ -MSH (hormona cuyo precursor es POMC). Este péptido es producido por las neuronas orexigénicas del ARC, las cuales coexpresan NPY (Alex Thomas & Xue, 2017; Takeuchi, 2016), en respuesta a la disminución de las concentraciones de glucosa e insulina (Donovan & Watts, 2014).

#### *Hormonas*

##### *Insulina*

La insulina es una hormona producida por las células  $\beta$  pancreáticas en respuesta al incremento en la concentración de glucosa plasmática producida por la ingesta de alimentos. Su principal función es preparar a las células para la captación de glucosa y la activación del anabolismo energético. Esto lo hace a través de la activación de su receptor, el cual pertenece a la familia de las tirosinas cinasas, y es capaz de activar cadenas de señalización mediadas por las MAP cinasas y la fosforilación de PI3K que llevan, entre otras muchas funciones, a la traslocación de los transportadores de glucosa 4 (GLUT 4) a la membrana celular, la inhibición de la producción de glucosa hepática, aumento de la adipogénesis y gluconeogénesis en músculo (Polonsky et al., 1988).

Esta hormona también es producida en anticipación a la ingesta de un alimento (Woods et al., 1977) y estudios han demostrado que altas concentraciones de insulina, impactan de manera negativa las propiedades recompensantes de un alimento (J. F. Davis, Choi, & Benoit, 2010)

## Grelina

La grelina es un péptido producido por el tracto gastrointestinal que modula la secreción de la hormona del crecimiento, la homeostasis energética y la ingesta de alimentos. El receptor secretagogo de la hormona de crecimiento 1 (GSHR por sus siglas en inglés) se encuentra localizado principalmente en el hipotálamo, y su activación produce un fuerte efecto orexigénico (Van Der Lely, Tschöp, Heiman, & Ghigo, 2004). Se ha reportado la presencia de estos receptores en las células dopaminérgicas y no dopaminérgicas del VTA cuya activación produce un aumento de la liberación de DA en el NAc (Abizaid et al., 2006)

## Péptido YY (PYY)

El péptido PYY es una hormona anorexigénica, secretada por las células L de la mucosa del intestino grueso y colon como respuesta a la ingesta de lípidos e hidratos de carbono, o a la producción de ácidos grasos de cadena media, por la flora intestinal. Su liberación depende de la ingesta calórica ya que sus concentraciones en plasma aumentan después de la ingesta de alimentos (Coppari & Elmquist, 2009; de Lartigue & Raybould, 2012). Actúa sobre las neuronas positivas a NPY disminuyendo su liberación. También disminuye el tránsito intestinal favoreciendo la absorción de macro y micronutrientes (Batterham et al., 2006; Morell & Fiszman, 2017).

## Colecistoquinina (CCK)

Secretada principalmente por las células L de la mucosa endotelial del duodeno, la CCK regula la duración del periodo de alimentación y el volumen de los alimentos consumidos. Su liberación depende de la composición de los alimentos, ya que se ha observado que ésta es mayor en respuesta a la ingesta de proteínas y lípidos, y comienza de los 10 a los 30 minutos después de haber comenzado el periodo de alimentación (Matzinger et al., 2000). La administración de CCK en el hipotálamo produce una disminución de las porciones ingeridas, así como la duración del periodo de alimentación (Coppari & Elmquist, 2009; Gibbs, Young, & Smith, 1973).

## Péptido parecido al glucagón 1 (GLP-1)

El GLP-1 es un péptido liberado por las células del endotelio del intestino delgado y parte del colon como respuesta a la presencia de glucosa y ácidos grasos en el lumen (Hayes, De Jonghe, & Kanoski, 2010). La principal función del GLP-1 es estimular la producción y liberación de insulina de las células  $\beta$  pancreáticas (Park, 2016). En el control de la conducta de ingesta, este péptido actúa en el VTA para reducir la ingesta de alimentos con alto contenido de grasa, a través de la disminución en la liberación de DA en el NAc (Wang et al., 2015)

## Leptina

La leptina es una hormona secretada por los adipocitos, la cantidad de leptina secretada es proporcional a la cantidad de tejido adiposo presente en el individuo, es decir, a mayor cantidad de tejido adiposo mayor concentración de leptina en plasma. Suprime la ingesta de alimentos y promueve la pérdida de peso inhibiendo la liberación de neuropéptidos orexigénicos como el NPY y el AGRP. Estimula la producción de péptidos anorexigénicos como la POMC en el ARC (Frederich et al., 1995; Glaum et al., 1996).

Los individuos obesos presentan concentraciones elevadas de Leptina en plasma, lo cual debería provocar un efecto anorexigénico, sin embargo, la estimulación continua de sus receptores, los cuales pertenecen a la familia de tirosina cinasa, produce un desacoplamiento de la proteína limitando la capacidad de los mismos para llevar a cabo su función (Hamann & Matthaei, 1996). El VTA también tiene receptores de

leptina. La activación de estos receptores produce una disminución en la liberación de DA, por lo que también esta hormona participa en el control hedónico de la alimentación (D P Figlewicz, Evans, Murphy, Hoen, & Baskin, 2003; Dianne P. Figlewicz, 2016; Thompson & Borgland, 2013).

*Tabla 1: neurotransmisores y neuropéptidos hipotalámicos que han sido relacionados con el control del apetito. Modificada de (Williams, Harrold, and Cutler 2000)*

<b>Estimulantes del apetito</b>	<b>Inhibidores del apetito</b>
Neuropéptido Y, a través del receptor Y5	Péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) a través de su receptor GLP-1r
Hormona concentradora de melanocortina a través de SLC-1	Hormona Estimulante de Melanocitos $\alpha$ , a través del receptor MC4R (Cone, 2005)
Orexina a través de los receptores de Orexina 1 y 2	Colecistocinina (CCK) a través de los receptores CCK <sub>A</sub> y CCK <sub>B</sub>
Galanina a través del receptor de Galanina 1	Factor de liberación de corticotropina (CRF) a través de los receptores CRF-1 y CRF-2
Proteína relacionada al gen Agouti a través del receptor de Melanocortina 4 (MC4R)	PYY a través de su interacción con neuronas NPY (Morell & Fisman, 2017)
Glutamato, vía el receptor N-metil- D- aspartato (NMDA)	

#### Papel de la Dopamina en el control de la conducta de ingesta

La DA es un neurotransmisor monoaminérgico que ha sido históricamente relacionado con el procesamiento del placer, la recompensa y el aprendizaje por asociación (McCutcheon, 2015).

En cuanto a la conducta de ingesta se refiere, la DA juega un papel central en su modulación ya que los ratones genéticamente modificados para no expresar la enzima tirosina hidroxilasa, clave en su producción, y por lo tanto carentes de ella, no tienen apetito y por lo tanto mueren por falta de nutrimentos. En estos animales, la administración de DA exógena, hace que los ratones vuelven a consumir alimentos de manera normal, confirmando así que es la carencia de este neurotransmisor el causante de la anorexia (Szczyпка et al., 2001).

El consumo de alimentos palatables produce un aumento en la liberación de DA en el estriado, área cerebral que juega un papel central en el control hedónico de la alimentación (Hernandez & Hoebel, 1988). En el caso de la sacarosa, la liberación de DA en el NAc es directamente proporcional a la concentración de la misma e independiente de su contenido calórico (Andras Hajnal, Smith, & Norgren, 2004).

#### Modelos animales usados para el estudio de la conducta de ingesta

Se han propuesto varios modelos animales para el estudio de la CIA que en general pueden ser divididos en 4 categorías principales: los que involucran estrés (protocolos que incluyen separación materna, aislamiento, ruido blanco, descargas eléctricas, etc.), los que utilizan privación de alimento (ayunos prolongados antes de la presentación de los alimentos palatables para inducir la CIA), los que utilizan periodos de intermitencia en la ingesta (presentando los alimentos palatables sólo durante periodos cortos y en horarios determinados) y aquellos que mezclan dos o tres de las categorías antes mencionadas (Czyzyk, Sahr, & Statnick, 2010; De Jong, Vanderschuren, & Adan, 2012; Hardaway, Crowley, Bulik, & Kash, 2015; S. F. Kim, 2012; Lutter, Croghan, & Cui, 2016; Murray, Tulloch, Chen, & Avena, 2015; Wojnicki, Stine, & Corwin, 2007; Wong, Wojnicki, & Corwin, 2009; Yasoshima & Shimura, 2015). Todos estos protocolos

modelan la CIA usando alimentos palatables, cuya composición incluye una alta concentración de lípidos e hidratos de carbono simples, debido a que son reforzadores muy potentes, y a que la preferencia que los seres humanos tenemos por estos alimentos se desarrolla en etapas muy tempranas de la vida (Epstein, Leidy, Temple, & Faith, 2007; Sclafani & Ackroff, 2003).

Mención especial merece el protocolo diseñado por el grupo de Czyzyk en 2010. En éste, los ratones son expuestos de manera intermitente por 6 semanas, a periodos en donde se le permite el acceso a una solución de sacarosa al 10%, y sin necesidad de ningún estresor para modelar la CIA de manera exitosa (Avena, Rada, & Hoebel, 2008; Chun, Chung, Wang, Padgitt, & Song, 2010; Rada, Avena, & Hoebel, 2005).

A pesar de que la epidemiología nos indica que los trastornos en cuya etiología se encuentra la CIA son más prevalentes en mujeres que en hombres, y que la raza parece jugar un papel en el desarrollo de este trastorno; actualmente no existen estudios que comparen la influencia del sexo y la cepa en el desarrollo de la conducta tipo atracón en roedores.

Por otro lado, debido a la alta comorbilidad que existe entre la CIA con la ansiedad y la depresión, parece pertinente analizar si animales con una alta predisposición a este tipo de conductas (ratas de la cepa WKY) tienen también una mayor predisposición para el desarrollo de la CIA (Beck et al., 2011; Rogel-Salazar & López-Rubalcava, 2011; Scholl, Renner, Forster, & Tejani-Butt, 2010; Servatius, Jiao, Beck, Pang, & Minor, 2008).

#### Características de las ratas de la cepa WKY

Las ratas de la cepa WKY son consideradas un modelo de rata propenso al desarrollo de conductas tipo ansiedad y depresión por lo que considera que pueden ser útiles para el estudio de estos trastornos (De La Garza et al., 2015). Los animales de esta cepa presentan de manera espontánea algunas modificaciones en la neurotransmisión dopaminérgica presentes en pacientes con BED. En humanos se ha reportado que la presencia de atracones produce una disminución de la expresión de receptores D2-Like en el estriado, un aumento en la afinidad de los receptores D1-Like en el estriado, un aumento en la expresión del transportador de DA en el NAc, aparte de modificaciones en su metabolismo (Bello & Hajnal, 2010; Bello, Sweigart, Lakoski, Norgren, & Hajnal, 2003; Carey et al., 1998; Colantuoni et al., 2001; Jiao, Paré, & Tejani-Butt, 2003)

En este estudio compararemos los cambios en la conducta alimentaria producidos por un PICITA en ratas hembra y macho de dos cepas distintas, Wistar y Wistar-Kyoto. Además, se analizará el papel de la DA y GABA en el desarrollo de esta conducta.

## Justificación

Actualmente se desconoce la neurobiología de la CIA, pero existe la teoría de que un desbalance entre el control hedónico y el control homeostático de la alimentación podría estar involucrado en la misma. La DA es el neurotransmisor principal del circuito mesolímbico, y participa de manera activa en el control de la alimentación, sin embargo, su papel en el control de la CIA no ha sido descrito. Además, a través de la validación de un modelo animal de esta conducta se facilitará el estudio de esta.

## Hipótesis

- Los animales de la cepa WKY, especialmente las hembras, desarrollaran la conducta de CIA.
- El desarrollo de la conducta de CIA producirá cambios en la neurotransmisión dopaminérgica del circuito mesolímbico.
- La DA jugará un papel central en el desarrollo y mantenimiento de la CIA.

## Objetivo General

Esclarecer si la cepa y el sexo tienen influencia sobre la respuesta a un PICITA, así como, conocer a mayor detalle el papel que la neurotransmisión dopaminérgica tiene en el desarrollo y mantenimiento de esta conducta.

## Objetivos Específicos

1. Determinar la influencia del sexo y la cepa en la respuesta al PICITA.
2. Evaluar los cambios en la excitabilidad intrínseca de las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF producidos por el PICITA, así como su respuesta a DA.
3. Evaluar el papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón.

# Materiales y métodos

## Materiales

### Animales

En este trabajo se usaron ratas hembra y macho de la cepa Wistar y WKY de 6 semanas de edad, provistos por nuestro bioterio. Los roedores fueron mantenidos en cajas de acrílico (5 animales por caja), con acceso libre a agua y alimento estándar en todo momento, a una temperatura de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , y en un ciclo de luz/oscuridad invertido (12h/ 12h).

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Cinvestav (Protocolo número 0179-16) y se llevaron a cabo siguiendo lo establecido en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) para el uso y cuidado de los animales de laboratorio.

## Métodos

### Protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo atracón (PICITA)

Se utilizaron ratas de 6 semanas de edad hembras y/o machos de la cepa Wistar y/o WKY dependiendo del diseño experimental de cada uno de los objetivos. El PICITA consistió en las siguientes etapas:

- Para evitar el estrés asociado a la manipulación de los animales, durante la primera semana del protocolo se llevaron a cabo tres sesiones de separación (2 horas en las que se mantuvo a los animales en cajas individuales, con libre acceso a agua y alimento para posteriormente ser regresados a sus cajas hogar)
- A partir de la segunda semana, se llevaron a cabo 12 sesiones de prueba (3 por semana) de dos horas de duración cada una. Brevemente, durante las pruebas las ratas fueron colocadas en cajas individuales con libre acceso a alimento y líquidos (2 botellas de agua por caja para el grupo control, y 1 botella con agua y otra con solución de sacarosa al 30% para el grupo problema). Las sesiones se iniciaron entre las primeras 2 a 4 horas después del cambio del ciclo de luz obscuridad, durante la etapa de oscuridad, momento en donde los animales consumen la mayoría de su alimento.
- Se midió el consumo de alimento y líquidos por grupo (consumo en las cajas hogar) y de manera individual (en las cajas individuales, durante los periodos de prueba).

Para propósitos de esta tesis, los animales sujetos a este tratamiento serán llamados de ahora en adelante los animales SBLB (Sugar Binging-Like Behaviour). Se considera que la CIA se ha establecido una vez que, durante los periodos de prueba, los animales SBLB consumen significativamente más calorías que los animales control, así como un volumen de alimentos que exceda el 100% de su capacidad gástrica teórica.

### Protocolo de Inducción de la Conducta de Ingesta Tipo Atracón

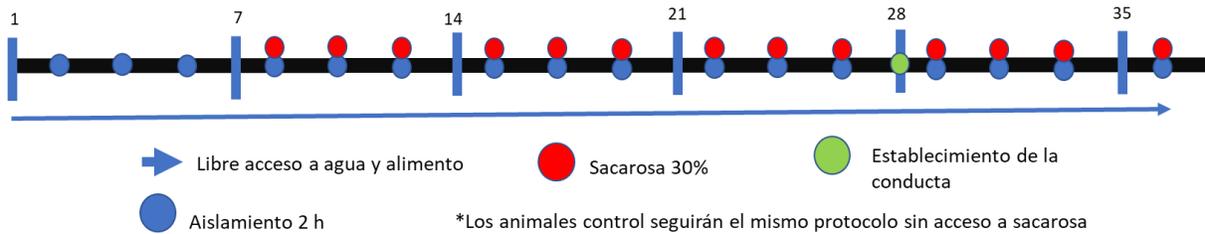


Ilustración 5: Diagrama del PICITA usado en este trabajo de investigación.

#### Determinación de la distensión estomacal teórica

Con el objetivo de establecer qué tanto aumenta de tamaño el estómago de los animales por la ingesta acelerada de alimentos durante los periodos de prueba, se decidió determinar su capacidad gástrica teórica de los animales, usando la fórmula desarrollada por Leonard Bull, la cual establece una relación directa entre el peso corporal y la capacidad gástrica de las ratas (Bull & Pitts, 1971). Se considera que al consumir un volumen de alimento mayor a la capacidad gástrica teórica podría producir una distensión excesiva del estómago, y por lo tanto puede ser comparado con el comer hasta estar incómodamente lleno, parámetro reportado por pacientes con BED. El cálculo se realizó usando el peso registrado antes de que comenzara el periodo de prueba.

$$\text{Capacidad gástrica (mL)} = (\text{peso (gr)} * 0.038) - 0.77$$

#### Laberinto elevado en cruz (LEC)

La prueba conductual del LEC es un modelo de conducta tipo ansiedad que se basa en la aversión natural de los roedores a los espacios abiertos (Walf & Frye, 2007). La estructura del LEC consta de dos brazos abiertos y dos brazos cerrados (10 cm x 50 cm) elevados a 30 cm del nivel del piso. Durante el periodo de oscuridad y usando luz roja, la rata es colocada en el centro del laberinto y se le permite explorar libremente por 5 minutos. Todas las pruebas son videograbadas para su posterior análisis. Se cuantifica el número de veces que los animales entran y salen de cada uno de los brazos del laberinto, cuánto tiempo pasan en cada uno de ellos, el número de veces que se levantan sobre sus patas traseras (erguimientos), el número de veces que se asoman al vacío, y el tiempo acumulado en el que presentan la conducta de congelamiento (tiempo que los animales permanecen inmóviles dentro del laberinto). El aumento de tiempo de permanencia en los brazos abiertos es interpretado como una disminución de la conducta tipo ansiedad.

#### Campo Abierto (CA)

La prueba de CA se basa en la curiosidad nata de los animales al exponerlos a un ambiente desconocido, y nos permite evaluar su actividad general. La arena es un rectángulo de 40 cm x 60 cm x 40 cm, dividida en 12 cuadrantes. Durante el periodo de oscuridad y usando luz roja, el animal es colocado en el centro de la arena y se le permite deambular libremente por 5 minutos para posteriormente ser retirado y colocado de regreso en su caja hogar. En esta prueba se contabilizan las veces que el animal cruza cada uno de los cuadrantes, el número de veces que cruza los cuadrantes centrales, el tiempo que pasa en los cuadrantes centrales, y el tiempo acumulado que presenta conducta de congelamiento.

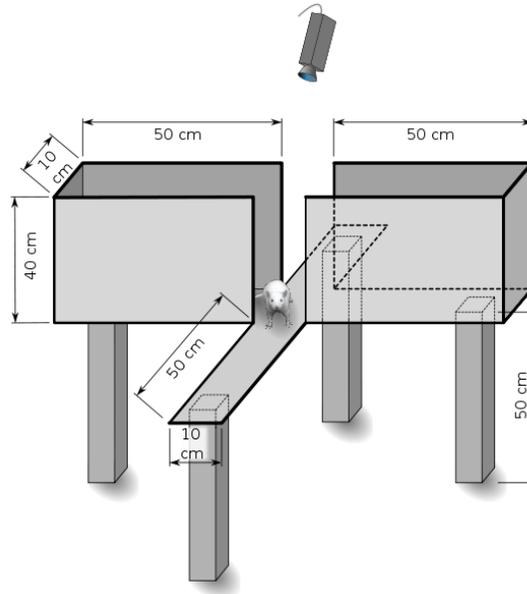


Ilustración 6: Esquema del laberinto elevado en cruz.

#### Prueba de preferencia a sacarosa

En esta prueba los animales fueron alojados por 48 horas en cajas individuales con acceso continuo a alimento y a dos botellas con líquido, una con agua y otra con solución de sacarosa al 30%. Se midió diariamente el consumo de alimento, agua y solución de sacarosa. Cuando alguno de los grupos experimentales presenta un aumento significativo en el consumo diario de sacarosa se interpreta como una preferencia por este tipo de nutrientes.

#### Registro electrofisiológico de célula completa.

##### *Obtención de rebanadas cerebrales*

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (60 mg/kg) y una vez perdido la sensibilidad al dolor, decapitados. Posteriormente fue extraído el cerebro y colocado en una solución de sacarosa (sacarosa (210 mM), KCL (2.8 mM), MgSO<sub>4</sub> (2 mM), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1.25 mM), NaHCO<sub>3</sub> (25 mM), MgCl<sub>2</sub> (1 mM), CaCl<sub>2</sub> (1 mM) y D-Glucosa (10 mM)) a aproximadamente 6°C, la cual fue oxigenada continuamente con carbógeno (95% O<sub>2</sub>/ 5% CO<sub>2</sub>).

Después, usando un vibratomo (Leica VT1000S) se obtuvieron rebanadas de tejido (NAC o CPF) de 350 µm de grosor, las cuales fueron estabilizadas en líquido cefalorraquídeo artificial compuesto de: NaCl (125 mM), KCL (2.5mM), NA<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1.25 mM), NaHCO<sub>3</sub> (25 mM), MgCl<sub>2</sub> (4 mM), CaCl (1 mM) y D-Glucosa (10 mM) a 34°C por 30 min y a temperatura ambiente por otros 90 min.

Para llevar a cabo los registros electrofisiológicos, las rebanadas fueron transferidas a una cámara de registro (volumen total 400µl) con una perfusión continua de líquido cefalorraquídeo artificial. Las neuronas fueron visualizadas con un microscopio Nikon FN1. Las pipetas de registro fueron modeladas usando borosilicato para obtener una resistencia final de 4-7 MΩ y llenadas con una solución compuesta por: Gluconato de potasio (135 mM), KCl (10 mM), NaCl (5 mM), EGTA (1 mM), HEPES (10 mM), Mg+2-ATP (2 mM), Na+-GTP (0.4 mM), fosfocreatina (10 mM) y con un pH= 7.2-7.26.

### *Registro de Célula Completa*

Los registros de las corrientes y voltajes emitidos por las células se llevaron a cabo usando un amplificador Axopatch 1D (Axon Instrument, Palo Alto, CA, USA) cuyas señales fueron digitalizadas a 10 kHz y filtradas a 5kHz (Digidata 1440A; Molecular Devices). El análisis se llevó a cabo usando el software pCLAMP10.7 (Molecular Devices). Todos los registros fueron llevados a cabo a 33°C. Se usaron al menos 5 animales por grupo experimental.

### *Medición de las propiedades de membrana y frecuencia de disparo de las MSN y las PYR.*

El potencial de membrana en reposo (RMP) fue medido inmediatamente después de haber sido establecido el sello entre el electrodo y la membrana celular, para después estabilizar el RMP a -70 mV. Posteriormente, para determinar la resistencia de entrada ( $R_N$ ), la constante de tiempo de la membrana y la reobase, se inyectaron una serie de pulsos de corrientes entrantes y salientes con una duración de un segundo, comenzando en -300 pA y con incrementos de 30 pA. La resistencia de entrada se determinó usando la pendiente de la porción lineal de la relación corriente-voltaje alrededor del RMP, y la corriente reobase fue aquella necesaria para evocar uno o más potenciales de acción. La frecuencia de disparo fue medida como el número de potenciales de acción evocados con la inyección de pulsos cuadrados de corriente de 1s de duración con incrementos de 50 pA comenzando del 0 y hasta los 450 pA.

### *Medición del efecto excitador de la DA sobre las MSN y las PYR.*

Una vez llevadas a cabo las mediciones de las propiedades de membrana y frecuencia de disparo, se llevó a cabo la infusión de un baño extracelular de DA a una concentración de 50 mM por 5 minutos. Una vez presente la DA en el baño extracelular se volvió a llevar a cabo la medición de las propiedades de membrana y frecuencia de disparo antes descritas.

### *Análisis estadístico*

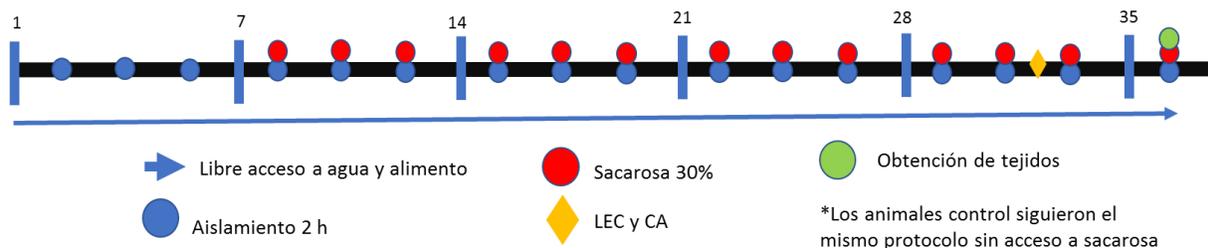
El análisis estadístico se realizó usando los programas Sigma Plot 12.0 (ANOVAS de tres vías) y GraphPad Prism 6.0. (ANOVAS de una vía cuando se evaluó sólo un factor de variación como el tratamiento; de dos vías para medidas repetidas en los cursos temporales, y de tres vías cuando se evaluaron las diferencias entre sexo, cepa y tratamiento). Las gráficas de resultados fueron creadas usando GraphPad Prism 6.0.

## Diseño Experimental

### Determinación de la influencia del sexo y la cepa en la respuesta al PICITA.

Para llevar a cabo este objetivo, ratas hembra y macho de la cepa Wistar y WKY de 6 semanas de edad, fueron sometidas al PICITA previamente descrito, por doce sesiones de prueba. Para determinar si el PICITA produce cambios en la conducta tipo ansiedad y en la movilidad general de los animales se llevaron a cabo las pruebas conductuales de CA y LEC entre los últimos dos periodos de prueba, día en el que no tuvieron acceso a sacarosa. Se determinó la ingesta de alimentos palatables y no palatables, el volumen de alimentos consumidos durante los periodos de prueba, así como los resultados del LEC y el CA.

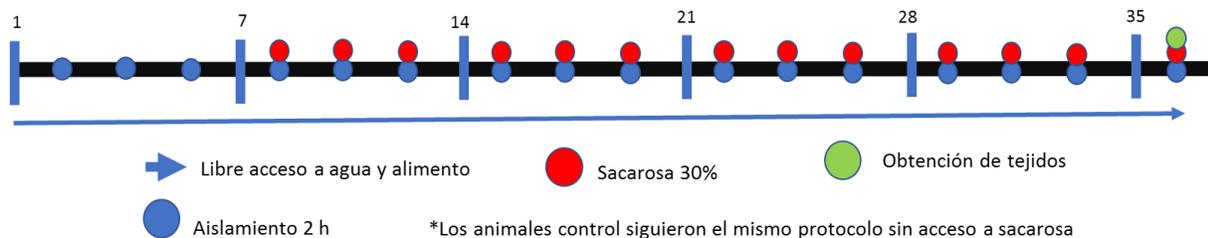
#### Determinación de la influencia del sexo y la cepa en la respuesta al PICITA.



### Evaluación los cambios en la excitabilidad intrínseca de las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF producidos por el PICITA, así como su respuesta a DA.

Para llevar a cabo este objetivo, ratas hembra de la cepa WKY de seis semanas de edad, fueron sometidas al PICITA. En la quinta semana, inmediatamente después de una última sesión de prueba, se llevó a cabo el sacrificio para preparar las rebanadas de cerebro necesarias para realizar los registros electrofisiológicos siguiendo el protocolo previamente descrito.

#### Evaluación de los cambios electrofisiológicos basales, así como en la respuesta a DA, producidos por el PICITA, en las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF.

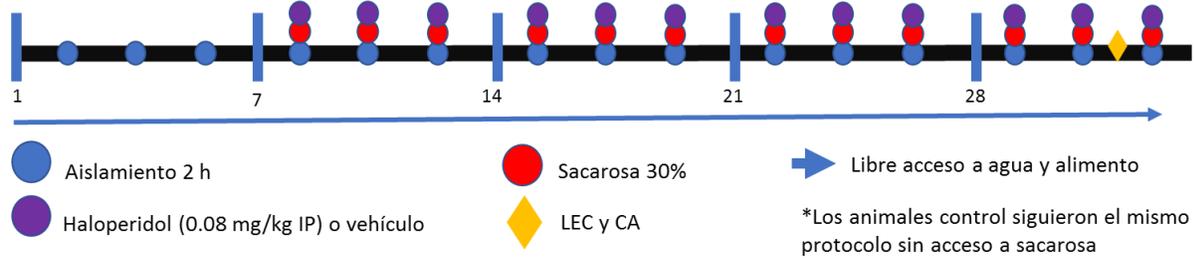


### Evaluación del papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón.

Para este objetivo se usaron ratas hembra de la cepa WKY. Los animales fueron sometidos al PICITA previamente descrito, con la única diferencia de que 30 min antes de que se llevaran a cabo las sesiones

de prueba, los animales fueron inyectados con haloperidol (0.08 mg/kg I.P) (Sigma Aldrich). En estos animales se evaluó la conducta tipo ansiedad y la actividad general, llevando a cabo las pruebas de LEC y CA entre los últimos dos periodos de prueba y en ausencia de haloperidol.

### Evaluación del papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón.



## Resultados

### Determinación de la influencia del sexo y la cepa sobre la respuesta a un Protocolo de Inducción de la Conducta de Ingesta tipo Atracón (PICITA)

En la figura 1 podemos observar el consumo calórico durante el PICITA. En el caso de las hembras Wistar, la prueba de Holm-Sidak nos muestra que, en 4 de los 12 periodos de prueba, las ratas del grupo SBLB consumieron significativamente más calorías que las ratas control, y que en 3 disminuyeron de manera significativa su consumo, conducta que solamente observamos en este grupo de animales. El ANOVA de dos vías nos mostró que tanto el tratamiento ( $p < 0.05$ ) como el tiempo ( $p < 0.001$ ) así como su interacción ( $p < 0.001$ ) fueron factores de variación estadísticamente significativos (Figura 1A).

Las hembras WKY mostraron ingestas calóricas significativamente mayores que las del grupo control desde la primera hasta la última sesión de prueba, y disminuyeron su consumo los días de descanso, sin embargo, en ninguna ocasión esta disminución fue diferente a la ingesta del grupo control. La prueba de varianza de dos vías nos muestra que tanto el tiempo ( $p < 0.001$ ) como el tratamiento ( $p < 0.001$ ), así como su interacción ( $p < 0.001$ ) fueron factores de variación estadísticamente significativos (Figura 1B).

En el caso de los machos Wistar, el ANOVA de dos vías nos muestra que el tratamiento no fue un factor de variación significativo. Durante los periodos de prueba estos animales si consumen más calorías que el grupo control (Figura 2), sin embargo, compensan esta ingesta elevada en el mismo día en el que se lleva a cabo (Figura 1C).

Para finalizar los machos WKY en las últimas sesiones de prueba, presentaron un consumo calórico estadísticamente mayor al presentado por las ratas control, así mismo se observa una tendencia a disminuir el consumo calórico en los días de descanso, que en una sola ocasión fue significativa. El ANOVA nos muestra que tanto el tiempo ( $p < 0.001$ ) como el tratamiento ( $p < 0.001$ ) así como su interacción ( $p < 0.001$ ) fueron factores de variación estadísticamente significativos (Figura 1D).

### Comparación del consumo calórico promedio entre cepas, sexos y tratamiento

Para comparar el consumo calórico promedio durante la duración del PICITA entre las diferentes cepas, sexos y el tratamiento, se llevó a cabo un análisis de varianza de tres vías. Este análisis nos reveló que tanto el sexo ( $p < 0.001$ ), la cepa ( $p < 0.001$ ) y el tratamiento ( $p < 0.05$ ) son factores de variación significativos. De la misma manera, la interacción entre el sexo y la cepa ( $p < 0.05$ ) también es un factor de variación estadísticamente significativo (Tabla 2).

Tabla 2: Comparación por sexo y cepa del consumo calórico durante la duración del PICITA. ANOVA de tres vías usando como factores de variación la cepa, el sexo y el tratamiento,  $n = 10$  a  $12$  animales por grupo. \* $P < 0.5$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Factor de variación	F	P
Cepa	29.672	<b>&lt;0.001***</b>
Sexo	50.491	<b>&lt;0.001***</b>
Tratamiento	4.266	<b>0.04*</b>
Cepa x sexo	0.97	0.326
Cepa x tratamiento	6.65	<b>0.011*</b>
Sexo x tratamiento	0.825	0.365
Cepa x sexo x tratamiento	2.509	0.115

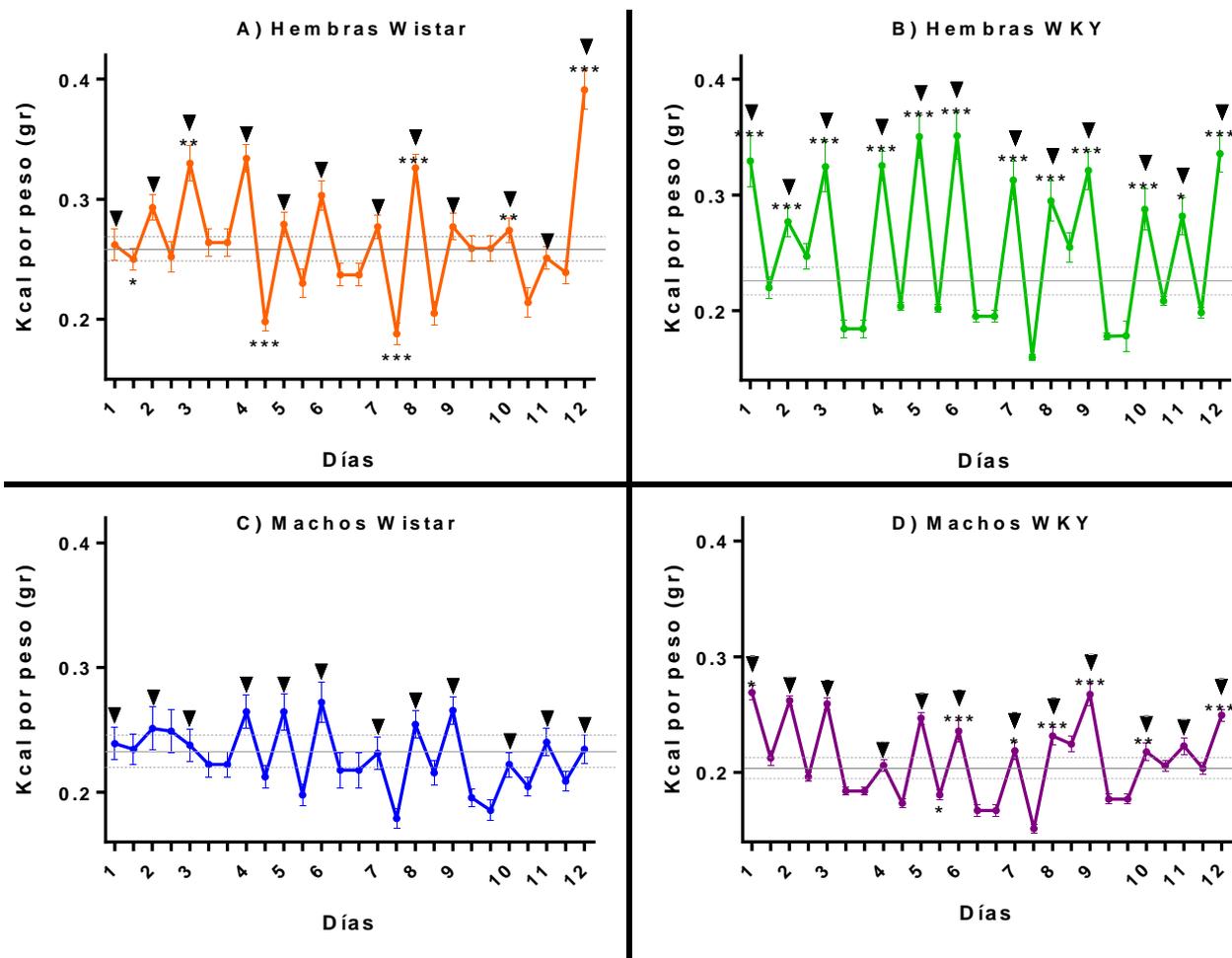


Figura 1: Comparación del consumo calórico total entre grupo control y grupo con acceso a sacarosa, durante la duración del PICITA. A) Hembras Wistar, B) Hembras WKY, C) Machos Wistar y D) Machos WKY. En todas las gráficas el grupo control se muestra, usando líneas de color gris, como media  $\pm$  E.E. Los días de prueba se encuentran marcados con una flecha. ANOVA de dos vías con Holm- Sidak por panel, tomando como factores de variación el tiempo y el tratamiento,  $n = 10$  a  $14$  animales por grupo. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

Consumo calórico durante los periodos de prueba.

Al término del PICITA los animales que tuvieron acceso a la solución de sacarosa, sin importar la cepa o el sexo, presentaron una ingesta calórica significativamente mayor a la presentada por el grupo control, sin embargo, los animales de la cepa WKY presentaron esta ingesta elevada desde el primer periodo de prueba mientras que los animales de la cepa Wistar lo hicieron hasta el tercer periodo de prueba (Figura 2).

Al promediar el consumo calórico durante los doce periodos de prueba observamos que, sin importar sexo y cepa, todos los grupos que tuvieron acceso a sacarosa tuvieron una ingesta calórica mayor que aquella del grupo control y que sin importar el sexo, los animales de la cepa WKY tuvieron una ingesta mayor que sus congéneres de la cepa Wistar (Figura 3).

### Consumo de sacarosa durante los periodos de prueba

En la figura 4 panel A podemos observar la comparación entre el consumo de sacarosa de las hembras de ambas cepas. Las WKY consumieron, en 10 ocasiones, una mayor cantidad de solución de sacarosa que sus congéneres de la cepa Wistar. En el panel B podemos observar la comparación en el consumo entre las hembras y machos de la cepa WKY. En este caso, las hembras siempre tuvieron un consumo mayor al de los machos.

En el panel C se encuentra la comparación del consumo de sacarosa entre hembras y machos de la cepa Wistar, las cuales prácticamente no se observan diferencias, ya que sólo en una ocasión, las hembras consumieron más solución de sacarosa que los machos.

Finalmente, en el panel D observamos la comparación entre machos de la cepa Wistar y WKY. Estos últimos presentaron en 4 ocasiones un mayor consumo que sus congéneres de la cepa Wistar.

El análisis de los promedios de ingesta de sacarosa durante los 12 periodos de prueba muestra que los machos de la cepa WKY consumieron en promedio, una mayor cantidad de sacarosa que los machos de la cepa Wistar, y que las hembras WKY consumieron una mayor cantidad de sacarosa que los demás grupos experimentales (Figura 5).

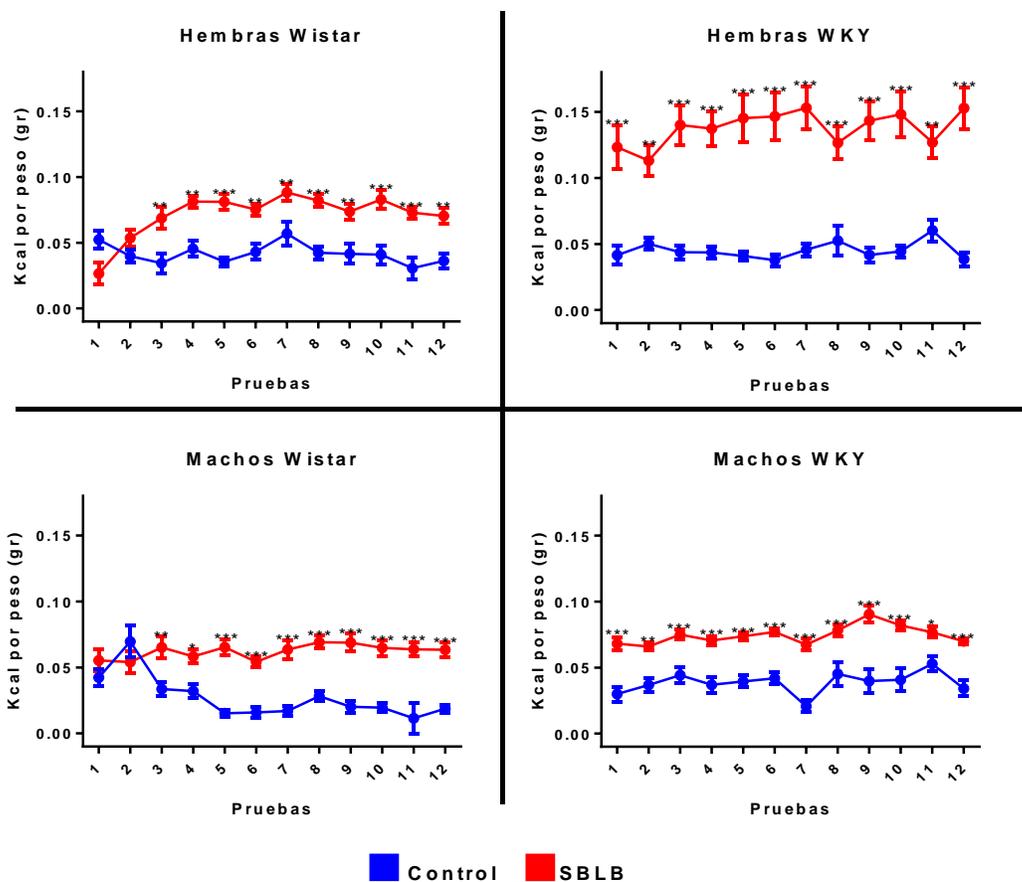


Figura 2: Comparación del curso temporal del consumo calórico por sexo y cepa durante los periodos de prueba. A) Hembras Wistar, B) Hembras WKY, C) Machos Wistar y D) Machos WKY. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm Sidak por panel usando como factores de variación el tiempo y el tratamiento, n= 10 a 12 animales por grupo. \*P<0.5, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

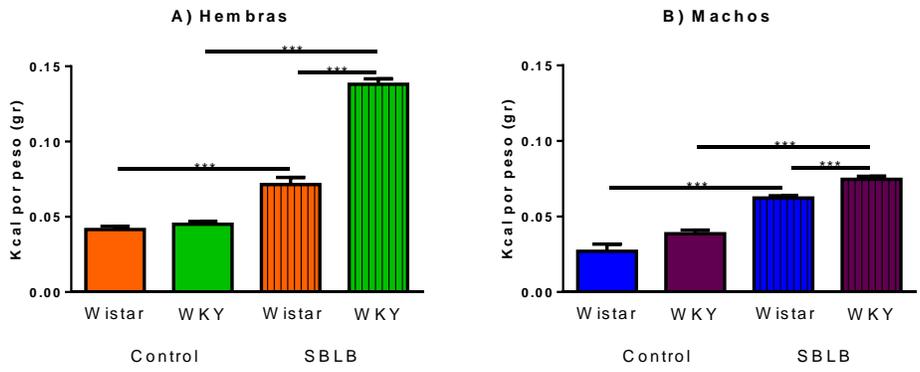


Figura 3: Promedio de las calorías consumidas durante los doce periodos de prueba del PICITA normalizados por el peso de los animales. ANOVA de dos vías con Sidak, n= 10 a 14 animales por grupo, \*\*\*P<0.001.

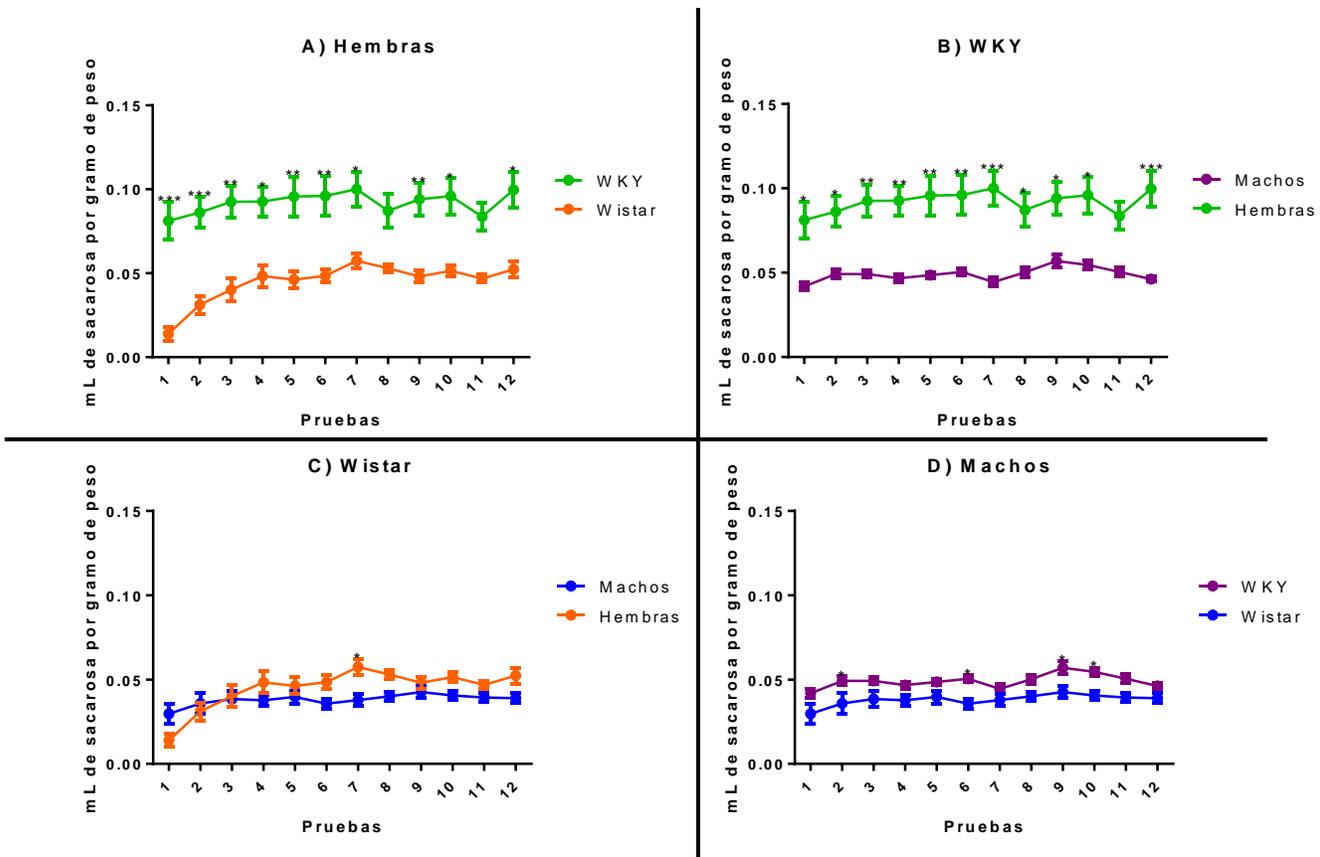


Figura 4: Comparación por sexo y cepa del consumo de sacarosa durante los periodos de prueba. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm-Sidak, usando como factores de variación el sexo/cepa y el tiempo, n= 10 a 12 animales por grupo. \*P<0.5, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

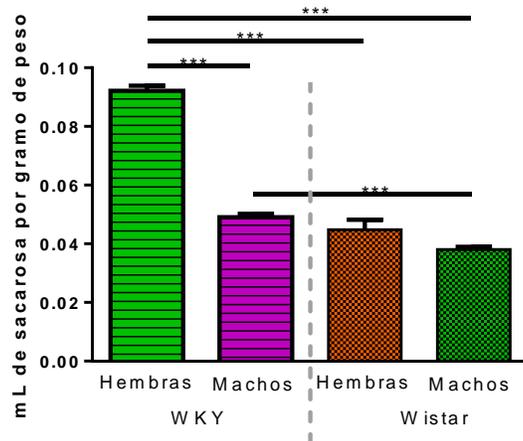


Figura 5: Comparación del promedio de consumo de sacarosa durante el PICITA, ANOVA de dos vías con Holm-Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa, n=10 a 12 animales por grupo, \*P<0.05, \*\*P<0.001, \*\*\*P<0.001

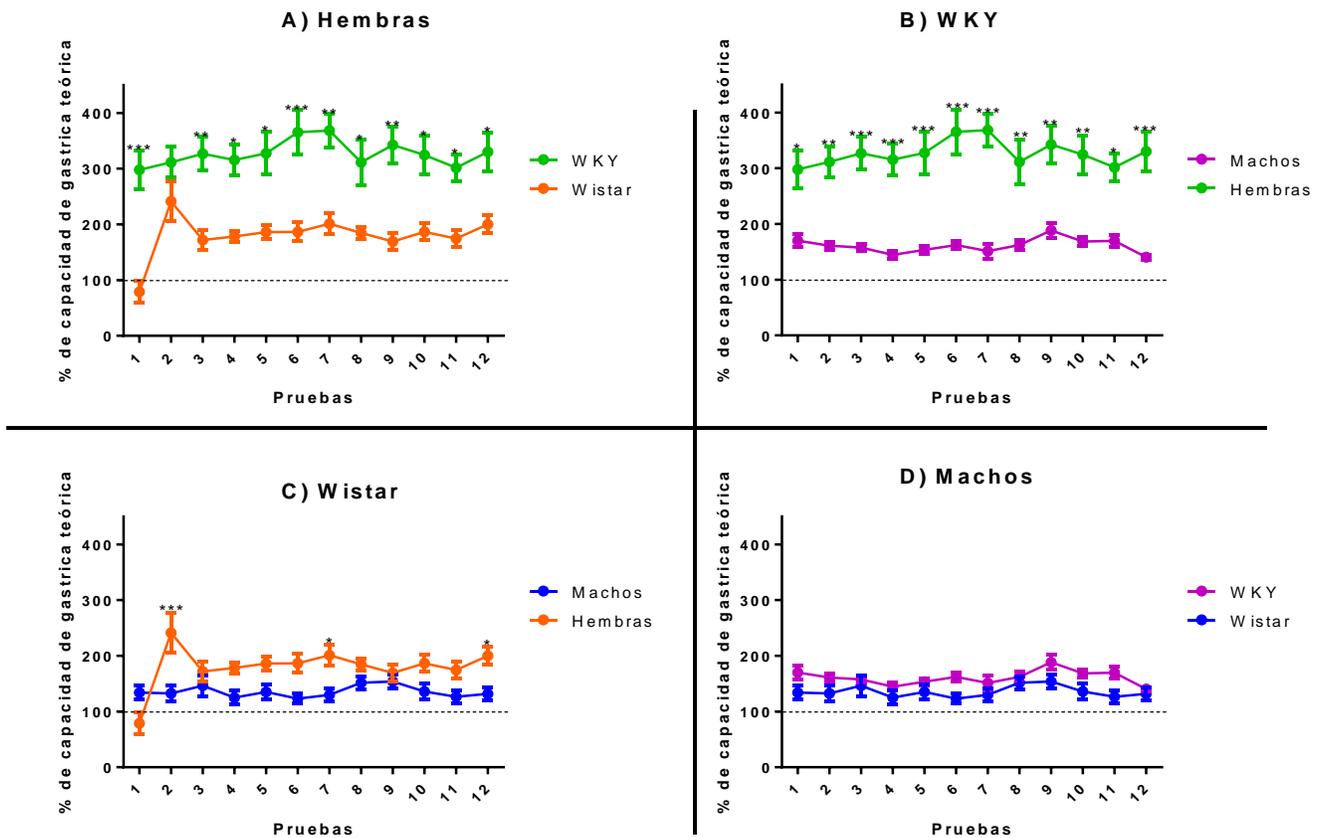


Figura 6: Comparación de variación de la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba del PICITA. A) Comparación entre hembras de ambas cepas, B) Comparación entre sexos de la cepa WKY, C) Comparación entre sexos de la cepa Wistar y D) Comparación entre machos de ambas cepas. ANOVA de dos vías para medidas repetidas con Holm-Sidak usando como factores de variación el tiempo y la cepa/sexo. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

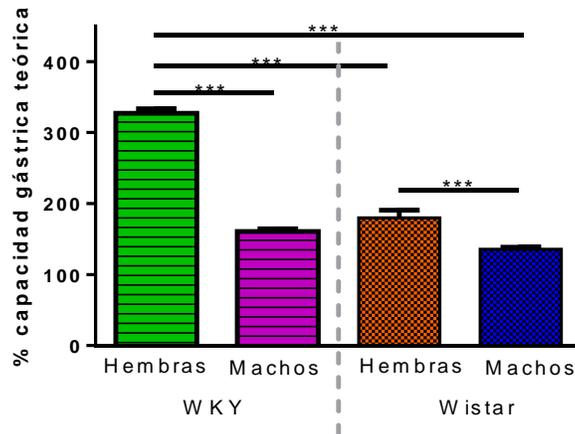


Figura 7: Comparación de la variación de la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba del PICITA. ANOVA de dos vías con Holm Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa. \*\*\*P<0.001

Comparación de la distensión estomacal teórica durante los periodos de prueba entre los diferentes grupos experimentales

La figura 6 nos muestra la comparación de las variaciones de la distensión estomacal teórica entre los diferentes grupos de prueba. En el caso de las hembras de la cepa WKY, en 11 ocasiones, consumieron un mayor volumen de alimentos que aquellas de la cepa Wistar. Al llevar a cabo este análisis entre machos de las diferentes cepas no observamos diferencias.

Si llevamos a cabo el análisis comparando ahora hembras y machos por cepa, observamos que las hembras de la cepa WKY, siempre consumieron un volumen mayor que los machos. En el caso de los animales de la cepa Wistar observamos que las hembras, en tres ocasiones, consumieron mayor volumen de alimento que los machos.

Si tomamos en cuenta el promedio del volumen de alimento consumido durante los periodos de prueba, observamos que los machos de la cepa WKY consumieron un mayor volumen de alimentos durante los periodos de prueba que aquellos de la cepa Wistar, y que las hembras de la cepa WKY consumieron un volumen mayor de alimentos que el ingerido por el resto de los grupos experimentales (Figura 7).

#### Curva de crecimiento durante el PICITA

Al llevar a cabo el ANOVA de dos vías para medidas repetidas usando como factores de variación el sexo y el tiempo, no se observaron diferencias significativas, confirmando que este protocolo no induce cambios en este parámetro (Figura 8).

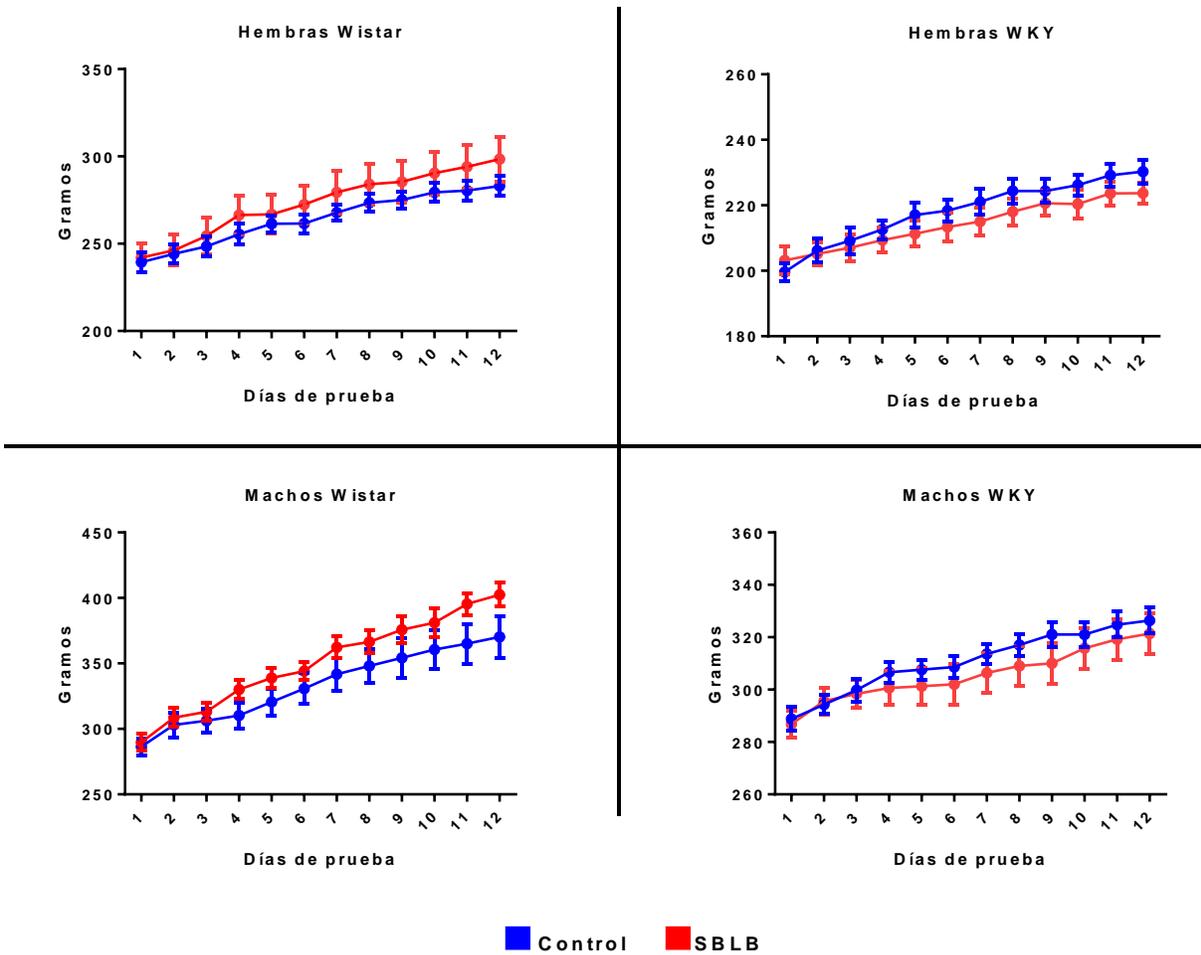


Figura 8: Curva de crecimiento de los animales durante el PICITA. ANOVA de dos vías con Holm Sidak, n=10 a 12 animales por grupo. No se encontraron diferencias entre los grupos.

### Prueba de preferencia a sacarosa

Al comparar el consumo de sacarosa durante la prueba de preferencia a sacarosa entre los diferentes grupos experimentales, no se encontraron diferencias en el consumo de solución de sacarosa durante los tres días en los cuales se les permitió acceso continuo a la misma (Figura 9).

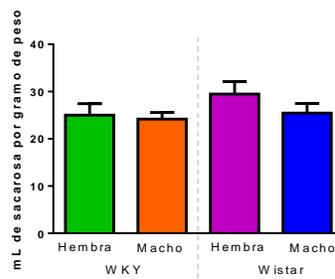


Figura 9: Prueba de preferencia a sacarosa. ANOVA de dos vías con Holm Sidak usando como factores de variación el sexo y la cepa, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

## Desarrollo de la conducta tipo ansiedad durante el PICITA

Los resultados nos indican que las hembras del grupo SBLB en comparación con los grupos control (figura 10, panel superior), sin importar la cepa, disminuyen de manera significativa el tiempo que pasan en los brazos abiertos, aparte de presentar una tendencia a disminuir el número de entradas que hacen a estos mismos brazos. Los machos del grupo SBLB en comparación del control (panel inferior), al igual que las hembras, sin importar la cepa, presentan una disminución del tiempo que pasan en los brazos abiertos del laberinto, así como una disminución de las entradas a los mismos, lo que nos indica un aumento de la conducta tipo ansiedad.

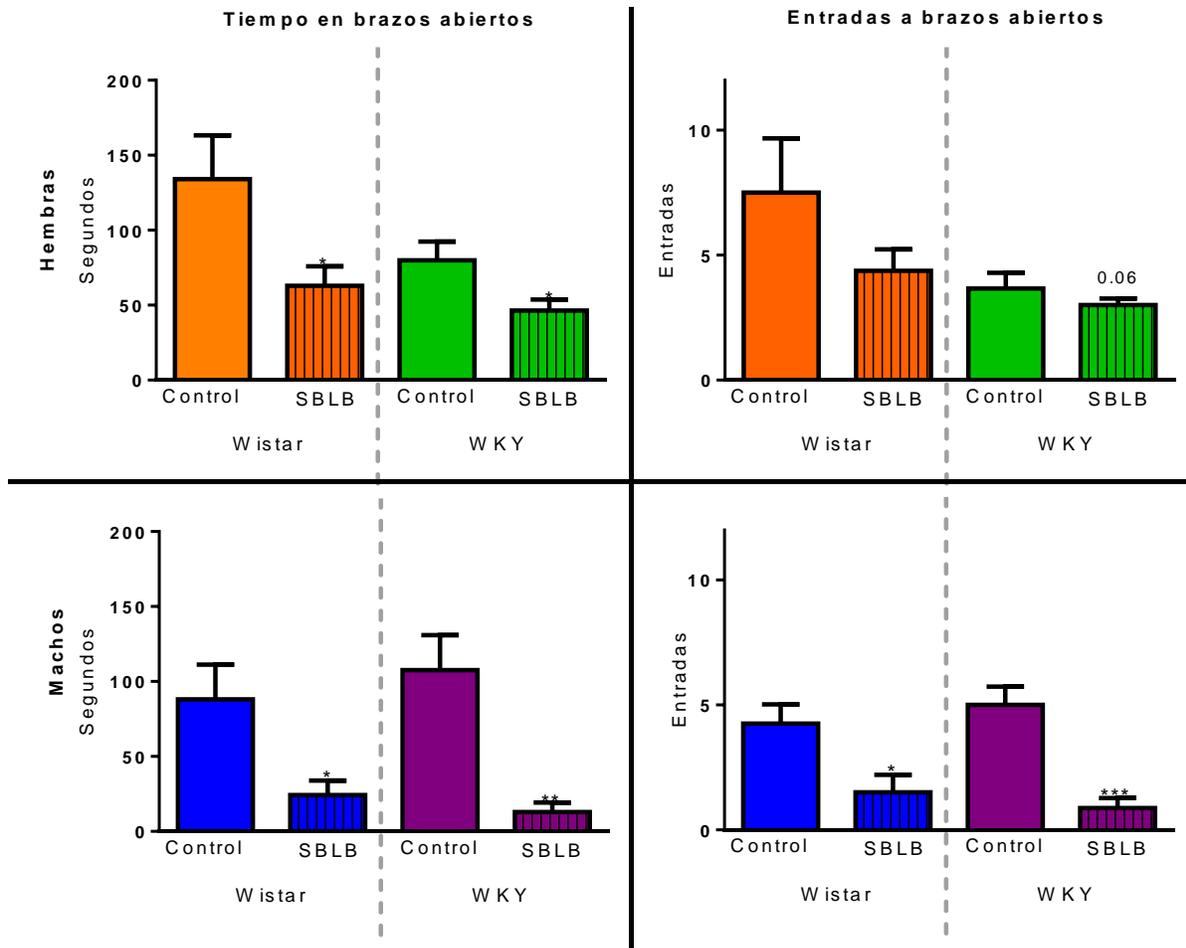


Figura 10: Efecto del PICITA sobre la conducta tipo ansiedad evaluada en el modelo de *c* en cruz. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak por panel, usando como factores de variación la cepa y el tratamiento.  $N=10$  a  $12$  animales por grupo, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$

**Nota importante:** Con base en los resultados obtenidos en esta primera parte del trabajo experimental, se eligió usar solamente a las hembras de la cepa WKY para llevar a cabo el resto de los objetivos de este trabajo.

## Evaluación de la excitabilidad intrínseca basal y los cambios producidos por el PICITA, así como su respuesta a DA, en las neuronas espinosas medianas del NAcSh y en las neuronas piramidales de la CPF.

Efecto del PICITA sobre la excitabilidad intrínseca y la respuesta a DA de las neuronas espinosas medianas del NAcSh.

Los resultados obtenidos nos indican que, de manera basal, las neuronas espinosas medianas del NAcSh de las ratas del grupo SBLB no presentan cambios su excitabilidad intrínseca con respecto al grupo control, ya que el número de potenciales de acción evocados como respuesta a inyecciones crecientes de corriente fue el mismo (figura 11 C). Sin embargo, al ser agregado el baño extracelular de DA, las ratas del grupo control (sin acceso a sacarosa) mostraron una disminución de la corriente reobase, un aumento en el número de PA emitidos al inyectar esta misma corriente por 1 s, y un aumento en la frecuencia de disparo, efecto que no fue observado en las ratas sujetas al PICITA (Figura 11 D, E).

Efecto del PICITA sobre la excitabilidad intrínseca y la respuesta a DA de las neuronas piramidales de la CPF.

En el caso de las neuronas piramidales (PYR) de las capas profundas de la CPF, el PICITA provocó cambios en la excitabilidad intrínseca basal del grupo SBLB en comparación con el control, produciendo un aumento en su frecuencia de disparo (Figura 12 C). En cuanto a la respuesta a DA se refiere, el PICITA provocó tolerancia, ya que los efectos observados en el grupo control (disminución de la corriente reobase, aumento en el número de potenciales de acción emitidos a la corriente reobase, así como un aumento en la frecuencia de disparo) no se presentaron en los animales sometidos al PICITA (Figura 12 D,E)

## Evaluación del papel de la neurotransmisión dopaminérgica en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón.

Comparación del efecto del antagonismo de los receptores dopaminérgicos en el desarrollo de la conducta de ingesta en atracón.

El antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el desarrollo del PICITA produjo una disminución en el consumo de sacarosa durante los periodos de prueba en comparación a aquellos que fueron tratados con solución salina (Figura 13A), así como una disminución en la distensión estomacal teórica tanto de los grupos control, que no tiene acceso a solución de sacarosa, como en aquellos que tuvieron acceso a ella, en comparación con los que fueron administrados con salina (Figura 13B).

En cuanto al consumo de chow se refiere, el antagonismo no selectivo de los receptores de DA produjo una disminución no selectiva de la ingesta, ya que disminuyó tanto en el grupo control como en el SBLB (Figura 13D).

Finalmente, el antagonismo no selectivo de los receptores de DA produjo una disminución del consumo calórico, tanto en las ratas control como en las que tuvieron acceso a la solución de sacarosa. Sin embargo, se mantuvo el aumento significativo del consumo calórico de las ratas sometidas al PICITA, en comparación con su control.

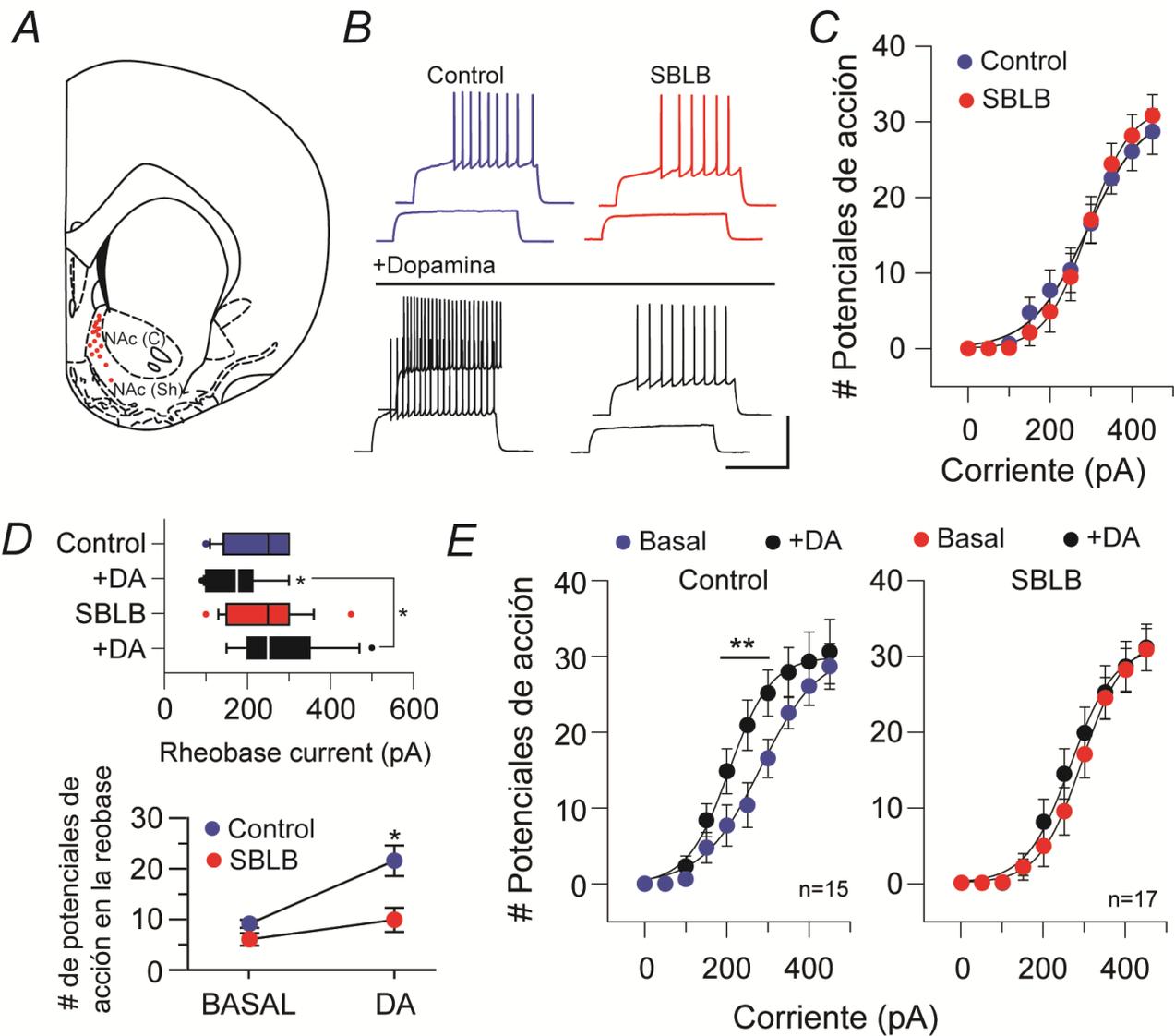


Figura 11: Efecto del PICITA sobre la excitabilidad de las neuronas espinosas medianas cuyo soma se localiza en el del NAcSh. A) Diagrama de localización de las neuronas estudiadas B) trazos representativos de las series de PA evocados con un pulso despolarizante de 400 pA de animales control como animales expuestos al PICITA (SBLB), así como el efecto de un baño extracelular de DA (50 $\mu$ M) sobre la frecuencia de disparo. C) Comparación de la frecuencia de disparo de las ratas control con ratas sometidas al PICITA. D) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s. E) Efecto de un baño extracelular de DA sobre la frecuencia de disparo de ratas control (E1) y ratas sometidas al PICITA (E2). ANOVA de dos vías con Holm- Sidak, n=13 células por grupo. \*\*P<0.05, \*\*\* P<0.001).

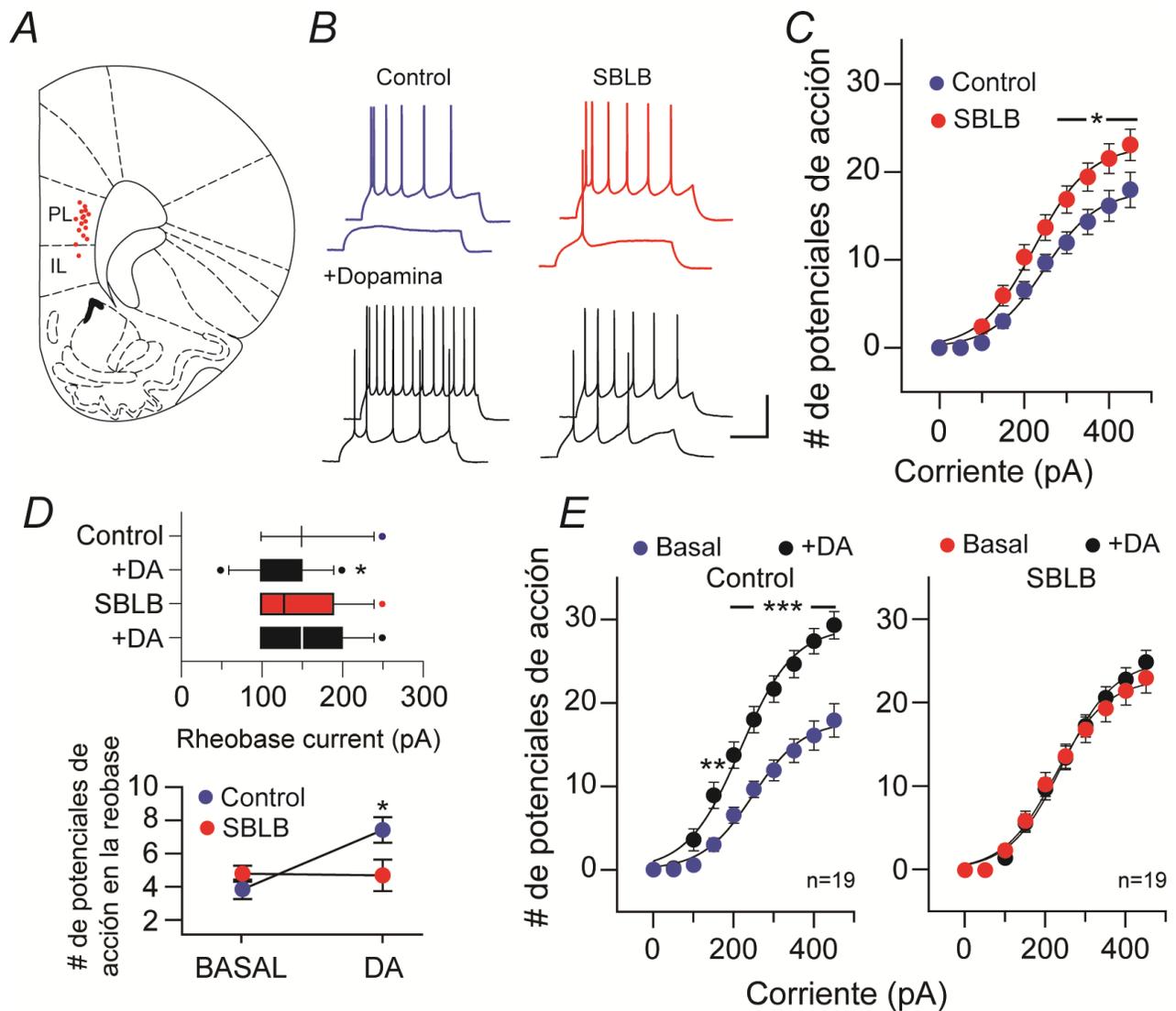


Figura 12: Efecto del PICITA sobre la excitabilidad de las neuronas piramidales cuyo soma se localiza en la capa 6 de la CPF. A) Diagrama que muestra la localización de las neuronas estudiadas B) Trazos representativos de series de PA evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y el efecto excitatorio de DA en estas mismas condiciones. C) Comparación de la frecuencia basal de disparo de ratas control y sometidas al PICITA. D) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente rebase por 1s E) Comparación de la frecuencia de disparo de las neuronas piramidales en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA (50 $\mu$ M) en ratas control y ratas sometidas al PICITA. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

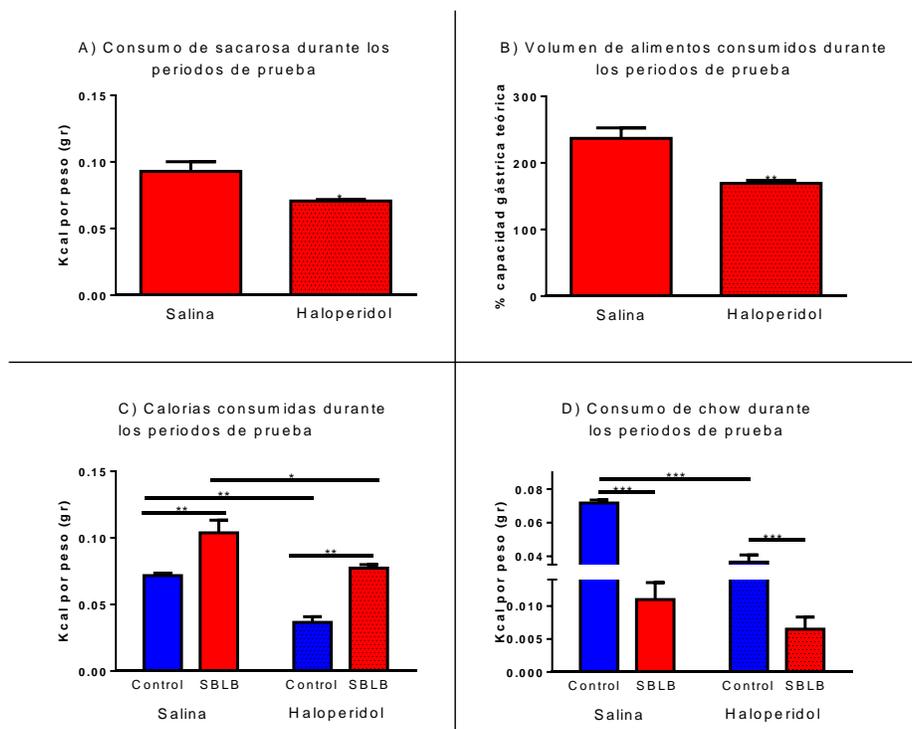


Figura 13: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores dopaminérgicos sobre el desarrollo de la CIA durante los tres últimos periodos de prueba del PICITA. A) Comparación del consumo de sacarosa. B) Comparación del volumen total de alimentos consumidos, normalizado por la capacidad gástrica teórica de los animales. C) Comparación de las calorías consumidas por las ratas control y las ratas sometidas al PICITA en ausencia y presencia del antagonista no selectivo de los receptores de DA. D) Comparación del consumo de chow durante los últimos tres periodos de prueba del PICITA en presencia y ausencia del antagonista no selectivo de los receptores de DA. A-B) T de Student,  $n=10$  animales por grupo.  $*P<0.05$ ,  $**P<0.001$ . C-D) ANOVA de dos vías con Holm- Sidak usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco,  $n=10$  animales por grupo.  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$ .

### Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre el desarrollo de conducta tipo ansiedad

En el grupo que fue administrado con el vehículo, el acceso a la solución de sacarosa de manera intermitente produjo una tendencia a disminuir el número de entradas a los brazos abiertos (Figura 14A), y una disminución del tiempo que los animales pasaban en los mismos (Figura 14B). Además, el PICITA indujo un aumento de las entradas a los brazos cerrados del laberinto (Figura 14C). Ninguna de las conductas inducidas por el consumo de sacarosa se presentó en los animales a las que se les administró el antagonista no selectivo de los receptores a DA.

### Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la movilidad de los animales

Ni la administración de 0.08 mg/kg de haloperidol ni la exposición al PICITA produjeron cambios en la movilidad general de los animales, al no cambiar el número total de cruces presentados en el modelo de CA (Figura 15).

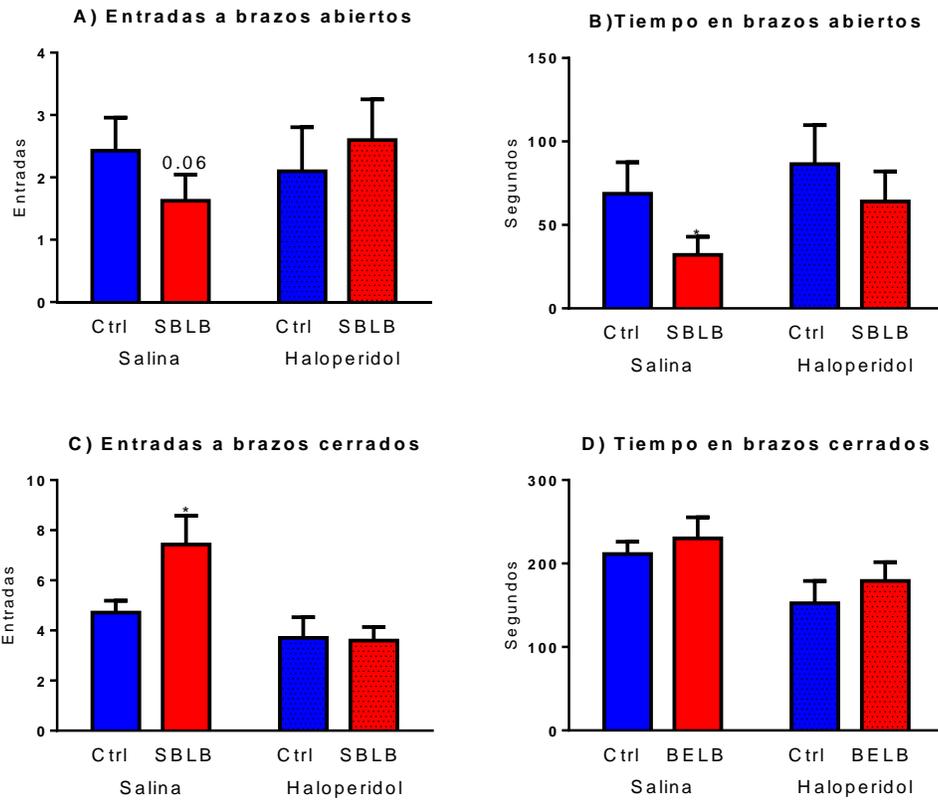


Figura 14: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores dopaminérgicos durante el desarrollo de la CIA, en la prueba de LEC. A-B) Entradas y tiempo que los animales pasaron en los brazos abiertos del laberinto. C-D) Entradas y tiempo que los animales pasaron en los brazos cerrados del laberinto. ANOVA de dos vías con Holm- Sidak usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco, n=10 animales por grupo. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001.

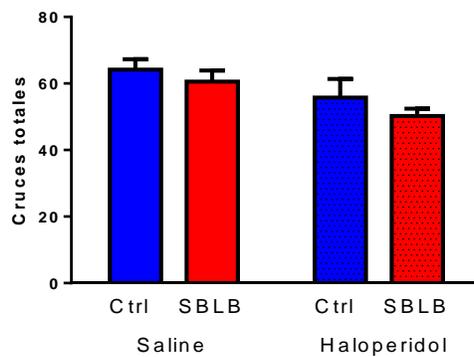


Figura 15: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA sobre la movilidad general en la prueba de CA. ANOVA de dos vías usando como factores de variación el tratamiento y el fármaco usado. No se encontraron diferencias significativas.

Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la curva de crecimiento de los animales

Ni la administración de haloperidol, ni la exposición al PICITA provocaron cambios en la curva de crecimiento de los animales (figura 16).

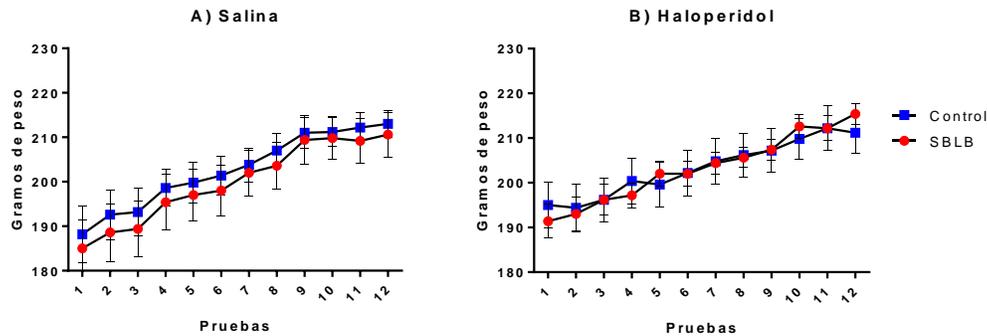


Figura 16: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA sobre la curva de crecimiento de los animales. ANOVA de dos vías para medidas repetidas. No se encontraron diferencias entre los grupos.

Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la excitabilidad intrínseca de las MSN del NAcSh.

El antagonismo no selectivo de los receptores a DA durante los periodos de prueba, en el grupo control, no produjo cambios sobre su capacidad de respuesta a este neurotransmisor, ya que las células, al ser sometidas a un baño extracelular de DA disminuyeron su corriente reobase, aumentaron el número de PA evocados como respuesta a la inyección de la corriente reobase por un segundo (Figura 17 A1, A2), de la misma manera que se observó en las ratas control sin fármaco (Figura 11).

En el grupo que fue expuesto al PICITA, en el que de manera basal observamos tolerancia al efecto excitatorio de la DA, la administración de haloperidol (0.08 mg/kg I.P.) provocó una recuperación parcial de esta sensibilidad, ya que no se observaron cambios en la corriente reobase, pero sólo aumentó el número de PA evocados al inyectar esta corriente por 1 s, así como la frecuencia de disparo producida por inyecciones crecientes de corriente.

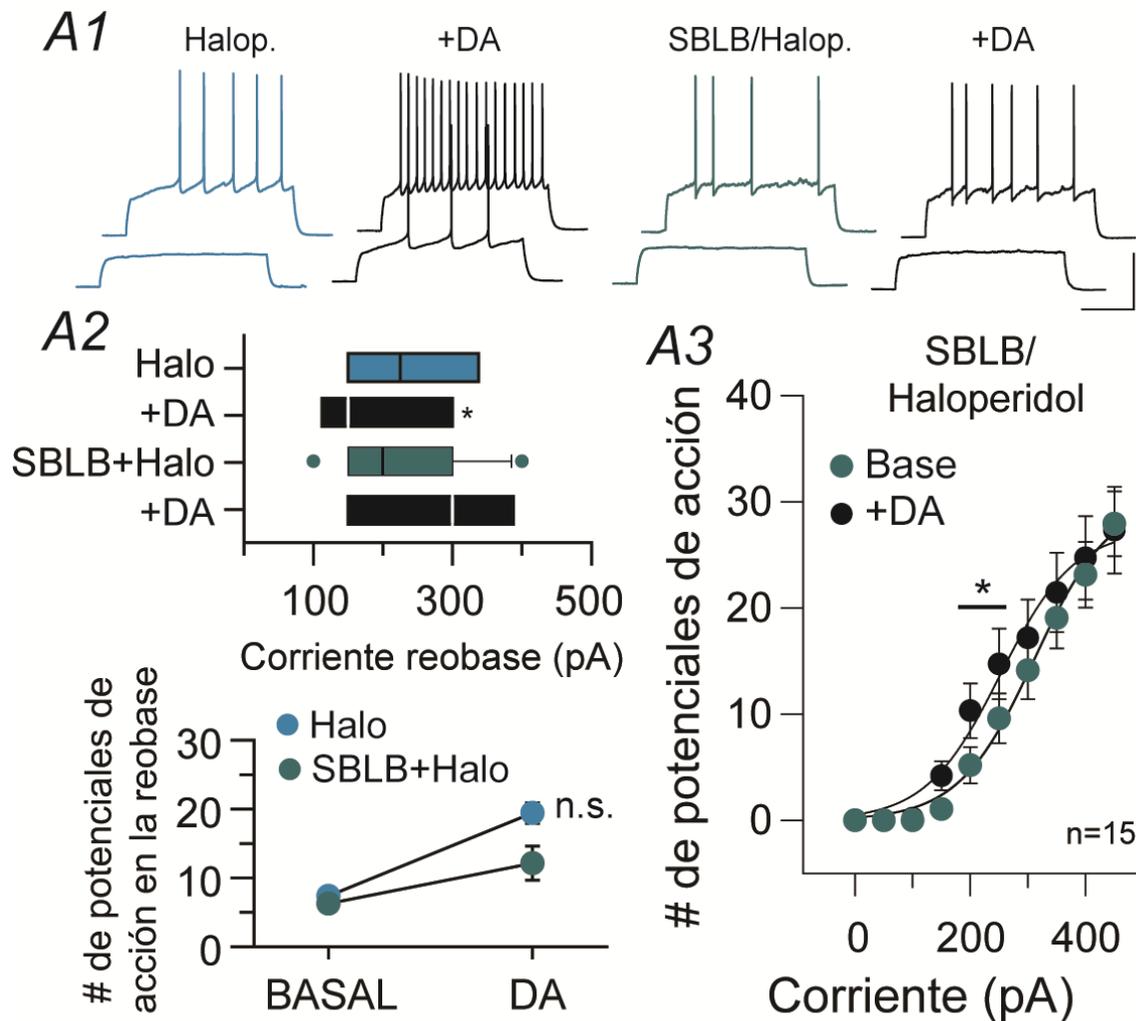


Figura 17: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el desarrollo del PICITA, sobre la modulación de la excitabilidad intrínseca de las MSN. A1) Trazos representativos de series de PA evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA. A2) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente reobase por 1s. A3) Comparación de la frecuencia en presencia y ausencia de DA en ratas tratadas con haloperidol. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak \* $P < 0.05$ .

Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el PICITA sobre la excitabilidad intrínseca de las neuronas PYR de la CPF.

El antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante los periodos de prueba del PICITA, en las células PYR del grupo control no provocó cambios en la respuesta excitatoria producida por un baño extracelular de DA, evidenciado por una disminución de la corriente reobase, un aumento de los PA evocados al inyectar esta corriente por 1 s (Figura 18 B1, B2).

En las células PYR de ratas sometidas al PICITA, en las cuales observábamos de manera basal un aumento en su frecuencia de disparo en comparación a las ratas del grupo control (Figura 12), la administración de haloperidol previno este fenómeno (Figura 18 B3).

A su vez, la administración de haloperidol también previno el desarrollo de tolerancia a DA, ya que las células PYR, al ser sometidas a un baño extracelular con este neurotransmisor, respondieron disminuyendo su rebase, aumentando el número de PA evocados al inyectar la corriente rebase por 1s, y aumentando la frecuencia de disparo en respuesta a inyecciones crecientes de corriente.

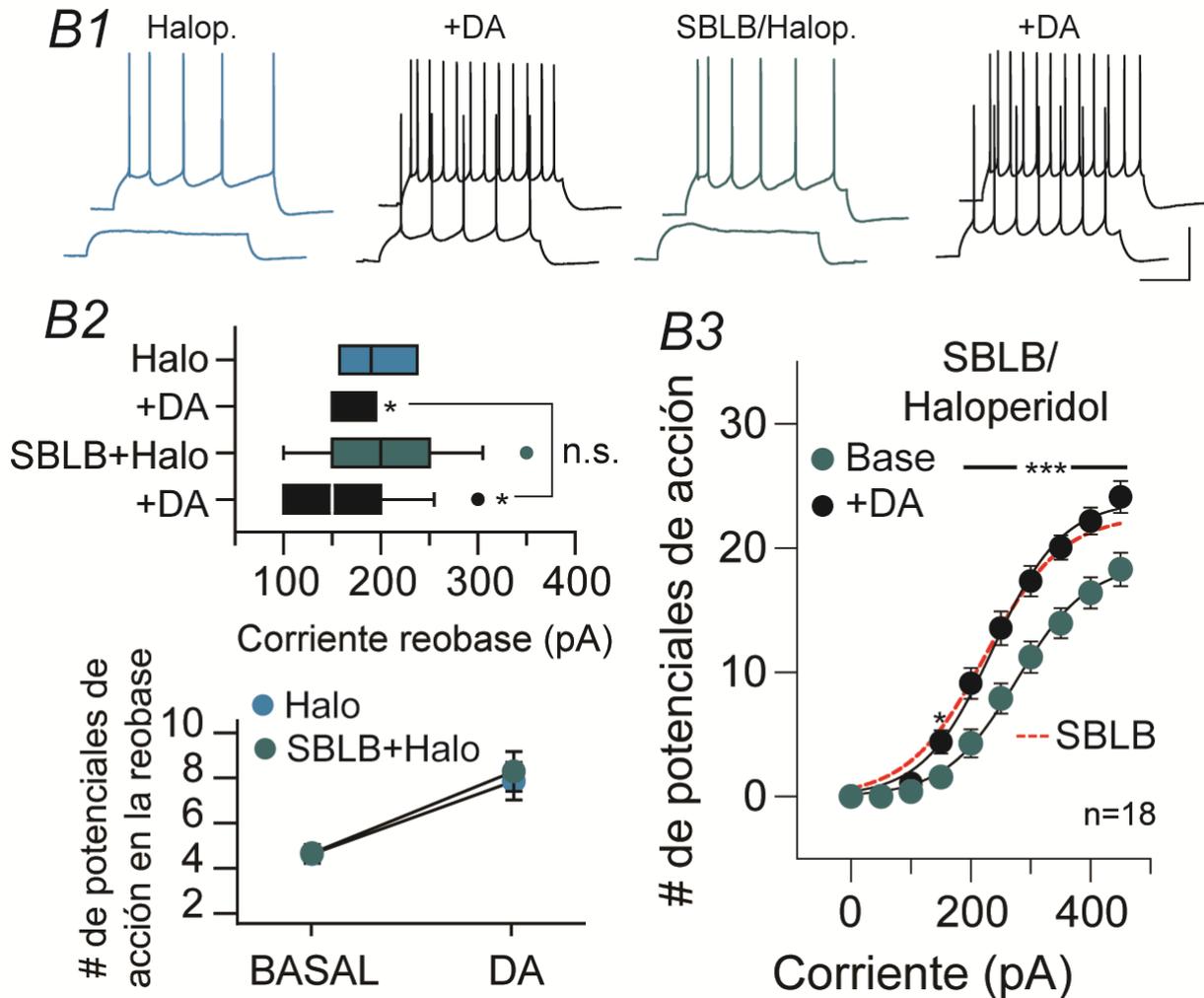


Figura 18: Efecto del antagonismo no selectivo de los receptores de DA durante el desarrollo del PICITA, sobre la modulación de la excitabilidad intrínseca de las PYR de la CPF. B1) Trazos representativos de series de PA evocados con un pulso despolarizante de 250 pA en ausencia y presencia de un baño extracelular de DA. B2) Corriente mínima necesaria para evocar uno o más potenciales de acción en presencia y ausencia de DA, así como el conteo del número de potenciales de acción evocados al inyectar la corriente rebase por 1s. B3) Comparación de la frecuencia en presencia y ausencia de DA en ratas tratadas con haloperidol. ANOVA de dos vías con Holm-Sidak \* $P < 0.05$ .

## Discusión

### Evaluación del protocolo de inducción de la conducta de ingesta tipo atracón.

Las dos características más importantes con las que debe cumplir un PICITA ya han sido descritas anteriormente. La primera es que los animales deben consumir una mayor cantidad de calorías durante el periodo de prueba (al menos dos veces mayor a la consumida por el grupo control), y la segunda es que los periodos de conducta de ingesta tipo atracón deben repetirse varias veces y pueden ser disparadas por un estresor o por el acceso intermitente a un alimento palatable (Perello, Valdivia, Romero, & Raingo, 2014). El PICITA usado en este trabajo cumple con ambos parámetros de manera consistente a partir de la tercera sesión de prueba en todos los grupos experimentales analizados.

En humanos, una de las características de un episodio de atracón es el comer hasta estar incómodamente lleno, lo cual puede ser asociado con una distensión excesiva del estómago (American Psychiatric Association, 2013). Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, el uso de la comparación del volumen de alimento consumido durante el periodo de acceso a alimentos palatables, con la capacidad gástrica teórica de los animales (como una manera de evaluar la distensión del estómago), no había sido usada anteriormente, por lo que representa una nueva propuesta de nuestro grupo de investigación.

No existe información que describa si el tamaño del estómago cambia dependiendo de la cepa y sexo de las ratas, ni tampoco que relacione el peso de los animales con el tamaño del estómago, que haya sido realizado en ratas de la cepa WKY. La fórmula usada en este trabajo para calcular la capacidad gástrica teórica fue desarrollada usando ratas de la cepa Sprague-Dawley. Esta relaciona el tamaño del estómago con el peso corporal de los animales (Bull & Pitts, 1971), y sus resultados coinciden con el tamaño reportado de las ratas hembra de la cepa Wistar (McConnell, Basit, & Murdan, 2008). Debido a que estas dos cepas son muy similares a las ratas de la cepa WKY, consideramos que el usar esta fórmula para predecir el tamaño del estómago de nuestros animales experimentales es una aproximación adecuada para nuestros fines. El usar la comparación del volumen de alimento consumido durante los periodos de prueba con la capacidad gástrica teórica nos puede ayudar a estimar la distensión del estómago y así evaluar un parámetro más de los descritos en humanos como clave para designar a un periodo de ingesta como un periodo de atracón.

### Diferencias por cepa y sexo en la respuesta al PICITA.

El primer objetivo de este trabajo establecía el análisis de las diferencias en la respuesta al PICITA dependiendo del sexo y cepa de los animales usados en el mismo. Debido a que no se encontraron diferencias en la prueba de preferencia a sacarosa entre los grupos experimentales (Figura 9), podemos afirmar que las diferencias observadas durante el PICITA no se debieron a que alguno de los grupos presentara una preferencia por el sabor de ésta.

La ingesta calórica en los animales se encuentra modulada por su metabolismo basal (la cantidad de calorías necesarias para mantenerse vivo y llevar a cabo los procesos biológicos básicos) más la energía necesaria para llegar a cabo sus actividades diarias (Sohn, Elmquist, & Williams, 2013). Como podemos observar en la figura 3, el consumo calórico promedio por gramo de peso de los animales de la cepa WKY, sin importar el sexo, fue menor que el de los animales de la cepa Wistar.

Es importante resaltar que en general las hembras, sin importar la cepa, tuvieron una mejor respuesta al PICITA, y de manera especial las hembras de la cepa WKY desarrollan una conducta de ingesta tipo atracón más estable y significativa en comparación a las hembras de la cepa Wistar, ya que consumieron más

calorías durante los periodos de prueba, que cualquiera de los otros grupos experimentales (Figura 3). Además, estas ratas no fueron capaces de compensar la ingesta calórica reduciendo el consumo durante los periodos donde el alimento palatable no se encontraba disponible haciendo que el patrón de ingesta se pareciera más al de los pacientes con BED (Figura 1). Estos resultados nos sugieren que el sexo y la cepa podrían jugar un papel en el desarrollo del SBLB.

En relación a las diferencias por sexo, en humanos, la prevalencia de las enfermedades en cuya etiología se presenta la CIA, y la de aquellas relacionadas con ansiedad y depresión, es mayor en mujeres que en hombres (C. A. Davis, 2015; Kessler et al., 2013). Existen reportes de que las hormonas sexuales juegan un papel importante en la modulación del control homeostático de la alimentación (Alonso-Caraballo, Jorgensen, Brown, & Ferrario, 2018; Asarian & Geary, 2013; Schneider, Wise, Benton, Brozek, & Keen-Rhinehart, 2013). Un ejemplo de esto es el papel que juega el  $17\beta$ -estradiol en la expresión del NPY y POMC, ya que produce una disminución de su expresión, provocando un efecto anorexigénico (Micioni Di Bonaventura et al., 2017; Rebouças, Leal, & Sá, 2016).

También se ha reportado que la liberación de DA en el NAc juega un papel central en las conductas de recompensa y el desarrollo de adicciones (Clarke & Adermark, 2015; du Hoffmann & Nicola, 2016). Los episodios recurrentes de atracón producen un aumento en la liberación de DA en el NAc. Este aumento en la liberación de DA, en ocasiones repetidas, puede provocar tolerancia a su respuesta, y debido a la interacción entre la DA y las hormonas sexuales, el efecto que la liberación elevada del neurotransmisor tiene sobre el desarrollo de tolerancia podría verse modificada por el ciclo estral (Cheng, de Bruin, & Feenstra, 2003; Johnson & Kenny, 2010; Madularu, Shams, & Brake, 2014; Rada et al., 2005)

Por otro lado, existen reportes que nos indican que en machos, el consumo de alimentos con alto contenido de hidratos de carbono simples y lípidos provoca una potenciación de las vías de señalización glutamatérgica (un aumento de los receptores AMPA permeables a calcio y un aumento en los receptores NMDA), fenómeno que en experimentos preliminares ya ha sido observado en hembras, siendo este dependiente del ciclo estral (Alonso-Caraballo et al., 2018; Oginsky, Goforth, et al., 2016).

En conjunto, estos datos nos sugieren que las fluctuaciones hormonales propias del ciclo estral, y en especial el estradiol, podría estar jugando un papel en la inducción de SBLB en las ratas hembras, sin embargo, son necesarios más estudios para poder afirmarlo.

En relación con las diferencias vistas entre las cepas, las ratas de la cepa WKY tuvieron una mejor respuesta al PICITA al compararlas con sus congéneres de la cepa Wistar, ya que estas desarrollaron la conducta de ingesta tipo atracón desde la primera exposición a la solución de sacarosa mientras que las ratas de la cepa Wistar lo hicieron hasta la tercera. Además, no fueron capaces de compensar la ingesta calórica elevada durante los periodos en donde el alimento palatable no se encontró disponible.

Las ratas hembra de la cepa WKY tienen un fenotipo más delgado que el de otras cepas, tasas metabólicas en reposo (TMR) y coeficientes respiratorios (CR:  $\text{CO}_2$  eliminado/ $\text{O}_2$  consumido) diferentes a las hembras de la cepa Wistar (TMR: 8.7 vs 8.5 y CR: 0.84 vs 0.88) además de tener una respuesta metabólica al ejercicio distinta (Gordon, Phillips, & Johnstone, 2016). Esto sugiere que la proporción de los sustratos energéticos usados diariamente para la obtención de energía también cambian. En conjunto estos parámetros pueden influenciar la ingesta calórica y podrían explicar en parte las diferencias observadas en este estudio. Son necesarios más estudios para analizar a mayor detalle estas diferencias.

Ya se han reportado diferencias en la vulnerabilidad de algunas cepas para desarrollar la conducta de ingesta tipo atracón. En este estudio, al igual que en el nuestro, las ratas de la cepa Wistar tuvieron una menor respuesta al protocolo de inducción usado que las ratas de la cepa Sprague-Dawley (Hildebrandt, Klump, Racine, & Sisk, 2014). Esta coincidencia nos hace pensar que las ratas de la cepa Wistar podrían tener alguna característica genética o fenotípica que las proteja de desarrollar la CIA. Esto necesita ser analizado a mayor profundidad, pero podría ser una fuente valiosa de información en un futuro.

Esta es la primera vez que ratas de la cepa WKY fueron sometidas a un PICITA, y debido a la predisposición de esta cepa al desarrollo de conductas tipo ansiedad y depresión, característica que comparten con los pacientes que padecen BED, y a la ausencia de una conducta compensatoria, creemos que esta cepa de rata mimetiza de manera más fidedigna el desorden psiquiátrico caracterizado en los seres humanos y podría ser considerado como un modelo animal del mismo.

Finalmente, el consumo calórico elevado visto en los animales que desarrollaron SBLB no fue suficiente para producir cambios en el peso corporal, característica que nuestro modelo comparte con la mayoría de los modelos usados para el estudio de esta conducta reportados en la literatura (Cowin, Avena, & Boggiano, 2011; Czyzyk et al., 2010). Esto podría deberse a los periodos de restricción/compensación observados después de los periodos de prueba. Es importante mencionar que en ninguno de los trastornos en cuya etiología existe la CIA, el subir de peso forma parte de los criterios diagnóstico de los mismos (American Psychiatric Association, 2013; Hardaway et al., 2015; Hudson et al., 2010).

### Diferencias en el sistema dopaminérgico de las ratas de la cepa WKY

Actualmente existe la discusión de si es posible hablar acerca del consumo excesivo de azúcar como una adicción, sin embargo, el azúcar y las drogas de abuso comparten varias características. Se sabe que el consumo constante de azúcar, al igual que las drogas de abuso, produce liberación de DA en el NAc de manera dosis dependiente y que es necesario exista intermitencia en el acceso al alimento para que la liberación de DA se mantenga constante durante los periodos de ingesta (A Hajnal & Norgren, 2001; Martel & Fantino, 1996; Rada et al., 2005). También existen reportes que nos indican que las ratas sustituyen la cocaína por alimentos dulces, cuando esta se vuelve más difícil de obtener, y que llegan a preferir los sabores dulces a la inyección intravenosa de la misma (Lenoir, Serre, Cantin, & Ahmed, 2007). Además, se ha reportado que algunas de las personas que padecen adicciones consumen alimentos palatables para aminorar los efectos del síndrome de abstinencia (Cowan & Devine, 2008), fenómeno que también ha sido observado en ratas propensas al desarrollo de obesidad (Vollbrecht, Mabrouk, Nelson, Kennedy, & Ferrario, 2016).

### Núcleo Accumbens

Se ha reportado que las recompensas naturales, como el sexo o la alimentación pueden provocar el desarrollo de tolerancia a DA, e incluso existen reportes que nos indican que presentan tolerancia cruzada con algunas drogas de abuso, como la metanfetamina y la cocaína (J. F. Davis et al., 2008; Lenoir et al., 2007). Uno de los mecanismos que parecen estar implicados en este fenómeno es el proceso plástico que ya ha sido descrito en drogas de abuso, en el cual se produce una disminución en la expresión de receptores D2-like, fenómeno también presente en ratas obesas, en pacientes con BED y obesos (de Weijer et al., 2011; Johnson & Kenny, 2010)

Se sabe también que, de manera natural, las ratas de la cepa WKY presentan modificaciones en la expresión de receptores dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos (De La Garza & Mahoney, 2004). De manera específica, se ha descrito que en el NAc las ratas de la cepa WKY presentan una sobreexpresión de receptores D1-Like y una baja expresión de receptores D2-Like (Jiao et al., 2003; Yaroslavsky, Colletti, Jiao, & Tejani-Butt, 2006) aparte de una disminución de la unión a receptores D1-Like, tanto en esta área como en el caudado putamen, sin mostrar diferencias en las regiones de la AMY (Novick, Yaroslavsky, & Tejani-Butt, 2008). Estas referencias nos permiten especular que probablemente, las diferencias observadas en el consumo de sacarosa entre las cepas estudiadas en este trabajo podrían en parte deberse a las modificaciones en el sistema dopaminérgico antes mencionadas.

### Amígdala

Se ha descrito que la AMY participa de manera importante en el desarrollo de la conducta tipo ansiedad, en el control de la ingesta de alimentos y en el desarrollo de adicciones. De manera específica, en la conducta de ingesta, la región basolateral de la misma tiene una conexión directa con el LHAA por lo que su activación produce un aumento de la liberación de glutamato en esta área cerebral, la cual se ha reportado aumenta la ingesta de alimentos de manera dosis dependiente (Stanley, Willett, Donias, Ha, & Spears, 1993), y que a su vez, el estado de saciedad o el contenido calórico de los alimentos afecta la activación de esta área cerebral, siendo menor la respuesta en ausencia de hambre (Gottfried, O'Doherty, & Dolan, 2003) y con el consumo de edulcorantes (Rudenga, Phil, & Small, 2012).

Por otro lado, en esta área cerebral, también se han reportado plasticidad en las conexiones sinápticas producida por el consumo de sacarosa produciendo una disminución del largo del árbol dendrítico de las neuronas principales (Shariff et al., 2017)

Nuestros resultados no mostraron diferencias entre las concentraciones tisulares de DA de manera basal entre las cepas, y la exposición al PICITA, sólo en las ratas de la cepa WKY, produjo una disminución de esta. Además, en esta misma cepa, también se presentó un metabolismo elevado de este NT, lo que nos sugiere una menor disponibilidad en el espacio sináptico, y por lo tanto un menor efecto excitatorio sobre sus receptores.

En el estriado, la mayoría de la liberación de DA se da como respuesta ya sea a un aumento en los estímulos excitatorios en el VTA o a una disminución en su inhibición (Watabe-Uchida, Zhu, Ogawa, Vamanrao, & Uchida, 2012). En conjunto, nuestros resultados nos sugieren que debido a que en las hembras de la cepa WKY que fueron sometidas al PICITA, presentaron una disminución en las concentraciones de DA en todas las áreas cerebrales que reciben proyecciones provenientes de este núcleo cerebral, es posible que la causa se encuentre en el mismo. Es necesario llevar a cabo más estudios para probar esta hipótesis.

## Desarrollo de la conducta tipo ansiedad durante el PICITA

El PICITA durante el último periodo en donde los animales no tuvieron acceso a la solución de sacarosa, produjo un aumento de la conducta tipo ansiedad sin importa el sexo ni la cepa de los animales, la cual ha sido relacionada con un síndrome tipo abstinencia (Avena et al., 2008).

En humanos, los TCA comparten características genéticas y de conducta con el uso de sustancias, y los pacientes con BED tienden a presentar síntomas de síndrome abstinencia (entre ellos ansiedad) cuando el acceso a alimentos palatables, con los que solían llevar a cabo la CIA, no se encuentran disponibles (D. F. Becker & Grilo, 2014; Carlier, Marshe, Cmorejova, Davis, & Müller, 2015; Kessler et al., 2016; Schreiber, Odlaug, & Grant, 2013).

Existen reportes que nos indican que ratones sometidos a un protocolo de acceso continuo a solución de sacarosa al 10% (por 4 semanas más una de abstinencia) presentaron esta misma conducta. En este estudio se propone que los cambios provocados por el consumo de sacarosa podrían estar mediados en parte, por los canales Kir 1.2 (canales rectificadores de potasio), ya que se observó un aumento en su expresión en las membranas de las MSN que expresan la familia de receptores D1-like en el NAc (S. Kim, Shou, Abera, & Ziff, 2018). Son necesarios más estudios para poder afirmar la sobreexpresión de estos canales de potasio está involucrada en el desarrollo de la conducta observada en nuestros animales.

Las ratas de la cepa WKY mostraron, en comparación con las ratas de la cepa Wistar, de manera basal, niveles aumentados de conducta de inmovilidad. Se ha reportado que las ratas de la cepa WKY tienen una respuesta distinta a estímulos que provocan un aumento en la conducta tipo ansiedad y tipo depresión, siendo las características más estudiadas el aumento de la conducta de “congelamiento” (Jastrzebska et al., 2015; Paré, 1994; Rogel-Salazar & López-Rubalcava, 2011; Servatius et al., 2008). También presentan un aumento en la respuesta de sobresalto y una mayor inhibición por prepulso, lo cual puede ser asociado a un estado de hipervigilancia que podría estar relacionado con las características antes mencionadas (McAuley et al., 2009). Estos animales también tienen respuestas conductuales relacionadas con excitación disminuidas, lo cual podría estar relacionado con una inhibición del eje noradrenérgico, esto sugiriendo una habilidad alterada para lidiar con situación estresantes resultando en respuestas neuroendocrinas más grandes a lo normal y por lo tanto posiblemente involucrados en las respuestas observadas en nuestro estudio (Pardon et al., 2002).

## Efecto del PICITA sobre las neuronas espinosas medianas del NAcSh.

El consumo de alimentos dulces, sin importar su contenido calórico, produce liberación fásica de DA en el NAc (Andras Hajnal et al., 2004). Cuando los alimentos se encuentran accesibles de manera constante se produce una habituación de este fenómeno, sin embargo esta no se produce cuando los alimentos son presentados de manera intermitente y consumidos en atracón (Avena & Bocarsly, 2012; Avena, Long, & Hoebel, 2005; Rada et al., 2005), característica que comparten con las drogas de abuso y que lleva al desarrollo de tolerancia. La tolerancia se caracteriza por una respuesta disminuida al estímulo, provocada por una menor expresión de receptores dopaminérgicos en el circuito mesolímbico dopaminérgico, por

lo que la cantidad de DA necesaria para llevar a cabo la activación de este circuito aumenta a través del tiempo (Carlier et al., 2015; Roy A. Wise & Koob, 2014).

También se ha reportado que el consumo de alimentos palatables puede producir procesos plásticos relacionados con la estructura de las neuronas espinosas medianas, ya que el consumo intermitente de solución de sacarosa por 12 semanas produce una disminución del largo del árbol dendrítico de las MSN presentes en el NAcSh, principalmente debido a la disminución del largo de los segmentos distales de las mismas (Klenowski et al., 2016).

Se ha propuesto que cambios en la excitabilidad intrínseca de las MSN podría estar involucrada en el desarrollo de adicciones (Kourrich, Calu, & Bonci, 2015). Hasta este momento existe sólo un estudio que, usando la técnica de registro de célula completa, haya estudiado la excitabilidad de las MSN en el estriado y los cambios que produce en esta el consumo de alimentos palatables. En este estudio, usando una dieta con alto contenido de lípidos e hidratos de carbono no observaron cambios en los parámetros basales de excitabilidad, sin embargo, si detectaron cambios en la relación de los receptores a glutamato AMPA/NMDA en la porción lateral del estriado, sin esta afectar la probabilidad de liberación de glutamato en la presinápsis. (Fritz, Muñoz, Yin, Bauchle, & Atwood, 2018).

Nuestros resultados mostraron que, en ratas de la cepa WKY, el consumo intermitente de sacarosa produjo una disminución del efecto excitatorio producido por un baño extracelular de DA, lo cual coincide con la definición de tolerancia, sin embargo, con los resultados obtenidos no nos es posible determinar si esta se debe a una disminución de la expresión de los receptores dopaminérgicos y/o glutamatérgico, o de algún otro NT.

### Efecto del PICITA sobre las neuronas piramidales de la CPF.

La activación del circuito mesolímbico dopaminérgico, a través de la ingesta de sacarosa, produce un aumento de la liberación DA en la CPF, activando a los receptores D1-Like presentes por un lado en las neuronas piramidales de la CPF, en donde aumentan las respuestas sinápticas mediadas por el receptor NMDA aumentando su excitabilidad, y por otro lado aumentando la liberación de GABA proveniente de las interneuronas locales (J K Seamans, Gorelova, Durstewitz, & Yang, 2001; Jeremy K Seamans & Robbins, 2010; Tseng, 2004; Zheng, Zhang, Bunney, & Shi, 1999).

En contraste, los receptores D2-Like, presentes en las células piramidales, en las interneuronas y en las terminales presinápticas, reducen la excitabilidad de las neuronas de proyección de la CPF así como el tono GABAérgico (J K Seamans et al., 2001; Trantham-Davidson, 2004; Tseng, 2004).

Cabe mencionar que se ha reportado que el aumento en la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de la CPF, fenómeno que puede ser mediado por la liberación de DA proveniente del VTA, tiene como consecuencia un aumento en la liberación de glutamato en el NAcSh, el cual a su vez libera GABA sobre varias áreas cerebrales, entre las que destaca el LHA, inhibiendo así la alimentación (Buchta, Mahler, Harlan, Aston-Jones, & Riegel, 2017; Prado et al., 2016). Se ha reportado que las ratas de la cepa WKY presentan, tanto de manera basal como en situaciones estresantes, una menor concentración de DA en el CPF que las ratas de la cepa Wistar (De La Garza & Mahoney, 2004), y que el metabolismo de este NT se encuentra disminuido (Scholl et al., 2010).

Las ratas sometidas al PICITA de manera basal mostraron un aumento en la excitabilidad intrínseca, probablemente produciendo a su vez un aumento en el tono glutamatérgico liberado sobre el NAc que podría afectar de manera importante la conducta de ingesta, así como producir cambios plásticos en la expresión de sus receptores. Además, estos animales, en esta área cerebral desarrollaron tolerancia al efecto modulador de la DA que podría producir “rigidez” en el proceso de modulación del efecto recompensante de la alimentación. El estudiar los efectos del PICITA sobre las proyecciones glutamatérgicas provenientes de la CPF al NAc sería imperativo para poder afirmar esta hipótesis.

### Efecto del antagonismo no específico de los receptores de DA sobre el desarrollo del PICITA

Se ha reportado que el uso de antagonistas tanto D1-like como D2-Like produce una disminución del valor hedónico de los alimentos dulces, ya que los animales pretratados con estas sustancias presentan comportamientos hacia soluciones de sacarosa como si estuvieran menos concentradas de lo que realmente se encuentran (R. A Wise, 2006).

Nuestros resultados mostraron que el antagonismo no específico de los receptores de DA durante el PICITA produjo una disminución no específica de la ingesta. Esto nos hace pensar que el sistema dopaminérgico participa, pero no es esencial, en el desarrollo de la conducta de ingesta tipo atracón.

Se sabe que la administración intracerebral de haloperidol en el estriado tiene efectos sobre la alimentación que son dependientes de la zona en donde es inyectado, ya que aumenta la conducta de ingesta en el NAc y la disminuye cuando este se administra en el estriado ventral (Bakshi & Kelley, 1991). En cuanto a la conducta tipo ansiedad se refiere, la administración de haloperidol bloquea el desarrollo de esta, evidenciando una participación central del sistema dopaminérgico en este fenómeno.

### Efecto del antagonismo no específico de los receptores de DA sobre el desarrollo de tolerancia producido por la exposición al PICITA

En el NAcSh, la administración de haloperidol produjo una prevención parcial de la tolerancia a DA observada en las ratas sometidas al PICITA, lo cual nos indica que la liberación constante de DA sobre esta área cerebral participa en los cambios en la excitabilidad intrínseca de estas neuronas, pero no es el único factor involucrado.

Debido a la cantidad de proyecciones glutamatérgicas que modulan la excitabilidad de estas neuronas, entre ellas las provenientes de la CPF, creemos que existe una posibilidad de que esta vía de neurotransmisión también se encuentre involucrada en los cambios de excitabilidad intrínseca observados. Sin embargo, son necesarios más estudios para poder afirmarlo.

En el caso de las neuronas PYR de la CPF, la administración de Haloperidol previno el desarrollo tanto del aumento de la excitabilidad intrínseca basal observada en las ratas sometidas al PICITA, como el desarrollo de tolerancia a DA, indicando probablemente ser el principal factor involucrado en el desarrollo de este fenómeno.

## Conclusión

Tomando en cuenta nuestros resultados sugerimos que las hembras de la cepa WKY pueden ser consideradas como un buen modelo animal de SBLB ya que mostraron una CIA consistente desde el primer periodo de prueba, y un aumento de la conducta tipo ansiedad cuando los alimentos palatables no se encontraron disponibles. Aparte de compartir de manera natural características descritas en los pacientes

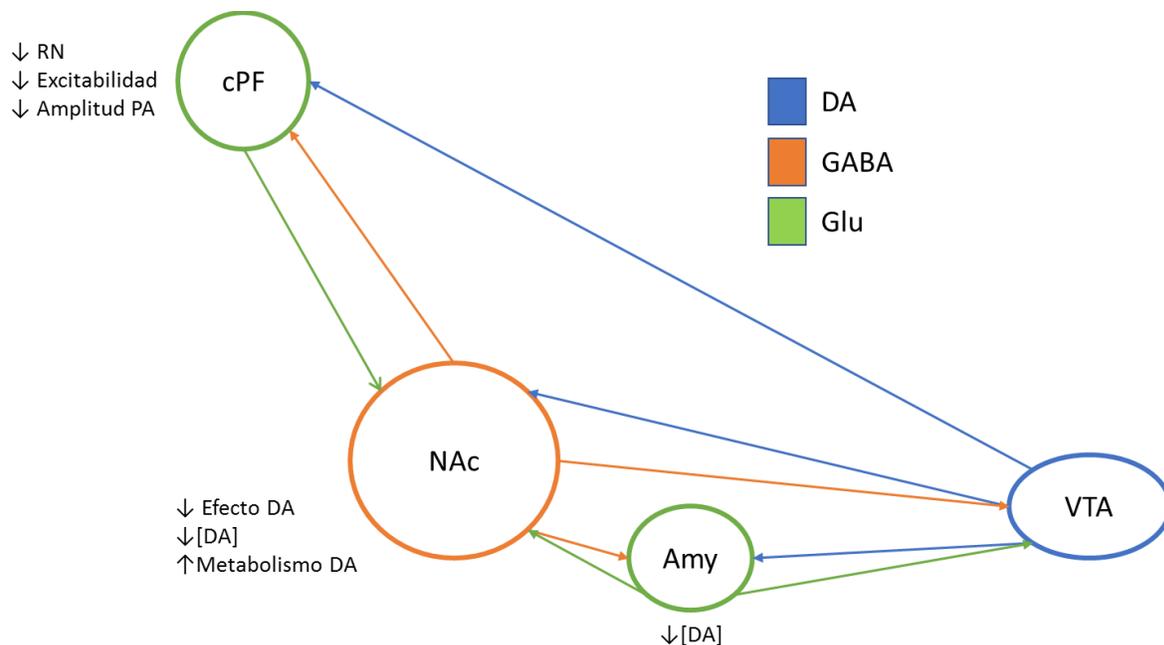
que padecen TCA, como el aumento de la conducta tipo ansiedad, depresión, así como dificultad para lidiar con situaciones estresantes.

Además, los resultados obtenidos sugieren que el PICITA provoca una disminución tanto en las concentraciones de DA liberadas en el NAcSh como respuesta al consumo de sacarosa, aparte de provocar una disminución en la respuesta excitatoria provocada por la misma. A su vez, el aumento del tono inhibitorio en esta misma área cerebral provocó un aumento en la ingesta de sacarosa. En conjunto estos resultados nos sugieren que la falta de respuesta excitatoria mediada por la liberación de DA en el NAcSh, ya sea provocada por el PICITA o por aumento de las concentraciones de GABA, podrían ser en parte los causantes del desarrollo de esta conducta.

## Limitaciones

Este estudio presentó limitaciones importantes que deberán ser tomadas en cuenta para los siguientes experimentos a llevarse a cabo en esta línea de investigación. El primero es que, al trabajar con hembras, sería necesario verificar que el ciclo estral de los animales no presenta una influencia sobre los resultados de éste. Sin embargo, creemos que al usar al menos 10 animales por grupo y debido a que los experimentos duran al menos 4 ciclos estrales completos, en caso de que este factor pudiera haber generado una variación, esta debe encontrarse promediada. Además, en el año 2016, un metaanálisis que estudió la variación entre hembras y machos provocado por el ciclo estral, en varios parámetros usados en el estudio de la neurociencias de la conducta, determinó que esta no era significativa, ya que los datos no variaban más en hembras que en machos (J. B. Becker et al., 2016).

Por otro lado, en algunos de los pilotos llevados a cabo para obtener los resultados de este trabajo, se observó que la manipulación y administración de fármacos de manera constante en animales de la cepa WKY, más sensibles al desarrollo de conductas tipo ansiedad, provocó cambios en la conducta de ingesta de los animales, por lo que es necesario usar otras opciones de administración menos invasivas o de menor duración, que eviten este fenómeno.



*Ilustración 7: Resumen de los efectos producidos por el PICITA sobre el circuito mesolímbico dopaminérgico. El PICITA en la corteza prefrontal provoca una disminución de la resistencia de entrada y disminuye la respuesta excitatoria de las neuronas piramidales a DA, así como una disminución en la amplitud de los potenciales de acción. En la amígdala provoca una disminución en las concentraciones de DA liberadas en respuesta al consumo de azúcar y en el NAc produce una disminución en las concentraciones de DA liberada como respuesta al consumo de sacarosa, un aumento en su metabolismo, así como una disminución en la respuesta excitatoria producida por DA.*

## Perspectivas

1. Caracterizar el efecto del ciclo estral y las variaciones hormonales características del ciclo de vida de la rata, sobre la CIA.
2. Analizar si el PICITA produce cambios en la expresión de receptores D1-Like y D2-Like en la CPF, NAc, AMY e hipotálamo.
3. Analizar si las diferencias producidas por el PICITA en las ratas hembra de la cepa WKY suceden de la misma manera en los machos de esta misma cepa y en animales de ambos sexos de la cepa Wistar.
4. Estudiar los efectos del ciclo estral sobre la excitabilidad basal de las neuronas espinosas medianas del NAcSh.
5. Estudiar los efectos de las variaciones en las concentraciones del GABA en las diferentes áreas del NAc sobre la CIA.
6. Estudiar los efectos del PICITA sobre las vías de neurotransmisión glutamatérgica del estriado.

## Bibliografía

- Abizaid, A., Liu, Z. W., Andrews, Z. B., Shanabrough, M., Borok, E., Elsworth, J. D., ... Horvath, T. L. (2006). Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. *Journal of Clinical Investigation*, *116*(12), 3229–3239. <https://doi.org/10.1172/JCI29867>
- Aitta-aho, T., Phillips, B. U., Pappa, E., Hay, Y. A., Harnischfeger, F., Heath, C. J., ... Apergis-Schoute, J. (2017). Accumbal Cholinergic Interneurons Differentially Influence Motivation Related to Satiety Signaling. *Eneuro*, *4*(2), ENEURO.0328-16.2017. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0328-16.2017>
- Alex Thomas, M., & Xue, B. (2017). Mechanisms for AgRP neuron-mediated regulation of appetitive behaviors in rodents. *Physiology and Behavior*, *190*(October 2017), 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.006>
- Alonso-Alonso, M., Woods, S. C., Pelchat, M., Grigson, P. S., Stice, E., Farooqi, S., ... Beauchamp, G. K. (2015). Food reward system: current perspectives and future research needs. *Nutrition Reviews*, *73*(5), 296–307. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv002>
- Alonso-Caraballo, Y., Jorgensen, E. T., Brown, T. E., & Ferrario, C. R. (2018). Functional and structural plasticity contributing to obesity: roles for sex, diet, and individual susceptibility. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *23*, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.06.014>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Arlington (5th ed.). Washington, DC: American Psychiatric Publishing. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596.744053>
- Amianto, F., Ottone, L., Abbate Daga, G., & Fassino, S. (2015). Binge-eating disorder diagnosis and treatment: a recap in front of DSM-5. *BMC Psychiatry*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s12888-015-0445-6>
- Anand, B. K., & Brobeck, J. R. (1951). Localization of a “feeding center” in the hypothalamus of the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. *Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, *77*(2), 323–324.
- Anderberg, R. H., Anefors, C., Bergquist, F., Nissbrandt, H., & Skibicka, K. P. (2014). Dopamine signaling in the amygdala, increased by food ingestion and GLP-1, regulates feeding behavior. *Physiology and Behavior*, *136*, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.026>
- Asarian, L., & Geary, N. (2013). Sex differences in the physiology of eating. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *305*(11), R1215-1267. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00446.2012>
- Atasoy, D., Betley, J. N., Su, H. H., & Sternson, S. M. (2012). Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature*, *488*(7410), 172–177. <https://doi.org/10.1038/nature11270>
- Avena, N. M., & Bocarsly, M. E. (2012). Dysregulation of brain reward systems in eating disorders: Neurochemical information from animal models of binge eating, bulimia nervosa, and anorexia nervosa. *Neuropharmacology*, *63*(1), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.11.010>
- Avena, N. M., Bocarsly, M. E., Rada, P., Kim, A., & Hoebel, B. G. (2015). After daily gingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior*, *94*(3), 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.01.008>.After

- Avena, N. M., Long, K. A., & Hoebel, B. G. (2005). Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: Evidence of a sugar deprivation effect. *Physiology and Behavior*, *84*(3), 359–362. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.12.016>
- Avena, N. M., Rada, P., & Hoebel, B. G. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(1), 20–39. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>
- Bakshi, V. P., & Kelley, A. E. (1991). Dopaminergic regulation of feeding behavior. 1: Differential effects of haloperidol microinfusion into 3 striatal subregions. *Psychobiology*, *19*(3), 223–232. <https://doi.org/10.3758/bf03332072>
- Barriguete-Meléndez, J. A., Unikel-Santoncini, C., Aguilar-Salinas, C., Córdoba-Villalobos, J. A., Shamah, T., Barquera, S., ... Hernández-Avila, M. (2009). Prevalence of abnormal eating behaviors in adolescents in Mexico: Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública de México*, *51 Suppl 4*, S638-44. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20464240>
- Barrot, M., Marinelli, M., Abrous, D. N., Rougé-Pont, F., Le Moal, M., & Piazza, P. V. (2000). The dopaminergic hyper-responsiveness of the shell of the nucleus accumbens is hormone-dependent. *European Journal of Neuroscience*, *12*(3), 973–979. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00996.x>
- Batterham, R. L., Heffron, H., Kapoor, S., Chivers, J. E., Chandarana, K., Herzog, H., ... Withers, D. J. (2006). Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metabolism*, *4*(3), 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.08.001>
- Baxter, M. G., & Murray, E. A. (2002). The amygdala and reward. *Nat Rev Neurosci*, *3*(7), 563–573. <https://doi.org/10.1038/nrn875>
- Beck, K. D., Jiao, X., Ricart, T. M., Myers, C. E., Minor, T. R., Pang, K. C. H., & Servatius, R. J. (2011). Vulnerability factors in anxiety: Strain and sex differences in the use of signals associated with non-threat during the acquisition and extinction of active-avoidance behavior. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *35*(7), 1659–1670. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.05.002>
- Becker, D. F., & Grilo, C. M. (2014). Comorbidity of mood and substance use disorders in patients with binge-eating disorder: Associations with personality disorder and eating disorder pathology. *Journal of Psychosomatic Research*, *79*(2), 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2015.01.016>
- Becker, J. B., Prendergast, B. J., Liang, J. W., Mazure, C., Jones, D., Clayton, J., ... Arnold, A. (2016). Female rats are not more variable than male rats: a meta-analysis of neuroscience studies. *Biology of Sex Differences*, *7*(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>
- Bello, N. T., & Hajnal, A. (2010). Dopamine and binge eating behaviors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *97*(1), 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.04.016>
- Bello, N. T., Sweigart, K. L., Lakoski, J. M., Norgren, R., & Hajnal, A. (2003). Restricted feeding with scheduled sucrose access results in an upregulation of the rat dopamine transporter. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *284*(5), R1260-8. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00716.2002>
- Bello, N. T., & Yeomans, B. L. (2018). Safety of pharmacotherapy options for bulimia nervosa and binge eating disorder. *Expert Opinion on Drug Safety*, *17*(1), 17–23.

<https://doi.org/10.1080/14740338.2018.1395854>

- Benjet, C., Borges, G., Méndez, E., Albor, Y., Casanova, L., Orozco, R., ... Medina-Mora, M. E. (2015). Eight-year incidence of psychiatric disorders and service use from adolescence to early adulthood: longitudinal follow-up of the Mexican Adolescent Mental Health Survey. *European Child & Adolescent Psychiatry, 25*(2), 163–173. <https://doi.org/10.1007/s00787-015-0721-5>
- Benjet, C., Méndez, E., Borges, G., & Medina-Mora, M. E. (2012). Epidemiología de los trastornos de la conducta alimentaria en una muestra representativa de adolescentes. *Salud Mental, 35*(6), 483–490.
- Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2008). Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. *Psychopharmacology, 199*(3), 457–480. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1099-6>
- Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2015). Pleasure Systems in the Brain. *Neuron, 86*(3), 646–664. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.018>
- Buchta, W. C., Mahler, S. V., Harlan, B., Aston-Jones, G. S., & Riegel, A. C. (2017). Dopamine terminals from the ventral tegmental area gate intrinsic inhibition in the prefrontal cortex. *Physiological Reports, 5*(6), 1–13. <https://doi.org/10.14814/phy2.13198>
- Bull, L. S., & Pitts, G. C. (1971). Gastric capacity and energy absorption in the force-fed rat. *The Journal of Nutrition, 101*(5), 593–596.
- Butler, A. A., Kesterson, R. A., Khong, K., Cullen, M. J., Pellemounter, M. A., Dekoning, J., ... Cone, R. D. (2000). A Unique Metabolic Syndrome Causes Obesity in the Melanocortin-3 Receptor- Deficient Mouse. *Endocrinology, 141*(9), 3518–3521.
- Carey, M. P., Diewald, L. M., Esposito, F. J., Pellicano, M. P., Gironi Carnevale, U. A., Sergeant, J. A., ... Sadile, A. G. (1998). Differential distribution, affinity and plasticity of dopamine D-1 and D-2 receptors in the target sites of the mesolimbic system in an animal model of ADHD. *Behavioural Brain Research, 94*(1), 173–185. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00178-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00178-2)
- Carlier, N., Marshe, V. S., Cmorejova, J., Davis, C., & Müller, D. J. (2015). Genetic Similarities between Compulsive Overeating and Addiction Phenotypes: A Case for “Food Addiction”? *Current Psychiatry Reports, 17*(12). <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0634-5>
- Chen, Y., Lin, Y. C., Kuo, T. W., & Knight, Z. A. (2015). Sensory Detection of Food Rapidly Modulates Arcuate Feeding Circuits. *Cell, 160*(5), 829–841. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.033>
- Cheng, J. J., de Bruin, J. P. C., & Feenstra, M. G. P. (2003). Dopamine efflux in nucleus accumbens shell and core in response to appetitive classical conditioning. *European Journal of Neuroscience, 18*(5), 1306–1314. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02849.x>
- Chun, O. K., Chung, C. E., Wang, Y., Padgitt, A., & Song, W. O. (2010). Changes in intakes of total and added sugar and their contribution to energy intake in the U.S. *Nutrients, 2*(8), 834–854. <https://doi.org/10.3390/nu2080834>
- Clarke, R., & Adermark, L. (2015). Dopaminergic Regulation of Striatal Interneurons in Reward and Addiction: Focus on Alcohol. *Neural Plasticity, 2015*. <https://doi.org/10.1155/2015/814567>
- Colantuoni, C., Schwenker, J., McCarthy, J., Rada, P., Ladenheim, B., Cadet, J. L., ... Hoebel, B. G. (2001). Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. *NeuroReport, 12*(16), 3549–3552. <https://doi.org/10.1097/00001756-200111160-00035>

- Collins, A. L., Aitken, T. J., Huang, I., Shieh, C., Greenfield, V. Y., Monbouquette, H. G., ... Wassum, K. M. (2019). Nucleus accumbens cholinergic interneurons oppose cue-motivated behavior. *Biological Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.02.014>
- Cone, R. D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neuroscience*, 8(5), 571–578. <https://doi.org/10.1038/nn1455>
- Coppari, R., & Elmquist, J. K. (2009). Neuroendocrine Control of Energy Balance (Central Circuits/Mechanisms) A2 - Squire, Larry R. BT - Encyclopedia of Neuroscience (pp. 327–332). Oxford: Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01183-9>
- Cowan, J., & Devine, C. (2008). Food, eating, and weight concerns of men in recovery from substance addiction. *Appetite*, 50(1), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.05.006>
- Cowin, R. L., Avena, N. M., & Boggiano, M. M. (2011). Feeding and reward: Perspectives from Three Rat Models of Binge Eating. *Physiology & Behavior*, 104(1), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.041>
- Czyzyk, T. A., Sahr, A. E., & Statnick, M. A. (2010). A model of binge-like eating behavior in mice that does not require food deprivation or stress. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 18(9), 1710–1717. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.46>
- Davis, C. A. (2015). The epidemiology and genetics of binge eating disorder (BED). *CNS Spectrums*, 20(August), 522–529. <https://doi.org/10.1017/S1092852915000462>
- Davis, J. F., Choi, D. L., & Benoit, S. C. (2010). Insulin, leptin and reward. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 21(2), 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.08.004>
- Davis, J. F., Tracy, A., Schurdak, J. D., Tschöp, M. H., Lipton, J. W., Clegg, D. J., ... Benoit, S. C. (2008). Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 122(6), 1257–1263. <https://doi.org/10.1037/a0013111>
- De Jong, J. W., Vanderschuren, L. J. M. J., & Adan, R. A. H. (2012). Towards an Animal Model of Food Addiction. *Obesity Facts*, 5(2), 180–195. <https://doi.org/10.1159/000338292>
- De La Garza, R., & Mahoney, J. J. (2004). A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in response to acute stress: Implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Research*, 1021(2), 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.052>
- De La Garza, R., Mahoney, J. J., Drolet, G., Proulx, K., Pearson, D., Rochford, J., ... Feria-Velasco, A. (2015). Selectively bred Wistar-Kyoto rats: an animal model of depression and hyper-responsiveness to antidepressants. *Neuropsychopharmacology*, 293(7), 1–10. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.23>
- de Lartigue, G., & Raybould, H. E. (2012). *The Gastrointestinal Tract and Control of Food Intake. Physiology of the Gastrointestinal Tract* (First Edit, Vol. 2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382026-6.00073-7>
- de Weijer, B. A., van de Giessen, E., van Amelsvoort, T. A., Boot, E., Braak, B., Janssen, I. M., ... Booij, J. (2011). Lower striatal dopamine D2/3 receptor availability in obese compared with non-obese subjects. *EJNMMI Research*, 1(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/2191-219X-1-37>
- Delgado, J. M. R., & Anand, B. K. (1953). Increase of food intake induced by electrical stimulation of the

- lateral hypothalamus. *The American Journal of Physiology*, 172(1), 162–168.
- Di Chiara, G. (2002). Nucleus accumbens shell and core dopamine: Differential role in behavior and addiction. *Behavioural Brain Research*, 137(1–2), 75–114. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00286-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00286-3)
- Dieguez, C. (2018). Food Addiction and Binge Eating: Lessons Learned from Animal Models. *Nutrients*, 10(1), 71. <https://doi.org/10.3390/nu10010071>
- Donovan, C. M., & Watts, A. G. (2014). Peripheral and central glucose sensing in hypoglycemic detection. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 29(5), 314–324. <https://doi.org/10.1152/physiol.00069.2013>
- Dreyer, J. K., Herrik, K. F., Berg, R. W., & Hounsgaard, J. D. (2010). Influence of Phasic and Tonic Dopamine Release on Receptor Activation. *Journal of Neuroscience*, 30(42), 14273–14283. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1894-10.2010>
- du Hoffmann, J., & Nicola, S. M. (2016). Activation of Dopamine Receptors in the Nucleus Accumbens Promotes Sucrose-Reinforced Cued Approach Behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10(July), 144. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00144>
- Epstein, L. H., Leddy, J. J., Temple, J. L., & Faith, M. S. (2007). Food reinforcement and eating: a multilevel analysis. *Psychological Bulletin*, 133(5), 884–906. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.133.5.884>
- Ferrario, C. R. (2017). Food Addiction and Obesity. *Neuropsychopharmacology*, 42(1), 361–361. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.221>
- Ferrario, C. R., Labouèbe, G., Liu, S., Nieh, E. H., Routh, V. H., Xu, S., & O'Connor, E. C. (2016). Homeostasis Meets Motivation in the Battle to Control Food Intake. *The Journal of Neuroscience*, 36(45), 11469–11481. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2338-16.2016>
- Figlewicz, D. P. (2016). Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat: Historical perspective. *Brain Research*, 1645, 68–70. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.12.041>
- Figlewicz, D. P., Bennett-Jay, J. L., Kittleson, S., Sipols, A. J., & Zavosh, A. (2011). Sucrose self-administration and CNS activation in the rat. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300(4), R876-84. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00655.2010>
- Figlewicz, D. P., Evans, S. B., Murphy, J., Hoehn, M., & Baskin, D. G. (2003). Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area / substantia nigra ( VTA / SN ) of the rat. *Brain Research*, 964, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.12.041>
- Frederich, R. C., Hamann, A., Anderson, S., Lollmann, B., Lowell, B. B., & Flier, J. S. (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature Medicine*, 1(12), 1311–1314.
- Fritz, B. M., Muñoz, B., Yin, F., Bauchle, C., & Atwood, B. K. (2018). A High-fat, High-sugar ‘Western’ Diet Alters Dorsal Striatal Glutamate, Opioid, and Dopamine Transmission in Mice. *Neuroscience*, 372, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.12.036>
- Fuster, J. M. (2008). *The Prefrontal Cortex. Creativity* (fourth, Vol. 1). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80673-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80673-X)
- Gibbs, J., Young, R. C., & Smith, G. P. (1973). Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of*

*Comparative and Physiological Psychology*, 84(3), 488–495.

- Glaum, S. R., Hara, M., Bindokas, V. P., Lee, C. C., Polonsky, K. S., Bell, G. I., & Miller, R. J. (1996). Leptin, the obese gene product, rapidly modulates synaptic transmission in the hypothalamus. *Molecular Pharmacology*, 50(2), 230–235.
- Gordon, C. J., Phillips, P. M., & Johnstone, A. F. M. (2016). Impact of genetic strain on body fat loss, food consumption, metabolism, ventilation, and motor activity in free running female rats. *Physiology and Behavior*, 153, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.10.025>
- Goto, Y., & Grace, A. A. (2005). Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. *Nature Neuroscience*, 8, 805. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/nn1471>
- Gottfried, J. A., O'Doherty, J., & Dolan, R. J. (2003). Encoding Predictive Reward Value in Human Amygdala and Orbitofrontal Cortex. *Science*, 301(5636), 1104–1108. <https://doi.org/10.1126/science.1087919>
- Haber, S. N. (2011). *Neuroanatomy of Reward: A View from the Ventral Striatum. Neurobiology of Sensation and Reward* (Vol. 5). <https://doi.org/http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92797/>
- Haber, S. N., Ryo, H., Cox, C., & Lu, W. (2004). Subsets of midbrain dopaminergic neurons in monkeys are distinguished by different levels of mRNA for the dopamine transporter: Comparison with the mRNA for the D2 receptor, tyrosine hydroxylase and calbindin immunoreactivity. *Journal of Comparative Neurology*, 362(3), 400–410. <https://doi.org/doi:10.1002/cne.903620308>
- Hajnal, A., & Norgren, R. (2001). Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake. *Brain Research*, 904(1), 76–84.
- Hajnal, A., Smith, G. P., & Norgren, R. (2004). Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286(1), R31–R37. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00282.2003>
- Hamann, A., & Matthaei, S. (1996). Regulation of energy balance by leptin. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes : Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 104(4), 293–300. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1211457>
- Hardaway, J. A., Crowley, N. A., Bulik, C. M., & Kash, T. L. (2015). Integrated circuits and molecular components for stress and feeding: implications for eating disorders. *Genes Brain Behav*, 14(1), 85–97. <https://doi.org/10.1111/gbb.12185>
- Hatfield, T., Han, J. S., Conley, M., Gallagher, M., & Holland, P. (1996). Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order conditioning and reinforcer devaluation effects. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(16), 5256–5265. <https://doi.org/http://www.jneurosci.org/content/16/16/5256>
- Hayes, M. R., De Jonghe, B. C., & Kanoski, S. E. (2010). Role of the Glucagon-Like-Peptide-1 Receptor in the Control of Energy Balance. *Physiology & Behavior*, 100(5), 503–510. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.02.029>.
- Hernandez, L., & Hoebel, B. G. (1988). Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sciences*, 42(18), 1705–1712. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(88\)90036-7](https://doi.org/10.1016/0024-3205(88)90036-7)

- Hikida, T., Morita, M., & Macpherson, T. (2016). Neural mechanisms of the nucleus accumbens circuit in reward and aversive learning. *Neuroscience Research*, *108*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.01.004>
- Hildebrandt, B. A., Klump, K. L., Racine, S. E., & Sisk, C. L. (2014). Differential strain vulnerability to binge eating behaviors in rats. *Physiology and Behavior*, *127*, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.01.012>
- Holderness, C. C., Brooks-Gunn, J., & Warren, M. P. (1994). Co-morbidity of eating disorders and substance abuse review of the literature. *International Journal of Eating Disorders*, *16*(1), 1–34. [https://doi.org/10.1002/1098-108X\(199407\)16:1<1::AID-EAT2260160102>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1098-108X(199407)16:1<1::AID-EAT2260160102>3.0.CO;2-T)
- Hudson, J. I., Lalonde, J. K., Coit, C. E., Tsuang, M. T., McElroy, S. L., Crow, S. J., ... Pope, H. G. (2010). Longitudinal study of the diagnosis of components of the metabolic syndrome in individuals with binge-eating disorder. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *91*(6), 1568–1573. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29203>
- Jastrzebska, J., Frankowska, M., Szumiec, L., Sadakierska-Chudy, A., Haduch, A., Smaga, I., ... Filip, M. (2015). Cocaine self-administration in Wistar-Kyoto rats: a behavioral and biochemical analysis. *Behavioural Brain Research*, *293*, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.06.040>
- Jiao, X., Paré, W. P., & Tejani-Butt, S. (2003). Strain differences in the distribution of dopamine transporter sites in rat brain. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *27*(6), 913–919. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00150-7](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00150-7)
- Johnson, P. M., & Kenny, P. J. (2010). Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature Neuroscience*, *13*(5), 635–641. <https://doi.org/10.1038/nn.2519>
- Kelley, A. E. (2004). Ventral striatal control of appetitive motivation: Role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*(8), 765–776. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.015>
- Kenny, P. J. (2011). Reward Mechanisms in Obesity: New Insights and Future Directions. *Neuron*, *69*(4), 664–679. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.02.016>
- Kessler, Berglund, P., Chiu, W., Deitz, A. C., Hudson, J. I., Shahly, V., ... Benjet, C. (2013). The prevalence and correlates of binge eating disorder in the WHO World Mental Health Surveys. *Biological Psychiatry*, *73*(9), 904–914. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.11.020>
- Kessler, Hutson, P. H., Herman, B. K., Potenza, M. N., Kessler, R. M., Hutson, P. H., ... Potenza, M. N. (2016). The Neurobiological Basis of Binge-Eating Disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *63*, 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.01.013>
- Kim, S. F. (2012). Animal models of eating disorders. *Neuroscience*, *211*, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.024>
- Kim, S., Shou, J., Abera, S., & Ziff, E. B. (2018). Sucrose withdrawal induces depression and anxiety-like behavior by Kir2.1 upregulation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, *130*, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.11.041>
- Klenowski, P. M., Shariff, M. R., Belmer, A., Fogarty, M. J., Mu, E. W., Bellingham, M. C., & Bartlett, S. E. (2016). Prolonged Consumption of Sucrose in a Binge-Like Manner, Alters the Morphology of

- Medium Spiny Neurons in the Nucleus Accumbens Shell. *Front Behav Neurosci*, 10(March), 54. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00054>
- Kourrich, S., Calu, D. J., & Bonci, A. (2015). Intrinsic plasticity: an emerging player in addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(3), 173–184. <https://doi.org/10.1038/nrn3877>
- Latner, J. D., Mond, J. M., Kelly, M. C., Haynes, S. N., & Hay, P. J. (2014). The loss of control over eating scale: Development and psychometric evaluation. *International Journal of Eating Disorders*, 47(6), 647–659. <https://doi.org/10.1002/eat.22296>
- Leigh, S. J., & Morris, M. J. (2018). The role of reward circuitry and food addiction in the obesity epidemic: An update. *Biological Psychology*, 131, 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2016.12.013>
- Leknes, S., & Tracey, I. (2010). Pain and pleasure: Masters of mankind. In *Pleasures of the brain*. (pp. 320–335). Retrieved from <http://0-search.ebscohost.com/opac.sfsu.edu/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,cookie,url,uid&db=psyh&AN=2009-13385-019&site=ehost-live>
- Lenoir, M., Serre, F., Cantin, L., & Ahmed, S. H. (2007). Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS ONE*, 2(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000698>
- Lisman, J. E., & Grace, A. A. (2005). The hippocampal-VTA loop: Controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46(5), 703–713. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.05.002>
- Lowe, M. R., & Butryn, M. L. (2007). Hedonic hunger: A new dimension of appetite? *Physiology and Behavior*, 91(4), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.04.006>
- Lutter, M., Croghan, A. E., & Cui, H. (2016). Escaping the Golden Cage: Animal Models of Eating Disorders in the Post-Diagnostic and Statistical Manual Era. *Biological Psychiatry*, 79(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.006>
- Madularu, D., Shams, W. M., & Brake, W. G. (2014). Estrogen potentiates the behavioral and nucleus accumbens dopamine response to continuous haloperidol treatment in female rats. *European Journal of Neuroscience*, 39(2), 257–265. <https://doi.org/10.1111/ejn.12401>
- Martel, P., & Fantino, M. (1996). Influence of the amount of food ingested on mesolimbic dopaminergic system activity: a microdialysis study. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 55(2), 297–302.
- Matzinger, D., Degen, L., Drewe, J., Meuli, J., Duebendorfer, R., Ruckstuhl, N., ... Beglinger, C. (2000). The role of long chain fatty acids in regulating food intake and cholecystokinin release in humans. *Gut*, 46(5), 688–693. <https://doi.org/10.1136/gut.46.5.689>
- McAuley, J. D., Stewart, A. L., Webber, E. S., Cromwell, H. C., Servatius, R. J., & Pang, K. C. H. (2009). Wistar-Kyoto rats as an animal model of anxiety vulnerability: Support for a hypervigilance hypothesis. *Behavioural Brain Research*, 204(1), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.036>
- McConnell, E. L., Basit, A. W., & Murdan, S. (2008). Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(1), 63–70. <https://doi.org/10.1211/jpp.60.1.0008>
- McCutcheon, J. E. (2015). The role of dopamine in the pursuit of nutritional value. *Physiology and Behavior*, 152, 408–415. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.05.003>
- McNamara, C. G., & Dupret, D. (2017). Two sources of dopamine for the hippocampus. *Trends in*

*Neurosciences*, 40(7), 383–384. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.05.005>

- Micioni Di Bonaventura, M. V., Lutz, T. A., Romano, A., Pucci, M., Geary, N., Asarian, L., & Cifani, C. (2017). Estrogenic suppression of binge-like eating elicited by cyclic food restriction and frustrative-nonreward stress in female rats. *The International Journal of Eating Disorders*. <https://doi.org/10.1002/eat.22687>
- Morell, P., & Fiszman, S. (2017). Revisiting the role of protein-induced satiation and satiety. *Food Hydrocolloids*, 68, 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.003>
- Münzberg, H., Qualls-Creekmore, E., Yu, S., Morrison, C. D., & Berthoud, H.-R. (2016). Hedonics Act in Unison with the Homeostatic System to Unconsciously Control Body Weight. *Frontiers in Nutrition*, 3(February), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00006>
- Murray, S. M., Tulloch, A. J., Chen, E. Y., & Avena, N. M. (2015). Insights revealed by rodent models of sugar binge eating. *CNS Spectrums*, 20(October), 1–7. <https://doi.org/10.1017/S1092852915000656>
- Nieh, E. H., Matthews, G. A., Allsop, S. A., Presbrey, K. N., Leppla, C. A., Wichmann, R., ... Tye, K. M. (2015). Decoding neural circuits that control compulsive sucrose seeking. *Cell*, 160(3), 528–541. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.003>
- Nieh, E. H., Vander Weele, C. M., Matthews, G. A., Presbrey, K. N., Wichmann, R., Leppla, C. A., ... Tye, K. M. (2016). Inhibitory Input from the Lateral Hypothalamus to the Ventral Tegmental Area Disinhibits Dopamine Neurons and Promotes Behavioral Activation. *Neuron*, 90(6), 1286–1298. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.035>
- Novick, A., Yaroslavsky, I., & Tejani-Butt, S. (2008). Strain Differences in the Expression of Dopamine D1Receptors in Wistar-Kyoto (WKY) and Wistar Rats. *Life Sciences*, 83(1–2), 77–78. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.05.006>
- Oginsky, M. F., Goforth, P. B., Nobile, C. W., Lopez-Santiago, L. F., & Ferrario, C. R. (2016). Eating “Junk-Food” Produces Rapid and Long-Lasting Increases in NAc CP-AMPA Receptors: Implications for Enhanced Cue-Induced Motivation and Food Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 41(13), 2977–2986. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.111>
- Oginsky, M. F., Maust, J. D., Corthell, J. T., & Ferrario, C. R. (2016). Enhanced cocaine-induced locomotor sensitization and intrinsic excitability of NAc medium spiny neurons in adult but not in adolescent rats susceptible to diet-induced obesity. *Psychopharmacology*, 233(5), 773–784. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4157-x>
- Opland, D. M., Leininger, G. M., & Myers, M. G. (2010). Modulation of the mesolimbic dopamine system by leptin. *Brain Research*, 1350, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.028>
- Ouyang, J., Carcea, I., Schiavo, J. K., Jones, K. T., Rabinowitsch, A., Kolaric, R., ... Carr, K. D. (2017). Food restriction induces synaptic incorporation of calcium-permeable AMPA receptors in nucleus accumbens. *European Journal of Neuroscience*, 45(6), 826–836. <https://doi.org/10.1111/ejn.13528>
- Palkovits, M. (2003). Hypothalamic regulation of food intake. *Ideggyszemle*, 56(9–10), 288–302.
- Pardon, M.-C., Gould, G. G., Garcia, A., Phillips, L., Cook, M. C., Miller, S. A., ... Morilak, D. A. (2002). Stress Reactivity of the Brain Noradrenergic System in Three Rat Strains Differing in Their Neuroendocrine and Behavioral Responses To Stress: Implications for Susceptibility To Stress-Related Neuropsychiatric Disorders. *Neuroscience*, 115(1), 229–242.

- Paré, W. P. (1994). Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiology and Behavior*, 55(3), 433–439. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90097-3)
- Park, M. K. (2016). Subchapter 17C - Glucagon-Like Peptide-1 A2 - Takei, Yoshio. In H. Ando & K. B. T.-H. of H. Tsutsui (Eds.), *Handbook of Hormones* (Vol. 137, p. 135). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00140-9>
- Peat, C. M., Berkman, N. D., Lohr, K. N., Brownley, K. A., Bann, C. M., Cullen, K., ... Bulik, C. M. (2017). Comparative Effectiveness of Treatments for Binge-Eating Disorder: Systematic Review and Network Meta-Analysis. *European Eating Disorders Review*. <https://doi.org/10.1002/erv.2517>
- Perello, M., Valdivia, S., Romero, G. G., & Raingo, J. (2014). Considerations about rodent models of binge eating episodes. *Front.Psychol*, 5(April), 1–4. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00372>
- Polonsky, K. S., Given, B. D., Hirsch, L., Shapiro, E. T., Tillil, H., Beebe, C., ... Van Cauter, E. (1988). Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects. *The Journal of Clinical Investigation*, 81(2), 435–441. <https://doi.org/10.1172/JCI113338>
- Prado, L., Luis-Islas, J., Sandoval, O. I., Puron, L., Gil, M. M., Luna, A., ... Gutierrez, R. (2016). Activation of Glutamatergic Fibers in the Anterior NAc Shell Modulates Reward Activity in the aNAcSh, the Lateral Hypothalamus, and Medial Prefrontal Cortex and Transiently Stops Feeding. *The Journal of Neuroscience*, 36(50), 12511 LP-12529. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1605-16.2016>
- Qi, J., Zhang, S., Wang, H.-L., Barker, D. J., Miranda-Barrientos, J., & Morales, M. (2016). VTA glutamatergic inputs to nucleus accumbens drive aversion by acting on GABAergic interneurons. *Nature Neuroscience*, 19(5), 725–733. <https://doi.org/10.1038/nn.4281>
- Rada, P., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2005). Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience*, 134(3), 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.04.043>
- Rebouças, E. C. C., Leal, S., & Sá, S. I. (2016). Regulation of NPY and  $\alpha$ -MSH expression by estradiol in the arcuate nucleus of Wistar female rats: a stereological study. *Neurological Research*, 38(8), 740–747. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1203124>
- Rogel-Salazar, G., & López-Rubalcava, C. (2011). Evaluation of the anxiolytic-like effects of clomipramine in two rat strains with different anxiety vulnerability (Wistar and Wistar-Kyoto rats): participation of 5-HT1A receptors. *Behavioural Pharmacology*, 22(2), 136–146. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328343d7c5>
- Rudenga, K., Phil, M., & Small, D. M. (2012). Amygdala response to sucrose consumption is inversely related to artificial sweetener use. *Appetite*, 58(2), 504–507. <https://doi.org/10.1080/10810730902873927>.Testing
- Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(9), 609–625. <https://doi.org/10.1038/nrn3381>
- Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Hayase, M., Tsuji, T., Imagawa, K., ... Nakao, K. (1997). The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats. *Neuroscience Letters*, 224(3), 149–152. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)00163-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)00163-8)
- Schneider, J. E., Wise, J. D., Benton, N. A., Brozek, J. M., & Keen-Rhinehart, E. (2013). When do we eat?

- Ingestive behavior, survival, and reproductive success. *Hormones and Behavior*, 64(4), 702–728. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.07.005>
- Scholl, J. L., Renner, K. J., Forster, G. L., & Tejani-Butt, S. (2010). Central monoamine levels differ between rat strains used in studies of depressive behavior. *Brain Research*, 1355(1355), 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.003>
- Schreiber-Gregory, D. N., Lavender, J. M., Engel, S. G., Wonderlich, S. a., Crosby, R. D., Peterson, C. B., ... Mitchell, J. E. (2013). Examining duration of binge eating episodes in binge eating disorder. *International Journal of Eating Disorders*, 46(8), 810–814. <https://doi.org/10.1002/eat.22164>
- Schreiber, L. R. N., Odlaug, B. L., & Grant, J. E. (2013). The overlap between binge eating disorder and substance use disorders: Diagnosis and neurobiology. *Journal of Behavioral Addictions*, 2(4), 191–198. <https://doi.org/10.1556/JBA.2.2013.015>
- Schulte, S. J. (2016). Predictors of binge eating in male and female youths in the United Arab Emirates. *Appetite*, 105, 312–319. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.06.004>
- Schwartz, M. W., Figlewicz, D. P., Baskin, D. G., Woods, S. C., & Porte Daniel, J. (1992). Insulin in the Brain: A Hormonal Regulator of Energy Balance. *Endocrine Reviews*, 13(3), 387–414. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1210/edrv-13-3-387>
- Sclafani, A., & Ackroff, K. (2003). Reinforcement value of sucrose measured by progressive ratio operant licking in the rat. *Physiology and Behavior*, 79(4–5), 663–670. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00143-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00143-4)
- Seamans, J. K., Gorelova, N., Durstewitz, D., & Yang, C. R. (2001). Bidirectional dopamine modulation of GABAergic inhibition in prefrontal cortical pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(10), 3628–3638. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4111-01.2001> [pii]
- Seamans, J. K., & Robbins, T. W. (2010). *The Dopamine Receptors*. *Brain Research*. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-333-6>
- Servatius, R. J., Jiao, X., Beck, K. D., Pang, K. C. H., & Minor, T. R. (2008). Rapid avoidance acquisition in Wistar-Kyoto rats. *Behavioural Brain Research*, 192(2), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.04.006>
- Shariff, M., Klenowski, P., Morgan, M., Patkar, O., Mu, E., Bellingham, M., ... Bartlett, S. E. (2017). Binge-like sucrose consumption reduces the dendritic length and complexity of principal neurons in the adolescent rat basolateral amygdala. *PLoS ONE*, 12(8), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183063>
- Sohn, J. W., Elmquist, J. K., & Williams, K. W. (2013). Neuronal circuits that regulate feeding behavior and metabolism. *Trends in Neurosciences*, 36(9), 504–512. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.05.003>
- Spiegler, B. J., & Mishkin, M. (1981). Evidence for the sequential participation of inferior temporal cortex and amygdala in the acquisition of stimulus-reward associations. *Behavioural Brain Research*, 3(3), 303–317. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(81\)90002-4](https://doi.org/10.1016/0166-4328(81)90002-4)
- Stanley, G. B., Kyrkouli, S. E., Lampert, S., & Leibowitz, S. F. (1986). Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: A powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides*, 7(6), 1189–1192. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(86\)90149-X](https://doi.org/10.1016/0196-9781(86)90149-X)

- Stanley, G. B., Willett, V. L., Donias, H. W., Ha, L. H., & Spears, L. C. (1993). The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatory amino acid-elicited eating. *Brain Research*, *630*(1–2), 41–49. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7509711>
- Sun, J., Gao, Y., Yao, T., Huang, Y., He, Z., Kong, X., ... Williams, K. W. (2016). Adiponectin potentiates the acute effects of leptin in arcuate Pomc neurons. *Molecular Metabolism*, *5*(10), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.08.007>
- Szczypka, M. S., Kwok, K., Brot, M. D., Marck, B. T., Matsumoto, A. M., Donahue, B. A., & Palmiter, R. D. (2001). Dopamine production in the caudate putamen restores feeding in dopamine-deficient mice. *Neuron*, *30*(3), 819–828. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00319-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00319-1)
- Takeuchi, S. (2016). *Agouti-Related Protein*. *Handbook of Hormones*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00279-8>
- Teitelbaum, P., & Epstein, A. N. (1962, March). The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions.
- Thompson, J. L., & Borgland, S. L. (2013). Presynaptic leptin action suppresses excitatory synaptic transmission onto ventral tegmental area dopamine neurons. *Biological Psychiatry*, *73*(9), 860–868. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.10.026>
- Thornton, L. M., Mazzeo, S. E., & Bulik, C. M. (2012). The Heritability of Eating Disorders: Methods and Current Findings. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *6*(November 2011), 289–320. <https://doi.org/10.1007/7854>
- Tranham-Davidson, H. (2004). Mechanisms Underlying Differential D1 versus D2 Dopamine Receptor Regulation of Inhibition in Prefrontal Cortex. *Journal of Neuroscience*, *24*(47), 10652–10659. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3179-04.2004>
- Tseng, K. Y. (2004). Dopamine-Glutamate Interactions Controlling Prefrontal Cortical Pyramidal Cell Excitability Involve Multiple Signaling Mechanisms. *Journal of Neuroscience*, *24*(22), 5131–5139. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1021-04.2004>
- Undieh, A. S. (2010). Pharmacology of Signaling Induced by Dopamine D1-Like Receptor Activation. *Pharmacology and Therapeutics*, *128*(1), 3760. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.05.003>
- Unikel-Santoncini, C., Nuño-Gutiérrez, B., Celis-De La Rosa, A., Saucedo-Molina, T. D. J., Trujillo Chi Vacuán, E. M., García-Castro, F., & Trejo-Franco, J. (2010). Conductas alimentarias de riesgo: Prevalencia en estudiantes mexicanas de 15 a 19 años. *Revista de Investigacion Clinica*, *62*(5), 424–432.
- Van Den Pol, A. N. (2003). Weighing the role of hypothalamic feeding neurotransmitters. *Neuron*, *40*, 1059–1061. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00809-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00809-2)
- Van Der Lely, A. J., Tschöp, M., Heiman, M. L., & Ghigo, E. (2004). Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews*, *25*(3), 426–457. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0029>
- Vocks, S., Tuschen-Caffier, B., Pietrowsky, R., Rustenbach, S. J., Kersting, A., & Herpertz, S. (2009). Meta-analysis of the effectiveness of psychological and pharmacological treatments for binge eating disorder. *International Journal of Eating Disorders*, *43*(3), 205–217. <https://doi.org/10.1002/eat.20696>

- Volkow, N. D., Wang, G. J., Tomasi, D., & Baler, R. D. (2013). Obesity and addiction: Neurobiological overlaps. *Obesity Reviews*, *14*(1), 2–18. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01031.x>
- Vollbrecht, P. J., Mabrouk, O. S., Nelson, A. D., Kennedy, R. T., & Ferrario, C. R. (2016). Pre-Existing Differences and Diet-Induced Alterations in Striatal Dopamine Systems of Obesity-Prone Rats. *Obesity*, *24*(3), 670–677. <https://doi.org/10.1002/oby.21411>.
- von Hausswolff-Juhlin, Y., Brooks, S. J., & Larsson, M. (2015). The neurobiology of eating disorders—a clinical perspective. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *131*(4), 244–255. <https://doi.org/10.1111/acps.12335>
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, *2*(2), 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
- Wang, X. F., Liu, J. J., Xia, J., Liu, J., Mirabella, V., & Pang, Z. P. (2015). Endogenous Glucagon-like Peptide-1 Suppresses High-Fat Food Intake by Reducing Synaptic Drive onto Mesolimbic Dopamine Neurons. *Cell Reports*, *12*(5), 726–733. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.062>
- Watabe-Uchida, M., Zhu, L., Ogawa, S. K., Vamanrao, A., & Uchida, N. (2012). Whole-Brain Mapping of Direct Inputs to Midbrain Dopamine Neurons. *Neuron*, *74*(5), 858–873. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.017>
- Williams, G., Harrold, J. a, & Cutler, D. J. (2000). The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box. *The Proceedings of the Nutrition Society*, *59*(3), 385–396. <https://doi.org/10.1017/S0029665100000434>
- Wise, R. A. (2006). Role of brain dopamine in food reward and reinforcement. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *361*(1471), 1149–1158. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1854>
- Wise, R. A., & Koob, G. F. (2014). The development and maintenance of drug addiction. *Neuropsychopharmacology*, *39*(2), 254–262. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.261>
- Wojnicki, F. H. E., Stine, J. G., & Corwin, R. L. W. (2007). Liquid sucrose bingeing in rats depends on the access schedule, concentration and delivery system. *Physiology & Behavior*, *92*(4), 566–574. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.002>
- Wong, K., Wojnicki, F., & Corwin, R. (2009). Baclofen, Raclopride, and Naltrexone Differentially Affect Intake of Fat/Sucrose Mixtures Under Limited Access Conditions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *92*(3), 528–536. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.02.002>.
- Woods, S. C., Vasselli, J. R., Kaestner, E., Szakmary, G. A., Milburn, P., & Vitiello, M. V. (1977). Conditioned insulin secretion and meal feeding in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *91*(1), 128–133.
- Yaroslavsky, I., Colletti, M., Jiao, X., & Tejani-Butt, S. (2006). Strain differences in the distribution of dopamine (DA-2 and DA-3) receptor sites in rat brain. *Life Sciences*, *79*(8), 772–776. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.02.030>
- Yasoshima, Y., & Shimura, T. (2015). A mouse model for binge-like sucrose overconsumption: Contribution of enhanced motivation for sweetener consumption. *Physiology & Behavior*, *138*, 154–164. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.035>

- Zhan, C., Zhou, J., Feng, Q., Zhang, J. -e., Lin, S., Bao, J., ... Luo, M. (2013). Acute and Long-Term Suppression of Feeding Behavior by POMC Neurons in the Brainstem and Hypothalamus, Respectively. *Journal of Neuroscience*, 33(8), 3624–3632. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2742-12.2013>
- Zheng, P., Zhang, X. X., Bunney, B. S., & Shi, W. X. (1999). Opposite modulation of cortical N-methyl-D-aspartate receptor-mediated responses by low and high concentrations of dopamine. *Neuroscience*, 91(2), 527–535. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00604-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00604-6)
- Zilberter, T. (2015). Appetite, reward, and obesity: the causes and consequences of eating behaviors. *Frontiers in Psychology*, 6(April), 9–11. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.00411>