



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS

DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGIA

**“ACTIVIDAD DE LA BOMBA DE SODIO Y POTASIO EN RATAS CON
ANOREXIA EXPERIMENTAL”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA:

p.Q.F.B. MAYRA ALEJANDRA MARTÍNEZ TORRES

ASESOR

D.C ROSALIO MERCADO CAMARGO

MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO 2012

**Tesis apoyada parcialmente por CIC-UMSNH-26.2 (2012), BECANET
Superior-20110074000**



**El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurobiología de la
Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo**

**Tesis apoyada parcialmente por CIC-UMSNH-26.2 (2012), BECANET-
Superior-20110074000**

DEDICATORIA

A mis padres Raúl y Agustina por sus enseñanzas, por su apoyo y sobre todo por creer en mí y estar siempre conmigo

A mis hermanos Lupita, Cynthia, Nancy, Raúl y Luis, por estar siempre y apoyarme.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el D.C. Resalió Mercado Camargo por compartirme su experiencia y sabiduría, por darme su apoyo, su comprensión y sobre todo por la paciencia que me tuvo...MUCHAS GRACIAS

A mi familia, especialmente a mis padres por todo lo que me han dado y me han enseñado.

A todos y cada uno de mis profesores por haber sido parte de mi formación académica y personal, pues sin su ayuda no hubiera llegado a ser lo que soy y estar donde estoy. Gracias a cada uno de mis revisores de tesis Q.F.B Armida Sánchez Gallegos, D.C. Daniel Godínez Hernández, E.H.D.L. Judith E. Prieto, M.F.B. Blanca Nateras Marín por su paciencia y atención, por enseñarme que siempre debemos dejarnos enseñar y que nunca se deja de aprender.

A mis amigos Nataly, Mónica Nayeli, Joel, Yunuen Pintor, Juan Manuel JR, Claudia, Elizabeth, Mariana y Francisca por estar ahí siempre y demostrarme lo que es un verdadero amigo... Muchas Gracias!!.

A mis compañeros de laboratorio Blanquita, Susi, Gaby, Beto, Angie, Omar y Enrique, gracias por su apoyo y ayuda en mi estancia en el laboratorio, por su paciencia al enseñarme y por su amistad.

A todas las personas que aunque ya no estén siempre permanecieron ahí recordándote que no hay obstáculos para llegar a donde quieras, que todo está en ti ,que no es malo caerse si te sabes levantar, que los errores son experiencias y que si creer en ti es la llave para abrir todas las puertas

¡GRACIAS A TODOS!

I. CONTENIDO.

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
I. CONTENIDO.....	1
I.1. Índice de figuras.....	3
I.2. Índice de tablas.....	4
II. LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
III. RESUMEN.....	7
IV. ABSTRACT.....	8
V. INTRODUCCIÓN.....	9
V.1. Sistema Nervioso.....	10
V.1.1. Sistema nervioso central.....	11
V.1.2. Las sinapsis del sistema nervioso central.....	12
V.1.3. Anatomía fisiológica de la sinapsis.....	13
V.1.4. Neurotransmisores.....	167
V.2. Sistema serotoninérgico.....	17
V.2.1. Receptores serotoninérgicos.....	20
V.3 Na ⁺ /K ⁺ ATPasa en las membranas plasmáticas.....	22
V.3.1. Modulación de la Na ⁺ /K ⁺ ATPasa.....	25
V.4 Anorexia nerviosa.....	26
V.4.1. Anorexia experimental.....	31
VI. JUSTIFICACIÓN.....	32
VII. HIPÓTESIS.....	30

VIII. OBJETIVOS.....	34
VIII.1. Objetivo general.....	32
VIII.2. Objetivos específicos.....	34
IX. MATERIAL Y MÉTODOS.....	35
IX.1. Material biológico.....	35
IX.2. Inducción de anorexia experimental.....	35
IX.3. Preparación de los homogeneizados de corteza cerebral.....	35
IX.4. Medición de la actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa.....	36
IX.5. Análisis estadístico.....	34
X. RESULTADOS.....	38
XI. DISCUSIÓN.....	41
XII. CONCLUSIÓN.....	45
XIII. PERSPECTIVAS.....	46
XIV. BIBLIOGRAFÍA.....	47

I.1. Índice de figuras.

Figura 1. Esquema de los procesos asociados con la neurotransmisión serotoninérgica.....	19
Figura 2. Organización del sistema serotoninérgico.....	20
Figura 3. Esquema cinético para el transporte activo de Na^+ y de K^+ mediante la Na^+/K^+ -ATPasa. 1.....	23
Figura 4. Regulación hormonal de la conducta alimentaria.....	29

Figura 5. Ingesta alimentaria de los grupos Control, Anorexia Experimental y RAF	38
Figura 6. Consumo de alimento de los grupos Control, Anorexia Experimental y RAF.....	38
Figura 7. Control de peso en los grupos Control, Anorexia Experimental y RAF. .	39
Figura 8. Actividad de la Na ⁺ /K ⁺ - ATPasa	39
Figura 9. Fotografías de las ratas Control, Anorexia Experimental, RAF	40
Figura 10. Vías de regulación del metabolismo de sodio..	43
Figura 11. Resumen de las vías por las que la activación de la transmisión serotoninérgica mejora la fosforilación de la DARPP32 en thr34, thr 75, and ser137.	49

I.2. Índice de tablas.

Tabla 1. Familias y subtipos de receptores de 5-HT con base en su mecanismo de señalización.....	20
--	----

II. LISTA DE ABREVIATURAS.

5-HIAA	–	Ácido 5-hidroxi-indolacético
5-HT	–	Serotonina, 5-Hidroxitriptamina
5-HTP	–	5-hidroxitriptófano
NaCl	–	Cloruro de sodio
A. E.	–	Actividad específica
AMPc	–	Monofosfato cíclico de adenosina
ATP	–	Trifosfato de adenosina
BHE	–	Barrera hematoencefálica
Ca ²⁺	–	Ión calcio
Cl ⁻	–	Ión cloruro
D. E.	–	Desviación estándar
DLAA	–	Descarboxilasa de los L-aminoácidos aromáticos
<i>g</i>	–	Unidad de fuerza de aceleración centrífuga
GABA	–	Ácido gamma-aminobutírico
GMPc	–	Monofosfato cíclico de guanosina
H ₂ O	–	Agua
KCl	–	Cloruro de potasio
L-Trp	–	L-triptófano
MAO	–	Monoamino oxidasa

MgCl ₂	–	Cloruro de magnesio
mM	–	Milimolar
N	–	Normalidad
Na ⁺	–	Ion sodio
Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa	–	Bomba de sodio y potasio
nm	–	Nanómetros
SNC	–	Sistema nerviosos central
SNP	–	Sistema nervioso periférico
ANE	–	Anorexia experimental
TPH	–	Triptófano hidroxilasa
RAF	–	Restricción alimentaria forzada
Tris-HCl	–	Buffer de trizma base con ácido clorhídrico
w/v	–	Relación peso/volumen
µg	–	Microgramo
µL	–	Microlitro
\bar{X}	–	Media aritmética
DARPP-32	–	Fosfoproteína de 32 kDA regulada por AMPc
ANP	–	Péptido natriurético atrial
CART	–	Transcrito relacionado con la cocaína y las anfetaminas

III. RESUMEN.

La anorexia nerviosa es un trastorno de la conducta alimentaria que comprende diversas afecciones las cuales son relevantes desde el punto de vista epidemiológico. Si bien es de origen multifactorial, existe una definida relación con factores psicológicos, en particular con una visión alternada de la imagen corporal y el estrés. La conducta alimentaria y la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa están reguladas por neurotransmisores (serotonina, dopamina y noradrenalina) y por algunas hormonas (tiroideas, insulina, grelina, etc.). Se ha observado que la serotonina incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio en ratas administradas con L-Triptófano (L-Trp) y con restricción de alimento, actualmente no se conoce si la actividad de la bomba de sodio y potasio se modifica en la condición de anorexia en función del cambio en el tono serotoninérgico, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto que la anorexia nerviosa y la restricción alimentaria forzada (RAF) ejercen sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas. Para implementar el modelo de anorexia nerviosa experimental se les dio una solución de NaCl al 2.5% y alimento *ad libitum*; al grupo RAF agua *ad libitum* y alimento similar al consumido por el grupo anoréxico; y al grupo control agua y alimento *ad libitum*. El modelo de anorexia redujo aproximadamente en un 75% de la ingesta de alimento en comparación con el control, en lo que respecta al peso tanto el modelo de anorexia como el de RAF mostraron una reducción de hasta un 13 y 11 % , respectivamente, comparado con el control a la semana post inducción. La actividad de la bomba de sodio y potasio (Na^+/K^+ ATPasa) en el grupo de anorexia presentó una reducción significativa con respecto al grupo control, mientras que el grupo de RAF presentó un aumento significativo comparado con el control. Con estos resultados podemos concluir que la interacción bomba de sodio y potasio y sistema serotoninérgico se modifica en la anorexia nerviosa experimental.

PALABRAS CLAVE: Serotonina, Conducta Alimentaria, Regulación enzimática.

IV. ABSTRACT

Anorexia nervosa is an eating disorder comprising various conditions which are important from the epidemiological point of view. Although, its etiology is multifactorial, there is a definite relation with psychological factors, particularly an alternate view body image and stress. Eating behavior and Na^+/K^+ -ATPase pump are regulated by neurotransmitters (serotonin, dopamine and norepinephrine) and some hormones (thyroid, insulin, ghrelin, etc..), It has been noted that serotonin increases the activity of the sodium potassium pump in rats administered with L-Tryptophan (L-trp) and food restriction. However, currently is unknown if the activity of sodium-potassium pump is changed in the condition of anorexia as a function of change in the serotonergic tone, therefore the aim of this research was to know the effect that anorexia nervosa and forced food restriction (FFR) have on the regulation of the activity of the sodium and potassium pump in cerebral cortex of rat brain. Anorexia nervosa model was induced by giving a 2.5% sodium chloride (NaCl) solution, and food *ad libitum* to a group of animals, FFR group received water *ad libitum* and a similar amount of food like the anorectic group. The control group was provided of food and water *ad libitum*. The experimental group of anorexia decreased food intake approximately 75% compared to control. In regard to weight, both experimental groups (anorexia model and FFR) showed a reduction of up to 13 and 11% respectively, compared to control a week after induction. The activity of Na^+/K^+ -ATPase pump in the experimental group of anorexia presented a significant reduction regarding to the control group, whereas the group of FFR had a significant increase compared with control. These results suggest that the interaction between sodium-potassium pump and the serotonergic system are modified during experimental anorexia nervosa.

KEY WORDS: serotonergic system, eating disorders, enzymatic regulation.

V. INTRODUCCIÓN

V.1. Sistema Nervioso

El sistema nervioso es una red compleja de estructuras centrales y periféricas (encéfalo, médula espinal y nervios periféricos) que tienen como misión controlar y regular el funcionamiento de los diversos órganos y sistemas, coordinando su interrelación y la relación del organismo con el medio externo. Los receptores, sus estructuras más distales responden a estímulos internos y externos, los cuales convierten en señales eléctricas que a través de los nervios periféricos son conducidas a estructuras centrales, donde adquieren el carácter de sensaciones (Guyton and Hall, 2001). El sistema nervioso está organizado para detectar cambios en el medio interno y externo, evaluar esta información y responder mediante cambios en músculos o glándulas.

Las células del tejido nervioso pertenecen a dos principales clases: las células nerviosas (neuronas) que son las unidades morfológicamente funcionales del tejido nervioso, las cuales median conductas específicas, reciben y transmiten información entre redes específicas, que además almacenan; y las células gliales (glía) que tienen una estrecha relación con la neurona, sirviéndole como sostén, evitan su muerte, producen mielina y se encuentran en todos los sectores del tejido, siendo así las células más abundantes (Kandel, 2001). Las fibras nerviosas corresponden a extensiones de las células gliales y de las neuronas, forman complejas interrelaciones entre ellas, recorren grandes extensiones, regulan actividades propias y de otros sistemas en forma dinámica y compleja, gracias a la neurotransmisión química intercelular (Bloom, 2005).

El sistema nervioso generalmente se clasifica en dos componentes diferenciados anatómicamente 1) sistema nervioso central (SNC) compuesto por el encéfalo y la médula espinal; 2) sistema nervioso periférico (SNP), compuesto de grupos especializados de neuronas (ganglios) y nervios periféricos situados afuera del

SNC. El SNP a su vez se divide en somático, que contiene la inervación motora y sensitiva de la piel, músculos y articulaciones; y autónomo que inerva el músculo liso y glándulas junto con algunas estructuras especializadas para el control del medio interno (Guyton and Hall, 2001).

V.1.1. Sistema Nervioso Central.

El SNC es excepcional por la gran complejidad de los procesos mentales y las acciones de control que puede realizar, está formado por más de cien mil millones de neuronas. Las señales aferentes llegan a la neurona a través de la sinapsis que establecen, sobre todo, las dendritas, aunque también el cuerpo celular. Por el contrario, la señal eferente se transmite por el único axón de la neurona, pero dicho axón tiene muchas ramas separadas destinadas a otras partes del SNC o a la periferia del cuerpo.

El SNC está formado por el encéfalo y la médula espinal.

El encéfalo constituido por seis regiones; el bulbo raquídeo, la protuberancia, el cerebelo, el mesencéfalo, diencefalo y los hemisferios cerebrales cada uno de los cuales se encuentra en los dos hemisferios del encéfalo.

1. El **bulbo raquídeo** situado por encima de la médula espinal responsable de funciones autónomas vitales como digestión, respiración y control de la frecuencia cardíaca.
2. La **protuberancia**, situada por encima del bulbo raquídeo, transmite información sobre el movimiento del hemisferio al cerebelo.
3. El **cerebelo** situado por detrás de la protuberancia y conectado con el tronco encefálico (protuberancia, mesencéfalo y bulbo raquídeo), a través de los pedúnculos se encarga de regular la fuerza y la amplitud de los movimientos y participa en el aprendizaje de las capacidades motoras.

4. El **mesencéfalo**, situado por encima de la protuberancia, controla funciones sensitivas y motoras como los movimientos oculares así como la coordinación de los reflejos visuales y auditivos.
5. El **diencéfalo**, situado por encima del mesencéfalo, contiene dos estructuras; el tálamo el cual procesa información sensorial que llega a la corteza proveniente del SNC, y el hipotálamo que controla actividades corporales (ritmo cardíaco) y regula la homeostasis; sus funciones principales son: la regulación del sistema nervioso autónomo, la regulación de la hipófisis, la regulación de las emociones y el comportamiento, la regulación de la ingestión de bebida y alimento, la regulación de la temperatura corporal, así como también la regulación del ritmo circadiano y del estado de conciencia.
6. Los **hemisferios cerebrales** consisten en una capa externa plegada (corteza cerebral) y tres estructuras situadas en la profundidad: los ganglios basales que participan en regulación de la realización de los movimientos; el hipocampo involucrado en aspectos del almacenamiento de los recuerdos; y los ganglios amigdalianos quienes coordinan las respuestas autónomas y endocrinas de los estados emocionales. La corteza cerebral se divide en tres grandes grupos de áreas funcionales: áreas sensoriales que reciben e interpretan información relacionada con las sensaciones; áreas motoras relacionadas con el movimiento; y áreas de asociación, las cuales involucran funciones de integración más compleja como memoria, emociones, etc., (Thibodeau and Patton, 2000).

El encéfalo se divide también en tres regiones más extensas, el romboencéfalo (bulbo raquídeo, protuberancia y cerebelo), el mesencéfalo y el prosencéfalo (diencéfalo y hemisferios cerebrales).

Mientras tanto la médula espinal se encuentra en la parte más caudal del sistema nervioso central, se extiende desde la base del cráneo hasta la primera vértebra

lumbar, recibe información sensitiva de la piel, las articulaciones, los músculos del tronco y las extremidades, controla el movimiento de las extremidades y el tronco, contiene neuronas motoras responsables tanto de los movimientos voluntarios como de reflejos. Se subdivide en las regiones cervical, dorsal, lumbar y sacra. La médula espinal está formada por sustancia gris en la parte central y sustancia blanca en la parte externa y a ambos lados de ella se encuentran 31 pares de nervios espinales o raquídeos.

Una característica del metabolismo cerebral es que su variabilidad regional está fuertemente determinada por el constante cambio espacial en determinados niveles de la actividad sináptica. Las células nerviosas poseen un metabolismo muy activo dependiente del suministro continuo a través de la circulación de oxígeno y glucosa; por ello existe un alto grado de vascularización del tejido, el cual recibe un 10% de la sangre bombeada por el corazón, los requerimientos de energía del cerebro corresponden al 20% del total del organismo, aunque su masa solo corresponde a 2% del total. Así, uno de los principios fundamentales de la fisiología del cerebro es que la actividad neuronal tiene una estrecha relación con las células gliales, gracias a las cuales se satisfacen las necesidades metabólicas y de flujo sanguíneo(Magistretti,2006).

El sistema nervioso central de los vertebrados posee por lo menos 10 veces más células gliales que neuronas. La glía se divide en 3 principales familias de células de acuerdo a sus características moleculares y fisiológicas: **los astrocitos, la microglía y la oligodendroglía**. Estas tienen una diversidad de funciones tales como: dar soporte y consistencia al cerebro, mantener un balance metabólico endocrino e inmunológico; y dirigir durante el desarrollo la migración neuronal y la inserción axónica a sitios específicos. Las células gliales durante la transmisión del impulso nervioso captan y retiran neurotransmisores liberados en la sinapsis, también mantienen la concentración iónica del líquido extracelular, y envuelven a los axones a través de la producción de vainas de mielina con el fin de favorecer la conducción de señales nerviosas (Kandel, 2001; Shawartz and Westbrook, 2001).

La **microglía** forma parte del sistema de defensa cerebral y tiene funciones inmunológicas; la **oligodendroglía** se encarga de la síntesis y la formación de vainas de mielina; y los **astrocitos** forman parte de la barrera hematoencefálica (BHE) (Kandel, 2001).

V.1.2. Las sinapsis del sistema nervioso central

La sinapsis es el proceso mediante el cual las células nerviosas se envían señales unas a otras. Generalmente la sinapsis consta del terminal de un axón presináptico unido a una célula postsináptica. En estos contactos se lleva a cabo la transmisión del impulso nervioso. Éste se inicia con una descarga química que origina una corriente eléctrica en la membrana de la célula presináptica (célula emisora); una vez que este impulso nervioso alcanza el extremo del axón (la conexión con la otra célula), la propia neurona segrega un tipo de sustancias químicas (neurotransmisores) que se depositan en el espacio sináptico (espacio intermedio entre esta neurona transmisora y la neurona postsináptica o receptora). Estas sustancias químicas segregadas o neurotransmisores (noradrenalina, serotonina y acetilcolina) son los encargados de excitar o inhibir la acción de la otra neurona. Basándose en la estructura de la unión las sinapsis se dividen en 2 grupos principales: eléctricas y químicas.

En la **sinapsis química** no existe ninguna continuidad entre las neuronas pre y postsináptica separadas completamente por un pequeño espacio. La **hendidura sináptica** que es algo más ancha (20-40nm) y a veces mucho más ancha que el espacio intercelular no sináptico adyacente (20nm). Esto trae como resultado la liberación de un neurotransmisor por la neurona presináptica el cual se une a través de receptores específicos a la neurona postsináptica. En la gran mayoría de las sinapsis químicas la liberación del neurotransmisor se lleva a cabo en los **terminales presinápticas**, que son unos engrosamientos especializados del axón. Los terminales presinápticas contienen grupos de **vesículas**

sinápticas individuales cada una de las cuales contiene varios miles de moléculas de neurotransmisor específico (Kandel and Siegelbaum, 2001).

En la sinapsis eléctrica, la terminal presináptica y la célula postsináptica no están completamente separadas (3.5nm) y la corriente que despolariza es generada por un potencial de acción sensible al voltaje, en la neurona presináptica, que fluye directamente a la célula postsináptica a través de unos canales especializados denominados ***uniones intercelulares comunicantes*** que ponen en contacto físico al citoplasma de las células pre y postsináptica. Estos no solo tienen que despolarizar la célula presináptica por encima del umbral para un potencial de acción sino que también tienen que generar suficiente corriente iónica para producir un cambio en el potencial de la célula postsináptica (Kandel and Siegelbaum, 2001).

V.1.3. Anatomía fisiológica de la sinapsis

La neurona está formada de 3 partes principales: el soma, que es el cuerpo principal de la neurona; un solo axón, que parte del soma y se incorpora a un nervio periférico que sale de la médula espinal; y las dendritas, que son numerosas prolongaciones ramificadas del soma que se extienden a las áreas medulares circundantes. La superficie de una neurona motora cuenta con entre 10,000 y 200,000 terminales presinápticas; de ellas el 80 al 95% corresponden a las ubicadas en dendritas y solo un 5 al 20% están en el soma (Guyton and Hall, 2001). Las cualidades en tamaño y número de las partes neuronales, hacen que en distintas partes del SN, las neuronas reaccionen de forma diferente a las señales de entrada, y por tanto, desempeñen funciones diferentes (Schwartz and Westbrook, 2001).

Las terminales presinápticas, están separadas del soma de la neurona postsináptica por una hendidura sináptica cuya anchura oscila entre 20 y 30 nm. La terminal posee dos estructuras importantes relacionadas con las funciones excitadora o inhibitoria de la sinapsis: las vesículas que contienen el

neurotransmisor y las mitocondrias que proporcionan el trifosfato de adenosina (ATP), que aporta la energía necesaria para la síntesis de nuevas cantidades de sustancias transmisoras. Cuando un potencial de acción se propaga por una terminal presináptica, la despolarización de la membrana determina el vaciamiento de un pequeño número de vesículas dentro de la hendidura; a su vez, el transmisor liberado induce un cambio inmediato de las propiedades de permeabilidad de la membrana neuronal postsináptica, lo que da lugar a la excitación o inhibición neuronal, dependiendo de las características del receptor de la neurona (Kandel, 2001).

En la sinapsis, la membrana de la neurona postsináptica contiene una gran cantidad de proteínas receptoras. Las moléculas de estos receptores presentan dos componentes importantes: un componente de fijación que sobresale fuera de la membrana y asoma a la hendidura sináptica, y un componente ionóforo que atraviesa totalmente la membrana hasta el interior de la neurona postsináptica. A su vez, el ionóforo puede ser de dos clases: un canal iónico que deja pasar determinados tipos de iones a través de la membrana; ó, un activador segundo mensajero que no es un canal iónico, sino una molécula que se mete dentro del citoplasma celular y activa una o más sustancias de la neurona postsináptica. Estas sustancias a su vez actúan de segundos mensajeros y modifican determinadas funciones celulares internas (Chua *et al.*, 2010). Algunos de los receptores sinápticos, al activarse, excitan la neurona postsináptica y otros la inhiben. La importancia de poseer receptores de tipo excitador e inhibidor reside en que este hecho confiere una nueva dimensión a la función nerviosa, pues favorece tanto su represión como excitación (Bloom, 2005).

La apertura y el cierre de los canales iónicos suponen un medio de control rápido de la permeabilidad de las neuronas postsinápticas. Muchas funciones del SN, exigen que los cambios neuronales se prolonguen desde segundos hasta meses después de desaparecer el neurotransmisor inicial. En muchos casos se consigue

una acción neuronal prolongada gracias a la activación del sistema químico de segundos mensajeros (Siegelbaum and Koester, 2001).

Existen varias clases de sistemas de segundos mensajeros. Uno de los que predominan en las neuronas utilizan un grupo de proteínas llamadas proteínas G. La proteína G se une a la parte de la proteína receptora que penetra dentro de la célula. La proteína G, a su vez, está formada por tres elementos: un componente alfa (α), que es una porción activadora de la proteína G, y los componentes beta (β) y gamma (γ) que unen la proteína G al interior de la zona de membrana celular adyacente a la proteína receptora. Tras su activación mediante un impulso nervioso, la porción α de la proteína G se separa de la fracción beta y gamma, queda suelta en el citoplasma celular (Guyton and Hall, 2001) y se conoce que tiene funciones específicas (Goodman y Gilman, 2012).

Dentro del citoplasma, el componente alfa que acaba de separarse ejerce una o varias funciones que dependen del carácter específico de cada neurona:

- Apertura de canales iónicos específicos de la membrana de la célula postsináptica. A diferencia de los canales iónicos activados directamente y que se cierran enseguida, estos canales permanecen abiertos mucho más tiempo.
- Activación del monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) o del monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) de la célula neuronal. El AMPC y, el GMPc activan la maquinaria metabólica sumamente específica de la neurona y, por tanto, pueden iniciar cualquiera de los numerosos efectos químicos, incluidos los cambios duraderos de la propia estructura celular, con la modificación consiguiente de la excitabilidad prolongada de la neurona.
- Activación de una o más enzimas intracelulares. La proteína G activa directamente una o más enzimas intracelulares. A su vez, estas enzimas

dan lugar a cualquiera de las numerosas funciones químicas específicas de la célula.

- Activación de la transcripción génica. Quizá sea el aspecto más importante de los sistemas de segundo mensajero de la neurona postsináptica. La transcripción de genes da lugar a la síntesis de proteínas nuevas dentro de la neurona y estas pueden alterar los mecanismos metabólicos de la célula o su estructura. Efectivamente, es bien conocido que cuando las neuronas se activan adecuadamente aparecen cambios estructurales, en especial en los procesos a largo plazo (Schwartz and Westbrook, 2001).

V.1.4. Neurotransmisores

Hasta la fecha se han descubierto más de 40 sustancias transmisoras, algunas de las más conocidas son: acetilcolina, adrenalina, histamina, ácido gamma-aminobutírico (GABA), glicina, glutamato y serotonina. Los transmisores pequeños de acción rápida son los que originan la mayoría de las respuestas inmediatas del SN, como la transmisión de las señales sensoriales al cerebro y de las señales motoras de éste a los músculos, a este conjunto se le denomina neurotransmisores. Por el contrario, los transmisores de mayor tamaño, en su mayoría neuropéptidos, suelen producir efectos más prolongados, tales como los cambios duraderos del número de receptores neuronales, la apertura o el cierre prolongado de determinados canales iónicos y, posiblemente también, los cambios a largo plazo del número o el tamaño de la sinapsis (Buck, 2000). Por ejemplo, en la anorexia hay alteraciones tanto de neurotransmisores (dopamina, serotonina) como de neuropéptidos, hormonas y otras moléculas que regulan la conducta alimentaria.

Los neurotransmisores se sintetizan en el citosol de la terminal presináptica y luego se acumulan dentro de las numerosas vesículas de transmisores que existen en la terminal. A continuación, cada vez que llega un potencial de acción a

la terminal presináptica, algunas vesículas liberan de golpe el transmisor en el seno de la hendidura sináptica; esto suele ocurrir en un milisegundo o menos. La acción ulterior del tipo de neurotransmisor sobre los receptores de membrana de la neurona postsináptica también sucede, por lo general, en otro milisegundo o menos (Chua *et al.*, 2010). La mayoría de las veces, el efecto consiste en el incremento o la reducción de la conductancia a través de los canales iónicos; o en menor grado, estimulación de enzimas con lo cual se modifica la maquinaria metabólica interna de la célula (Guyton and Hall, 2001).

V.2. Sistema serotoninérgico

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), neurotransmisor específico del sistema serotoninérgico es una monoamina sintetizada en las neuronas serotoninérgicas en el SNC y las células enterocromafines (células de Kulchitsky) en el tracto gastrointestinal de los animales y del ser humano. Se aisló y caracterizó en el año de 1948 por Maurice M. Rapport, Arda Green, e Irvine Page como una sustancia vasoconstrictora encontrada en las plaquetas en la sangre coagulada por lo que fue denominada serotonina. Se sintetiza a partir del aminoácido L-Triptófano, reacción que se lleva a cabo en 2 etapas; la primera y la limitante es en la que participa la enzima triptófano hidroxilasa (TPH) que requiere oxígeno molecular para reducir la pteridina y así introduce un OH en la posición 5 al triptófano formando el metabolito 5-hidroxitriptofano; y la segunda etapa en la cual la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (DAA) descarboxila al 5-hidroxitriptófano dando como resultado la formación de 5-hidroxitriptamina (5HT o serotonina). En la actualidad se conocen 7 familias de receptores para la 5HT; de la 5HT₁-5HT₇ (Figura 1). Entre las principales funciones de la serotonina están: regulación del apetito, equilibrar el deseo sexual, controlar la temperatura corporal, la actividad motora y las funciones cognitivas y perceptivas. Otras de sus

funciones importantes es la regulación del ritmo circadiano (sueño y vigilia) esto es porque aumenta en el atardecer (síntesis de melatonina) y disminuye al amanecer.

El L-Trp, aminoácido esencial en el organismo, se encuentra en el plasma en dos fracciones, el 90% se une a la albúmina y el 10% restante se encuentra en forma libre (FL). La relación que guardan estas dos fracciones es la que determina que la FL ingrese al cerebro a través de la barrera hematoencefálica, para estimular o disminuir la síntesis de 5-HT.

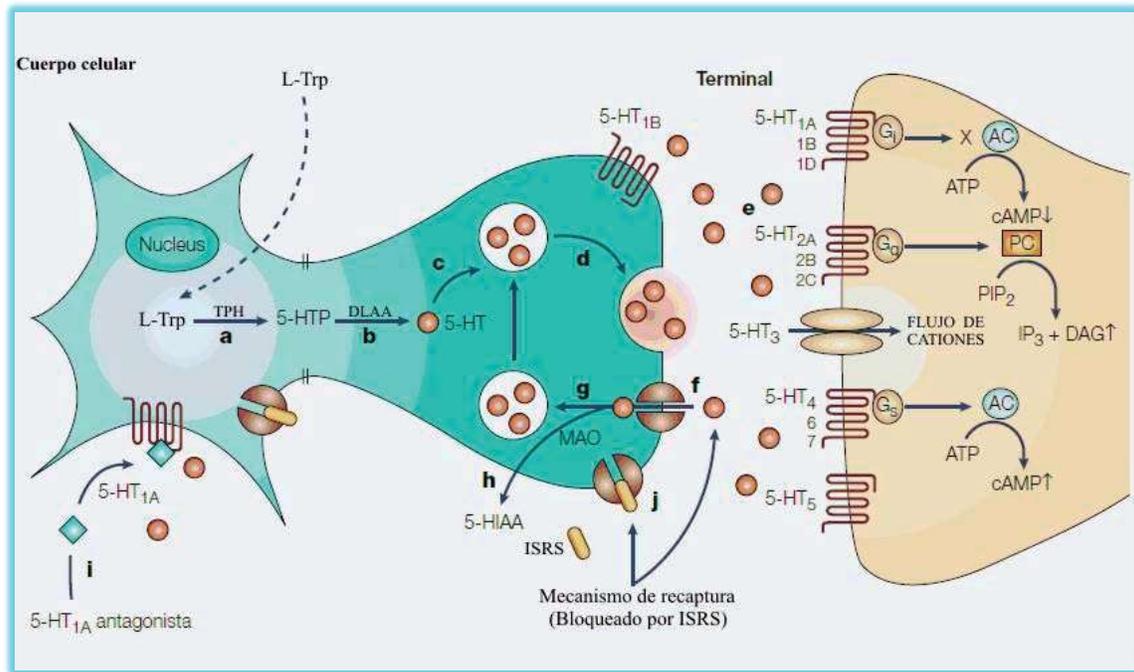


Figura 1. Esquema de los procesos asociados con la neurotransmisión serotoninérgica. a) La TPH cataliza la conversión de L-Trp a 5-HTP. b) La DLAA cataliza la conversión de 5-HTP en 5-HT. c) La 5-HT se recoge en las vesículas de almacenamiento. d) Las vesículas liberan la 5-HT en el espacio sináptico. e) 5-HT puede activar los diversos subtipos de la familia de receptores serotoninérgicos (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7), que interaccionan con sus respectivos sistemas de transducción de señales dentro de la neurona postsináptica. f) La 5-HT se recoge en las terminales presinápticas de 5-HT por el transportador de 5-HT. g, h) Dentro de las terminales presinápticas la 5-HT sería almacenada por las vesículas o degradada por la MAO. i) La 5-HT activa autorreceptores presinápticos somatodendríticos 5-HT_{1A}, los cuales pueden ser bloqueado por antagonistas selectivos. j) Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) como fluoxetina inhiben el transportador de 5-HT. AC, la adenilato ciclasa, DAG, diacilglicerol, IP₃, inositol trifosfato; PIP₂, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato. (Tomada de: Wong *et al.*, 2005).

Así, se ha observado que las células serotoninérgicas se concentran en la parte media del tallo cerebral, agrupándose en nueve núcleos principales, conocidos como complejo nuclear del rafé. A partir de estos núcleos nacen fibras que llegan a prácticamente todo el sistema nervioso (ganglios basales, hipotálamo, tálamo, hipocampo, sistema límbico, corteza cerebral, cerebelo y médula espinal). Los núcleos más anteriores (en animales) proyectan hacia las partes más rostrales (hacia adelante), mientras que las más posteriores envían sus fibras hacia las áreas del tallo cerebral y la médula (Figura 2). A través de estas proyecciones, la serotonina participa en el control de los estados de sueño y vigilia, el ánimo, las emociones, el control de la temperatura, la dieta, la conducta sexual, algunos tipos de depresión, conducta suicida y ciertos estados alucinatorios inducidos por drogas.

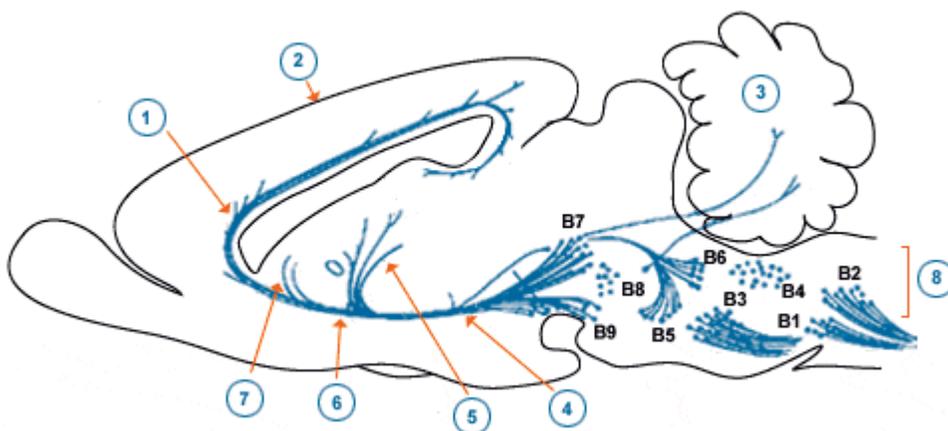


Figura 2 Organización del sistema serotoninérgico 1.- Cingulum, 2.-Corteza cerebral ,3 Cerebelo , 4.-Haz medial del cerebro anterior , 5.- Estría terminal, 6.- Fornix, 7.- Núcleo caudado, 8.- (B1 - B8) núcleos de Rafé.

V.2.1. Receptores serotoninérgicos.

Los receptores de 5-HT están localizados en la membrana celular de las células nerviosas y de otros tipos celulares, median los efectos de su ligando endógeno la serotonina así como de un amplio rango de drogas farmacéuticas y alucinógenas (Sanders-Bush and Mayer, 2005). Los receptores de la 5-HT están clasificados en

7 clases definidas: 5-HT₁ a 5-HT₇ (Tabla 1). Las familias de receptores 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₄₋₇ son miembros de la superfamilia de receptores de siete dominios transmembranales acoplados con proteína G, que activan una cascada de segundos mensajeros intracelulares, en las que se incluyen al menos 13 subtipos de receptores. Por otra parte, el receptor 5-HT₃ es un canal iónico controlado por ligando que regula la penetración y la salida del Na⁺ y K⁺, y tiene una topología de membrana similar a la del receptor colinérgico nicotínico, presente en dos subtipos, 5-HT_{3A} y 5-HT_{3B} (Filip and Bader, 2009)

Tabla 1. Resumen de las diferentes familias y subtipos de receptores de 5-HT con base en su mecanismo de señalización

FAMILIA	SUBTIPO	MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES	SITIOS DE EXPRESIÓN EN EL SNC.
5-HT ₁	5-HT _{1A}	G _{i/o} AC i	Núcleos de Rafé, Hipocampo, Corteza, Sistema Gustativo.
	5-HT _{1B}	G _{i/o} AC i	Sustancia Nigra, Globo pálido y Ganglios basales,
	5-HT _{1D}	G _{i/o} AC i	Ganglios basales, hipocampo, corteza.
	5-HT _{1E}	G _{i/o} AC i	Corteza Cerebral, Putamen
	5-HT _{1F}	G _{i/o} AC i	Corteza Cerebral, Hipocampo
	5-HT ₂	5-HT _{2A}	G _{q/11} PLC s
5-HT _{2B}		G _{q/11} PLC s	Cerebelo, hipotálamo, Estómago (fondo)
5-HT _{2C}		G _{q/11} PLC s	Plexo toroide, Corteza, Hipocampo y Sustancia Nigra
5-HT ₃	5-HT _{3A}	Canal iónico	Área Postrema, Nervios sensitivos y entéricos
	5-HT _{3B}	Canal iónico	Área Postrema, Nervios sensitivos y entéricos
5-HT ₄	5-HT ₄	G _s AC s	Ganglios basales, corteza, hipocampo
5-HT ₅	5-HT _{5A}	G _{i/o} AC i	Corteza cerebral, Hipocampo, Hipotálamo
	5-HT _{5B}	?	Núcleos del rafe, hipocampo (en roedores)
5-HT ₆	5-HT ₆	G _s AC s	Hipocampo, corteza
5-HT ₇	5-HT ₇	G _s AC s	Corteza, Tálamo, hipocampo

(Modificado de Filip and Bader, 2009).

Las consecuencias fisiológicas de la liberación de 5-HT varían con la región del encéfalo y el elemento neuronal participante, lo mismo que con la población de subtipos de receptores expresados de la 5-HT. La 5-HT tiene acciones excitadoras e inhibitoras directas, que pueden ocurrir en la misma preparación pero con esquemas temporales diferentes. Por ejemplo, en las neuronas del hipocampo, la 5-HT desencadena hiperpolarización mediada por receptores 5-HT_{1A}, a lo que sigue una despolarización lenta mediada por receptores 5-HT₄ (Tabla 2).

V.4.1. Na⁺/K⁺-ATPasa de las membranas plasmáticas

Uno de los sistemas de transporte activo ampliamente estudiados es la Na⁺/K⁺-ATPasa (sodio-potasio adenosin trifosfatasa, EC 3.6.1.37) de las membranas celulares. Esta proteína se aisló por primera vez en 1957 por Jens Skou, desde entonces la investigación ha determinado muchos de los aspectos estructurales y funcionales de la enzima (Skou, 1992). Es un tetrámero de péptidos ensamblados en pares, una subunidad catalítica principal, designada subunidad α de una masa molecular de cerca de 110 kDa, que contiene la actividad catalítica de la enzima, pues cuenta con el sitio de unión del ATP y los sitios de fijación de cationes; una glicoproteína auxiliar, conocida como subunidad β , con una masa molecular de 55 kDa que tiene la función de estabilizar la subunidad α , facilitar su encaminamiento y la inserción en la membrana celular; en algunos tejidos está asociada una subunidad hidrofóbica de peso molecular cercano a los 12 kDa, llamada subunidad γ , de la cual se sabe muy poco sobre su función (McDonough *et al.*, 1990). Las secuencias de las subunidades α , sugieren que esta subunidad tiene 10 segmentos α -helicoidales transmembrana y dos grandes dominios citoplasmáticos; de modo similar, la subunidad β posee una única hélice transmembranal y un gran dominio extracelular (Jorgensen *et al.*, 2003). La Na⁺/K⁺-ATPasa tiene 3 isoformas de la subunidad β y 4 isoformas de la subunidad α que presentan una distribución tejido específica, la existencia de múltiples subunidades catalíticas, cada una expresada en tejidos específicos, sugieren una función particularmente especializada de la enzima (Hsu and Guidotti, 1989).

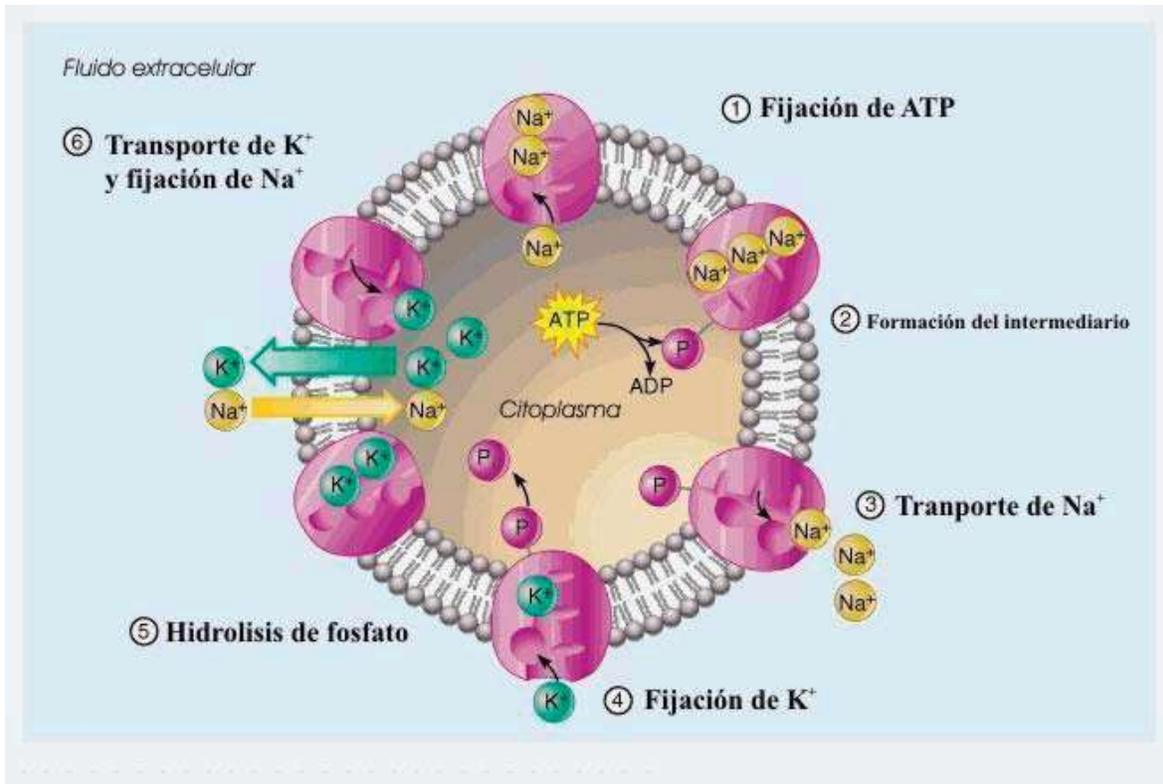


Figura 2. Esquema cinético para el transporte activo de Na^+ y de K^+ mediante la Na^+/K^+ -ATPasa. 1.- $\text{E}_1 \cdot 3\text{Na}^+$, que adquiere su Na^+ dentro de la célula, se une al ATP para rendir el complejo ternario $\text{E}_1 \cdot \text{ATP} \cdot 3\text{Na}^+$. 2.- El complejo ternario formado reacciona para dar el intermediario aspartil fosfato de "alta energía" $\text{E}_1 \sim \text{P} \cdot 3\text{Na}^+$. 3.- Este intermedio de "alta energía" se relaja a su conformación de "baja energía", $\text{E}_2 - \text{P} \cdot 3\text{Na}^+$, y libera su Na^+ unido al exterior de la célula, es decir, el Na^+ se transporta a través de la membrana. 4.- El $\text{E}_2 - \text{P}$ se une a 2K^+ del exterior de la célula para formar $\text{E}_2 - \text{P} \cdot 2\text{K}^+$. 5.- El Grupo fosfato se hidroliza rindiendo $\text{E}_2 \cdot 2\text{K}^+$. 6.- El $\text{E}_2 \cdot 2\text{K}^+$ cambia su conformación, libera sus 2K^+ en el interior de la célula, y los reemplaza con 3Na^+ , para completar así el ciclo de transporte. (Modificado de Voet *et al.*, 2008)

La enzima se denomina a menudo bomba de sodio y potasio, porque bombea Na^+ hacia el exterior y K^+ hacia el interior de la célula en una relación estequiométrica de 3:2 respectivamente. El ATP intracelular es el sustrato primario, el cual es hidrolizado, convertido a ADP y un grupo fosfato, liberando la energía necesaria para la actividad enzimática. En este caso, la energía liberada induce un cambio en la conformación por la fosforilación de la proteína, con lo cual, una vez unidos los tres cationes de Na^+ a sus lugares de unión intracelular, conlleva su expulsión al exterior de la célula. Esto hace posible la unión de dos iones de K^+ en la cara extracelular que provoca la desfosforilación de la ATPasa, y la posterior

translocación para recuperar su estado inicial liberando los dos iones de K^+ en el medio intracelular (Voet *et al.*, 2008) (Figura 3). La estequiometría global de la reacción de la Na^+/K^+ -ATPasa es:



La bomba de sodio y potasio es imprescindible para que exista la vida, por ello se encuentra en todas las membranas celulares, en mayor medida en células excitables, como las células nerviosas y células musculares (Skou, 1992); donde la enzima puede llegar a acaparar dos tercios del total de la energía en forma de ATP de la célula para realizar su función, con lo que restablece el potencial eléctrico de membrana, mantiene los gradientes de Na^+ y K^+ a través de bicapa lipídica, controla el pH y el volumen celular (Magistretti, 2006), además proporciona la fuerza impulsora para el transporte de otros solutos con ayuda de Na^+ , en particular, aminoácidos y glucosa (Giovanni *et al.*, 2003).

La actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa está disminuida en la membrana celular de muchos tejidos obtenidos de animales diabéticos a nivel periférico entre los que se incluyen riñón, corazón, intestino y nervios periféricos; lugares donde este defecto tiene un papel importante en el desarrollo de las complicaciones en la diabetes mellitus (DM) (Ng *et al.*, 1993; Vague *et al.*, 2004). En la DME, los niveles de las isoenzimas α de la Na^+/K^+ -ATPasa varían según la ubicación y la isoforma, pero no hay cambios significativos en la expresión de las subunidades β (Barada *et al.*, 1994; Egleton *et al.*, 2003). Los componentes de las membranas celulares, los cuales se alteran durante la diabetes, se ha demostrado que los componentes de las membranas celulares que se alteran durante la DM juegan un papel importante en la expresión de isoenzimas (α_1 , α_2 , α_3) al igual que cambios en su afinidad a la ouabaína, lo que influye en la estructura de membrana y la función en el sistema nervioso (Murphy, 1990). La actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en el SNC, disminuye tanto en células neuronales como en la glia de cerebelo y corteza cerebral de ratas diabéticas donde, en las células gliales se observa una mayor afección por la diabetes (Lara, 2008; Bautista, 2008).

V.3.1.1. Modulación de la Na⁺/K⁺-ATPasa.

La regulación de la Na⁺/K⁺-ATPasa es compleja, ya que su actividad puede ser regulada por diferentes factores intrínsecos y extrínsecos, Los factores de regulación intrínsecos de la Na⁺/K⁺-ATPasa son ATP, ouabaína, concentraciones de Na⁺ y Mg²⁺ intracelulares y K⁺ extracelular (Polvani and Blostein, 1989). La bomba de sodio y potasio encontrada en la células del corazón, donde la enzima actúa como un regulador indirecto de la contracción, es una diana importante para glucósidos cardiacos durante la terapia para la insuficiencia cardiaca. La ouabaína es un inhibidor específico de la Na⁺/K⁺-ATPasa (Langer, 1981). Las α -isoformas, α_1 , α_2 y α_3 se han descrito en el tejido cardíaco, en el que tienen múltiples funciones y una localización diferente en los diferentes tipos de células o incluso dentro de una sola. Las isoformas presentan sensibilidad variable a la inhibición por los glucósidos cardiacos, la isoforma α_1 , por ejemplo, es menos sensible a ouabaína que las isoformas α_2 y α_3 (Schwinger *et al.*, 2003). Se ha reportado un incremento en la producción por parte de la glándula adrenal de ouabaina endógena en pacientes con falla congestiva del corazón, lo que sugiere que este aumento en la secreción es respuesta compensatoria del organismo (Blaustein *et al.*, 2003).

La regulación extrínseca de la Na⁺/K⁺-ATPasa en diversos tejidos está bajo el control de una serie de hormonas circulantes y neurotransmisores que participan en el control a corto y largo plazo sobre su actividad (Ewart and Klip, 1995; Peña *et al.*, 1999). La regulación a corto plazo involucra generalmente efectos directos en el comportamiento cinético de la enzima o la translocación de las bombas de sodio entre los depósitos intracelulares y la membrana plasmática. La regulación a largo plazo induce la síntesis de la Na⁺/K⁺-ATPasa o su degradación. Sustancias como las hormonas de la tiroides, la insulina y la aldosterona incrementan la expresión de la bomba de sodio, mientras que las catecolaminas tienen diferentes efectos sobre la actividad de la bomba mediadas por la fosforilación reversible de la subunidad α , se observa un efecto inhibitorio por dopamina y un efecto

estimulante por noradrenalina, epinefrina y glucagón (Ihlenfeldt, 1981; Ewart and Klip, 1995). La insulina presenta una rápida acción, posiblemente estimula la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa al incrementar la distribución subcelular de las bombas, el contenido de Na^+ citoplasmático y también la aparente afinidad de la enzima al sodio (Clausen and Flatman, 1987).

En modelos experimentales de depresión en animales se ha reportado una reducción de la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en el hipocampo, en los cuales después de ser sometidos a un tratamiento de fluoxetina, un inhibidor de la recaptura de serotonina, se ha observado un incremento en la actividad de la enzima (Gamaro *et al.* 2003).

V.4. ANOREXIA NERVIOSA

La anorexia se describe como la pérdida de apetito y desmotivación por el consumo de alimentos, a pesar de que éstos estén presentes y disponibles, aunado a una pérdida de peso que ocurre aún cuando las reservas energéticas están extenuadas y la disponibilidad de nutrimentos sea baja. La anorexia puede tener origen psicológico multifactorial (depresión, trastorno obsesivo compulsivos), que tiene importancia clínica creciente y se denomina anorexia nerviosa; o también, la que se asocia con un estado patológico, como cáncer, SIDA u otros, cuando el gasto excesivo de grasa y proteínas corporales lleva a caquexia; además, la anorexia puede ser una respuesta conductual de adaptación a diferentes retos del equilibrio metabólico como estrés o deshidratación celular. (Watts *et al.*, 2007).

Este desorden alimenticio que generalmente se desarrolla durante la adolescencia o la madurez temprana, que se caracteriza por patrones aberrantes de la conducta alimentaria y regulación del peso, así como por alteraciones en actitudes hacia el peso (aumentar) y la percepción de su forma corporal. Debido a esas características se le ha clasificado en 2 tipos principales: la restrictiva en la cual hay una disminución en la ingesta de alimentos; y la compulsivo-purgativo en la

que se recurre a purgas y vómitos provocados después de atracones (APA, 1994). Por otra parte, el modelo estético femenino vigente en nuestra cultura ha jugado y sigue jugando un papel muy importante, en la difusión, predisposición, mantenimiento e incluso la conformación de la sintomatología de la enfermedad. Al hablar de la anorexia como trastorno de la conducta alimentaria debemos aclarar qué es y cómo se regula la conducta alimentaria. Así pues, La conducta alimentaria se define como el comportamiento normal relacionado con: los hábitos de alimentación, la selección de alimentos que se ingieren, las preparaciones culinarias y las cantidades ingeridas de ellos, la activación de ésta, en parte, es una respuesta a la deficiencia de nutrimentos circulantes, o al exceso de utilización de los depósitos de energía de los individuos, y suele modificarse como respuesta a condiciones estresantes crónicas o agudas. Se han descrito otros modelos teóricos característicos en la conducta alimentaria que se basan en: el contenido gástrico (Canon and Washburn, 1960.), la concentración de glucosa en sangre (Mayer, 1953), la temperatura corporal (Brobeck, 1960), las reservas de lípidos en el cuerpo (Kennedy, 1953.) o los niveles hormonales en sangre (Woods, et al., 1974), así como algunas áreas cerebrales involucradas en la conducta de comer, la teoría del Set- point (Weingarten, 1990) y el análisis de los aspectos conductuales como mecanismos que regulan y controlan la alimentación, está regulada estratégicamente por redes neuronales, conexiones específicas entre regiones cerebrales comunicadas entre sí a través de la liberación de señales químicas. Los receptores ubicados en regiones sensoriales como la corteza cerebral son los encargados de la percepción de las características físicas de los alimentos (sabor, olor, textura); otras regiones como los órganos circunventriculares y el núcleo del tracto solitario reciben, en cambio, los mensajes de hormonas sintetizadas en el aparato digestivo que se liberan en función del volumen del intestino y de la presencia de alimentos; por ejemplo la colecistocinina produce una señal cuando el individuo se encuentra saciado y provoca la inhibición de la conducta alimentaria (Chaudhri et al., 2006). La grelina, sintetizada por las glándulas oxínticas del estómago, a diferencia de la

colecistocinina, produce una señal que induce la búsqueda de alimentos (Williams and Cummings, 2005). La leptina es una hormona peptídica producida por los adipocitos en proporción directa a su tamaño y volumen, con acción anorexigénica y cuyos receptores se encuentran en el núcleo del tracto solitario y en el núcleo arqueado del hipotálamo, pero puede actuar también directamente sobre los que se encuentran en el núcleo paraventricular (Leshan et al,2006). La insulina es otra señal periférica que informa al cerebro, a través de su acción sobre sus receptores del núcleo arqueado de la condición actualizada de las reservas energéticas y de la disponibilidad de nutrimentos. El neuropéptido Y forma parte del sistema lipoestabilizador junto con la leptina y la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Los niveles altos de NPY en el fluido cerebroespinal se asocian con una elevada ingestión de comida y una actividad física disminuida.

El núcleo arqueado, región hipotalámica que reside fuera de la barrera hematoencefálica y, por tanto, es capaz de percibir cambios en la concentración de hormonas y nutrimentos en la sangre a través de los respectivos receptores localizados en él. El aumento en la concentración de leptina e insulina inhibe la conducta de búsqueda de alimentos en los animales; por el contrario, su disminución favorece y activa la conducta alimentaria.

Dentro del hipotálamo, el núcleo paraventricular es el lugar donde se integran las señales aferentes del sistema límbico, del núcleo arqueado; de otras áreas hipotalámicas como el lateral, ventromedial y del núcleo del tracto solitario. A su vez, al decodificar la información entrante, el núcleo paraventricular envía conexiones al núcleo accumbens, cuya señalización es principalmente dopaminérgica y está relacionada con la regulación de los mecanismos de recompensa o gratificación que refuerzan positivamente el consumo de alimentos; a la corteza cerebral (insular y frontal) cuyas neuronas sintetizan básicamente acetilcolina y glutamato, y donde se efectúan funciones superiores de planeación, desarrollo y ejecución de estrategias enfocadas en la búsqueda de alimentos; asimismo, a regiones cerebrales vinculadas con el control de la locomoción como los ganglios basales (Elmqvist et al, 2005)

autoinducidos (4% en el grupo medio bajo y 1% en el grupo medio-alto); esta misma tendencia se observa en el uso de diuréticos (4% en el grupo medio-bajo y 3% en el medio-alto). De acuerdo con la Ensanut, la mayor prevalencia de conducta alimentaria de riesgo se encontró en los jóvenes de 15 y niñas de 13 años. Los trastornos de este tipo representan la tercera enfermedad más frecuente entre las adolescentes después del asma y la obesidad. El porcentaje de niñas que tienen “intenso miedo de subir de peso” es el doble en relación a los niños que lo presenta, ellas representaron el 14.8 y los niños 6.9 por ciento. Entre los factores desencadenantes de la anorexia son la obesidad y el sobrepeso. La anorexia aparte de llevar a una pérdida excesiva de peso también ocasiona desnutrición, amenorrea, disfunción renal y otras alteraciones hormonales.

V.3.2. Anorexia experimental

La anorexia es un trastorno de la conducta alimentaria que se caracteriza estrictamente hablando por la reducción de la ingesta alimentaria debido a ello hay varios mecanismos mediante los cuales se puede inducir anorexia. La conducta alimentaria está regulada por hormonas (colecistocinina, grelina, leptina, insulina, POMC, tiroxina, triyodotironina, TRH, CRH, ACTH, etc), neurotransmisores (dopamina, serotonina), áreas cerebrales (hipotálamo, hipófisis y corteza cerebral) y péptidos (neuropeptido Y, CART), involucrados en el apetito y la saciedad, así como los niveles de glucosa, lípidos y aminoácidos en sangre. Según Schwartz (1978) la ablación en el área del hipotálamo lateral produce una abstención de la ingesta alimentaria en ratas. Por otro lado, la administración de fenfluramina y fluoxetina disminuyen la ingesta alimentaria. La inyección de serotonina en el cerebro produce disminución de la ingesta de alimento. También se ha observado que la administración oral de NaCl a altas concentraciones tiene un efecto aversivo provocando una disminución del apetito (Arnedo et al., 1990).

VI. JUSTIFICACIÓN

La anorexia es una enfermedad que ha crecido de forma alarmante los últimos años, debido al modelo estético femenino vigente en nuestra cultura que ha jugado y sigue jugando un papel muy importante, en la difusión, predisposición, mantenimiento e incluso la conformación de la sintomatología de la enfermedad. Se desarrolla por causas biológicas, psicológicas, culturales y sociales convirtiéndose así en un problema de salud pública. El estrés provocado por los medios de comunicación (cine, televisión, internet) promocionando imágenes de modelos, actrices y cantantes con “cuerpos delgados o perfectos” han producido una mayor incidencia en las y los jóvenes a caer en este tipo de trastornos por la necesidad que tienen por ser aceptados en la sociedad y sentirse “perfectos” sin darse cuenta que al restringir la ingesta de alimento provocan muchas afecciones en su salud como desnutrición, hipoglucemia, disfunción renal, deshidratación, diabetes insípida e incluso en algunos casos diabetes tipo 1, llevándolos inclusive hasta la muerte. Por otro lado, se sabe que la serotonina se encuentra aumentada en la anorexia y existen antecedentes que muestran que la serotonina regula la actividad de la Na^+/K^+ ATPasa. No se conoce en ratas con anorexia nerviosa experimental si existen cambios en la actividad de la bomba de sodio y potasio, Por ello nos planteamos la siguiente hipótesis:

VII. HIPÓTESIS

En ratas con anorexia nerviosa experimental se incrementa el nivel de serotonina, y por lo tanto, la actividad de la bomba de sodio y potasio.

VIII. OBJETIVOS

VIII.1. Objetivo general

Determinar el efecto de la anorexia nerviosa y la restricción forzada de alimento sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas.

VIII.2. Objetivos específicos

- Implementar un modelo de anorexia nerviosa experimental (ANE) en ratas.
- Determinar la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en corteza cerebral de ratas con ANE Y RAF.

IX. MATERIAL Y MÉTODOS

IX.1. Material biológico

Los animales para el presente trabajo fueron ratas macho adultas de la cepa Wistar 2 meses de edad con un peso de 260 ± 20 g, las cuales fueron mantenidas en el bioterio del Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H., siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación (SAGARPA, 2001), con alimento y agua *ad-libitum*, ciclos de luz y oscuridad de 12 H (7-19 H), temperatura de 24.0 ± 2 °C y humedad relativa de $60.0 \pm 5\%$.

IX.2. Inducción de anorexia experimental.

Para la inducción de la anorexia experimental se administró como agua de bebida una solución de cloruro de sodio al 2.5% (2.5g/100ml H₂O), y alimento *adlibitum*, para el grupo de restricción alimentaria forzada (RAF) se les proporcionó agua de grifo *adlibitum* y alimento apareado con el consumo del modelo anoréxico, mientras que al grupo control se le dio agua y alimento *ad libitum*, durante 7 días.

IX.3. Preparación de los homogeneizados de corteza cerebral.

Los animales se sacrificaron entre las 9:00 y 12:00 horas por fractura cervical, realizando una incisión media torácica, inmediatamente se perfundió el cerebro *in situ* con 20 ml de solución salina isotónica fría que se inyectó en el ventrículo izquierdo del corazón drenando a través de la vena cava inferior.

Los animales fueron decapitados, rápidamente se extrajo el cerebro y se disecó la corteza, la cual se homogeneizó en 10 volúmenes de solución amortiguadora Tris-HCl 50 mM a pH 7.4, con 10 pasos a 700 rpm en un homogeneizador Thomas con vástago de teflón de 0.25 mm de luz. La obtención de corteza cerebral se realizó en ratas con ANE a la semana post-inducción, con sus respectivos controles. Se realizó determinación del contenido proteico del tejido de corteza cerebral por el método de Lowry *et al.* (1951) para tener concentraciones finales de 2 µg de

proteína/ μL . A estos homogeneizados se les midió la actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa como se describe a continuación.

IX.4. Medición de la actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa.

La actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa se midió con el método usado por Peña *et al.* (1999), por triplicado de alícuotas de 25 μL del homogeneizado de corteza cerebral equivalentes a 50 μg de proteína. Se preincubó el tejido durante 10 minutos a 37 °C en agitación constante de 150 ciclos por minuto en un incubador metabólico Dubnoff con el amortiguador Tris-HCl 50 mM pH 7.4, MgCl_2 6 mM, KCl 20 mM, NaCl 120 mM; con H_2O tridestilada para medir la actividad total o con ouabaína 0.1 mM para medir la actividad indirecta, en un volumen final de 150 μL . Transcurrido el periodo de preincubación se adicionaron 10 μL de agonista, antagonista o ninguno de estos, transcurridos 20 minutos, se adicionó ATP 3mM (adenosin-trifosfato, sal libre de vanadio); finalmente la reacción se detuvo a los 10 minutos adicionando 20 μL de TCA (ácido tricloacético) frío al 50% (w/v) colocando las muestras en una placa de hielo para después centrifugarlas a 600 g durante 10 minutos. Se tomaron 100 μL del sobrenadante para determinar el fosfato inorgánico (Pi) liberado de acuerdo al método de Fiske y SubbaRow (1925), se colocaron en tubos de ensayo que contenían 500 μl de solución de sulfato ferroso al 4%, ácido sulfúrico 1.14 N y molibdato de amonio al 1%, se completó el volumen final con 400 μL de agua. El Pi se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 minutos de iniciada la reacción, Las lecturas de absorbencia se extrapolaron en una curva patrón de fosfato de potasio que se corrió en cada experimento. La actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa fue calculada como la diferencia entre la actividad total y la medida en presencia de ouabaína (indirecta).

IX.5. Análisis estadístico.

Se empleó el programa GradPad Prism 3.0 en la evaluación estadística de los resultados experimentales, así como para realizar su representación gráfica. Las

curvas patrón de proteína y de fosfatos se sometieron a regresión lineal. Se calcularon la media aritmética (\bar{X}) y la desviación estándar (D.E.). Las comparación de los grupos control, anorexia experimental fueron evaluadas por la prueba "t" de Student (Motulsky, 2003).

X. RESULTADOS.

Nuestros resultados muestran que las ratas a las que se les administró la solución de cloruro de sodio tuvieron disminución significativo de la ingesta de alimento a

partir del primer día posterior a la administración, observándose con ello una reducción de hasta un 75% de la ingesta alimentaria con respecto a la control al séptimo día del experimento. (Figura 5).

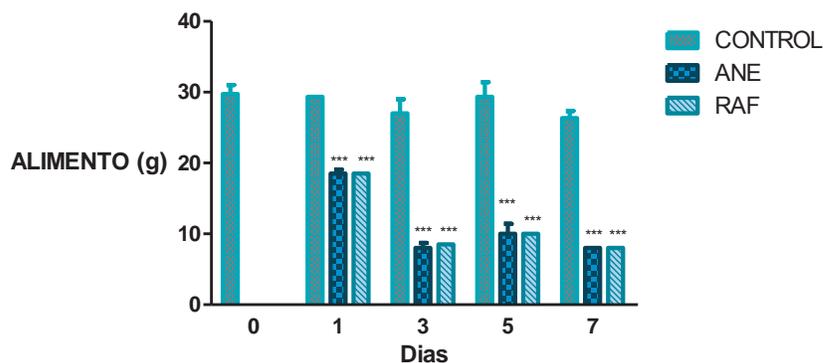


Figura 5. Ingesta alimentaria de los grupos control, anorexia experimental y RAF. $\bar{X} \pm D.E.$ de 4 ratas por grupo. *** $p < 0.0001$.

El consumo de agua por grupo se muestra en la figura 6, del día 3 al 7 se observó un aumento de consumo de agua en el grupo con ANE mientras que el grupo con RAF no mostró cambios con respecto al del grupo control.

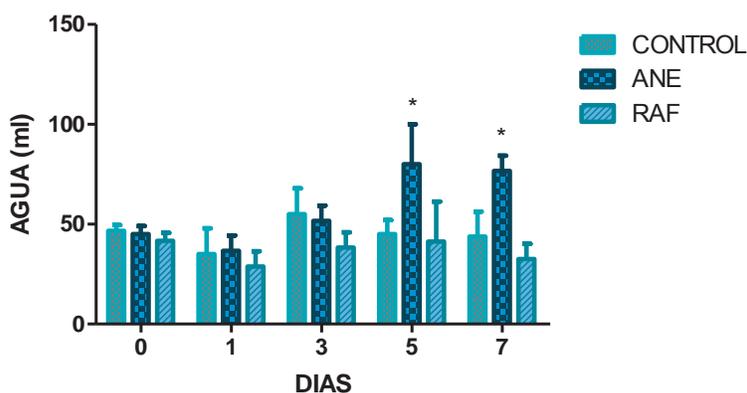


Figura 6. consumo de agua de los grupos control, anorexia experimental y RAF. $\bar{X} \pm D.E.$ de 04 ratas por grupo. * $p < 0.05$.

El peso corporal del grupo anoréxico así como del grupo RAF fue significativamente menor con respecto al del grupo control, a la semana de administración de la solución de NaCl al 2.5%. Sin embargo, aunque perdieron

más peso los animales del grupo anoréxico que los de la RAF la diferencia no fue significativa entre ellos (Figura 7).

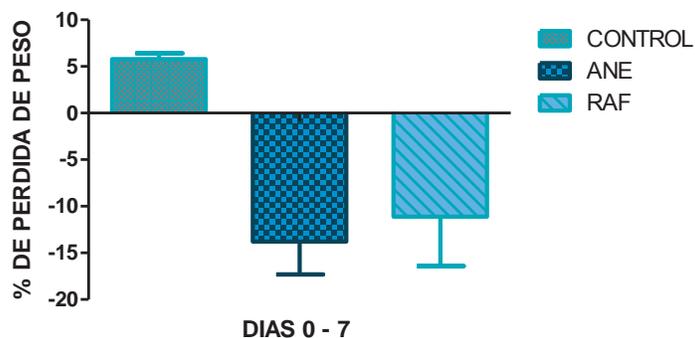


Figura 7. Peso corporal de los grupos control, anorexia experimental y RAF. $\bar{X} \pm D.E$ de 4 animales por grupo.

Un parámetro bioquímico medido en el presente estudio fue la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{ATPasa}$ en la corteza cerebral de la rata. El grupo con anorexia experimental presentó una disminución significativa de la actividad mientras que el grupo RAF mostró un aumento significativo de la actividad a la semana post inducción.

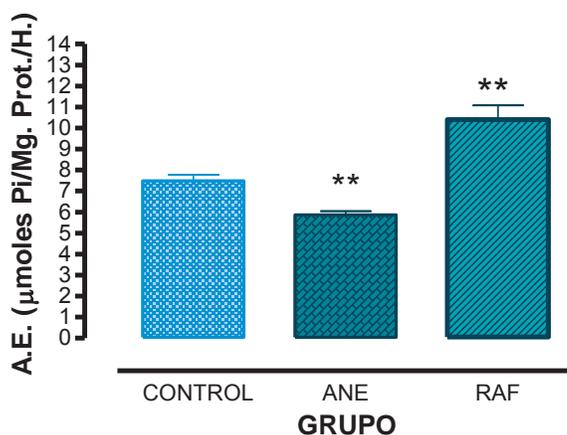


Figura 8. Actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{ATPasa}$ en corteza cerebral de los grupos Control, Anorexia experimental y RAF. $\bar{X} \pm D.E$ de 4 experimentos realizados por triplicado. ** $P < 0.01$.
A)



B)



C)



FIG 9. FOTOGRAFÍAS DE LAS RATAS ANE, RAF Y CONTROL. A) Ratas ANE a la semana post inducción (administración de NaCl al 2.5%, vía oral) en las que se observa disminución en el peso corporal, y pérdida de pelo, poliuria, pilo erección. B) Rata RAF a la semana post inducción (alimento apareado con ANE) en la cual se observa una reducción significativa de peso respecto a la control. C) Rata control en la que se observa que mantiene un peso normal correspondiente a su edad.

XI. DISCUSIÓN.

La anorexia nerviosa es una entidad muy compleja y constituye una importante causa de morbilidad y mortalidad. Hasta el momento, la anorexia se considera como un trastorno multifactorial en cuya génesis intervienen factores genéticos (en algunos casos), psicológicos y socioculturales; de manera típica comienza en forma gradual durante la adolescencia y es más frecuente en las mujeres que en los hombres. En el presente trabajo, mediante la administración de una solución de NaCl hipertónica (2.5%), se implementó un modelo de anorexia nerviosa provocado por un estrés inducido por deshidratación, obteniendo resultados de acuerdo al tiempo que duró el experimento como hipofagia y pérdida de peso (Fig.5 y7). Se sabe que el NaCl a altas concentraciones provoca un efecto aversivo, principalmente en lo que respecta al consumo de carbohidratos, disminuyendo así hasta un 75% la ingesta alimentaria de los animales y produciendo alteración en el sistema serotoninérgico, dopaminérgico, el eje tiroideo, y en la secreción de hormonas como la grelina, leptina e insulina.

Existe controversia con respecto al funcionamiento del eje tiroideo en pacientes anoréxicas (Troisi, et al., 2005) suelen tener bajas concentraciones séricas de T_3 pero normales o disminuidas de tirotrópina y T_4 (Bailer et al, 2003) pueden mostrar también una respuesta retrasada de la adenohipófisis para liberar tirotrópina tras una inyección de TRH (Brambilla et al., 2006). Se cree que las alteraciones del eje tiroideo en la anorexia nerviosa tienen un origen central, principalmente debido a una liberación reducida de TRH hipotalámico, lo que se conoce como el "síndrome de T_3 disminuida". Aún no se ha podido dilucidar el papel exacto de la serotonina en la anorexia nerviosa, solo se sabe que hay un aumento en los niveles de ésta en el cerebro y que los receptores $5HT_{1A}$ y $5HT_{1B}$ están implicados en la regulación del apetito. El $5HT_{1A}$ induce la búsqueda de alimento, mientras que el $5HT_{1B}$ inhibe la búsqueda de alimento (Dourish et al., 1986)

Algunas investigaciones han demostrado que en desnutrición y ayuno la actividad de la serotonina se encuentra aumentada en algunas regiones cerebrales como la corteza cerebral y que la serotonina regula la actividad de la

Na^+/K^+ -ATPasa (Hernández, 1979). Sin embargo, en la anorexia nerviosa aún no se ha estudiado si la serotonina también regula la actividad de la bomba Na^+/K^+ o ésta es regulada por otros factores como neurotransmisores, hormonas u otros mecanismos biológicos implicados en este trastorno. En ésta investigación uno de nuestros objetivos fue medir la actividad de la Na^+/K^+ ATPasa en el grupo con anorexia experimental dando como resultado una disminución significativa de la actividad de la enzima, lo que nos hace disertar si la serotonina efectivamente regula la actividad de la enzima en la anorexia o si dicha actividad es regulada por otros mecanismos, como los niveles de dopamina u otras hormonas implicadas en el regulación de la conducta alimentaria y el estrés provocado por la deshidratación. El Departamento de Investigación de Neurociencias de Eli Lilly y de la Universidad Rockefeller, en Nueva York descubrieron que la DARPP-32 media las vías de neurotransmisión serotoninérgicas (la acción del PROZAC o fluoxetina) y dopaminérgicas. Se ha observado que la dopamina tiene una función natriurética, es decir reduce la reabsorción tubular de Na, inhibiendo a la bomba de Na^+/K^+ en el lado basolateral del túbulo proximal, la rama cortical ascendente y los conductos colectores corticales. Esta acción implica que la dopamina y la DARPP-32 modulen la rama ascendente y el túbulo proximal renal. La DARPP-32 es un inhibidor potente de la fosfatasa 1, provocando la Inhibición de dicha enzima (Hemmings, 1984). De forma similar, la serotonina incrementa la fosforilación de la DARPP-32, aunque estos efectos no son mediados por la regulación de la liberación de dopamina (Figura 10).

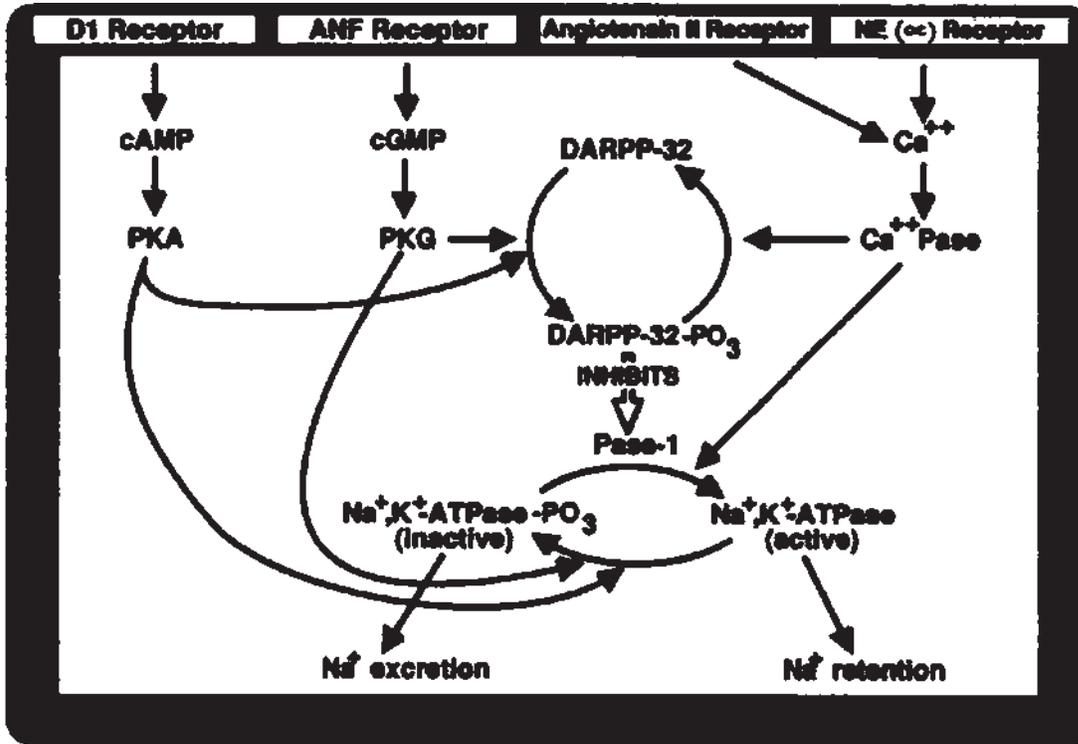


FIGURA 10. Vías para la regulación del metabolismo de sodio mediante factores natriuréticos y antinatriuréticos basadas en los datos experimentales de Hemmings et al (1984). Acorde a este modelo, la dopamina y el ANP promueven la excreción de sodio por el aumento intracelular de AMPc y GMPc activando a la PKA y PKG respectivamente, la activación de éstas implica la fosforilación de la DARPP-32 un potente inhibidor de la fosfatasa 1 (previniendo la desfosforilación y reactivación de la Na⁺/K⁺ ATPasa) fosforilando e inactivando a la Na⁺/K⁺ ATPasa. Inversamente la angiotensina II y la norepinefrina promueven la retención de sodio por el aumento intracelular de Ca⁺⁺ activando a la proteinfosfatasa dependiente de Ca⁺⁺/calmodulina (proteinfosfatasa IIB; calcineurin) desfosforilando la DARPP-32 y reactivando a la Na⁺/K⁺ ATPasa.

Por otro lado, Svenningsson y colaboradores (2002) propusieron un modelo por el cual la activación de la transmisión serotoninérgica regula la fosforilación de la DARPP32 en Thr³⁴, Thr⁷⁵, and Ser¹³⁷. La activación de los receptores 5HT₄ ó 5HT₆, respectivamente incrementan los niveles de AMPc, la actividad de la PKA y fosforilación de la Thr³⁴. Activa la PKA, también fosforila y activa la proteína fosfatasa 2A, causando desfosforilación de las Cdk5 en la Thr⁷⁵, removiendo la inhibición de la PKA y aumentando la fosforilación de la Thr³⁴. Los receptores

que se ha identificado como una constante en pacientes con anorexia en periodos críticos del desarrollo. Así como también el aumento en la presión arterial, disfunción renal, alteraciones hormonales y de neurotransmisores son algunas de las condiciones características tanto de la anorexia como del modelo implementado.

XII. CONCLUSIÓN.

En la anorexia nerviosa experimental la regulación de la actividad de la bomba de sodio y potasio por serotonina se inhibe.

XIII. PERSPECTIVAS.

Medir la expresión de los receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos en ratas con ANE para observar su participación en estas condiciones.

Medir la expresión de la DARPP32 en muestras tanto de pacientes anoréxicas como de ANE.

Observar la participación que la hormona grelina tiene en este trastorno alimenticio para así tratar de detectar, prevenir y curar dicho trastorno.

XIV. BIBLIOGRAFÍA.

Albert PR and Lemonde S.2004. 5-HT_{1A} Receptors, Gene Repression, and Depression: Guilt by Association. *Neuroscientist*, 10: 575-593.

Andrade R, Malenka RC and Nicoll RA. 1986. A G protein couples serotonin and GABA-B receptors to the same channels in hippocampus. *Science*. 234: 1261-1265.

Aperia A., Holtback U., Syrén ML., Svensson LB., Fryckstedt J. and Greengard P. 1994. Activation/deactivation of renal Na⁺/K⁺-ATPase: a final common pathway for regulation of natriuresis. The Rockefeller University, New York. 10021-6399. USA.

Aperia A., Bertorello A. and Seri I. 1987. Dopamine causes inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase activity in rat proximal convoluted tubule segments. *Am. J. Physiol.* 252, F39-F45.

Aperia A., Fryckstedt J., Svensson LB., Hemmings HC., Jr., Nairin AC., and Greengard P. 1991. Phosphorylated M, 32000 dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein inhibits Na⁺/K⁺-ATPase activity in renal tubule cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 88, 2798-2801.

Arnedo M., Gallo M., Agüero A. and Puerto A. 1990. Effects off modullary afferent vagal axotomy and area postrema lesions on short-term and long-term NaCl-induced taste aversion learning. *Physiology& behavior*, 47 (6), 1067-1074.

Arnedo M., Gallo M., Agüero A. and Puerto A. 1993. Medullary afferent vagal axonomy disrupts NaCl-induced short-term taste aversion learning. *Behavioral and neural Biology*, 59,69-75.

Aravich, P. F. (1996). Adverse effects of exercise stress and restricted feeding in the rat: theoretical and neurobiological considerations. En W. F. Epling y W. D. Pierce (Eds.), ***Activity anorexia. Theory, research, and treatment*** (PD. 81-97). Mahwah, New Jersev: Lawrence Earlbaum.

Ballinger AB, Williams G, Corder R, El-Haj T, Farthing MJ. Role of hypothalamic neuropeptide Y and orexigenic peptides in anorexia associated with experimental colitis in the rat. *Clin Sci (Lond)* 2001;100:221-9.

Barada K, Okolo C, Field M, Cortas N. 1994. Na⁺/K⁺-ATPase in diabetic rat small intestine. Changes at protein and mRNA levels and role of glucagon. Barada et al., 1994 *J. Clin. Invest.* 93(6): 2725-2731.

Bautista CS. 2008. Efecto de la serotonina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DM1. Tesis de licenciatura. Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich., México.

Berger M, Gray JA, Roth BL. 2009. The expanded biology of serotonin. *Annu. Rev. Med.* 60: 355-366.

Bertorello A., Aperia A., Walaas SI., Nairn AC., and Greengard P. 1991. Phosphorylation of the catalytic subunit of Na⁺/K⁺-ATPase inhibits the activity of the enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 11359-11362.

Blaustein MP, Robinson SW, Gottlieb SS, Balke CW, Hamlyn JM. 2003. Sex, digitalis, and the sodium pump. *Mol. Interv.* 3(2): 68-72.

Bloom FE. 2005. Neurotransmission y sistema nervioso central, en Goodman & Gilman, las bases farmacológicas de la terapéutica. Hardman JG, Limbird LE, and Gilman AG (Eds). 11^a ed. Edit. McGraw-Hill. Cap 12. pp 317-340

Buck LB. 2000. Olfato y gusto: los sentidos químicos, en Principios de Neurociencias. Kandel E. R., Schwartz J.H., Jessell T. M (Eds.), Mc Graw Hill. Capitulo 32, pp. 635-645.

Chua JE, Kindler S, Boyken, J., and Jahn, R. 2010. The architecture of an excitatory synapse. *J. Cell Sci.* 123: 819-823.

- Clausen T, and Flatman JA. 1987. Effects of insulin and epinephrine on Na^+/K^+ and glucose transport in soleus muscle. *Am. J. Physiol.* 252(4): 492-499.
- Connan F, Campbell IC, Katzman M, Lightman SL, Treasure J. A neurodevelopmental model for anorexia nervosa. *Physiol Behav* 2003;79:13-24.
- Crandall EA, Gillis MA, and Fernstrom, JD. 1981. Reduction in brain serotonin synthesis rate in streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology.* 109(1): 310-312.
- De Gortari P. 2009. Regulacion de la conducta alimentaria en un modelo experimental de anorexia. *Rev. Espec. Med. Quirúrgica.* 14(4):185-90.
- Dyck PJ, Davies JL, Clark VM, Litchy WJ, Dyck PJ, Klein CJ, Rizza RA, Pach JM, Klein R, Larson TS, Melton LJ 3rd., and O'Brien PC. 2006. Modeling chronic glycemic exposure variables as correlates and predictors of microvascular complications of diabetes. *Diabetes Care.* 29: 2282–2288.
- Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, Wilson DM, O'Brien PC, Melton LJ 3rd., Service FJ. 1993. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology,* 43: 817–824.
- Egleton RD, Campos CC, Huber JD, Brown RC, Davis TP. 2003. Differential effects of diabetes on rat choroid plexus ion transporter expression. *Diabetes,* 52: 1496 –1501.
- Ewart HS. and Klip A. 1995. Hormonal regulation of the Na^+/K^+ -ATPase: mechanisms underlying rapid and sustained changes in pump activity. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 269(2): C295-C311.

- Filip M, Bader M. 2009. Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological Reports*. 61: 761-777.
- Fiske CH and SubbaRow, Y. 1925. The Colorimetric Determination of Phosphorus *J. Biol. Chem.* 66: 375–400.
- Gaede P, Vedel P, Parving HH, and Pedersen, O. 1999. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: the Steno type 2 randomized study. *Lancet*, 353: 617–622.
- Gamaro GD, Streck EL, Matté C, Prediger ME, Wyse ATS and Dalmaz C. 2003. Reduction of Hippocampal Na⁺/K⁺-ATPase Activity in Rats Subjected to an Experimental Model of Depression. *Neurochemical Research*. 28(9): 1339-1344.
- Gershon MD. 2009. Enteric serotonergic neurones ... finally!. *J. Physiol.* 587(3): 507.
- Giannini C, Dyck PJ. 1994. Ultrastructural morphometric abnormalities of sural nerve endoneural microvessels in diabetes mellitus. *Ann Neurol.* 36:408–415.
- Giovanni E. Mann, David L. Yudilevich, and Luis Sobrevia. 2003. Regulation of Amino Acid and Glucose Transporters in Endothelial and Smooth Muscle Cells. *Physiol Rev.* 83: 183 - 252.
- Guyton AC., and Hall JE. 2001. *Tratado de fisiología medica*. 10^a ed. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México D.F. Capítulos 4, 5, 45, 55: 47-77, 621-638, 765-779.
- Hernández J. 1979. Na⁺/K⁺-ATPase activity in the brain cortex of rats ontogenetically malnourished, and treated with serotonin precursors. *Brain Res.* 62(2): 348-52.

- Hernández J. 1992. Na^+/K^+ -ATPase regulation by neurotransmitters. *Neurochem Int.* 20(1): 1-10.
- Hernández J., Mercado, R, and Peña, MT. 1998. Regulation of Glial Na^+/K^+ -ATPase by Serotonin: Identification of Participating Receptors. *Neurochemical Research*, 5: 643-649.
- Hsu YM, Guidotti G. 1989. Rat brain has the alpha 3 form of the Na^+/K^+ -ATPase. *Biochemistry*, 28(2): 569-573.
- Hemmings H.C., Jr., Greengard P., Tung H.Y.L., and Cohen P. 1984 DARPP-32, a dopamine-regulated neuronal phosphoprotein, as a potent inhibitor of protein phosphatase-1. *Nature (London)* 310, 503-508.
- Ibarra F., Aperia A., Svensson LB, Eklof AC. and Greengard P. 1993. Bidirectional regulation of Na^+/K^+ -ATPase activity by dopamine and α -adrenergic agonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 21-24.
- Ihlenfeldt MJ. 1981. Stimulation of Rb^+ transport by glucagon in isolated rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 256(5): 2213-2218.
- Jorgensen PL, Håkansson KO, and Karlsh SJD. 2003. Structure and mechanism of Na^+/K^+ -ATPase: Functional sites and their interactions. *Annual Review of Physiology*, 65: 817-849.
- Juárez BE. 2008. Implementación de un modelo de diabetes mellitus tipo 1. Tesis de licenciatura. Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich., México.
- Kandel ER. 2001. Cerebro, neuronas y conducta, en *Principios de Neurociencia*. Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TH (Eds). McGraw-Hill, Capítulos 2 y 3, pp. 5-35.

- Koester J, and Siegelbaum SA. 2001. Potencial de membrana, en Principios de Neurociencia. Kandel ER, Schawartz JH y Jessell TH (Eds). McGraw-Hill, Capítulo 7: 125-139.
- Langer GA. 1981. Mechanism of action of the cardiac glycosides on the heart. *Biochem. Pharmacol.* 30(24): 3261-3264.
- Locher CP, Ruben PC, Gut J, Rosenthal PJ. 2003. 5HT_{1A} serotonin receptor agonists inhibit *Plasmodium falciparum* by blocking a membrane channel. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47(12): 3806-3809.
- López VE, Mancilla JM , Rito M , Jiménez AG, and Díaz, D. 2010. Administración del 8-OH-DPAT en el núcleo ventromedial hipotalámico: caracterización de la conducta alimentaria. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta.* 2: 21-37.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Lewis A, and Randall, RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Magistretti PJ. 2006. Neuron–glia metabolic coupling and plasticity. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 2304-2311.
- Magistretti, P. J. and Pellerin, L. 1999. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 354: 1155-1163.
- Magistretti, P. J., Pellerin, L., Rothman, D. L. and Shulman, R. G. 1999. Energy on demand. *Science*, 283: 496-497.
- Manjarréz G, Herrera JR, Molina A, Bueno S, González M, Hernández, J. 1999. Alteraciones en la síntesis de serotonina cerebral inducidas por diabetes mellitus insulino-dependiente *Rev. Invest. Clin.* 51(5): 293-302.

- Martínez AG, López A, Díaz FJ. 2007. Modelos de la regulación de la conducta alimentaria. *Rev. Invest en Salud* 1405-7980. pp 172-177.
- McDonough AA, Geering K, and Farley, RA. 1990. The sodium pump needs its beta subunit. *FASEB J.* 14(6): 1598-605.
- Mercado CP and Kilic, F. 2010. Molecular Mechanisms of SERT in Platelets: Regulation of Plasma Serotonin Levels *Mol. Interv.* 10: 231-241.
- Mercado R, Hernández, J. 1992. Regulatory role of a neurotransmitter (5-HT) on glial Na^+/K^+ -ATPase in the rat brain. *Neurochem. Int.* 21(1): 119-127.
- Mercado R, Hernández, J. 1994. Biochemical properties of Na^+/K^+ -ATPase in axonal growth cone particles isolated from fetal rat brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 12 (5): 485-489.
- Morley JE., Levine SA., and Krahn DD. Neurotransmitter Regulation of Appetite and Eating. Chapter 2.
- Motulsky HJ. 2003. Prism 4 Statistics Guide –Statistical analyses for laboratory and clinical researches. GraphPad Software Inc.
- Murphy MG. 1990. Dietary fatty acids and membrane protein function. *J. Nutr Biochem.* 1(2): 68-79.
- Ng YC, Tolerico PH, Book CB. 1993. Alterations in levels of Na^+/K^+ -ATPase isoforms in heart, skeletal muscle, and kidney of diabetic rats. *Am. J. Physiol.* 265(2 Pt 1): E243-251.
- Nishi A., Eklof AC., Bertorello AM., and Aperia A. 1993. Dopamine regulation of renal Na^+/K^+ -ATPase activity is lacking in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension* 21,767-771.
- Nishi A., Bibb JA., Snyder GL., Higashi H., Nairn AC. & Greengard P. 2000. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 12840-12845.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2011. Diabetes. Nota descriptiva N°312 [En línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>].

Peña MT, Mercado R and Hernández J. 1999. Regulation of Glial Na⁺/K⁺-ATPase by Serotonin: Identification of Participating Receptors. *Neurochemical Research*. 24(5): 643-649.

Polvani C, Blostein R. 1989. Effects of cytoplasmic sodium concentration on the electrogenicity of the sodium pump. *J Biol Chem*. 264(26): 15182-15185.

Racchah D, Coste T, Cameron NE, Dufayet D, Vague P, Hohman TC. 1998. Effect of the aldose reductase inhibitor tolrestat on nerve conduction velocity, Na⁺/K⁺-ATPase activity, and polyols in red blood cells, sciatic nerve, kidney cortex, and kidney medulla of diabetic rats. *J Diabetes Complications*. 12(3): 154-162.

Racchah D, Lamotte-Jannot MF, Issautier T, Vague P. 1994. Effect of experimental diabetes on Na⁺/K⁺-ATPase activity in red blood cells, peripheral nerve and kidney. *Diabete Metab*. 20(3): 271-274.

Rees DA, Alcolado JC. 2005. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*. 22(4): 359-370.

Salisbury, J. J., Levine, A. S., Crow, S. J. & Mitchell, J.E. (1995). Refeeding, metabolic rate, and weight gain in anorexia nervosa: a review. *International Journal of Eating Disorders*, 17,4,337-345.

Sanders-Bush E, Mayer SE. 2005. Agonistas y antagonistas de receptores 5-hidroxitriptamina, en Goodman & Gilman, las bases farmacológicas de la terapéutica. Hardman JG, Limbird LE, and Gilman AG (Eds). 11^a ed. Edit. McGraw-Hill. Cap 11. pp 297-315.

Scarpini E, Bianchi R, Moggio M, Sciacco M, Fiori MG, Scarlato G. 1993. Decrease of nerve Na^+/K^+ -ATPase activity in the pathogenesis of human diabetic neuropathy. *J Neurol Sci.* 120(2): 159-67.

Schwartz JH, Westbrook GL. 2001. Citología de las neuronas, en Principios de Neurociencia. Kandel ER, Schawartz JH y Jessell TH (Eds). McGraw-Hill, Capítulo 4: 67-86.

Schwinger RH, Bundgaard H, Müller-Ehmsen J, Kjeldsen K. 2003. The Na^+/K^+ -ATPase in the failing human heart. *Cardiovasc Res.* 57(4): 913-20.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2001. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación.

Secretaría de Salud de México (SSA). 2008. Principales causas de mortalidad general, 2008. Dirección General de Información en Salud. [En línea: http://www.sinais.salud.gob.mx/descargas/xls/m_005.xls] Correlacionado con la base de datos de población 2010 del INEGI [En línea: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo86&s=est&c=17498>]

Siegelbaum SA, Koester J. 2001. Canales iónicos, en Principios de Neurociencia. Kandel ER, Schawartz JH y Jessell TH (Eds). McGraw-Hill, Capítulo 7: 125-139. Capítulo 6: 105-123.

Skou JC. 1992. The Na^+/K^+ Pump. *Physiology.* 7(3): 95-100.

Svenningsson P., Tzavara ET., Liu F., Fienberg AA., Nomikos GG., and Greengard P. 2001. DARPP-32 mediates serotonergic neurotransmission in the forebrain. *Neurociense Discovery Research*, Indianapolis, IN 46285.

- Tentolouris N, Marinou K, Kokotis P, Karanti A, Diakoumopoulou E, Katsilambros N. 2009. Sudomotor dysfunction is associated with foot ulceration in diabetes. *Diabet Med.* 26: 302–305.
- Tesfaye S, Boulton AJM, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P, and on behalf of the Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. 2010. Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments *Diabetes Care.* 33: 2285-2293.
- Therien AG and Blostein R. 2000. Mechanisms of sodium pump regulation. *Am J Physiol Cell Physiol* 279: 541-566.
- Troisi A, Di Lorenzo G, Lega I, Tesauro M, et al. Plasma ghrelin, anorexia, bulimia, and binge-eating disorder: relationships with eating patterns and circulating concentrations of cortisol and thyroid hormones. *Neuroendocrinology* 2005;81:259-66.
- Toro J., 1999. Factores psicobiológicos en la etiopatogenia de la anorexia nerviosa. Universidad de Barcelona.
- Treasure, J. & Campbell, I. (1994). The case for biology in the aetiology of anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 24,3-8.
- Trulsson ME, MacKenzie RG. 1980. Increased tryptophan hydroxylase activity may compensate for decreased brain tryptophan levels in streptozotocin-diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 212(2): 269-73.
- Vague P, Coste TC, Jannot MF, Raccah D, and Tsimaratos M. (2004). C-peptide, Na⁺,K⁺-ATPase, and Diabetes. *Exp Diabetes Res.*; 5(1): 37–50.
- Valensi P, Pariès J, Attali JR. 2003. French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy. Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients:

- influence of diabetes duration, obesity, and microangiopathic complications—the French multicenter study. *Metabolism*. 52: 815–820.
- Várkonyi T and Kempler P. 2009. Erectile Dysfunction. In *Diabetes in Old Age*. 3rd ed. Sinclair A: Ed. New York, John Wiley & Sons. 149–164.
- Voet D, Voet JG, Pratt C., 2008, *Fundamentos a bioquímica: la vida a nivel molecular*. 2ª Ed. Médica Panamericana. Capítulo 10: Pág. 284-311.
- Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, Hortnagl H, Voits M, Fink H and Bader M (2003). Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Science* 299: 5603-5676.
- Watts AG, Sanchez-Watts G, Kelly AB. Distinct patterns of neuropeptide gene expression in the lateral hypothalamic area and arcuate nucleus are associated with dehydration-induced anorexia. *J Neurosci* 1999;19:6111-21.
- Woerner P., Brossmer R. 1975. Selective release of serotonin from platelets by diffusion facilitated by the ionophore X537A. *Thrombosis Research*, 7(4): 567-577.
- Wong DT, Perry KW and Bymaster FP. 2005. The Discovery of Fluoxetine Hydrochloride (Prozac). *Nature Reviews Drug Discovery*. 4: 764-774.