

# MODULACIÓN DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA POR EL SISTEMA NÚCLEO INCERTUS/RELAXINA-3

Trabajo de fin de grado  
Universidad Jaume I  
Grado en Medicina

**Autor:** Arantzazu Zurrído Saiz.

**Tutor:** Francisco E. Olucha Bordonau.

Unidad Predepartamental de Medicina

Facultad de Ciencias de la Salud

## - ÍNDICE -

<b>Agradecimientos .....</b>	<b>3</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>4</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>4</b>
<b>Extended summary .....</b>	<b>5</b>
<b>Listado de abreviaturas .....</b>	<b>7</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>8</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>18</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>23</b>
<b>Discusión .....</b>	<b>31</b>
<b>Conclusión .....</b>	<b>35</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>35</b>

### ***Agradecimientos:***

*Gracias al profesor Francisco Olucha, por su infinita paciencia y simpatía.*

*A Marisa Rebagliato por su gran implicación con los alumnos.*

*Y, sobre todo, gracias a toda mi familia por su fuerza y apoyo incondicional en estos tan intensos seis años.*

## - RESUMEN -

Actualmente, la alimentación constituye un pilar básico del estado de salud. Supone, directa e indirectamente, un importante influyente en las tasas de morbimortalidad a nivel mundial. El conocimiento del sistema neurofisiológico de regulación de la conducta alimentaria permite demostrar la complejidad de su naturaleza y considerar la posibilidad de que el origen de las patologías asociadas a las alteraciones de la alimentación, como la obesidad y la anorexia, sea más bien por desequilibrios neurológicos, que por desarreglos metabólicos. Partiendo de las bases neuroanatómicas implicadas, así como en la variedad de señales químicas y hormonales, se ha propuesto, al sistema núcleo incertus / relaxina-3 como un importante agente modulador en la ingesta de alimento. En esta revisión bibliográfica se pretende demostrar, mediante el análisis y síntesis de las aportaciones más destacables en la literatura científica, el papel que este sistema tiene en la modulación de la conducta alimentaria. Con ello, se sugiere que la investigación futura, en esta línea, podría llegar al desarrollo de fármacos que modulasen la conducta alimentaria, estableciendo así un nuevo enfoque terapéutico frente a los trastornos relacionados.

→ **Palabras clave:** núcleo incertus, relaxina-3, RXFP3, ingesta alimentaria, obesidad, trastornos de la conducta alimentaria.

## - ABSTRACT -

Nowadays, feeding is a basic pillar of health condition. It makes, directly and indirectly, an important influence on morbidity and mortality rates worldwide. The knowledge of the neurophysiological system of food regulation allows to demonstrate the complexity of its nature and to consider the possibility that the origin of pathologies associated with alterations of the feeding, such as obesity and anorexia, is rather due to neurological imbalances, that by metabolic derangements. Starting from the neuroanatomical bases involved, as well as in the variety of chemical and hormonal signals, in recent years the nucleus incertus / relaxin-3 system has been proposed as an important modulator in food intake. In this bibliographic review it is demonstrated, through the analysis and synthesis of the most remarkable contributions in the scientific literature, the role that this system in the modulation of the feeding behavior. With this, it is suggested that future research in this line could reach the development of drugs that modulate eating behavior, which may derivates in new therapeutic approach to feeding related diseases.

→ **Key words:** nucleus incertus, relaxin-3, RXFP3, food intake, obesity, eating disorders.

## - EXTENDED SUMMARY -

Our aim is to carry out an updated bibliographic review, integrating the different experimental advances on the neurophysiological implication of the system nucleus incertus/relaxin-3 / RXFP3 in the modulation of the alimentary behavior.

Based on epidemiological studies, we can affirm the great relevance of nutrition in global health status. Apart from its role in the etiology of diseases, such as obesity and eating disorders, the relationship between diet and chronic diseases with a high prevalence at present is also demonstrated: cardiovascular diseases, atherosclerosis, hypertension, obesity, diabetes mellitus type 2, osteoporosis, cerebrovascular accidents, caries, certain types of cancers, and some hepatobiliary diseases. As a result, the direct and indirect result of an unhealthy diet in the population is an increasingly important cause of disability premature death and places an additional burden on already overburdened national health budgets. Nutrition is coming to the fore as an important determinant of these diseases, which fortunately can be modified, and therefore the scientific evidence continues to grow in support of the criterion that the type of diet has a great influence, both positive and negative, in health throughout life. Therefore, research and all the advances in this field, which that can help to stop and eradicate this problem, have a crucial role in the state of health worldwide.

The control of eating behavior is the result of the interaction of several genetic, social, environmental, neurobiological and neuroendocrinological factors. The relevance of these interactions is reflected in the diversity of the neuroanatomical structures involved, which are distributed all along the brain from the cerebral cortex to the brainstem, as well as the variety of chemical and hormonal signals needed for their proper functioning. The knowledge of the food regulation system allows to demonstrate the complexity of its nature and consider the possibility that the origin of pathologies associated with eating disorders, such as obesity and anorexia, is due to neurological imbalances rather than metabolic derangements.

After its discovery, the nucleus incertus/relaxin-3 system was proposed as an important modulator in food intake. The precise functions of this system remain indeterminate, but important contributions have been published to date that demonstrate its supposed role in stress, arousal, hippocampal theta rhythm, spatial memory, anxiety, alcohol consumption and eating behavior. This last is the function in which we will focus on this review.

To achieve the aim, a bibliographic search has been carried out in the PubMed database of articles published from 2000 to the present, with the criterion of common inclusion of English / Spanish language. For this, the descriptors were used: *nucleus incertus*, *relaxin-3*, *food intake*, *RXFP3*, *feeding* and *orexigenic*. A search strategy was carried out by combining these terms, making use of the Boolean

operators "AND" and "OR", combining them to find the greatest number of articles related to the subject. As a result, a total of 765 articles were obtained, of which the exclusion was done by duplication or because they were considered irrelevant after reading the abstract. Finally, 95 articles were selected, for their organization we included them in the *Mendeley* bibliographic manager. After a first reading of these articles to locate us in the subject and consider the most relevant, they were selected for the bibliographic review 25, which fulfilled the inclusion criterion of being experimental studies, of these an in-depth reading was made, and after discarding those that were not adjusted to the aim of the review, finally 18 are selected. The rest of the articles were not discarded, but they were kept for use as additional references in the elaboration of the review.

For the evaluation of the quality of the articles, firstly, we analyze the number of times that each specific article has been cited, by accessing the *Web of Science* database. Next, we carried out the evaluation using the *Journal Citation Report (JCR)*, providing us with the *Impact Factor* of a journal based on the citations received for the articles published and collected in the *Web of Science*.

After the evaluation of the selected articles, we performed the analysis of each of the experiments, extracting the findings that provide data to meet the aim of this review. Finally, the synthesis and sharing of all the contributions is carried out, demonstrating in this way the role of the system nucleus incertus / relaxin-3 in the modulation of the alimentary behavior. In most of the selected experiments, the effects observed after intracerebroventricular and intraparaventricular administration of relaxin-3 were studied, or after the administration of agonists and antagonists of the corresponding receptor, RXFP3, and after the corresponding analysis it is possible to demonstrate the role of the system nucleus incertus / relaxin-3 in the control of feeding behavior.

In conclusion, based on the fact that the key mechanism of intake control is the integration of peripheral hormone signals with the function of the hippocampus and the areas that control the most cognitive and hedonistic aspects of food. A better knowledge of the mechanisms of intake, as well as energy expenditure and the neuroendocrinological systems involved, will allow to propose a treatment for devastating diseases such as anorexia nervosa or obesity, one of the most prevalent disorders. After the study and analysis of the scientific literature, we can conclude that the NI / relaxin-3 system represents an important role in the modulation of food behavior. Even so, much remains ahead, future research in this line could reach the development of drugs that modulate eating behavior, acting on this regulatory system, thus establishing a new therapeutic approach to related disorders.

## - LISTADO DE ABREVIATURAS -

5-HT: 5-hidroxitriptamina, AN: Anorexia nerviosa, ARC: Núcleo arcuato, BN: Bulimia nerviosa, CPFm: Corteza prefrontal medial, CRD: Parte caudal del núcleo del rafe dorsal, CRS: Corteza retrosplenial, CS: Colículo superior, ENT: Enfermedades no transmisibles, F: Femenino, H3: Relaxina-3 humana, HPG: Hipotálamo-pituitario-gonadal, HbL: Habénula lateral, HL: Hipotálamo lateral, ICV: Intracerebroventricular, iNPV: Intra núcleo paraventricular, KO: Knockout, MCH: Hormona concentradora de melanina, NDM: Núcleo dorsomedial, N.E: No especificado, NI: Núcleo incertus, Nic: Núcleo incertus pars compacta, NId: Núcleo incertus pars dissipata, NMR: Núcleo medial del rafe, NIP: Núcleo interpeduncular, NPV: Núcleo paraventricular, NPY: Neuropeptido Y, NRPO: Núcleo reticular pontino oral, NVM: Núcleo ventromedial, NSO: Núcleo supraóptico, M: Masculino, rAAV: Virus recombinante adeno-asociado, RLN3: Relaxina-3, SM: Septum medial, TCA: Trastornos de la conducta alimentaria, TCANE: Trastornos de la conducta alimentaria no especificados, WT: Wild-type.

## - INTRODUCCIÓN -

### **Objetivo:**

El objetivo de este trabajo es la realización de una revisión bibliográfica actualizada, que integre los distintos avances experimentales sobre la implicación neurofisiológica del sistema núcleo incertus / relaxina-3 / RXFP3 en la modulación de la conducta alimentaria.

### **Alimentación y salud:**

La alimentación constituye un pilar básico en el estado de la salud y prevención de enfermedades, siendo responsable de uno de los grandes enemigos de salud de la sociedad actual: la obesidad. Esta ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, y cada año mueren 2,8 millones de personas a causa de la obesidad o sobrepeso <sup>1</sup>. Aunque anteriormente se consideraba un problema confinado a los países de altos ingresos, en la actualidad la obesidad también es prevalente en los países de ingresos bajos y medianos.

Es evidente que desde mediados del siglo XX el mundo ha sufrido grandes cambios, que han repercutido enormemente en el régimen alimentario: Las dietas tradicionales, basadas en gran parte en alimentos de origen vegetal, han sido reemplazadas por dietas con un alto contenido de grasa, muy energéticas y constituidos principalmente por alimentos de origen animal.

Existen además, múltiples estudios epidemiológicos que relacionan la dieta y las enfermedades crónicas, tales como: las enfermedades cardiovasculares, la aterosclerosis, hipertensión, obesidad, diabetes mellitus tipo 2, osteoporosis, accidentes cerebrovasculares, caries, ciertos tipos de cánceres, y algunas enfermedades hepáticas <sup>2</sup>.

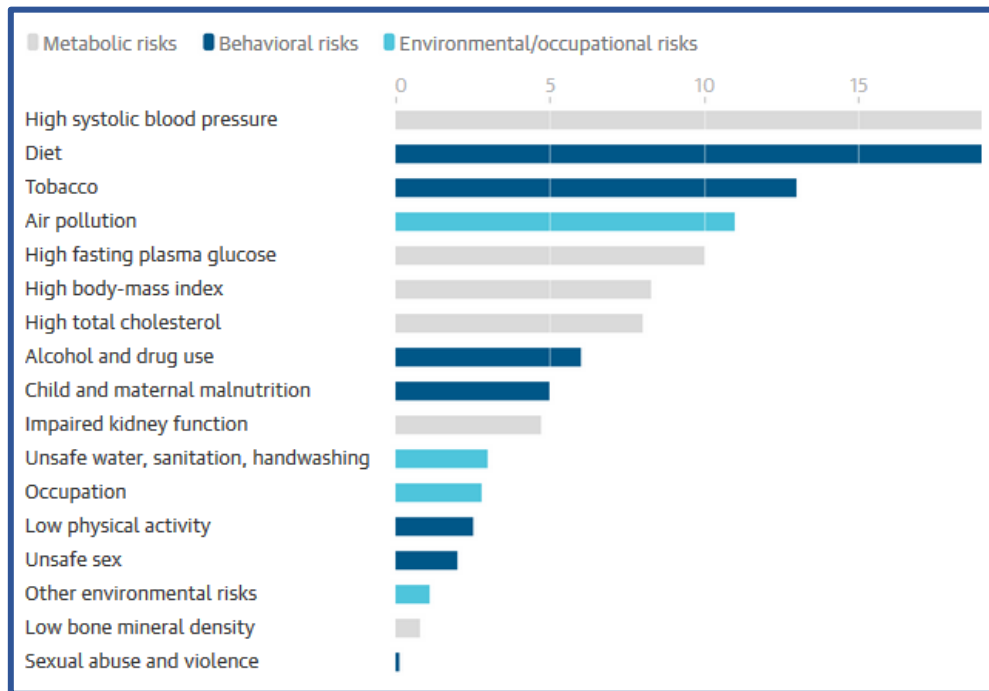
En conclusión, debido a estos cambios en los hábitos alimentarios y el modo de vida, las ENT crónicas son causas cada vez más importantes de discapacidad y muerte prematura en los países tanto en desarrollo como recién desarrollados y suponen una carga importante para los presupuestos sanitarios.

La mala alimentación es responsable de una de cada cinco muertes en todo el mundo, la dieta es el segundo factor de mayor riesgo de muerte prematura, acompañada de otras causas indirectamente relacionadas también con la alimentación: niveles altos de glucosa en la sangre, hipertensión arterial, índice de masa corporal alto (IMC), e hipercolesterolemia (Fig. 1) <sup>3</sup>.

Por lo tanto, la nutrición está pasando al primer plano como un determinante importante de estas enfermedades además de sus consecuencias directas tales como la obesidad, desnutrición o TCA.



Afortunadamente, la conducta alimentaria puede ser modificada, y por ello no cesa de crecer la evidencia científica en apoyo del criterio de que el tipo de dieta tiene una gran influencia, tanto positiva como negativa, en la salud a lo largo de la vida. Por todo ello, la investigación y todos los avances sobre este campo que puedan ayudar a frenar y erradicar este problema, tienen una función crucial en el estado de salud a nivel mundial <sup>2</sup>.

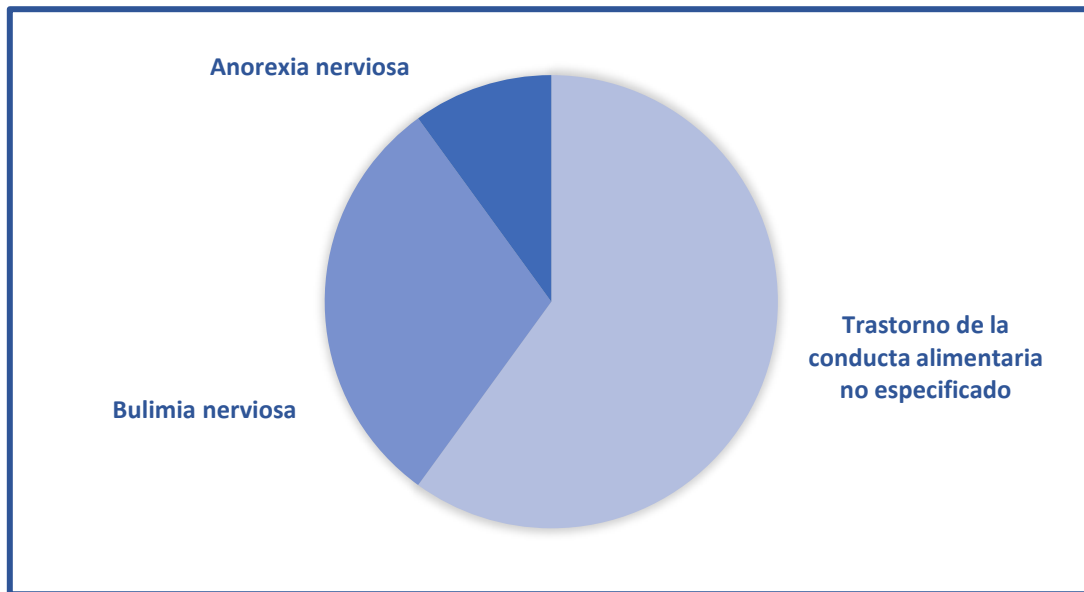


**Figura 1. Representación en porcentaje de las principales causas de muerte a nivel mundial.**  
**Fuente: Institute for Health Metrics and Evaluation (2016).**

### La conducta alimentaria como patología psiquiátrica:

Los Trastornos del Comportamiento Alimentario (TCA) tienen una gran relevancia sociosanitaria por su peculiaridad, su gravedad, su interés social, su complejidad y sus dificultades de diagnóstico y tratamiento. En la actualidad, estos trastornos están constituyendo un auténtico fenómeno social, en todos los sentidos con un incremento de la prevalencia <sup>4</sup>. En consecuencia, se ha producido un importante desarrollo en el estudio e investigación de los TCA en los últimos años que viene determinado en gran medida por la necesidad en la detección precoz, prevención y tratamiento efectivo que permita disminuir la morbimortalidad asociada a estos trastornos que se estima que ronda entre el 6 y el 15% <sup>5,6</sup>.

En la actualidad en la población adulta el diagnóstico más frecuente es el de trastornos de la conducta alimentaria no especificados (TCANE), lo que supone entre 50 y el 60% de los casos, seguido de bulimia nerviosa (BN) con 30% de los casos y anorexia nerviosa (AN) que comprende entre un 10 y 15% de los casos (Fig. 2) <sup>7</sup>.



**Figura 2. Distribución en porcentaje de los trastornos de la conducta alimentaria.**

Los TCA se asocian a altos niveles de comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos, especialmente con los trastornos de ansiedad, los trastornos del control de los impulsos y los trastornos por uso de sustancias. Con relación a la ansiedad, la prevalencia de estos trastornos oscila entre el 25% y el 75% para BN y entre 23% y 75% para AN. En cuanto a los trastornos de la impulsividad, se define un subtipo de BN denominada bulimia multiimpulsiva donde además de aparecer la sintomatología alimentaria típica de estos pacientes existe una tendencia a la inestabilidad afectiva e interpersonal; escasa tolerancia a la frustración; gestos suicidas y abuso de sustancias. Se estima que la prevalencia de comorbilidad entre BN y abuso de sustancias es del 55% y en el caso de la AN de 23%. Existe además una asociación entre la severidad y la gravedad en el curso de la enfermedad con el uso o abuso de sustancias <sup>7</sup>.

	<b>Bulimia nerviosa</b>	<b>Anorexia nerviosa</b>
<b>Ansiedad</b>	25-75%	23-75%
<b>Abuso de sustancias</b>	55%	23%
<b>Impulsividad</b>	Subtipo: BN multiimpulsiva	/

**Tabla 1. Prevalencia de comorbilidades psiquiátricas entre los principales tipos de TCA.**

## Bases neuroendocrinas de la conducta alimentaria:

El control de la conducta alimentaria es el resultado de la interacción de numerosos factores sociales, ambientales, neurobiológicos y neuroendocrinológicos. La importancia de estas interacciones se ve reflejada en la diversidad de las estructuras neuroanatómicas implicadas, que se distribuyen desde la corteza cerebral hasta el troncoencéfalo, así como en la variedad de señales químicas y hormonales necesarias para su adecuado funcionamiento.

Gracias a estudios experimentales en animales y a la observación de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria, se está avanzando significativamente en el conocimiento de la regulación del apetito. Además, investigaciones recientes muestran la compleja interacción entre los mecanismos homeostáticos y hedonistas de la ingesta, compartiendo mecanismos neurobiológicos con las adicciones <sup>8</sup>.

La estructura cerebral fundamental en el control del apetito es el hipotálamo, que contiene numerosos núcleos que ejercen un control homeostático bidireccional de la conducta alimentaria y del metabolismo energético en respuesta a las señales periféricas que reflejan la situación de la absorción de nutrientes y la reserva energética. Las neuronas hipotalámicas con función reguladora de la conducta alimentaria se localizan en el núcleo arcuato (ARC), el núcleo ventromedial (NVM), el núcleo paraventricular (NPV), el núcleo dorsomedial (NDM) y el hipotálamo lateral. Estos núcleos reciben e integran multitud de señales periféricas anorexigénicas (inhibidoras del apetito) y orexigénicas (activadoras del apetito), incluyendo las señales circulantes en sangre (como glucosa o ácidos grasos), hormonas (como leptina o ghrelina) y péptidos gastrointestinales (como neuropéptido Y [NPY] o colecistoquinina) <sup>9</sup>. También es conocida la relevancia de péptidos como el factor liberador de corticotropina (CRF), las orexinas o la insulina (Tabla 2 y 3) <sup>10,11</sup>. Otras estructuras cerebrales, como la ínsula, la corteza orbitofrontal, el núcleo accumbens, la amígdala y las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral tienen también una función clave en el control de la conducta alimentaria y en los aspectos hedonistas de la ingesta (Fig. 3) <sup>8</sup>.

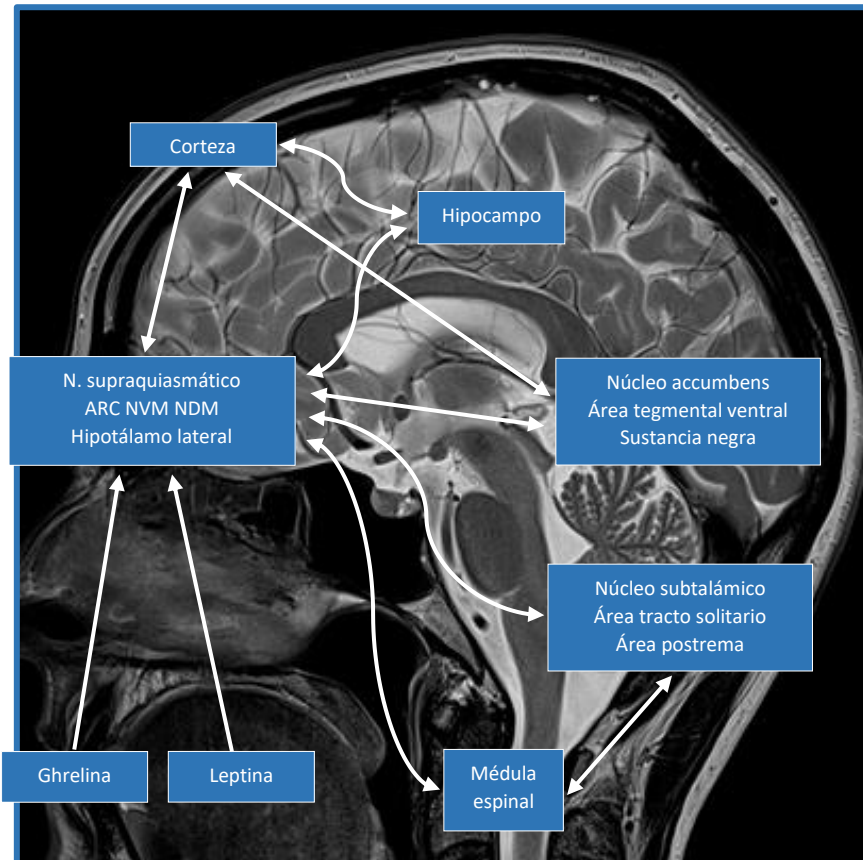
El conocimiento del sistema de regulación de la alimentación nos puede permitir demostrar la complejidad de su naturaleza y considerar la posibilidad de que el origen de las patologías asociadas a las alteraciones de la alimentación, como la obesidad y la anorexia, sea más bien por desequilibrios neurológicos, que por desarreglos metabólicos.

	Incremento de ingesta	Disminución de ingesta
<b>Monoaminas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Noradrenalina</li> <li>Ácido gamma-aminobutírico (GABA)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Serotonina</li> <li>Noradrenalina</li> <li>Dopamina</li> <li>Histamina</li> </ul>
<b>Péptidos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Neuropéptido Y</li> <li>Proteína relacionada con el agouti (AgRP)</li> <li>Galanina</li> <li>Orexinas A y B (hipocretinas 1 y 2)</li> <li>Ghrelin</li> <li>Beta-endorfinas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sistema de melanocortinas (POMC)</li> <li>Transcrito regulado por cocaína y anfetamina (péptido CART)</li> <li>Péptido liberador de prolactina (PrRP)</li> <li>Neurotensina</li> </ul>
<b>Hormonas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hormona concentradora de melanina (MCH)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hormona liberadora de corticotropina (CRH)</li> <li>Proteína estimuladora del <math>\alpha</math>-melanocito (<math>\alpha</math>-MSH)</li> </ul>
<b>Otros compuestos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Endocannabinoides</li> </ul>	

**Tabla 2. Señales moleculares centrales que modifican la ingesta alimentaria.**

	Incremento de ingesta	Disminución de ingesta
<b>Péptidos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ghrelin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Colecistoquinina (CCK)</li> <li>Enterostatina</li> <li>Péptido similar al glucagón (GLP-1)</li> <li>Somatostatina</li> <li>Amilina</li> <li>Péptido liberador de gastrina (GRP)</li> <li>Péptido YY</li> </ul>
<b>Hormonas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hormona tiroidea</li> <li>Glucocorticoides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Leptina</li> <li>Insulina</li> </ul>
<b>Citocinas</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Interleucina 6 (IL-6)</li> <li>Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-<math>\alpha</math>)</li> </ul>
<b>Metabolitos</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Cuerpos cetónicos: aceto-acetato y 3-hidroxibutirato</li> <li>Oleiletanolamida</li> </ul>

**Tabla 3. Señales moleculares periféricas que modifican la ingesta alimentaria.**

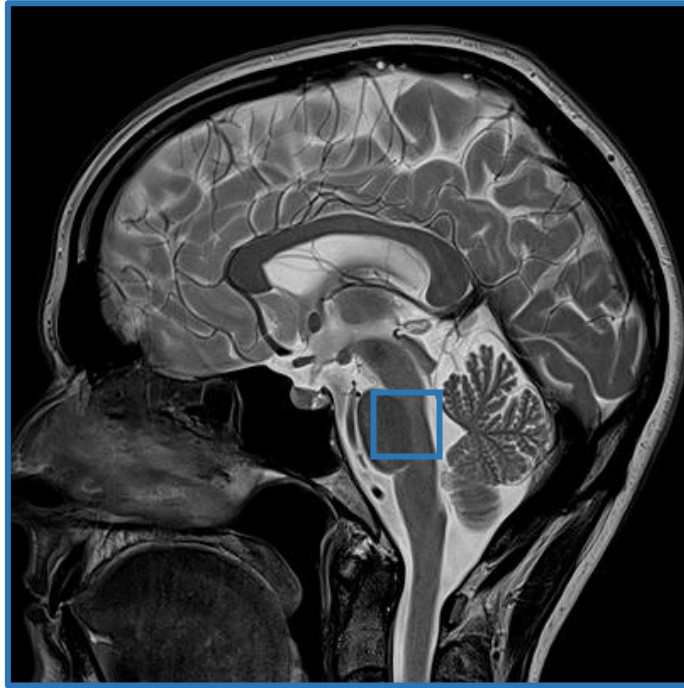


**Figura 3. Esquema de las principales áreas del sistema nervioso central y de las señales periféricas implicadas en la regulación del apetito.**

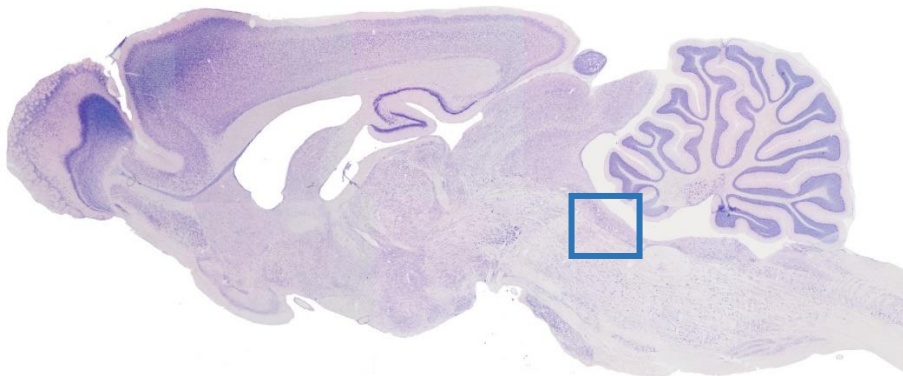
### **El sistema núcleo incertus/relaxina-3/RXFP3:**

El sistema núcleo incertus/relaxina-3/RXFP3, altamente conservado a través de las especies, lleva estudiándose desde hace poco más de una década. Aunque relativamente novedoso, es interesante considerarlo de gran interés científico por sus posibles implicaciones terapéuticas.

El **NÚCLEO INCERTUS** (NI) es un grupo celular situado en la línea media del suelo del cuarto ventrículo, en las regiones centrocaudales de la sustancia gris periacueductal pontina, caudalmente respecto al raphe dorsal y medial respecto al núcleo tegmental dorsal (Figs. 4 y 5). En él, se diferencia una zona paramedial formada por células empaquetadas densamente, la *pars compacta* (NIc), y otra formada por células empaquetadas más dispersamente, la *pars dissipata* (NI<sub>d</sub>)<sup>12</sup>. Las neuronas del NI han sido caracterizadas mediante el uso de técnicas inmunohistoquímicas y citoquímicas. Estas, expresan glutamato descarboxilasa, la enzima necesaria para la síntesis de GABA. La reacción inmunocitoquímica para colecistoquinina marca específicamente las neuronas del NIc, mientras que las neuronas en el NI<sub>d</sub> expresan CCK en menor proporción. Además, el NI<sub>d</sub> contiene gran cantidad de células acetilcolinesterasa positivas<sup>13</sup>.

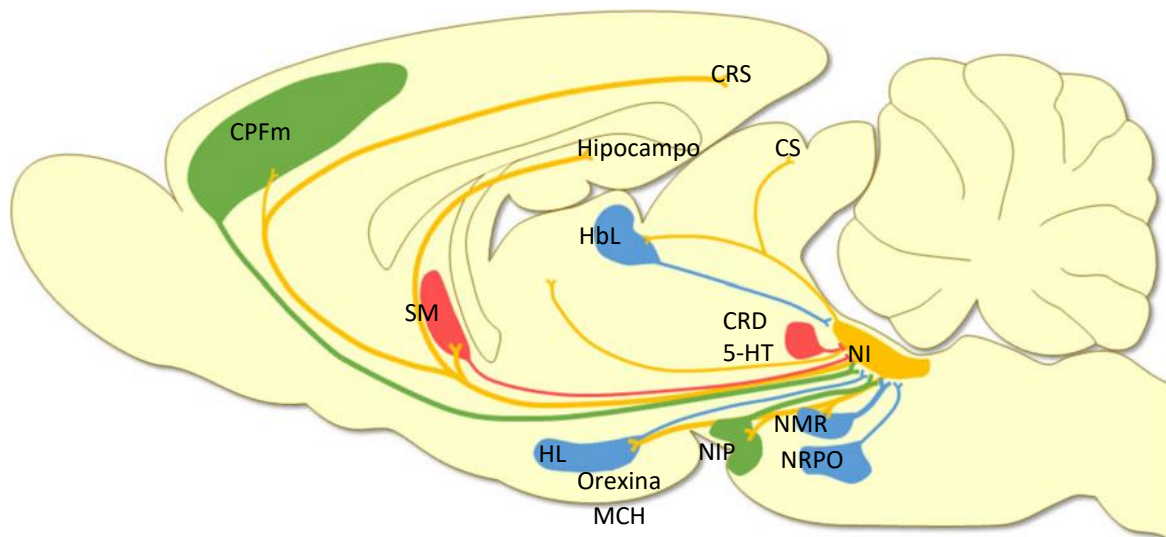


**Figura 4. Representación de la supuesta localización del núcleo incertus en humanos (resonancia magnética).**



**Figura 5. Representación de localización del núcleo incertus en rata (corte histológico cedido por el profesor F. Olucha).**

El NI sirve como un punto clave de regulación para el funcionamiento del circuito neuronal de relaxina-3 (RLN3), y se sugiere que posiblemente ejerza sus acciones a través de las proyecciones que presenta a varias partes del cerebro, incluyendo la corteza prefrontal, el septum medial, el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo y los núcleos del rafe <sup>12</sup>, áreas implicadas en numerosas condiciones psiquiátricas. En la Figura 6 se representan esquemáticamente las principales aferencias y eferencias del NI y en la Tabla 4 se desarrollan más ampliamente <sup>12,13</sup>.



**Figura 6. Representación esquemática de las principales aferencias y eferencias neuronales del núcleo incertus en el cerebro de la ratona:** Las supuestas entradas glutamatergicas están indicadas en **verde**, las entradas inhibitorias en **rojo** y las desconocidas en **azul**; y las principales vías de salida de NI ascendentes evaluadas por estudios de localización del tracto anterógrado están indicadas en **amarillo** <sup>12-14</sup>. 5-HT: 5-hidroxitriptamina, CPFM: Corteza prefrontal medial, CRD: Parte caudal del núcleo del rafe dorsal, CRS: Corteza retrosplenial, CS: Colículo superior, HbL: Habénula lateral HL: Hipotálamo lateral MCH: Hormona concentradora de melanina NI: Nucleo incertus NIP: Núcleo interpeduncular NMR: Núcleo medial del rafe NRPO: Núcleo reticular pontino oral, SM: Septum medial.

**RELAXINA-3** (RLN3), conocida también como INSL-7, es un neuropéptido de 6 kDa, formado por dos enlaces disulfuro que unen sus cadenas A y B y una conexión adicional de la cadena intra-A. Es miembro de la superfamilia de insulina, un grupo de hormonas peptídicas estructuralmente relacionadas. En humanos, se han identificado diez miembros de esta superfamilia, incluyendo insulina, factor de crecimiento insulínico 1 y 2 (IGF-1 e IGF-2), péptido similar a la insulina 3-6 (INSL3, INSL4, INSL5 e INSL6), y relaxina-1, -2 y -3. Entre estos, relaxina-3 es el más recientemente identificado. Fue identificado en 2002 por una investigación del genoma humano basada en el patrón de cisteína de la cadena B de la superfamilia de insulina <sup>15,16</sup>. En general, los péptidos que conforman la superfamilia de insulina desempeñan una variedad de funciones biológicas, como regulación de la reproducción, la ingesta de alimentos, la respuesta al estrés, y homeostasis de la glucosa <sup>17</sup>.

La expresión de RLN3 es altamente específica y abundante en el NI, el cual contiene neuronas que proyectan áreas cerebrales que incluyen los núcleos hipotalámicos implicados en la homeostasis energética <sup>16</sup>, lo cual puede explicar el papel de este sistema en el comportamiento alimentario.

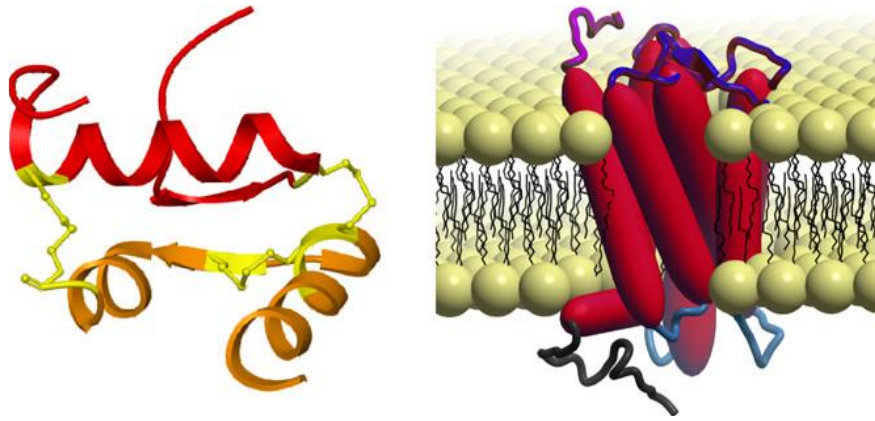
Además, aunque en menor cantidad, un número de neuronas en otras regiones cercanas, como el núcleo del rafe pontino, la sustancia gris periacueductal y la sustancia negra dorsal expresan también RLN3.

AFERENCIAS	EFERENCIAS
Corteza prefrontal medial	Corteza prefrontal
Corteza orbitofrontal	Hipocampo
Núcleo septal medial	Núcleo septal medial
Núcleo de la banda diagonal	Núcleo de la banda diagonal
Núcleo septofimbrial	Amígdala
Habénula lateral	Núcleo del lecho de la estría terminal
Núcleo preóptico ventrolateral	Núcleo talámico mediodorsal
Núcleo supramamilar	Núcleo supraquiasmático
Núcleo parafascicular del tálamo	Área preóptica lateral
Núcleo periacueductal	Hipotálamo lateral y posterior
Núcleo interpeduncular	Núcleo mamilar lateral
Núcleo medial del rafe	Núcleo supramamilar
Núcleo dorsal del rafe	Área tegmental ventral
Núcleo prepósito	Colículo superior
Núcleo incertus contralateral	Núcleo interpeduncular
	Núcleo medial del rafe
	Núcleo tegmental laterodorsal
	Núcleo dorsal del rafe
	Núcleo prepósito
	Núcleo accesorio de la oliva inferior

**Tabla 4. Principales aferencias y eferencias del núcleo incertus (continuación con la página anterior) <sup>12,13</sup>.**

El patrón de distribución de RLN3 se corresponde además con la localización de su receptor correspondiente <sup>18,19</sup>. RLN3 se une con gran afinidad a [RXFP3](#) (Fig. 7), perteneciente a la familia de los receptores peptídicos de la relaxina, el cual ha sido desconsiderado hace unos años de su anterior estado de receptor huérfano <sup>20</sup>. Además, aparte de su receptor principal, también se une a otros dos: LGR7 y GPCR142 <sup>21-23</sup>.





**Figura 7. Esquema de la Relaxina-3 (izquierda) y su receptor afín RXFP3 (derecha) <sup>24</sup>.**

Las neuronas que expresan Relaxin-3 han sido ya localizadas y estudiadas principalmente en la NI en rata <sup>16,19,25</sup>, ratón <sup>15,26</sup> y macaco <sup>27</sup>. En la actualidad, las funciones precisas del NI y la relaxina-3 permanecen aún indeterminadas pero, se han publicado hasta la fecha importantes aportaciones que demuestran el supuesto papel del sistema NI / relaxina-3 / RXFP3 en el estrés <sup>16</sup>, el arousal <sup>26</sup> el ritmo theta hipocampal, la memoria espacial <sup>28,29</sup>, la ansiedad <sup>30</sup>, el consumo de alcohol <sup>18,31</sup> y en el comportamiento alimentario <sup>32-34</sup>, función en la cual nos centraremos en este trabajo y analizaremos posteriormente.

Por último, es interesante saber que otros estudios relativamente recientes, muestran la expresión de *c-Fos* (marcador de actividad neuronal) en el NI en respuesta a tratamientos antipsicóticos agudos en ratas <sup>35</sup> y en polimorfismos en RLN3 humana y RXFP3, asociados con alteraciones metabólicas en pacientes con esquizofrenia tratados con fármacos antipsicóticos <sup>36</sup>.

### **Hipótesis:**

Un estudio bibliográfico estructurado debe evidenciar la relación del sistema RLN3-RXFP3 en la modulación nerviosa de la conducta alimentaria.

### **Objetivos:**

- Desarrollar un estudio de revisión sistemática de la literatura referida al papel del sistema en el control de la conducta alimentaria.
- Desarrollar una selección de los artículos de máxima difusión relacionados con la implicación del sistema en dicha conducta.
- Analizar los modelos experimentales y epidemiológicos que concurren con los criterios de exclusión e inclusión.
- Elaborar propuestas a partir de los artículos analizados.

## - MATERIAL Y MÉTODOS -

Se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos PubMed de artículos publicados desde el año 2000 hasta la actualidad, con el criterio de inclusión común de idioma inglés/español.

Para ello se han usado los descriptores: *nucleus incertus*, *relaxin-3*, *food intake*, *RXFP3*, *feeding* y *orexigenic*. Se llevó a cabo una estrategia de búsqueda mediante la combinación de estos términos, haciendo uso de los operadores booleanos “AND” y “OR”, combinándolos entre sí para poder encontrar la mayor cantidad de artículos relacionados con el tema a tratar. El conector “AND” se empleó para aumentar la sensibilidad y especificidad de la búsqueda, mientras que “OR” fue usado para unir aquellos descriptores con significados similares.

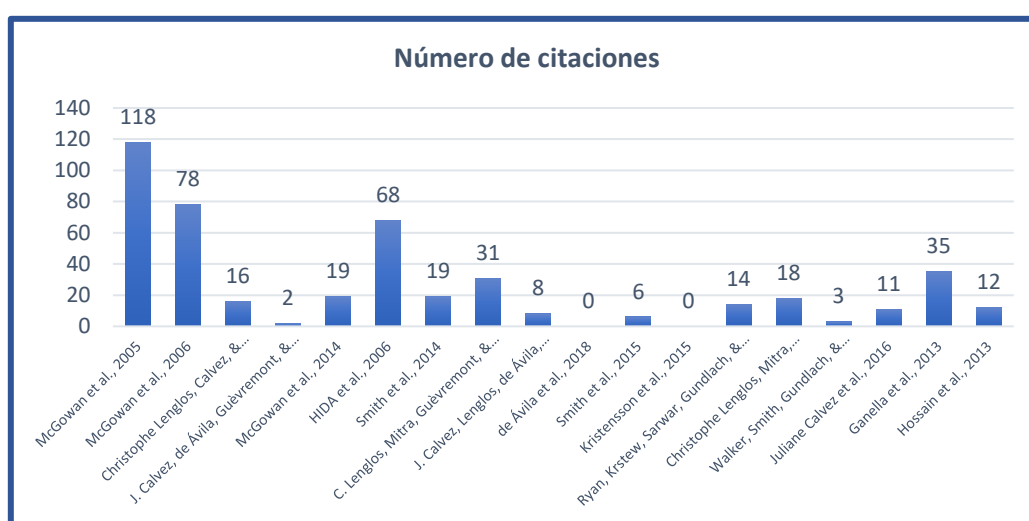
Ecuación de búsqueda	Resultado
“Nucleus incertus”	82
Relaxin-3	207
Nucleus incertus AND food intake	131
Relaxin-3 AND food intake	42
(Nucleus incertus OR relaxin-3 OR RXFP3) AND (feeding OR orexigenic)	169
RXFP3	134
<b>TOTAL</b>	<b>765</b>

**Tabla 5. Criterios de búsqueda bibliográfica.**

Como resultado de la búsqueda en PubMed aplicando los criterios descritos, se obtiene un total de 765 artículos, de los cuales se realiza la exclusión por duplicidad o por ser considerados irrelevantes tras la lectura del *abstract*. Finalmente quedan seleccionados 95 artículos, para su organización los incluimos en Mendeley, un gestor bibliográfico que nos permite crear, mantener, organizar y dar forma a nuestras referencias bibliográficas.

Se hizo una primera lectura de estos artículos para ubicarnos en el tema y considerar los más relevantes, se seleccionaron para la revisión bibliográfica 25, que cumplían el criterio de inclusión de ser estudios experimentales, de estos se realizó una lectura en profundidad, y tras descartar aquellos que no se ajustaban al objetivo de la revisión, finalmente se seleccionan 18. El resto de los artículos no se desecharon, sino que se mantuvieron para emplearse como referencias adicionales en la elaboración del trabajo.

Para la valoración de la calidad de los artículos, en primer lugar, analizamos el número de veces que ha sido citado cada artículo en concreto, mediante el acceso a la base de datos de *Web of Science* (WOS):



**Figura 8. Número de citaciones de los artículos seleccionados.**

A continuación, realizamos la evaluación mediante *Journal Citation Report* (JCR), uno de los indicadores de calidad más conocido y más valorado por los organismos de evaluación de la actividad investigadora, nos aporta el Factor de Impacto de una revista en función de las citas recibidas por los artículos publicados y recogidos en la *Web of Science* (WOS). La ventana de publicación es de dos años retrospectivos, aunque como podemos observar en la Tabla 3, existe un Factor de Impacto con los datos de 5 años atrás. Además, siempre tenemos que valorar el Factor de Impacto dentro del área temática correspondiente de la revista en cuestión, como queda representado en la Tabla 4.

$$\text{Factor de impacto 2014} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ citas en 2014 recibidas por los artículos publicados en 2012 y 2013}}{\text{Total artículos publicados en 2012 + 2013}}$$

**Figura 9. Ejemplo de cálculo del factor de impacto de una revista en el año 2014.**

Referencia	Revista	Total de citaciones	FI de la revista	FI sin autocitas	FI a 5 años	Índice de inmediatez	Ítems citables	Vida media de citas recibidas	Vida media de citas realizadas	Punt. de influencia del artículo	% de artículos en ítems citables	Perc. promedio de JIP
<b>McGowan et al., 2005</b>	Endocrinology	42.558	5,313	4,858	/	1,122	639	7,5	6,1	/	96,40	84,483
<b>McGowan et al., 2006</b>	Regulatory Peptides	4.043	2,442	2,330	/	0,386	101	6,1	7,4	/	97,03	55,449
<b>Lenglos et al., 2015</b>	Endocrinology	42.918	4,159	3,843	4,323	0,973	413	>10	8,5	1,371	97,34	77,820
<b>Calvez et al., 2016</b>	Journal of Neuroendocrinology	5.524	3,470	3,268	3,230	0,709	86	8,3	9,7	0,951	81,40	63,169
<b>McGowan et al., 2014</b>	Journal of Endocrinology	10.380	3,718	3,614	3,896	0,933	178	9,8	8,4	1,148	71,91	66,016
<b>HIDA et al., 2006</b>	Journal of Receptors and Signal Transduction	333	2,000	1,933	/	0,103	39	4,9	6,9	/	94,87	35,556
<b>Smith et al., 2014</b>	Behavioural Brain Research	21.129	3,028	2,792	3,298	0,585	562	6,4	9,1	0,918	97,33	60,125
<b>Lenglos et al., 2013</b>	Genes, Brain and Behavior	3.185	3,505	3,350	3,739	0,706	85	5,2	7,6	1,256	96,47	71,953
<b>Calvez et al., 2015</b>	Genes, Brain and Behavior	3.380	3,275	3,167	3,296	1,034	58	6,2	7,6	1,140	86,21	74,81
<b>de Ávila et al., 2018</b>	Behavioural Brain Research	*No se disponen datos										
<b>Smith et al., 2015</b>	Experimental Physiology	4.780	2,818	2,623	2,991	0,805	133	6,9	9,5	0,997	87,97	64,458
<b>Kristensson et al., 2015</b>	European Journal of Pharmacology	28.996	2,730	2,587	2,749	0,508	732	8,8	8,7	0,668	92,62	64,118
<b>Ryan et al., 2014</b>	Drug and Alcohol Dependence	13.688	3,423	3,090	3,903	0,530	400	6,7	7,4	1,250	95,00	83,431
<b>Lenglos et al., 2014</b>	Neuropeptides	1.730	2,644	2,403	2,226	0,298	47	8,7	>10	0,567	100,0	45,557
<b>Walker, et al., 2015</b>	Genes, Brain and Behavior	3.380	3,275	3,167	3,296	1,034	58	6,2	7,6	1,140	86,21	74,81
<b>Calvez et al., 2016</b>	Neuropharmacology	18.559	5,012	4,777	4,681	1,233	430	5,8	8,9	1,454	89,07	87,030
<b>Ganella et al., 2013</b>	Gene Therapy	8.482	4,196	4,007	3,670	1,110	136	8,2	7,3	1,078	94,12	79,462
<b>Hossain et al., 2013</b>	Amino Acids	6.787	3,653	3,118	3,489	0,816	256	3,7	8,8	0,831	73,83	66,838

**Tabla 6. Referencias obtenidas con los criterios de búsqueda**

Referencia	Número de citas	Revista	Área	Ranking	Cuartil	Percentil del factor impacto
McGowan et al., 2005	118	Endocrinology	Endocrinology & metabolism	12/89	Q1	87,079
McGowan et al., 2006	78	Regulatory Peptides	Endocrinology & metabolism	47/93	Q3	50,000
			Physiology	31/78	Q2	60,897
Lenglos et al., 2015	16	Endocrinology	Endocrinology & metabolism	30/133	Q1	77,820
Calvez et al., 2016	2	Journal of Neuroendocrinology	Neurosciences	89/259	Q2	65,830
			Endocrinology & metabolism	55/138	Q2	60,507
McGowan et al., 2014	19	Journal of Endocrinology	Endocrinology & metabolism	44/128	Q2	66,016
HIDA et al., 2006	68	Journal of Receptors and Signal Transduction	Biochemistry & molecular biology	161/262	Q3	38,740
			Cell biology	106/156	Q3	32,372
Smith et al., 2014	19	Behavioural Brain Research	Neurosciences	115/252	Q2	54,563
			Behavioral sciences	18/51	Q2	65,686
Lenglos, et al, 2013	31	Genes, Brain and Behavior	Neurosciences	93/252	Q2	63,294
			Behavioral sciences	10/49	Q1	80,612
Calvez et al., 2015	8	Genes, Brain and Behavior	Neurosciences	93/256	Q2	63,867
			Behavioral sciences	8/51	Q1	85,294
de Ávila et al., 2018	0	Behavioural Brain Research	*No se disponen datos	.		
Smith et al., 2015	6	Experimental Physiology	Physiology	30/83	Q2	64,458
Kristensson et al., 2015	0	European Journal of Pharmacology	Pharmacology & Pharmacy	92/255	Q2	64,118
Ryan et al., 2014	14	Drug and Alcohol Dependence	Substance abuse	3/18	Q1	86,111
			Psychiatry	41/140	Q2	71,071

Tabla 7. Posiciones de ranking de los artículos seleccionados.

Referencia	Número de citaciones	Revista	Área	Ranking	Cuartil	Percentil del factor impacto
<b>Lenglos et al., 2014</b>	18	Neuropeptides	Neurosciences	142/252	Q3	43,849
			Endocrinology & metabolism	68/128	Q3	47,266
<b>Walker et al., 2015</b>	3	Genes, Brain and Behavior	Neurosciences	93/256	Q2	63,867
			Behavioral sciences	8/51	Q1	85,294
<b>Calvez et al., 2016</b>	11	Neuropharmacology	Neurosciences	44/259	Q1	83,205
			Pharmacology & Pharmacy	24/257	Q1	90,856
<b>Ganella et al., 2013</b>	35	Gene Therapy	Biochemistry & molecular biology	78/291	Q2	73,368
			Biotechnology & applied microbiology	25/165	Q1	85,152
			Genetics & heredity	39/165	Q1	76,667
			Medicine, research & experimental	22/124	Q1	82,661
<b>Hossain et al., 2013</b>	12	Amino Acids	Biochemistry & molecular biology	97/291	Q2	66,838

**Tabla 7 (continuación). Posiciones de ranking de los artículos seleccionados.**

## - RESULTADOS -

Tras la búsqueda bibliográfica, y mediante una lectura exhaustiva, se seleccionaron aquellos artículos que cumplieran con los criterios de inclusión y que resultaron de interés para la realización de este trabajo. En la figura 10 queda representado el proceso de selección de artículos mediante los criterios de inclusión y exclusión. La tabla 8 muestra las principales características de los estudios seleccionados. A continuación de esta, se procederá a desarrollar cada uno de los resultados obtenidos.

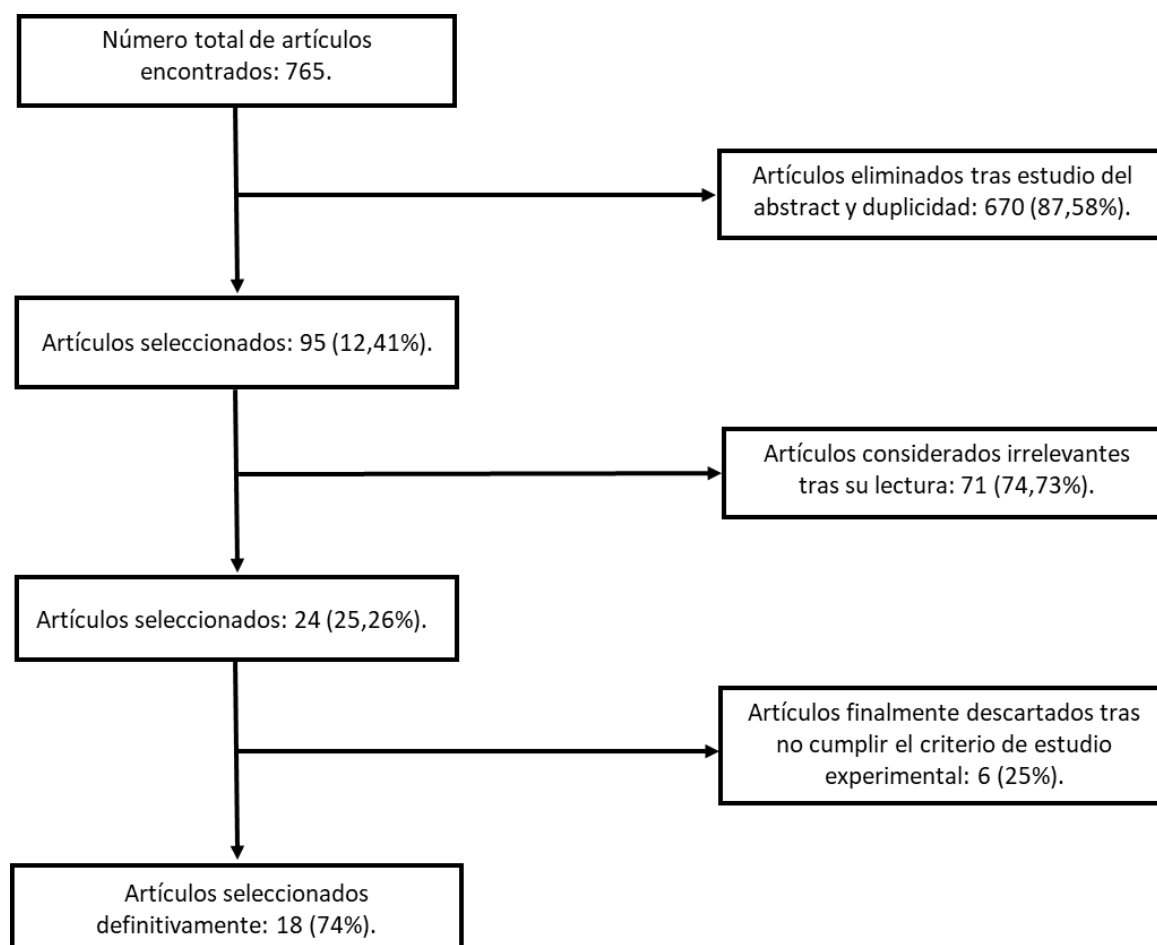


Figura 10. Representación del proceso de búsqueda y selección de artículos.

Referencia	Sustancia administrada	Lugar de administración	Tipo de administración	Especie	Sexo	Efectos observados
McGowan et al., 2005 (33)	H3	ICV (tercer ventrículo) e iNPV	Aguda	Ratas ( <i>Wistar</i> )	M	Aumento significativo de la ingesta de alimentos 1 h después de la administración en la fase de luz y fase oscura temprana.
McGowan et al., 2006 (32)	H3	iNPV	Aguda y repetida	Ratas ( <i>Wistar</i> )	M	Aumento de la ingesta de alimentos, disminuyendo los niveles plasmáticos de TSH, sin alteración del gasto energético.
Lenglos, et al., 2015 (37)	H3	ICV (ventrículo lateral)	Aguda	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M y F	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mayor sensibilidad de ratas hembras a los efectos orexigénicos de RLN3, en comparación con los machos.</li> <li>- Aumento en la expresión de mRNAs de CRF en el núcleo del lecho de la estría terminal en hembras, pero no en machos.</li> <li>- Aumento en la corticosterona plasmática y en la expresión de mRNAs de CRF y <i>c-fos</i> en el núcleo hipotalámico paraventricular parvocelular en machos, pero no hembras.</li> </ul>
Calvez, et al., 2016 (38)	H3	ICV	Crónica	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M y F	Se demuestra una mayor sensibilidad de las hembras respecto a los machos, a los efectos orexigénicos y adipogénicos de la administración crónica de RLN-3 y a los efectos de ésta en la actividad del eje hipotalámico pituitario gonadal (HPG).
McGowan et al., 2014 (39)	H3	ICV (tercer ventrículo) e iNPV	Aguda	Ratas ( <i>Wistar</i> )	M	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumento significativo de la corticosterona plasmática tras la administración ICV e iNPV de H3.</li> <li>- Aumento de la ACTH y prolactina plasmáticas tras la administración iNPV.</li> </ul>
HIDA et al., 2006 (40)	H3	ICV (ventrículo lateral)	Crónica (mediante pequeñas bombas de infusión durante 14 días)	Ratas ( <i>Wistar</i> )	M	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mayor consumo de alimentos y aumento de peso tras la infusión crónica ICV de RLN-3 durante 14 días.</li> <li>- Aumento de leptina e insulina plasmáticas.</li> </ul>
Smith et al., 2014 (41)	Agonistas y antagonistas del receptor RXFP3 [R3(B1-22)R/I5(A) y R3(B1-22)R]	ICV e iNPV	Aguda.	Ratones (C57BL/6J)	M	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de búsqueda y consumo de alimentos tras la administración ICV de antagonistas de RXFP3.</li> <li>- La administración ICV e intra-PVN de agonistas de RXFP3 no son orexigénicos en ratones, a diferencia de las ratas.</li> <li>- La señalización endógena de RLN-3/RXFP3 promueve la excitación.</li> </ul>

**Tabla 8. Principales resultados de las referencias resultantes.**



Referencia	Sustancia administrada	Lugar de administración	Tipo de administración	Especie	Sexo	Efectos observados
Lenglos, et al., 2013 (42)	/	/	/	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M y F	Se comparan ambos sexos ante la situación crónica de estrés y restricción de alimentos, demostrando un aumento de peso en las ratas hembras, pero no en los machos, sumado a una hiperproducción de corticosterona plasmática e hipoproducción de CRF paraventricular, niveles más altos de RNL-3 en el NI y CRF en el área preóptica medial, por parte también de las hembras a diferencia de los machos.
Calvez, et al., 2015 (43)	H3	ICV (ventrículo lateral)	Aguda	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M y F	Se demuestra el efecto de RLN3 con un patrón sexo-dependiente en el consumo de alimentos, no siendo así en el consumo de agua.
de Ávila et al., 2018 (44)	H3 y agonista del receptor RXFP3: RXFP3-A2	ICV (ventrículo lateral)	Tres administraciones con una semana de separación entre ellas.	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El consumo de alimento se incrementa tanto por RLN3 como por RXFP3-A2, pero los efectos orexigénicos de RXFP3-A2 son considerablemente más fuertes que RLN3.</li> <li>- El consumo de agua y los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona aumentan significativamente tras la administración de RLN3, pero no por RXFP3-A2.</li> <li>- RXFP3-A2 disminuye los niveles plasmáticos de oxitocina, pero no RLN3.</li> <li>- RLN3, pero no RXFP3-A2, aumenta los niveles de mRNA <i>c-fos</i> en los núcleos parvocelular, magnocelular, paraventricular y supraóptico, en el área ventral peóptica medial y en el órgano vascular de la lámina terminal.</li> <li>- Inducción de un aumento significativo de la expresión de mRNA <i>c-fos</i> en el área hipotalámico lateral perifornical por RLN3 y RXFP3-A2.</li> </ul>
Smith et al., 2015 (45)	Antagonista del receptor de la RLN-3 (R3(B1-22)R)	ICV (ventrículo lateral derecho)	Agudo	Ratones (C57Bl/6J)	N.E.	Demostración del sistema RLN3-RXFP3, como un potente modulador en la ingesta de sodio, mediante el descenso del consumo de una solución de NaCl.
Kristensson et al., 2015 (46)	Agonista parcial de RXFP3: R3(BΔ23-27)R/I5	ICV (ventrículo lateral)	Agudo	Ratas ( <i>Wistar</i> )	M	Por si sólo, el péptido quimérico R3(BΔ23-27)R/I5, no es capaz de producir efectos como agonista parcial del sistema RLN-3/RXFP3, únicamente es posible si se administra junto a RLN-3.

**Tabla 8 (continuación). Principales resultados de las referencias resultantes.**

Referencia	Sustancia administrada	Lugar de administración	Tipo de administración	Especie	Sexo	Efectos observados
Ryan et al., , 2014 (47)	Suministro crónico <i>ad libitum</i> de etanol y sacarosa.	/	Crónico	Ratas.	M	Aumento de la ingesta de sacarosa y etanol y su correlación con niveles elevados de expresión de RLN-3 en el NI.
Lenglos, et al., 2014 (48)	/	/	/	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> ).	M	Aumento de la expresión de RLN-3 en el NI de ratas DIO y potenciación de los efectos orexigénicos de RLN-3 tras la realimentación después de un período de privación alimentaria, mediante la regulación de la expresión de RXFP3 en las regiones cerebrales específicas implicadas en la regulación de la ingesta de alimentos.
Walker et al., 2015 (49)	/	/	/	Ratones C57BL/6J: wild-type y <i>RXFP3 knockout</i> (C57BL/6J <sup>RXF</sup> <sub>P3TM1/DGen</sub> )	M	- En situaciones de gran esfuerzo, los ratones KO, a diferencia de la camada WT, muestran un comportamiento atenuado respecto a la autoadministración de sacarosa. - Al contrario, respecto a la autoadministración de alcohol, no se muestran diferencias entre ambos tipos de ratones.
Calvez et al., 2016 (50)	Antagonista selectivo del receptor RXFP3: R3(B1-22)R	ICV (ventrículo lateral)	Aguda	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	F	- Aumento en la ingesta de sacarosa en respuesta al estrés mediante un modelo de alimentación compulsiva, efecto que además es prevenido mediante la administración del antagonista del receptor RXFP3. - Se observa una elevada expresión de ARNm de RLN3 en el NI y ARNm de RXFP3 en el NPV y NSO, en las ratas del grupo BEP.
Ganella et al., 2013 (51)	Vector viral (rAAV)	NPV	Crónica	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M	Liberación de un agonista de RLN3 por las células hipotalámicas mediante la administración del vector vírico, que producen agonista en las neuronas hipotalámicas. Tal sobreproducción incrementa la ingesta de alimento y peso corporal en las ratas seleccionadas.
Hossain et al., 2013 (52)	RLN3 sintética de rata/ratón	ICV (ventrículo lateral)	Aguda	Ratas ( <i>Sprague Dawley</i> )	M	Aumento significativo del consumo de alimentos y agua, demostrando así la potente actividad orexigénica de la RLN3 sintética.

Tabla 8 (continuación). Principales resultados de las referencias resultantes.

## Síntesis de los hallazgos más destacables, ordenados cronológicamente:

Tras la administración intracerebroventricular (ICV) e intraparaventricular (iNPV) de Relaxina-3 Humana (H3) en ratas saciadas, en el estudio experimental de **McGowan et al.** (2005)<sup>33</sup>, se demuestra el posterior aumento significativo de la ingesta de alimentos 1 h después de la administración tanto en la fase de luz como en la fase oscura temprana. En este mismo estudio, se sugiere, además, que este efecto es mediado por el receptor GPCR135.

El estudio de **Hida et al.** (2006)<sup>40</sup>, demuestra un mayor consumo de alimentos y aumento de peso en ratas tras la infusión crónica intracerebroventricular de RLN-3 mediante pequeñas bombas de infusión durante 14 días, en comparación frente al grupo control. Se produce además un aumento significativo de leptina e insulina plasmáticas. Tras los hallazgos, en este estudio se proponen los antagonistas de la RLN-3 como agentes candidatos para el tratamiento de la obesidad.

La administración aguda de altas dosis de H3 intraparaventricular, en el estudio de **McGowan et al.** (2006)<sup>32</sup>, demuestra el aumento de la ingesta de alimentos en ratas, aparte, disminuye los niveles plasmáticos de TSH pero no altera el gasto energético. Por otro lado, la administración repetida de H3 iNPV es eficaz durante 7 días y aumenta la ingesta acumulada de alimentos y leptina plasmática, pero no aumenta significativamente el peso corporal. El tratamiento repetido con H3 iNPV además, produce una disminución del TSH plasmático, sin alteración de T3.

Por su parte, **Ganella et al.** (2013)<sup>51</sup>, realizan una modificación génica mediante la administración intraparaventricular de un vector vírico que provoca la liberación de un agonista de RLN3 por las células hipotalámicas, consiguiendo así la modulación crónica del consumo de alimento gracias a la activación de RXFP3 en el hipotálamo (se escoge el núcleo paraventricular del hipotálamo como diana para la administración debido a su conocida alta concentración de RXFP3). Como resultado del estudio, se demuestra un aumento en la ingesta de alimento y peso corporal en las ratas seleccionadas.

**Hossain et al.** (2013)<sup>52</sup>, realizan la síntesis química de un agonista de RLN3 y posteriormente, tras su administración intracerebroventricular, se demuestra su potente actividad orexigénica en ratas, dando lugar a un aumento significativo del consumo de alimentos y agua.

En el experimento de **Lenglos et al.**, (2013)<sup>42</sup>, se estudian las diferencias entre ambos sexos de los efectos de una situación crónica de estrés y la restricción de alimentos en: la alimentación, el peso corporal, los niveles plasmáticos de corticosterona y la expresión del factor liberador de corticotropina (CRF) en el hipotálamo y la RLN-3 en el NI: Se demuestra que estas situaciones producen un aumento de peso en las ratas hembras pero no en los machos, las hembras además, muestran una hiperproducción de corticosterona plasmática e hipoproducción de CRF paraventricular. A parte, las hembras expresan niveles más altos de RLN-3 en el NI y CRF en el área preóptica medial. Tras la comprobación del desequilibrio en la menor producción del neuropéptido anorexigénico CRF en el

núcleo hipotalámico paraventricular y una mayor producción de RNL-3 orexigénica en el NI se sugiere, que esto podría favorecer la sobrealimentación y el aumento de peso en ratas hembras sometidas a estrés y restricción alimentaria.

Tras la administración intracerebroventricular e intraparaventricular de H3, **McGowan et al.** (2014)<sup>39</sup> en su estudio, demuestran el aumento significativo de la corticosterona plasmática. Además de un aumento de la ACTH y prolactina plasmáticas tras la administración intraparaventricular. Se sugiere por lo tanto que RLN-3 puede actuar como una señal central que vincule el estado nutricional, la función reproductora y el estrés.

**Smith et al.** (2014)<sup>41</sup> realizan un estudio experimental en ratones, empleando esta vez agonistas y antagonistas del receptor RXFP3 [R3(B1-22)R/I5(A) y R3(B1-22)R], en el cual demuestran que la administración intracerebroventricular del antagonista reduce la búsqueda y el consumo de alimentos, mientras que la administración intracerebroventricular e intraparaventricular del agonista no produce efectos orexigénicos en ratones, a diferencia de las ratas. Además, con este estudio, se refuerza la hipótesis de que la señalización endógena de RLN-3/RXFP3 promueve la excitación.

Creando una situación de suministro crónico *ad libitum* de etanol y sacarosa, **Ryan et al.**, (2014)<sup>47</sup> demuestran la correlación de niveles elevados de expresión de RLN-3 en el NI con un aumento en la ingesta de ambas sustancias en ratas.

En el estudio de **Lenglos et al.**, (2014)<sup>48</sup>, se mantienen ratas en una dieta alta en grasas, de ellas una parte desarrolla obesidad (*Diet-Induced Obesity*, DIO) mientras que otras, a pesar de estar sometidas a la misma dieta, no la desarrollan (*Diet Resistant*, DR). En las ratas DIO se evidencia, respecto a las ratas DR, un aumento de la expresión de RLN-3 en la región medial del NI, y se muestra además que tras la realimentación después de un período de deprivación alimentaria se potencian los efectos orexigénicos de RLN-3 mediante la regulación de la expresión de RXFP3 en las regiones cerebrales específicas implicadas en la regulación de la ingesta de alimentos.

**Lenglos et al.**, (2015)<sup>37</sup>, demuestran una mayor sensibilidad de las ratas hembras a los efectos orexigénicos de RLN3 mediante su administración aguda intracerebroventricular, observándose un aumento de la ingesta de alimentos y del peso corporal en hembras, pero no en machos. Además, se produce un aumento en la expresión de mRNAs de CRF en el núcleo de la estría terminal en hembras, pero no en machos. Por otra parte, se observa un aumento significativo en la corticosterona plasmática y en la expresión de mRNAs de CRF y c-fos en el núcleo hipotalámico paraventricular parvocelular en machos, pero no hembras.

**Calvez et al.**, (2015)<sup>43</sup> estudian qué núcleos hipotalámicos y neuropéptidos asociados pueden estar involucrados en los efectos orexigénicos sexo-específicos de RLN-3. Tras la inyección de RNL-3 en el ventrículo lateral de ratas hembras y machos, se comprueba que en el consumo de alimento sí se mostraron efectos de RLN3 con un patrón sexo-dependiente, pero no fue así en el consumo de agua.

En este estudio, se sugiere que la mayor expresión de arginina vasopresina anorexígena en el núcleo paraventricular de los machos y un aumento de la expresión de orexina en el área hipotalámica lateral en hembras pueden contribuir a los efectos orexigénicos mayores de RLN3 en las hembras en comparación con los machos.

**Smith et al.** (2015) <sup>45</sup>, comprueban el descenso del consumo de una solución de NaCl tras la administración del antagonista del receptor RXFP3 (R3(B1-22)R) en ratones. Se demuestra, por lo tanto, que el sistema RLN3-RXFP3, es un potente modulador en la ingesta de sodio.

**Kristensson et al.** (2015) <sup>46</sup>, comprueban la función del péptido quimérico R3(BΔ23–27)R/15 como agonista parcial del sistema RLN-3/RXFP3 mediante su administración intracerebroventricular aguda en ratas. Y, en comparación con anteriores estudios donde se estudia su administración junto a RLN-3, se deduce que por sí sólo no es capaz de producir efectos, únicamente es posible si se administra junto a RLN-3.

**Walker, et al.,** (2015) <sup>49</sup>, realizan un estudio con ratones C57BL/6J: *wild-type* y *RXFP3 knockout* (C57BL/6J<sup>RXFP3<sup>TM1</sup>/D<sup>Gen</sup></sup>), donde se investiga el efecto de la delección del gen RXFP3 en el comportamiento de búsqueda de alcohol y sacarosa: Se demuestra que, en situaciones de gran esfuerzo, los ratones *knockout* (KO), a diferencia de la camada *wild-type* (WT), muestran un comportamiento atenuado respecto a la autoadministración de sacarosa. Sin embargo, no ocurre así en la autoadministración de alcohol, donde no se muestran diferencias entre ambos tipos de ratones.

**Calvez et al.** (2016) <sup>50</sup> desarrollan un modelo de alimentación compulsiva en ratas hembras jóvenes dependiente del estrés. En este modelo demuestran un aumento significativo en la ingesta de sacarosa en respuesta al estrés. En el grupo de ratas BEP (*binge eating prone: propensas a comer compulsivamente*) se observa una elevada expresión de ARNm de RLN3 en el NI y ARNm de RXFP3 en el núcleo paraventricular y núcleo supraóptico. Por otra parte, el aumento del consumo de sacarosa inducido por estrés en ratas BEP es prevenido mediante la administración intracerebroventricular aguda del antagonista selectivo del receptor RXFP3: R3(B1-22)R, lo cual sugiere la implicación del sistema RLN3/RXFP3 en el comportamiento de consumo alimentario compulsivo en situaciones de estrés.

**Calvez et al.,** (2016) <sup>38</sup> demuestran una mayor sensibilidad de las hembras respecto a los machos, a los efectos orexigénicos y adipogénicos de la administración crónica de RLN-3 y efectos de ésta en la actividad del eje HPG. Se observa la estimulación del eje HPG en ratas macho que recibieron infusión crónica de RLN3. Por otro lado, las ratas hembra mostraron inhibición del eje HPG. Además, los efectos específicos del sexo de RLN-3 sobre la ingesta de alimentos, la adiposidad y el peso corporal en ratas esterilizadas sugieren que los efectos metabólicos específicos del sexo de RLN-3 no dependen de los efectos diferenciales de RLN-3 sobre la actividad del eje HPG en ratas macho y hembra.

Los mecanismos neuronales diferenciales y la sensibilidad a RLN-3 en ratas macho y hembra pueden estar implicados en los efectos metabólicos y gonadotróficos específicos del sexo de RLN-3.

En el estudio de **de Ávila et al.** (2018)<sup>44</sup>, se comparan los efectos de la administración intracerebroventricular de cantidades equimolares de RLN3 y el agonista selectivo de RXFP3 (RXFP3-A2) en la ingesta de alimento y de agua, en los niveles plasmáticos de corticosterona, testosterona y oxitocina, y en la expresión de mRNA *c-fos* en regiones hipotalámicas clave.

Los hallazgos son los siguientes:

- El consumo de alimento se incrementa tanto por RLN3 como por RXFP3-A2, pero los efectos orexigénicos de RXFP3-A2 son considerablemente más fuertes que RLN3.
- El consumo de agua y los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona aumentan significativamente tras la administración de RLN3, pero no por RXFP3-A2.
- Contrariamente, RXFP3-A2 disminuye los niveles plasmáticos de oxitocina, pero no RLN3.
- RLN3, pero no RXFP3-A2, aumenta los niveles de mRNA *c-fos* en los núcleos parvocelular, magnocelular del núcleo paraventricular y supraóptico, en el área ventral peóptica medial y en el órgano vascular de la lámina terminal.
- Además, se induce un aumento significativo de la expresión del mRNA de *c-fos* en el área hipotalámica lateral perifornical por RLN3 y RXFP3-A2.

## - DISCUSIÓN -

Con este trabajo de revisión bibliográfica se pretende analizar el papel del sistema NI/RLN3/RXFP3 en la modulación de la conducta alimentaria. Los estudios analizados muestran que, efectivamente el sistema juega un papel central en la modulación nerviosa de la ingesta alimentaria de consecuencias relevantes en las alteraciones de la salud derivados de una inapropiada ingesta.

En la sociedad actual, los problemas de salud relacionados directa o indirectamente con la alimentación (obesidad, diabetes, TCA, etc.), suponen una epidemia a nivel mundial, siendo un factor de peso respecto a tasas de morbilidad y mortalidad. El conocimiento del sustrato neurobiológico de la alimentación nos permite demostrar la complejidad de su naturaleza, y considerar la posibilidad de que el origen de las patologías asociadas a las alteraciones de la alimentación sean por desequilibrios neurológicos además de por desarreglos metabólicos.

En la actualidad, disponemos de medidas que ayudan a disminuir las consecuencias que esta situación produce: ejemplos como los hipolipomiantes, antidiabéticos, cirugía bariátrica o tratamientos psiquiátricos en TCA, han supuesto un gran avance en este terreno, pero no serían necesarios si se pudiese actuar antes de que aparezca el problema, en el origen primario de estas patologías: el control de la conducta alimentaria.

Conociendo la prevalencia de las numerosas y dispares patologías actuales relacionadas con la alimentación y sabiendo el peso que tienen en el estado de salud poblacional, se pueden prever los beneficios que supondría esto en el ámbito sociosanitario y económico. En el mundo desarrollado se emplea un importante gasto económico en tratamientos dirigidos a paliar las consecuencias de una incorrecta alimentación (en su mayoría por exceso de grasa), como pueden ser la hipercolesterolemia o la diabetes, se trata de enfermedades crónicas que precisan medicación diaria de por vida, suponiendo esto un claro interés y beneficio para el mercado farmacéutico. Mientras que, en el otro extremo, en el mundo subdesarrollado la desnutrición causada por la pobreza y falta de apoyo económico por parte de los países del primer mundo es la gran protagonista en causas de morbimortalidad. Por todo ello, debemos tener presente que la investigación y todos los avances sobre este campo que puedan ayudar a frenar y erradicar este problema, tienen una función crucial en el estado de salud a nivel mundial. Sumado a que, en una situación de recursos limitados, es necesario establecer prioridades con un orden lógico y justificable.

Partiendo de las bases neuroanatómicas y fisiológicas de la conducta alimentaria, así como las sustancias endógenas y exógenas con efectos orexigénicos y anorexigénicos, hay numerosas aportaciones en la literatura científica que tienen como objetivo encontrar dianas terapéuticas frente

a este problema. El descubrimiento del sistema NI/RLN3/RXFP3 ha supuesto una esperanzadora posible diana terapéutica en patologías como la obesidad o la anorexia nerviosa.

Hasta la fecha, se conocen numerosas funciones del sistema NI / RLN3, como su papel en el estrés <sup>16</sup>, el arousal <sup>26</sup> el ritmo theta hipocampal, la memoria espacial <sup>28,29</sup>, la ansiedad <sup>30</sup>, el consumo de alcohol <sup>18,31</sup> y en el comportamiento alimentario <sup>32-34</sup>, función en la que se centra la realización de esta revisión bibliográfica. Para ello, buscamos resolver la cuestión definida, basándonos en la literatura científica y, tras un análisis y estudio exhaustivo llegamos a conseguir justificar el objetivo planteado al comienzo de este trabajo.

En la presente revisión se han evaluado un total de 18 estudios experimentales, todos ellos realizados en roedores, entre el año 2005 y 2018 en distintos países. Se observaron y analizaron los efectos de RLN3 en el patrón de consumo de alimento, así como las alteraciones producidas en el sistema NI/RLN3/RXFP3 frente a distintas situaciones. Respecto a la calidad de los artículos, la mayoría se sitúan por encima del cuartil 2 en el campo correspondiente teniendo en cuenta el factor de impacto. Respecto al número de citas de cada artículo, se observa mucha variedad, con una media de 25,44, teniendo en cuenta que se trata de un tema relativamente reciente, y que el más antiguo de los artículos incluidos es del año 2005. Hay que tener presente que relaxina-3 se descubre en 2002 <sup>16</sup> y su receptor en 2003 <sup>22</sup>.

Tras el estudio de la administración aguda intracerebroventricular <sup>33,37,39,43</sup> e intraparaventricular <sup>32,33,39</sup> de H3, se produce un aumento significativo de la ingesta de alimentos y, en consecuencia, de peso corporal. H3 también causa una disminución de los niveles plasmáticos de TSH, sin alteración del gasto energético <sup>32</sup>, un aumento de corticosterona plasmática, y en el caso de la administración intraparaventricular, un aumento también de la ACTH y prolactina plasmáticas. Lo que sugiere, por lo tanto, que RLN3 puede actuar como una señal central que vincule el estado nutricional, la función reproductora y el estrés <sup>39</sup>. Efectos similares se observan tras la administración crónica de H3 <sup>38,40,44</sup>, además de un aumento de leptina e insulina plasmáticas <sup>40</sup>. Por otra parte, Hossain et al., 2013, realizan la síntesis química de RLN3 y demuestran la actividad orexigénica equivalente a H3, dando lugar a un aumento significativo del consumo de alimentos y agua <sup>44</sup>. La obtención de moléculas agonistas y antagonistas específicas de RLN-3 ha supuesto un notable avance en este campo y la mayor parte de los artículos analizados utilizan esta aproximación experimental.

La actividad orexigénica de la RLN3 también se estudia mediante mecanismos afectados por agonistas y antagonistas del receptor de RLN3, RXFP3: En la comparación de los efectos de RLN3 y el agonista selectivo de RXFP3 (RXFP-A2), el consumo de alimento se incrementa por ambos, pero los efectos orexigénicos de RXFP3-A2 son considerablemente más fuertes que RLN3. Hay que tener en cuenta que



RXFP3-A2 es agonista específico de RXFP3 mientras que RLN3 activa también RXFP1 a altas dosis <sup>52</sup>. Por otra parte, el consumo de agua y los niveles plasmáticos de corticosterona y testosterona aumentan significativamente tras la administración de RLN3, pero no por el agonista. Contrariamente, el agonista disminuye los niveles plasmáticos de oxitocina, pero no RLN3 <sup>44</sup>.

Además, RLN3, pero no RXFP3-A2, aumenta los niveles de mRNA c-fos en la parte parvocelular y magnocelular del núcleo paraventricular y el núcleo supraóptico, en el área ventral preóptica medial y en el órgano vascular de la lámina terminal. También, se induce un significativo aumento de la expresión de mRNA c-fos en el área hipotalámico lateral perifornical por RLN3 y RXFP3-A2<sup>44</sup>. Por todo esto sabemos que la RLN3 y el agonista de su receptor afín, no producen efectos idénticos, y esto es algo a tener presente cuando se proponen los agonistas de RXFP3 como dianas terapéuticas en humanos, partiendo de que la mayoría de los experimentos están realizados con H3.

Por otro lado, Smith et al., 2015, demuestran el sistema RLN3-RXFP3 como un potente modulador en la ingesta de sodio, mediante la administración de antagonista del receptor de la RLN-3 (R3(B1-22)R) <sup>45</sup>, por lo tanto el sistema es también regulador de la ingesta de sales de lo cual el equilibrio hídrico debe ser considerado.

También en un estudio en el que se incluyen ratas DIO (diet-induced obesity), se evidencia un aumento de la expresión de RLN-3 en la región medial del NI, y se muestra además que tras la realimentación después de un período de privación alimentaria se potencian los efectos orexigénicos de RLN-3 mediante la regulación de la expresión de RXFP3 en las regiones cerebrales específicas implicadas en la regulación de la ingesta de alimentos <sup>48</sup>.

El efecto orexigénico por parte de este sistema, también ha sido estudiado mediante la administración intraparaventricular de un vector vírico, provocando la liberación de un agonista de RLN3 por las células hipotalámicas, consiguiendo así la modulación crónica del consumo de alimento gracias a la activación de RXFP3 en el hipotálamo, y en consecuencia un aumento en la ingesta de alimento y peso corporal en las ratas seleccionadas <sup>51</sup>. Este hecho abre también la posibilidad de un tratamiento futuro mediante terapia génica en la producción y liberación de factores que regulan la conducta alimentaria desde los propios sistemas biológicos hipotalámicos.

A la hora de plantearnos este sistema como futura diana terapéutica debemos tener presente varias limitaciones. En primer lugar, se han encontrado diferencias en los efectos observados entre especies, en este caso entre ratas y ratones. Se ha demostrado que la administración ICV del antagonista del receptor de RLN3 reduce la búsqueda y el consumo de alimentos en ambas especies, mientras que la administración ICV e INPV del agonista no produce efectos orexigénicos en ratones, a diferencia de las

ratas <sup>41</sup>. Por ello no podemos asegurarnos de que los resultados en estos experimentos sean extrapolables a humanos.

Otra limitación a tener en cuenta en la aplicabilidad de estos hallazgos en la práctica clínica son las diferencias entre sexos, demostrándose una mayor sensibilidad de las ratas hembras a los efectos orexigénicos y adipogénicos de RLN3 y a los efectos de ésta en la actividad del eje HPG, en comparación con los machos<sup>37,38</sup>. Sumado a un aumento en la expresión de mRNAs de CRF en el núcleo del lecho de la estría terminal en hembras, pero no en machos. Y por otro lado, un aumento significativo en la corticosterona plasmática y en la expresión de mRNAs de CRF y c-fos en el núcleo hipotalámico paraventricular parvocelular en machos, pero no hembras <sup>37</sup>. Por otro lado, no se muestra un patrón sexo-dependiente del efecto de RLN3 en el consumo de agua <sup>43</sup>.

La alimentación compulsiva, causante del subtipo más frecuente de TCA en la población, el trastorno por atracón, está influenciado por las situaciones estresantes <sup>53</sup>. En este contexto, se ha demostrado la implicación del sistema NI/RLN3/RXFP3 en la ingesta compulsiva mediada por estrés, demostrado por el aumento en la ingesta de sacarosa en respuesta a esta situación en ratas hembra, mediante un modelo de alimentación compulsiva. Efecto que además es prevenido mediante la administración del antagonista del receptor RXFP3, lo cual sugiere la implicación del sistema NI/RLN3/RXFP3 en el comportamiento de consumo alimentario compulsivo en situaciones de estrés <sup>50</sup>, y con ello su posible consideración como diana terapéutica en este trastorno. Este efecto también ha sido comparado entre ambos sexos, mediante la situación crónica de estrés y restricción de alimentos, demostrándose un aumento de peso en las ratas hembras, pero no en los machos, sumado a una hiperproducción de corticosterona plasmática e hipoproducción de CRF paraventricular, niveles más altos de RLN3 en el NI y CRF en el área preóptica medial, por parte también de las hembras a diferencia de los machos <sup>42</sup>.

La ingesta compulsiva, se basa en un patrón neurofisiológico comparable al consumo de sustancias adictivas, mediante la alteración en la neurotransmisión de dopamina y opioides en el sistema de recompensa cerebral <sup>54</sup>, lo cual puede estar relacionado con la comorbilidad demostrada entre TCA y conductas adictivas <sup>7</sup>. Ha sido estudiada la implicación del sistema NI/RLN3 en esta relación, demostrándose la correlación de niveles elevados de expresión de RLN3 en el NI con un aumento del consumo de etanol y sacarosa en ratas, bajo un suministro ad libitum <sup>47</sup>.

En contrapartida, en un estudio con ratones wild-type y RXFP3 knockout (C57BL/6JRXFP3TM1/DGen) <sup>49</sup>, donde se investiga el efecto de la delección del gen RXFP3 en el comportamiento de búsqueda de alcohol y sacarosa. Se demuestra que, en situaciones de gran esfuerzo, los ratones KO, a diferencia de la camada WT, muestran un comportamiento atenuado

respecto a la autoadministración de sacarosa. Sin embargo, no ocurre así en la autoadministración de alcohol, donde no se muestran diferencias entre ambos tipos de ratones.

Otra limitación a la aplicabilidad de estos hallazgos en la práctica clínica es que existen muy pocos estudios en humanos. Aún así, se ha visto una correlación entre los síndromes metabólicos (incluida la obesidad) inducidos por el tratamiento con antipsicóticos y la presencia de polimorfismos en las regiones reguladoras de la expresión tanto de RLN3 como de RXFP3 <sup>36</sup>. Como ya se ha comentado, también debemos tener en cuenta las diferencias entre sexos, lo que lleva a considerar que el enfoque terapéutico deberá ser distinto entre hombres y mujeres. Por otro lado, aunque se ha estudiado la variación de los resultados entre sexos y especies, aún no se ha hecho entre distintos rangos de edad.

## - CONCLUSIÓN -

De este modo, partiendo de que el mecanismo clave del control de la ingesta lo constituye la integración de las señales de las hormonas periféricas con la función del hipocampo y de las áreas que controlan los aspectos más cognitivos y hedonistas de la alimentación. Un mejor conocimiento de los mecanismos de la ingesta, así como del gasto energético y de los sistemas neuroendocrinológicos implicados, nos permitirá tratar enfermedades devastadoras como la anorexia nerviosa o la obesidad, uno de los trastornos más prevalentes tanto en el mundo desarrollado como en los países en desarrollo. Tras el estudio y análisis de la literatura científica, podemos concluir que el sistema NI / relaxina-3 representa un importante papel en la modulación de la conducta alimentaria. Aun así, queda mucho por delante, la investigación futura en esta línea podría llegar al desarrollo de fármacos que modulasen la conducta alimentaria, actuando sobre este sistema de regulación, estableciendo así un nuevo enfoque terapéutico frente a los trastornos relacionados.

## - REFERENCIAS -

1. OMS | 10 datos sobre la obesidad. WHO. 2017. <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>. Accessed April 27, 2018.
2. Mundial De La O, Ginebra S. OMS, Serie de Informes Técnicos 916 DIETA, NUTRICIÓN Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES CRÓNICAS. <http://www.fao.org/3/a-ac911s.pdf>. Accessed May 3, 2018.
3. GBD 2016 Risk Factors Collaborators E, Afshin A, Abajobir AA, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet (London, England)*. 2017;390(10100):1345-1422. doi:10.1016/S0140-6736(17)32366-8
4. MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. INSTITUTO NACIONAL DE LA SALUD. Trastornos del comportamiento alimentario Criterios de ordenación de recursos y actividades. [http://www.ingesa.mssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Trastorno\\_alimentario.pdf](http://www.ingesa.mssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Trastorno_alimentario.pdf). Accessed May 4, 2018.
5. Lahortiga-Ramos F, De Irala-Estévez J, Cano-Prous A, Gual-García P, Martínez-González MÁ, Cervera-Enguix S. Incidence of eating disorders in Navarra (Spain). *Eur Psychiatry*. 2005;20(2):179-185. doi:10.1016/j.eurpsy.2004.07.008
6. Herzog DB, Greenwood DN, Dorer DJ, et al. Mortality in eating disorders: a descriptive study. *Int J Eat Disord*. 2000;28(1):20-26. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10800010>. Accessed May 5, 2018.
7. Varela-Casal P, Maldonado MJ, Ferre F. Study of the clinical profiles of patients with eating disorders in specific units. *Actas Esp Psiquiatr*. 2011;3939(11):12-912. <http://www.actasespanolasdepsiquiatria.es/repositorio/13/69/ESP/13-69-ESP-12-19-187522.pdf>. Accessed May 4, 2018.
8. Palma J-A, Iriarte J. Regulación del apetito: bases neuroendocrinas e implicaciones clínicas. *Med Clin (Barc)*. 2012;139(2):70-75. doi:10.1016/j.medcli.2011.11.024
9. Meister B. Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiol Behav*. 2007;92(1-2):263-271. doi:10.1016/j.physbeh.2007.05.021

10. Seeley RJ, Woods SC. Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(11):901-909. doi:10.1038/nrn1245
11. Elvira M, Hita G, Gabriela K, Macias A, Sánchez S, Resumen E. Regulación neuroendocrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético. <http://www.medigraphic.com/pdfs/invsal/isg-2006/isg063i.pdf>. Accessed May 11, 2018.
12. Goto M, Swanson LW, Canteras NS. Connections of the nucleus incertus. *J Comp Neurol*. 2001;438(1):86-122. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11503154>. Accessed February 9, 2018.
13. Olucha-Bordonau FE, Teruel V, Barcia-González J, Ruiz-Torner A, Valverde-Navarro AA, Martínez-Soriano F. Cytoarchitecture and efferent projections of the nucleus incertus of the rat. *J Comp Neurol*. 2003;464(1):62-97. doi:10.1002/cne.10774
14. Ma S, Gundlach AL. Ascending Control of Arousal and Motivation: Role of Nucleus Incertus and its Peptide Neuromodulators in Behavioural Responses to Stress. *J Neuroendocrinol*. 2015;27(6):457-467. doi:10.1111/jne.12259
15. Bathgate RAD, Samuel CS, Burazin TCD, et al. Human Relaxin Gene 3 ( H3 ) and the Equivalent Mouse Relaxin ( M3 ) Gene. *J Biol Chem*. 2002;277(2):1148-1157. doi:10.1074/jbc.M107882200
16. Burazin TCD, Bathgate RAD, Macris M, Layfield S, Gundlach AL, Tregear GW. Restricted, but abundant, expression of the novel rat gene-3 (R3) relaxin in the dorsal tegmental region of brain. *J Neurochem*. 2002;82(6):1553-1557. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12354304>. Accessed May 11, 2018.
17. Wang J-H, Shao X-X, Hu M-J, et al. A novel BRET-based binding assay for interaction studies of relaxin family peptide receptor 3 with its ligands. *Amino Acids*. 2017;49(5):895-903. doi:10.1007/s00726-017-2387-4
18. Shirahase T, Aoki M, Watanabe R, Watanabe Y, Tanaka M. Increased alcohol consumption in relaxin-3 deficient male mice. *Neurosci Lett*. 2016;612:155-160. doi:10.1016/j.neulet.2015.12.014
19. Tanaka M, Iijima N, Miyamoto Y, et al. Neurons expressing relaxin 3/INSL 7 in the nucleus incertus respond to stress. *Eur J Neurosci*. 2005;21(6):1659-1670. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.03980.x
20. van der Westhuizen ET, Halls ML, Samuel CS, et al. Relaxin family peptide receptors – from orphans to therapeutic targets. *Drug Discov Today*. 2008;13(15-16):640-651.

doi:10.1016/j.drudis.2008.04.002

21. Liu C, Chen J, Sutton S, et al. Identification of relaxin-3/INSL7 as a ligand for GPCR142. *J Biol Chem.* 2003;278(50):50765-50770. doi:10.1074/jbc.M308996200
22. Liu C, Eriste E, Sutton S, et al. Identification of relaxin-3/INSL7 as an endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPCR135. *J Biol Chem.* 2003;278(50):50754-50764. doi:10.1074/jbc.M308995200
23. Sudo S, Kumagai J, Nishi S, et al. H3 relaxin is a specific ligand for LGR7 and activates the receptor by interacting with both the ectodomain and the exoloop 2. *J Biol Chem.* 2003;278(10):7855-7862. doi:10.1074/jbc.M212457200
24. Smith CM, Ryan PJ, Hosken IT, Ma S, Gundlach AL. Relaxin-3 systems in the brain—The first 10 years. *J Chem Neuroanat.* 2011;42(4):262-275. doi:10.1016/j.jchemneu.2011.05.013
25. Ma S, Bonaventure P, Ferraro T, et al. Relaxin-3 in GABA projection neurons of nucleus incertus suggests widespread influence on forebrain circuits via G-protein-coupled receptor-135 in the rat. *Neuroscience.* 2007;144(1):165-190. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.08.072
26. Smith CM, Shen P-J, Banerjee A, et al. Distribution of relaxin-3 and RXFP3 within arousal, stress, affective, and cognitive circuits of mouse brain. *J Comp Neurol.* 2010;518(19):4016-4045. doi:10.1002/cne.22442
27. Ma S, Sang Q, Lanciego JL, Gundlach AL. Localization of relaxin-3 in brain of *Macaca fascicularis* : Identification of a nucleus incertus in primate. *J Comp Neurol.* 2009;517(6):856-872. doi:10.1002/cne.22197
28. Ma S, Olucha-Bordonau FE, Hossain MA, et al. Modulation of hippocampal theta oscillations and spatial memory by relaxin-3 neurons of the nucleus incertus. *Learn Mem.* 2009;16(11):730-742. doi:10.1101/lm.1438109
29. Nategh M, Nikseresht S, Khodaghali F, Motamedi F. Nucleus incertus inactivation impairs spatial learning and memory in rats. *Physiol Behav.* 2015;139:112-120. doi:10.1016/j.physbeh.2014.11.014
30. Watanabe Y, Tsujimura A, Takao K, et al. Relaxin-3-Deficient Mice Showed Slight Alteration in Anxiety-Related Behavior. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:50. doi:10.3389/fnbeh.2011.00050
31. Kastman HE, Blasiak A, Walker L, et al. Nucleus incertus Orexin 2 receptors mediate alcohol seeking in rats. *Neuropharmacology.* 2016;110(Pt A):82-91. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.07.006

32. McGowan BM, Stanley SA, Smith KL, et al. Effects of acute and chronic relaxin-3 on food intake and energy expenditure in rats. *Regul Pept.* 2006;136(1-3):72-77. doi:10.1016/j.regpep.2006.04.009
33. McGowan BMC, Stanley SA, Smith KL, et al. Central Relaxin-3 Administration Causes Hyperphagia in Male Wistar Rats. *Endocrinology.* 2005;146(8):3295-3300. doi:10.1210/en.2004-1532
34. Ganella DE, Ryan PJ, Bathgate RAD, Gundlach AL. Increased feeding and body weight gain in rats after acute and chronic activation of RXFP3 by relaxin-3 and receptor-selective peptides. *Behav Pharmacol.* 2012;23(5 and 6):516-525. doi:10.1097/FBP.0b013e3283576999
35. Rajkumar R, See LKY, Dawe GS. Acute antipsychotic treatments induce distinct c-Fos expression patterns in appetite-related neuronal structures of the rat brain. *Brain Res.* 2013;1508:34-43. doi:10.1016/j.brainres.2013.02.050
36. Munro J, Skrobot O, Sanyoura M, et al. Relaxin polymorphisms associated with metabolic disturbance in patients treated with antipsychotics. *J Psychopharmacol.* 2012;26(3):374-379. doi:10.1177/0269881111408965
37. Lenglos C, Calvez J, Timofeeva E. Sex-Specific Effects of Relaxin-3 on Food Intake and Brain Expression of Corticotropin-Releasing Factor in Rats. *Endocrinology.* 2015;156(2):523-533. doi:10.1210/en.2014-1743
38. Calvez J, de Ávila C, Guèvremont G, Timofeeva E. Sex-Specific Effects of Chronic Administration of Relaxin-3 on Food Intake, Body Weight and the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Rats. *J Neuroendocrinol.* 2016;28(12). doi:10.1111/jne.12439
39. McGowan BM, Minnion JS, Murphy KG, et al. Relaxin-3 stimulates the neuro-endocrine stress axis via corticotrophin-releasing hormone. *J Endocrinol.* 2014;221(2):337-346. doi:10.1530/JOE-13-0603
40. HIDA T, TAKAHASHI E, SHIKATA K, et al. Chronic Intracerebroventricular Administration of Relaxin-3 Increases Body Weight in Rats. *J Recept Signal Transduct.* 2006;26(3):147-158. doi:10.1080/10799890600623373
41. Smith CM, Chua BE, Zhang C, et al. Central injection of relaxin-3 receptor (RXFP3) antagonist peptides reduces motivated food seeking and consumption in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res.* 2014;268:117-126. doi:10.1016/j.bbr.2014.03.037
42. Lenglos C, Mitra A, Guèvremont G, Timofeeva E. Sex differences in the effects of chronic stress

- and food restriction on body weight gain and brain expression of CRF and relaxin-3 in rats. *Genes, Brain Behav.* 2013;12(4):370-387. doi:10.1111/gbb.12028
43. Calvez J, Lenglos C, de Ávila C, Guèvremont G, Timofeeva E. Differential effects of central administration of relaxin-3 on food intake and hypothalamic neuropeptides in male and female rats. *Genes, Brain Behav.* 2015;14(7):550-563. doi:10.1111/gbb.12236
  44. de Ávila C, Chometton S, Lenglos C, Calvez J, Gundlach AL, Timofeeva E. Differential effects of relaxin-3 and a selective relaxin-3 receptor agonist on food and water intake and hypothalamic neuronal activity in rats. *Behav Brain Res.* 2018;336:135-144. doi:10.1016/j.bbr.2017.08.044
  45. Smith CM, Walker LL, Chua BE, et al. Involvement of central relaxin-3 signalling in sodium (salt) appetite. *Exp Physiol.* 2015;100(9):1064-1072. doi:10.1113/EP085349
  46. Kristensson L, Mayer G, Ploj K, et al. Partial agonist activity of R3(BΔ23–27)R/I5 at RXFP3 – Investigation of in vivo and in vitro pharmacology. *Eur J Pharmacol.* 2015;747:123-131. doi:10.1016/j.ejphar.2014.11.041
  47. Ryan PJ, Krstew EV, Sarwar M, Gundlach AL, Lawrence AJ. Relaxin-3 mRNA levels in nucleus incertus correlate with alcohol and sucrose intake in rats. *Drug Alcohol Depend.* 2014;140:8-16. doi:10.1016/j.drugalcdep.2014.04.017
  48. Lenglos C, Mitra A, Guèvremont G, Timofeeva E. Regulation of expression of relaxin-3 and its receptor RXFP3 in the brain of diet-induced obese rats. *Neuropeptides.* 2014;48(3):119-132. doi:10.1016/j.npep.2014.02.002
  49. Walker AW, Smith CM, Gundlach AL, Lawrence AJ. Relaxin-3 receptor ( *Rxfp3* ) gene deletion reduces operant sucrose- but not alcohol-responding in mice. *Genes, Brain Behav.* 2015;14(8):625-634. doi:10.1111/gbb.12239
  50. Calvez J, de Ávila C, Matte L-O, Guèvremont G, Gundlach AL, Timofeeva E. Role of relaxin-3/RXFP3 system in stress-induced binge-like eating in female rats. *Neuropharmacology.* 2016;102:207-215. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.11.014
  51. Ganella DE, Callander GE, Ma S, Bye CR, Gundlach AL, Bathgate RAD. Modulation of feeding by chronic rAAV expression of a relaxin-3 peptide agonist in rat hypothalamus. *Gene Ther.* 2013;20(7):703-716. doi:10.1038/gt.2012.83
  52. Hossain MA, Smith CM, Ryan PJ, et al. Chemical synthesis and orexigenic activity of rat/mouse relaxin-3. *Amino Acids.* 2013;44(6):1529-1536. doi:10.1007/s00726-013-1478-0
  53. Piccoli L, Micioni Di Bonaventura MV, Cifani C, et al. Role of Orexin-1 Receptor Mechanisms on



Compulsive Food Consumption in a Model of Binge Eating in Female Rats.  
*Neuropsychopharmacology*. 2012;37(9):1999-2011. doi:10.1038/npp.2012.48

54. Kelley AE, Bakshi VP, Fleming S, Holahan MR. A pharmacological analysis of the substrates underlying conditioned feeding induced by repeated opioid stimulation of the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23(4):455-467. doi:10.1016/S0893-133X(00)00117-2