

La reducción de los niveles de dopamina no altera la conducta de «atracción de comida» en ratones, pero la cafeína modula el consumo en función de los niveles de ansiedad

RÉGULO OLIVARES
al266243@uji.es

NOEMÍ SAN MIGUEL
nsanmigu@uji.es

JOSÉ MANUEL PÉREZ-GARCÍA
al225841@uji.es

JOAN CAMAÑES
al239830@uji.es

MERCÈ CORREA
correa@uji.es

Resumen

Introducción: La conducta de «atracción» consiste en consumir, en un período breve de tiempo, más cantidad de alimentos del que se consumiría normalmente en situaciones similares y en un plazo de tiempo igual. Es una conducta desadaptativa caracterizada por episodios compulsivos y que va acompañada por la sensación subjetiva de pérdida de control. **Método:** Con el objetivo de evaluar la implicación de los sistemas dopaminérgico y adenosinérgico en la conducta de atracción, y averiguar si el patrón de acceso a la comida dulce modifica los niveles de consumo compulsivo, se compararon dos grupos de animales con diferentes condiciones de acceso a *pellets* de comida dulce (50 % de sucrosa): condición de acceso diario y condición de acceso intermitente (lunes, miércoles y viernes). Los animales tenían una hora de acceso a un número ilimitado de *pellets*. El resto del tiempo, tuvieron acceso a comida estándar. A cada grupo se le administraron dos manipulaciones farmacológicas: tetrabenazina (inhibidor del transportador vesicular 2 de monoaminas que produce una reducción de los niveles de dopamina) y cafeína (antagonista de los receptores A1/A2A de adenosina). **Resultados:** Ambos regímenes de acceso a comida dulce produjeron un patrón de atracción. El peso de los animales de ambos grupos incrementó de igual manera. El consumo de comida estándar fue ligeramente superior en el grupo intermitente y el de comida dulce fue ligeramente mayor en aquellos que la consumían a diario. La depleción dopaminérgica, incluso a dosis altas, no produjo cambios en el consumo dulce, ni en condiciones familiares ni en situaciones ansiogénicas. Sin embargo, la cafeína a dosis altas incrementó el consumo de comida dulce en condiciones familiares y la redujo en condiciones ansiogénicas. **Conclusiones:** El sistema dopaminérgico no pare-

ce implicado en el atracón bajo condiciones que no requieren esfuerzo en la búsqueda de comida. El antagonismo adenosinérgico, sin embargo, ejerce una modulación bidireccional dependiendo de los niveles de ansiedad.

Palabras clave: atracón, cafeína, tetrabenazina, obesidad, dopamina, adenosina.

Abstract

Introduction: Binge eating is a maladaptative behavior characterized by the consumption of more food in a brief period of time, than would normally be consumed under similar conditions and within a similar period of time. It is accompanied by compulsive episodes and a sensation of loss of control. **Method:** To investigate the involvement of dopamine and adenosine systems in binge eating behavior, and assess the influence of different patterns of access to sweet food on levels of binge eating, we compared two groups of animals with different access conditions to sweet food pellets (50 % sucrose): daily access group and intermittent access group (Monday, Wednesday and Friday). Mice had an hour of unlimited access to sweet pellets. The rest of the day they had free access to standard food pellets in the home cage. Each group received two pharmacological conditions: tetrabenazine (a dopamine depletor) and caffeine (an adenosine receptor antagonist). **Results:** Both groups of access to sweet food produced a pattern of binge eating. Mice body weight increased independently of the access pattern. Standard food consumption was higher in the intermittent group, but among the daily group, sweet pellets consumption was higher than among the intermittent group. Dopamine depletion, even at high doses, produced no changes in the amount of sweet food consumed, neither under familiar conditions nor under anxiogenic conditions. However, high doses of caffeine increased consumption of sweet pellets under familiar conditions and it reduced consumption under anxiogenic conditions. **Conclusions:** The dopaminergic system does not seem to be involved in binge eating when getting access to food does not require effort. However, adenosine antagonism has a bidirectional modulation depending on anxiety levels.

Keywords: Binge eating, caffeine, tetrabenazine, obesity, dopamine, adenosine.

Introducción

El consumo excesivo de alimentos, en especial los que contienen un alto contenido calórico, constituye un problema creciente en las sociedades occidentales donde la obesidad es un problema de salud que está en aumento (Corwin, Avena, y Boggiano, 2011). El estudio de los mecanismos etiológicos y el desarrollo de tratamientos para la obesidad se han convertido en un tema de estudio en auge. Uno de los patrones conductuales que puede contribuir a la obesidad es el consumo compulsivo de comida, que en muchas ocasiones es comida rica en calorías. Esta conducta alimentaria desajustada se conoce con el término inglés *Binge Eating* o *atracón*, y se refiere a episodios compulsivos caracterizados por la sensación subjetiva de pérdida de control, que consisten en el consumo de una mayor cantidad de alimentos en un breve período de tiempo, del que se consumirían normalmente en condiciones similares y en un plazo de tiempo similar (American Psychiatric Association, 2000). Esta conducta se convier-

te en problemática cuando se produce con frecuencia, es decir, varias veces a la semana durante meses o años (American Psychiatric Association, 2000).

Aunque uno de los factores que contribuyen a la obesidad es el atracón, se ha observado que tener una conducta alimentaria no homeostática, puede ocurrir independientemente de la obesidad, dependiendo ésta de otros muchos factores. A pesar de no existir una relación de causa-efecto entre la conducta de atracón y la obesidad, existe comorbilidad entre ambas, hasta el punto de que se estima que, alrededor del 35 % de las personas que realizan la conducta de atracón de forma regular son obesos (Hudson, Hiripi, Pope, y Kessler, 2007; Stunkard y Wadden, 1992; Swanson, Crow, Le Grange, Swendsen, y Merikangas, 2011). Por otro lado, el riesgo de recuperación del peso después de un tratamiento es mayor en las personas que previamente mantenían conductas de atracón que en otros tipos de obesos (Hudson y cols., 2007; Stunkard y Wadden, 1992; Swanson y cols., 2011). Además, se estima que el 76 % de los adultos y el 85 % de los adolescentes que llevan a cabo el atracón de forma regular presentan comorbilidades psicológicas que complican el tratamiento, como depresión y ansiedad (Corwin y cols. 2011).

Muchos estudios experimentales que abordan los mecanismos neurobiológicos que sustentan estos patrones de consumo de atracón, han utilizado dietas con un alto contenido en grasa o sucrosa y por ello con un alto grado de palatabilidad para inducir la sobrealimentación y la obesidad en roedores. Estos estudios relacionan los patrones de acceso intermitentes a este tipo de alimentos, con el establecimiento de este patrón de atracón (Wojnicki, Babbs, y Corwin, 2010). Estos estudios relacionan la activación del sistema dopaminérgico con la sensación de satisfacción inmediatamente posterior a la realización de una conducta placentera, como puede ser el caso de un atracón de comida, lo que atribuye un componente hedónico a la dopamina (DA) (Wojnicki y cols. 2010). Sin embargo, existen muchas evidencias en contra de la implicación de la DA en la regulación de los componentes emocionales de las conductas motivadas (Berridge, 2009; Salamone y Correa, 2012).

En el presente grupo de experimentos, utilizando el modelo animal, estudiamos si las diferencias en el acceso a la comida dulce inducen diferencias en el patrón de consumo y si este produce diferencias en la evolución del peso corporal. Además evaluamos si la DA está implicada en la regulación de este consumo una vez haya sido establecido. Por otro lado, estudiaremos el impacto del bloqueo de los receptores de adenosina mediante cafeína en estos patrones. La cafeína parece inducir el consumo de ciertos reforzadores, en especial se ha estudiado su papel en el incremento del consumo de alcohol (Kunin, Gaskin, Rogan, Smith, y Amit, 2000). Finalmente, compararemos el consumo de alimentos bajo condiciones familiares con el consumo de alimentos bajo condiciones ansiógenas y en qué manera las manipulaciones dopaminérgicas y de los receptores de adenosina pueda contribuir a modular el consumo en esas condiciones.

Métodos

Sujetos

Los experimentos se llevaron a cabo con ratones macho Swiss CD1 (con un peso de 33,5-40,8 gramos al inicio del experimento) procedentes de Janvier (Francia). Los ratones fueron estabulados en grupos de tres animales por caja con comida de laboratorio estándar y agua disponible ad libitum. La temperatura de la colonia se mantuvo a 22 ± 1 °C con el periodo de luz de 8h a 20h. Todos los procedimientos experimentales cumplían con la European Community Council directive (86/609/ECC) para el uso de animales de laboratorio con el *Gui-*

delines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research (National Research Council, 2003).

Fármacos

Todas las drogas fueron administradas intraperitonealmente (IP). La cafeína (1,3,7- trimethylxanthine) (Sigma-Aldrich, SA, Spain) fue disuelta en solución salina (0.9 % w/v) y se administró 30 minutos antes del test. La tetrabenazina (TBZ) (Cymit Quimica, SL, Spain) fue disuelta en DMSO 20 % y se administró dos horas antes del test.

Procedimiento conductual

Para el experimento de Binge Eating bajo condiciones de familiaridad (no ansiógena) se utilizaron cajas de alojamiento similares a las cajas de estabulación. Se dividió la muestra en dos grupos de animales con distintas condiciones de acceso a *pellets* de comida dulce (45 mg de peso con un contenido de 50 % de sucrosa) durante 60 minutos. Un grupo tuvo acceso diario (de lunes a viernes) y el otro grupo tuvo acceso intermitente (lunes, miércoles y viernes). El experimento de Binge Eating bajo condiciones no ansiógenas se llevó a cabo de 17h a 18h (tres horas antes del inicio del período de oscuridad). Los sujetos permanecieron durante 6 semanas bajo estas condiciones de acceso. Cuando la línea base de ingesta fue estable, y dos semanas antes de comenzar la fase de test, los animales fueron habituados a la inyección salina una vez a la semana. Durante la fase de test, se dividió a cada grupo en dos subgrupos en función del fármaco a administrar: cafeína o tetrabenazina. Esta fase tuvo una duración de cinco o seis semanas dependiendo de las dosis a administrar.

Tras finalizar la fase de test del procedimiento anterior, se realizó el experimento de Binge Eating bajo condiciones ansiógenas. Este experimento se llevó a cabo de 15.30h a 18. h. Este paradigma está basado en el conflicto producido entre la tendencia innata de los ratones a explorar nuevos espacios contra la evitación de lugares abiertos e iluminados (Blumstein, L. y Crawley, J. (1983). La caja de luz/oscuridad está compuesta de dos compartimentos: uno cerrado y oscuro, y otro iluminado. En este experimento se colocaron *pellets* de comida dulce en el compartimento iluminado y se registró el número de *pellets* consumidos durante 15 minutos.

Resultados

Experimento 1. Evolución del peso corporal, consumo de comida estándar y consumo de comida dulce en dos grupos de acceso a comida dulce

El ANOVA de medidas repetidas mostró un incremento del peso corporal de los animales entre el primer y el último día de test en ambos grupos [$F(1,1)=164,1$ $p<0,06$] ($p<0,01$ en ambos casos) (figura 1). No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos.

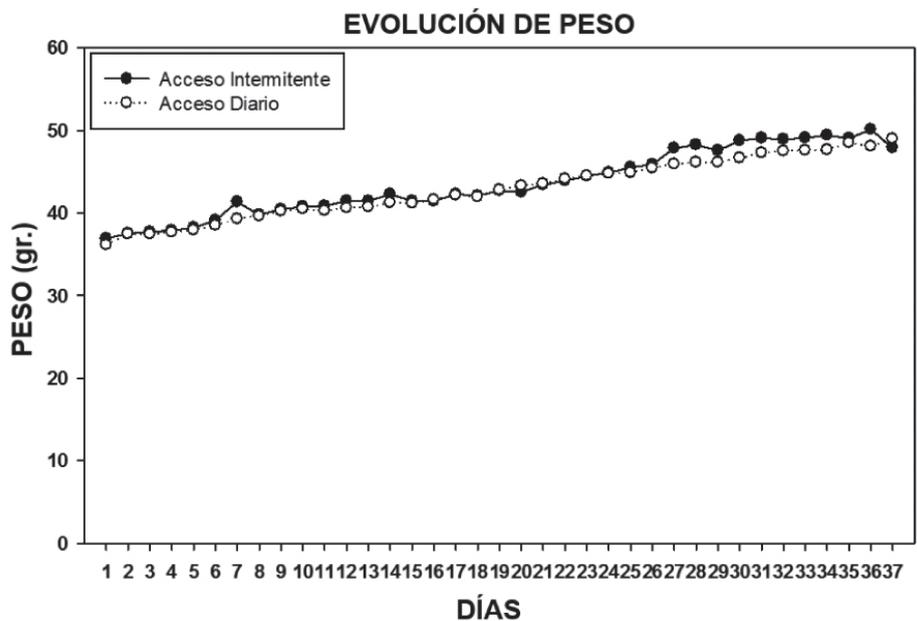


Figura 1. Evolución del peso corporal de los sujetos comparando los grupos de acceso intermitente y acceso diario. Media del grupo en gramos y error estándar

El ANOVA de medidas repetidas indicó un incremento del consumo de comida estándar entre el primer y el último día de test en ambos grupos [$F(1,1)=39,70$, n.s.] (figura 2). No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos.

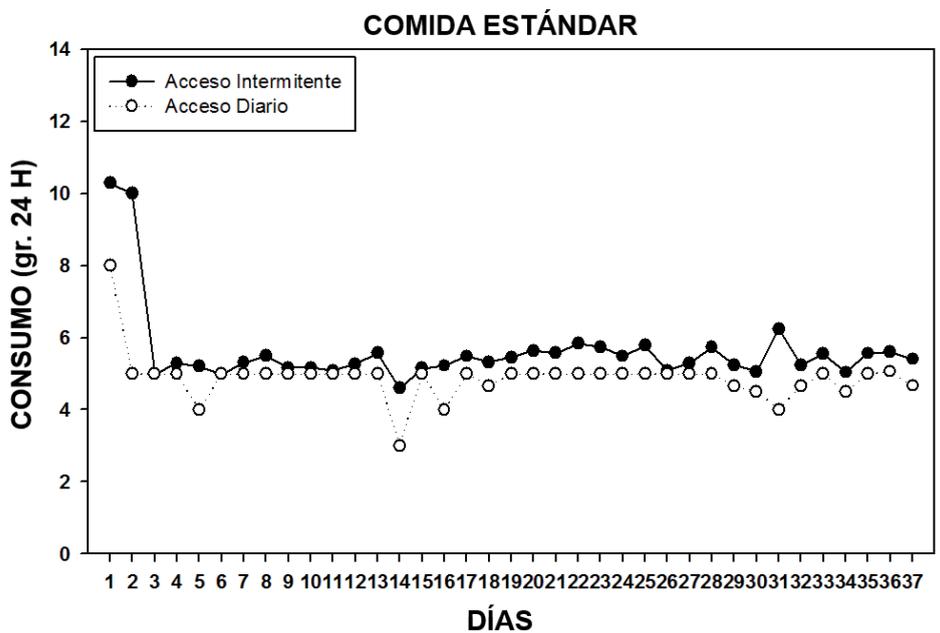


Figura 2. Consumo de comida estándar en gramos durante 24 horas

El ANOVA de medidas repetidas demostró un incremento en el consumo de comida dulce entre el primer y el último día de test en ambos grupos [F(1,1)=110,67, $p<0.05$] (Figura 3). No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos.

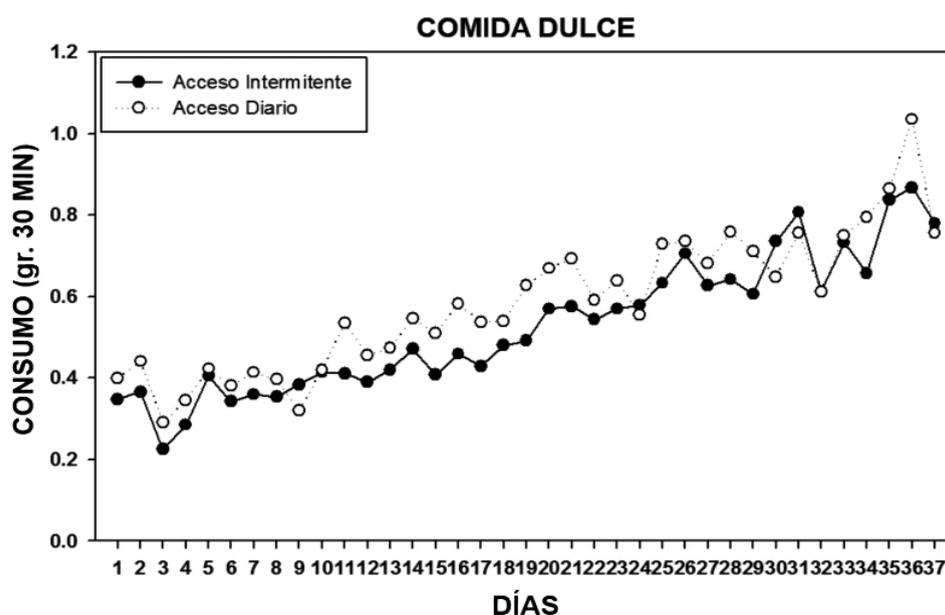
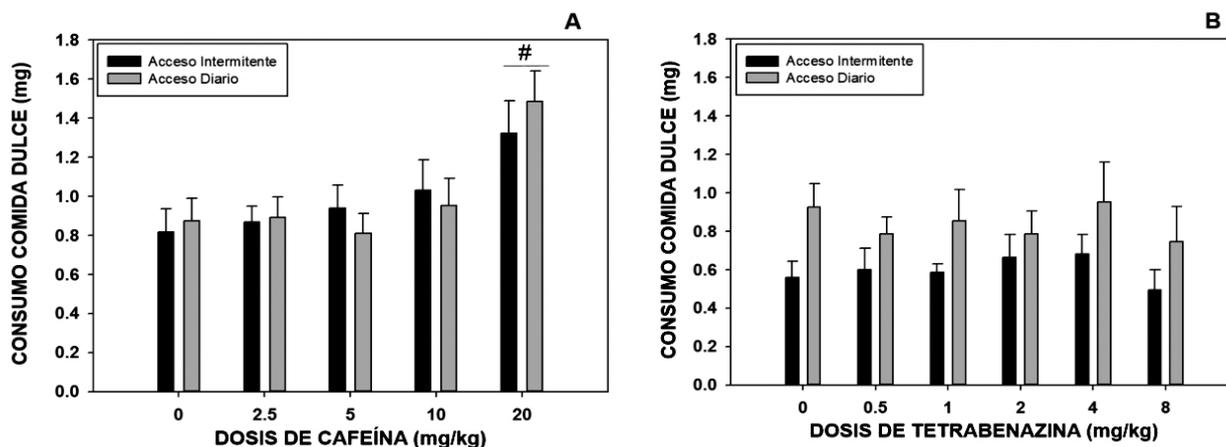


Figura 3. Consumo de comida dulce en gramos durante sesiones de 30 minutos

Experimento 2. Efecto de la tetrabenazina y de la cafeína en el consumo de comida dulce en condiciones habituales

El ANOVA factorial (dosis de cafeína x acceso a comida dulce) reveló un efecto significativo del factor dosis de cafeína [F(4,56)=9,92, $p<0,01$], pero no de la condición de acceso [F(1,14)=0,00, n.s.]. La interacción entre condición y dosis no fue significativa [F(4,56)=0,66 n.s.] (figura 4). Tomando únicamente el factor dosis de cafeína, la comparación *post hoc* mediante la prueba LSD de Fisher mostró que la dosis más alta de cafeína incrementó el número de *pellets* de comida dulce en condiciones habituales independientemente de la condición de acceso ($p<0,01$).

El ANOVA factorial (dosis de tetrabenazina x acceso a comida dulce) no fue significativo; ni en el caso del factor dosis de tetrabenazina [F(5,60)=1,27, n.s.], ni en la condición de acceso [F(1,12)=2,74, n.s.], ni en la interacción [F(5,60)=0,53, n.s.] (figura 4).

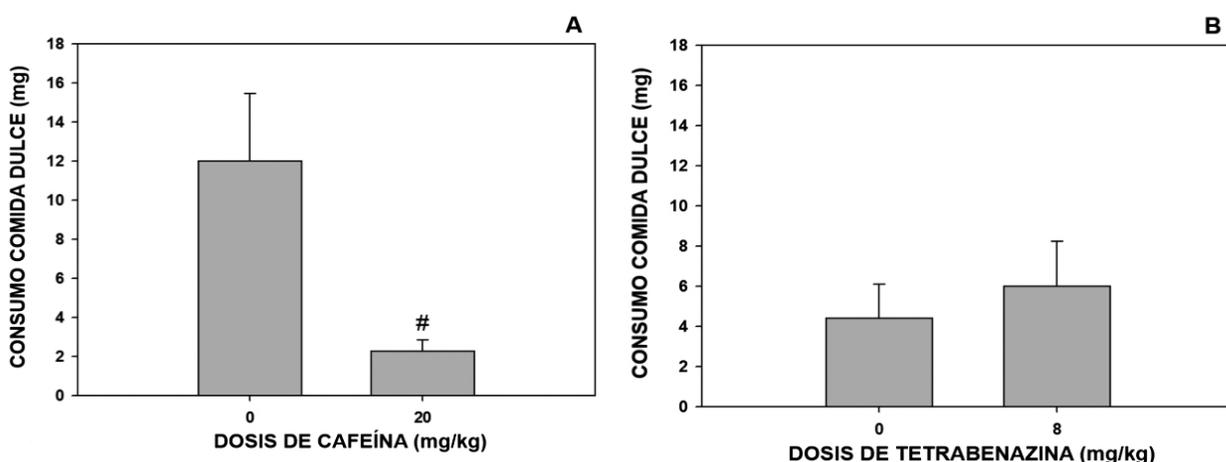


p<0.01 diferencias significativas respecto al grupo control

Figura 4. A. Efecto de la cafeína (0, 2,5, 5, 10 y 20 mg/kg, IP) en el consumo de comida dulce bajo condición habitual. B. Efecto de la tetrabenazina (0, 0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/kg, IP) en el consumo de comida dulce bajo la condición habitual. Media y error estándar de los *pellets* de comida dulce consumidos en una hora de acceso para el grupo con acceso diario y para el grupo de acceso intermitente

Experimento 3: Efecto de la tetrabenazina y de la cafeína en el consumo de comida dulce en condiciones ansiogénicas

La prueba *t* de Student reveló diferencias significativas en el consumo de comida dulce en condiciones ansiogénicas tras la administración de la dosis más alta de cafeína (20 mg/kg) ($t(14)=2,42, p<0,05$) (figura 5). Sin embargo, no hubo diferencias significativas tras la administración de la dosis más alta de tetrabenazina (8 mg/kg) ($t(12)=0,50, n.s.$) (figura 5).



p<0.01 diferencias significativas respecto al grupo control

Figura 5. A. Efecto de la cafeína (20 mg/kg, IP) en el consumo de comida dulce bajo condición ansiogénica. B. Efecto de la tetrabenazina (0, 0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/kg, IP) en el consumo de comida dulce en el test de luz-oscuridad. Media y error estándar de los *pellets* de comida dulce consumidos en la caja de luz oscuridad.

Discusión

Los resultados de estos experimentos indican que tanto el patrón de acceso intermitente como el patrón de acceso diario durante un tiempo limitado de tiempo a comida dulce inducen la conducta de atracón. Es posible que no se encontrarán diferencias, dado que ambos grupos solo tenían una hora de acceso a la comida dulce, lo cual en sí mismo constituye un acceso intermitente, ya que el animal no dispone de la comida durante 24 horas. Sin embargo, la progresión del peso corporal de los animales no indicó que se indujera obesidad. Mientras que el peso corporal de los animales se incrementó en un 8 %, a lo largo de todo el experimento (incremento normal si seguimos las curvas de crecimiento de esta cepa de ratones) y el consumo de comida estándar se mantuvo estable, la cantidad de comida dulce ingerida aumentó un 100 %. Esta disparidad en el incremento de consumo de comida dulce y peso corporal indica, al igual que han mostrado investigaciones previas (Corwin y cols. 2011), que la relación entre la conducta de atracón y obesidad no es una relación causal.

Por otro lado, la manipulación dopaminérgica no alteró el consumo de comida dulce, en ninguno de los grupos de acceso, y bajo ninguna de las condiciones emocionales (habitual o ansiogénica), resultado que va en la misma línea que los estudios que muestran que la DA aunque está implicada en la regulación de la obtención de reforzadores, sobre todo cuando éstos requieren cierto nivel de activación conductual, vigor o esfuerzo (Nunes y cols., 2013; Pardo, López-Cruz, San Miguel, Salamone, y Correa, 2015; Yohn y cols., 2015) no tiene un papel en la regulación del componente hedónico que poseen ciertos reforzadores como la comida, la sucrosa o el sexo (Salamone y Correa, 2012). El hecho de que en el paradigma utilizado para este estudio, la comida dulce estuviera disponible sin necesidad de realizar ningún esfuerzo, explica que la disminución dopaminérgica no alterara la cantidad de comida dulce ingerida, por lo tanto no afectando a las conductas consumatorias en sí mismas. Estudios previos muestran que la reducción de los niveles de DA o el antagonismo de sus receptores no altera tampoco las expresiones faciales innatas de agrado generadas por el consumo de soluciones dulces y que se observan consistentemente en múltiples especies (Berridge, 2009; Pardo y cols., 2015).

La relación entre la administración de cafeína y el consumo de comida muestra resultados opuestos en función de si la comida dulce se encuentra disponible en un ambiente familiar o si está disponible en un contexto ansiógeno. Cuando el contexto es familiar, la administración de cafeína a la dosis más alta (20 mg/kg) incrementó el consumo de comida dulce. Sin embargo, cuando la comida dulce se encontraba disponible en un ambiente ansiogénico, la administración de esta misma dosis de cafeína redujo el consumo de comida dulce. El incremento en el consumo de sucrosa está en la misma línea que los resultados de estudios que utilizan otros reforzadores como el alcohol (Kunin y cols., 2000). Mientras que la cafeína a dosis altas tiene efectos ansiogénicos en muchas especies (Correa y Font, 2008; López-Cruz y cols., 2014), el alcohol tiene efectos ansiolíticos (Correa y cols., 2008). A la luz de los presentes datos, el consumo combinado de altas dosis de cafeína y de alcohol en situaciones no familiares como situaciones de ocio, podría deberse a que el efecto sobre la ansiedad se cancela al consumir ambas sustancias; sin embargo, el efecto de incremento en el consumo habitual que produce la cafeína se mantiene.

Estos resultados indican que el uso de modelos animales, permite avanzar en el camino hacia la comprensión de las bases neurales que subyacen a la implantación y el mantenimiento de esta conducta desadaptativa, con lo que se puede contribuir al desarrollo de nuevas estrategias de prevención.

Referencias bibliográficas

- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Revised 4th ed. Washington, DC: Author; 2000.
- Berridge, K. (2009). 'Liking' and 'wanting' food rewards: brain substrates and roles in eating disorders. *Physiology & Behavior*, *97*, 537-350.
- Blumstein, L. y Crawley, J. (1983). Further characterization of a simple, automated exploratory model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *18*, 37-40.
- Correa M., Font L. (2008). Is there a major role for adenosine A2A receptors in anxiety? *Frontiers Bioscience*, *13*, 4058-4070.
- Correa M., Manrique H., Font L., Escrig M. y Aragón, C. (2008). Reduction in the anxiolytic effects of ethanol by centrally formed acetaldehyde: the role of catalase inhibitors and acetaldehyde-sequestering agents. *Psychopharmacology*, *200*, 455-464.
- Corwin, R., Avena, N. y Boggiano, M. (2011). Feeding and reward: perspectives from three rat models of binge eating. *Physiological Behavior*, *104*, 87-97.
- Hudson, J., Hiripi, E., Pope Jr., H. y Kessler, R. (2007). The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biological Psychiatry*, *61*, 348-358.
- Kunin, D., Gaskin, S., Rogan, F., Smith, B. y Amit, Z. (2000). Caffeine promotes ethanol drinking in rats. Examination using a limited-access free choice paradigm. *Alcohol*, *21*, 271-277.
- López-Cruz, L., Pardo M., Salamone J. y Correa, M. (2014). Differences between the nonselective adenosine receptor antagonists caffeine and theophylline in motor and mood effects: studies using medium to high doses in animal models. *Behavior Brain Research*, *270*, 213-222.
- Nunes, E., Randall, P., Hart E., Freeland, C., Yohn, S., Baqi, Y., ..., Salamone, J. (2013). Effort-related motivational effects of the VMAT-2 inhibitor tetrabenazine: implications for animal models of the motivational symptoms of depression. *The Journal of Neuroscience*, *33*, 19120-19130.
- Pardo, M., López-Cruz, L., San Miguel, N., Salamone, J. y Correa, M. (2015). Selection of sucrose concentration depends on the effort required to obtain it: studies using tetrabenazine, D(1), D (2), and D (3) receptor antagonists. *Psychopharmacology*, *232*, 2377-2391.
- Salamone, J., Correa, M. (2012). The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*, *76*, 470-485.
- Stunkard, A. y Wadden, T. (1992). Psychological aspects of severe obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *55*, 524S-532S.
- Swanson, S., Crow, S., Le Grange, D., Swendsen, J. y Merikangas, K. (2011). Prevalence and correlates of eating disorders in adolescents: results from the National Comorbidity Survey Replication Adolescent Supplement. *Archives of General Psychiatry*, *68*, 714-23.
- Yohn, S., Thompson, C., Randall, P., Lee, C., Müller, C., Baqi, Y., Correa, M. y Salamone, J. (2015). The VMAT-2 inhibitor tetrabenazine alters effort-related decision making as measured by the T-maze barrier choice task: reversal with the adenosine A2A antagonist MSX-3 and the catecholamine uptake blocker bupropion. *Psychopharmacology*, *232*, 1313-1323.
- Wojnicki, F., Babbs, R. y Corwin, R. (2010). Reinforcing efficacy of fat, as assessed by progressive ratio responding, depends upon availability not amount consumed. *Physiological Behavior*, *100*, 316-21.