



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

EFFECTO DE LA INHIBICIÓN DEL RECEPTOR CINASA DE LINFOMA ANAPLÁSTICO  
SOBRE LA INTERNALIZACIÓN DEL RECEPTOR A DOPAMINA TIPO 2 DEL NÚCLEO  
ACCUMBENS DE RATAS WISTAR Y SU RELACIÓN CON LA HIPERFAGIA DE DIETA  
PALATABLE

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:  
EMILIANO GRANADOS DELGADO

Tutora Principal

PATRICIA BERTHA JUDITH DE GORTARI GALLARDO  
[Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”](#)

Comité tutor

CARLOS A. LARQUÉ VELÁZQUEZ  
[Facultad de Medicina](#)

FATUEL TECUAPETLA AGUILAR  
[Instituto de Fisiología Celular](#)

Ciudad de México. Enero, 2025



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y  
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL  
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado: **“Efecto de la inhibición del receptor cinasa de linfoma anaplásico sobre la internalización del receptor a dopamina tipo 2 del núcleo accumbens de ratas wistar y su relación con la hiperfagia de dieta palatable”** que presenté para obtener el grado de **Maestro**, es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

**Atentamente**

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del Sr. Emiliano Granados Delgado.

**Emiliano Granados Delgado  
311237898**

# Agradecimientos

Este trabajo de tesis se realizó bajo la dirección de la **Dra. Patricia de Gortari Gallardo** en el Laboratorio de Neurofisiología Molecular que pertenece al Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”.

Al comité tutor por el asesoramiento durante el desarrollo del trabajo

**Dr. Carlos Larqué Velázquez**

Departamento de Embriología y Genética Facultad de Medicina, UNAM

**Dr. Fatuel Tecuapetla Aguilar**

Instituto de Fisiología Celular, UNAM

A los miembros del jurado que revisaron y evaluaron este trabajo.

Presidente	<b>Dr. Daniel Osorio Gómez</b>	IFC, UNAM
Secretario	<b>Dr. Francisco Sotres Bayón</b>	IFC, UNAM
Vocal	<b>Dr. Luis A. Carrillo Reid</b>	IN, UNAM
Vocal	<b>Dra. Martha L. Escobar Rodríguez</b>	IFC, UNAM
Vocal	<b>Dra. Angélica Zepeda Rivera</b>	IIBM, UNAM

Por su apoyo y asesoramiento durante el desarrollo de este trabajo

**DRA PAULINA SOBERANES CHÁVEZ**  
**DRA ESTEFANÍA ESPITIA BAUTISTA**

Y a CONAHCYT por haberme otorgado una beca nacional de maestría para poder desarrollar mis estudios de posgrado con **CVU: 1227164**

<b>Índice</b>	<b>página</b>
<b>Agradecimientos</b> _____	<b>2</b>
<b>Resumen</b> _____	<b>5</b>
<b>Introducción</b> _____	<b>8</b>
Obesidad .....	8
Conducta Alimentaria .....	9
Adicción a los alimentos.....	10
El sistema dopaminérgico del circuito mesocorticolímbico. ....	11
Dopamina .....	16
Receptores unidos a proteínas G .....	18
Receptores a dopamina.....	21
Internalización de D2R.....	22
D2R y el consumo de alimento.....	23
Receptor cinasa de linfoma anaplástico.....	26
Inhibidores de ALK .....	27
ASP3026 .....	29
<b>Antecedentes</b> _____	<b>30</b>
<b>Planteamiento del problema</b> _____	<b>33</b>
<b>Justificación</b> _____	<b>34</b>
<b>Hipótesis</b> _____	<b>36</b>

<b>Objetivos</b>	<b>36</b>
Objetivo general.....	36
Objetivos específicos.....	36
<b>Material y métodos</b>	<b>37</b>
Material biológico .....	37
Microinyección de Quinpirol .....	37
Microinyección de ASP3026.....	38
Dietas y consumo de alimento .....	39
Inyección de ASP3026 en el NAc de animales con CAFD .....	40
Western Blot .....	41
Análisis y cuantificación de imágenes .....	43
Análisis estadísticos .....	43
<b>Resultados</b>	<b>45</b>
Separación de fases .....	45
Curva dosis respuesta al clorhidrato de quinpirol .....	45
Curva dosis respuesta ASP3026 .....	47
Efectos del inhibidor ASP3026, en la conducta alimentaria.....	49
<b>Discusión</b>	<b>53</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>61</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>62</b>

# Resumen

La obesidad posee una etiología multifactorial y es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. La palatabilidad, la disponibilidad y la densidad energética de los alimentos juegan un papel importante para su desarrollo. El consumo en exceso de alimentos palatables conlleva la internalización del receptor a dopamina tipo 2 (D2R) en el núcleo accumbens (NAc), un núcleo del estriado ventral que forma parte del circuito de recompensa y que está relacionado con el procesamiento cognitivo de los estímulos recompensantes.

El D2R es un receptor inhibitorio unido a proteínas G que es desensibilizado e internalizado por la estimulación constante de su ligando natural, la dopamina. El consumo de alimentos palatables induce una liberación continua de dopamina e incrementa la internalización de D2R, esto a su vez impide la inhibición de las neuronas dopaminérgicas de esta área y promueve un sobreconsumo de alimentos, lo que constituye un importante factor etiológico de la obesidad.

Por otro lado, en años recientes se ha observado que el receptor cinasa de linfoma anaplástico (anaplastic lymphoma kinase, ALK), conocido por su papel en el desarrollo de cierto tipo de cánceres, participa y favorece la internalización de D2R en el núcleo accumbens y cuando se inhibe, se previene esta internalización.

El objetivo de este estudio fue analizar si la administración intracerebral del inhibidor selectivo de ALK, ASP3026, en el NAc, inhibía la internalización de D2R y si además lograba modificar la conducta alimentaria de ratas Wistar macho alimentadas con una dieta de cafetería.

Para ello, se administraron intracerebralmente 4 concentraciones diferentes de clorhidrato de quinpirol, un agonista de D2R, a ratas Wistar macho (n=40) para encontrar una dosis que indujera una internalización significativa de DR2. Con esa dosis de clorhidrato de quinpirol se pusieron a prueba 4 concentraciones del inhibidor de ALK, ASP3026 (n=20), para encontrar una dosis que previniera la internalización de D2R causada por el clorhidrato de quinpirol. Una vez que se obtuvo esta dosis, se implantó una cánula mediante cirugía estereotáxica en el NAc (n=12) de otro grupo de ratas y cuando los animales se recuperaron del procedimiento, se ofreció una dieta de cafetería (CAFD) por 5 días. En los días 2, 3 y 4 se administraron 2 µg de ASP3026 (la dosis que previno la internalización de D2R por el clorhidrato de quinpirol), a través de la cánula y se registró el consumo de alimento. Al final de los cinco días de exposición a la dieta se realizó la eutanasia de los animales, se extrajeron los cerebros y se asiló el NAc para medir la densidad de D2R en la fase membranal mediante Western Blot, para lo que se estandarizó una técnica de separación de fases.

La administración intracerebral de 2 µg de ASP3026 logró inhibir la internalización de D2R provocada por el clorhidrato de quinpirol. Además, la infusión de 2 µg de ASP3026 logró disminuir significativamente el consumo de alimentos palatables durante los 3 días de su administración en comparación con los animales tratados con vehículo. Asimismo, cuando se evaluó la densidad de D2R en la fase membranal de estos animales, se encontró que la CAFD promueve la internalización de D2R de manera similar al clorhidrato de quinpirol y que ASP3026, la inhibe.

De esta manera concluimos que ALK está involucrado en la internalización de D2R cuando el individuo consume alimentos palatables de manera similar a las drogas de

abuso y cuando se inhibe, D2R no se internaliza y la conducta alimentaria se ve modificada debido a que los animales consumen una menor cantidad de alimento.

# Introducción

## Obesidad

La obesidad está definida como un desbalance entre la energía que se consume en los alimentos respecto al gasto energético (Vassilopoulou et al., 2017), o a una acumulación anormal o excesiva de grasa en las células del tejido adiposo, la cual tiene un efecto negativo para la salud (OMS, 2009).

El incremento en la incidencia del sobrepeso y la obesidad se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial debido a que sus complicaciones están asociadas a la disminución en la esperanza de vida y al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Engin, 2017).

Estas complicaciones tienen un enorme impacto económico en los sistemas de salud, de aproximadamente \$700 mil millones de dólares al año (Tremmel et al., 2017; Panuganti et al., 2023). En México durante el 2014 los costos relacionados a los tratamientos secundarios de la obesidad, ascendieron a 152 millones de pesos, lo que equivale al 34% del gasto público destinado a la salud (Rivera-Dommarco et al., 2018). Para el 2018, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos fue de 75.2%, siendo mayor en mujeres en edad reproductiva con 76.8% que en hombres con 73% (ENSANUT, 2018), lo que sitúa al país en el segundo lugar a nivel mundial en cuanto a la prevalencia del padecimiento (Hruby, 2015).

Aunque la etiología de la obesidad es multifactorial, uno de los principales factores es el consumo desmedido de alimentos ultra procesados. Este tipo de alimentos se

caracteriza por ser accesible, económico y por poseer grandes cantidades de azúcar y grasas saturadas que aumentan significativamente su contenido energético (del Moral et al., 2021) y que además pueden modificar la conducta alimentaria debido a los factores cognitivos, emocionales, sociales, económicos, culturales, y a las propiedades organolépticas de estos alimentos (Hernández-Ruiz de Eguilas et al., 2018).

## **Conducta Alimentaria**

La conducta alimentaria es un proceso fisiológico complejo regulado por la interacción de un sistema homeostático que activa el apetito en respuesta a un déficit calórico y un circuito hedónico que involucra la percepción sensorial y el placer (Liu & Kanoski, 2018). El consumo homeostático involucra principalmente al núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo, el cual monitorea señales hormonales periféricas relacionadas con el estado nutricional del individuo como insulina, leptina y grelina, modulando así el hambre y la saciedad (Marinescu & Labouesse, 2024). Por otro lado, el consumo hedónico está regulado por las propiedades reforzadoras de los alimentos y estas señales son integradas en el NAc, el cual forma parte del circuito mesocorticolímbico o circuito de recompensa (Smith et al., 2020).

Las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral (VTA) que proyectan al NAc responden al consumo de alimentos, sobre todo a aquéllos que contienen un alto porcentaje de grasa y azúcar y es posible que el circuito de recompensa anule señales homeostáticas cuando existen suficientes reservas energéticas que deberían disminuir el apetito, y en cambio, el estímulo placentero promueve el consumo de estos alimentos (Albuquerque et al., 2015).

De hecho, el estímulo crónico que ofrece el consumo de alimentos palatables promueve el desarrollo de comportamientos maladaptativos como dependencia y sobreconsumo que facilitan el desarrollo del sobrepeso y la obesidad (Lee & Dixon, 2017).

## **Adicción a los alimentos**

Aunque no existe un consenso respecto a la validez del término “adicción a los alimentos”, (Randolph, 1956) se han comparado las conductas declaradas por individuos con obesidad e hiperfagia por alimentos palatables con los criterios descritos para las adicciones y el abuso de sustancias (Meule & Gearhardt, 2014) del manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-5), lo que ha favorecido la discusión al respecto (Fletcher & Kenny 2018). Otras herramientas han sido desarrolladas para categorizar el consumo de alimentos desmedido como la escala de adicción a los alimentos de Yale publicada en el 2009, que propone “una examinación sistemática de la hipótesis que apoya que los alimentos palatables pueden inducir comportamientos similares a las adicciones en algunas personas”, la cual está basada en los mismos criterios del DSM-5 (Yale Food and Addiction Science & Treatment Lab, 2024). Sin embargo, se reconoce que existe una activación aumentada del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico en individuos con trastornos de la alimentación como trastorno por atracón e hiperfagia por alimentos palatables (Val-Laillet et al., 2015). Dicho trastorno es similar al de abuso por drogas en el que la percepción del placer causado por la sustancia utilizada no es percibida, induciendo a los individuos a una búsqueda repetitiva de su consumo y en el caso de

los alimentos a su consumo constante con consecuencias como el aumento de peso y alteraciones metabólicas.

A nivel del sistema nervioso central, el circuito de recompensa o circuito mesocorticolímbico está altamente asociado con el desarrollo de las adicciones a las drogas de abuso y a los alimentos (Volkow et al., 2017).

### **El sistema dopaminérgico del circuito mesocorticolímbico.**

El circuito mesocorticolímbico dopaminérgico consta de varios núcleos cerebrales encargados de procesar experiencias placenteras y funciones cognitivas que facilitan la asociación entre estímulos con el ambiente donde se encuentran o son percibidos, dando como resultado conductas que coordinan respuestas de búsqueda de los estímulos asociados (Fig.1). Estos procesos forman parte del sistema de recompensa, activado en función de características sensoriales agradables. De esta manera, el alimento, el agua y otros estímulos, así como señales que los predicen, promueven el disparo rápido de las neuronas dopaminérgicas facilitando comportamientos dirigidos a la obtención de la recompensa (Baik, 2013).

Este circuito integra procesos que involucran el “querer” o el deseo, la motivación, el aprendizaje y emociones relacionadas con la obtención de la recompensa (Lewis, R. et al., 2021). El sistema de recompensa le provee a un individuo la habilidad de procesar y responder ante experiencias recompensantes, por lo que se considera esencial para la supervivencia y el comportamiento adaptativo (Pérez-Bonilla et al., 2020).

Una recompensa puede ser cualquier objeto, estímulo, o actividad que resulte placentera y que por sus características atractivas tiene el potencial de aumentar la

motivación y el acercamiento del individuo para llevar a cabo un comportamiento consumatorio, el cual se define como la acción para obtener dicha recompensa. Sin embargo, la obtención de la recompensa no está necesariamente asociada a consecuencias positivas (Phaf et al., 2014; Stringfellow et al., 2023).

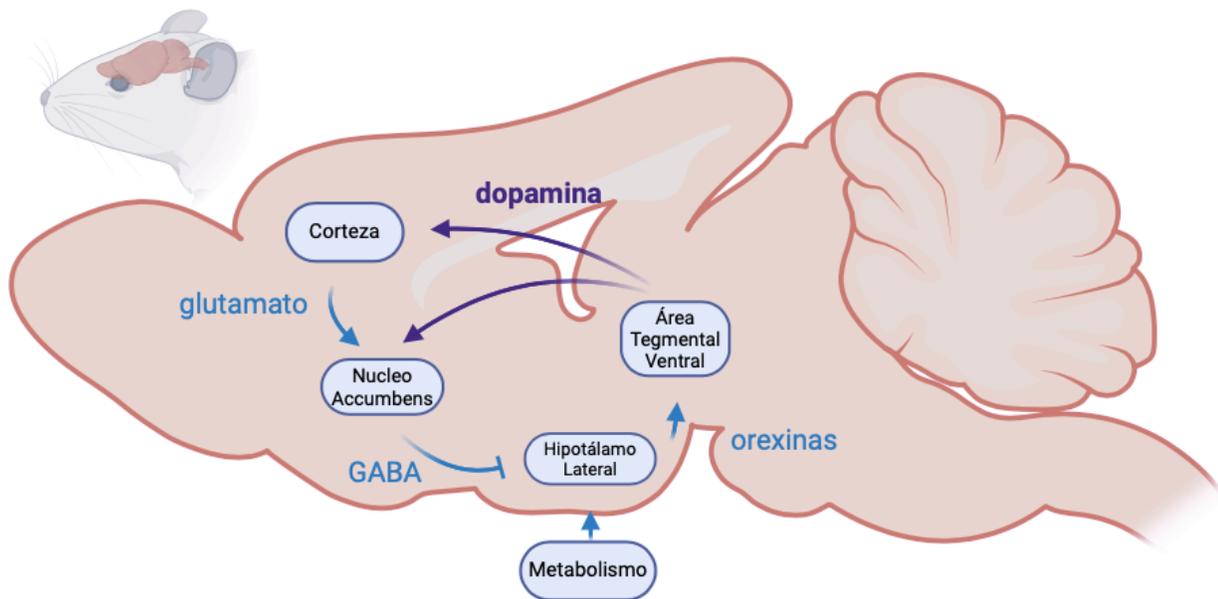


Fig.1 El circuito mesocorticolímbico está conformado por varios núcleos cerebrales que integran la información proveniente del organismo relacionada con las reservas energéticas y al estado metabólico con las señales percibidas del medio que pueden estar relacionadas con la obtención de una recompensa. Se resaltan las vías y los transmisores relacionados a cada núcleo. Creado en BioRender.com

El proceso de asociación entre los estímulos de diferente valencia provoca la modificación de la conducta. El comportamiento aversivo motiva al individuo a mantenerse alejado para evitar las consecuencias negativas que implica el estímulo. Por el contrario, el comportamiento apetitivo motiva al individuo a buscar los mismos estímulos asociados a la recompensa para repetir la sensación gratificante (Itzhak et

al., 2014). Asimismo, la fuerza entre estas asociaciones depende de la valencia o tono hedónico del estímulo, el cual se define por el grado de agrado o desagrado que produce el estímulo (Parkinson & Haggard, 2013).

Desde la perspectiva evolutiva, se cree que el circuito de recompensa incrementó la probabilidad de que un organismo lleve a cabo comportamientos que aumenten sus oportunidades de sobrevivir, reduciendo déficits fisiológicos o psicológicos. Algunas recompensas naturales como la alimentación y el apareamiento son necesarias para la supervivencia del individuo y la perpetuación de la especie (Berridge, 1996).

El circuito de recompensa procesa los estímulos iniciando con la liberación de dopamina en diferentes áreas cerebrales y en cada una de ellas se procesan diferentes aspectos relacionados a la recompensa, para en conjunto dar como resultado conductas y comportamientos dirigidos a su obtención.

Entre ellas, el área tegmental ventral (ATV), implicada en el procesamiento cognitivo de la recompensa, la motivación, el aprendizaje asociativo y las emociones de valencia positiva (Pérez-Bonilla et al., 2020). Los análisis electrofisiológicos muestran que las neuronas dopaminérgicas de esta región son activadas en respuesta a estímulos novedosos, estímulos inesperados y señales sensoriales predictivas de una recompensa (Margolis et al., 2006). Estudios con modelos animales describen que la respuesta de las neuronas dopaminérgicas del ATV incrementa proporcionalmente con el tamaño de la recompensa que recibe el animal (Tyree & de Lecea, 2017). Además, esta respuesta incrementa con señales ambientales que predicen una recompensa o cuando la recompensa es inesperada y disminuye cuando estaba prevista (Cohen et al., 2012). Esta valoración promueve que el animal enfoque su atención en

recompensas menos predecibles con un potencial hedónico mayor en lugar de recompensas conocidas menos placenteras, entre múltiples estímulos en el ambiente (Tyree & de Lecea, 2017). Las neuronas dopaminérgicas del ATV proyectan hacia el núcleo accumbens y juegan un papel importante en el procesamiento de los estímulos asociados a recompensas.

Otro núcleo ampliamente involucrado en el procesamiento cognitivo de las recompensas es el núcleo accumbens. Éste está localizado en el cerebro anterior y junto con el bulbo olfatorio forman el estriado ventral. El estriado ventral y el estriado dorsal forman el estriado, el cual es una subregión de los ganglios basales (Xuet al., 2020). El núcleo accumbens se divide en dos regiones funcionalmente distintas. El “core” (centro) es la región medular y forma parte del sistema estriatopalidal (de Olmos & Heimer, 1999; Day & Carelli, 2007). Está principalmente relacionado con la modulación de la actividad exploratoria dirigida a la obtención de una recompensa, es decir, integra la función motora con la motivación generada por los estímulos ambientales (Meredith et al., 2008).

En cambio, la región cortical denominada “shell” (corteza) forma parte de la amígdala extendida y recibe información del sistema límbico, específicamente del ATV y está relacionada al procesamiento cognitivo de la recompensa, de los estímulos placenteros, la motivación y el reforzamiento positivo. Contiene una región o punto hedónico responsable del “gusto” por ciertos componentes de las recompensas intrínsecas (Berridge & Kringelbach, 2015).

Las neuronas espinosas medianas son el tipo neuronal más abundante del núcleo accumbens. Son neuronas GABAérgicas inhibitorias que pueden ser clasificadas en

dos subtipos: las que expresan receptores a dopamina tipo 1 y proyectan directamente a los ganglios basales y las que expresan receptores a dopamina tipo 2 y proyectan indirectamente a los ganglios basales; además se ha identificado un tercer grupo minoritario que expresa ambos receptores (Yager et al., 2015; Thompson, 2021).

Las neuronas espinosas medianas reciben proyecciones de múltiples regiones corticales y subcorticales como la corteza prefrontal, la amígdala basolateral y el área tegmental ventral. En concreto, el núcleo accumbens shell recibe una gran cantidad de proyecciones dopaminérgicas del ATV, las cuales forman sinapsis con las neuronas espinosas medianas en las espinas dendríticas (Thompson, 2021).

Las neuronas espinosas medianas del NAc poseen una gran plasticidad sináptica que facilita funciones conductuales adaptativas como el aprendizaje y la memoria (Thompson, 2021). La plasticidad sináptica se refiere a la modificación de la función de los circuitos neuronales a partir de las experiencias y los estímulos del ambiente a los que responde un organismo y que se traducen en cambios en el comportamiento (Citri & Malenka, 2008).

Las recompensas naturales como el agua, el alimento, el sexo y las interacciones sociales desinhiben a las neuronas dopaminérgicas del ATV incrementando la tasa de disparo y la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Plaza-Briceño et al., 2023).

Un incremento rápido en las concentraciones de dopamina está asociado en el tiempo a una recompensa inesperada o novedosa al igual que con señales ambientales que predicen una recompensa (Schultz, W., 2002). La frecuencia de disparo de las neuronas dopaminérgicas depende del valor hedónico o de la magnitud de la

recompensa, de la proximidad temporal, de la probabilidad de obtenerla y de la experiencia previa con la recompensa; si ésta no se presenta, la tasa de disparo es inhibida (Volkow & Morales, 2015; Keeler et al., 2014; Tobler et al., 2005; Fiorillo et al., 2008). Asimismo, una elevación progresiva en la actividad de las neuronas dopaminérgicas ocurre mientras el animal se aproxima a la recompensa o bien mientras realiza tareas de aprendizaje de consolidación (Hunger et al., 2020).

## **Dopamina**

La dopamina es una catecolamina sintetizada a partir de fenilalanina o tirosina. La L-fenilalanina es convertida en L-tirosina por la fenilalanina hidroxilasa, luego la L-tirosina es convertida a L-DOPA por la tirosina hidroxilasa, la enzima limitante, usando tetrahidrobiopterina, oxígeno y hierro como cofactores. Finalmente, la L-DOPA es convertida a dopamina por la DOPA descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos utilizando piridoxal de fosfato como cofactor (Christenson et al., 1970). Por otro lado, la dopamina es degradada a ácido homovanílico, un metabolito sin actividad biológica aparente, por las enzimas monoamina oxidasa y la catecol O-metiltransferasa (Fernstrom & Fernstrom, 2007).

Fuera del sistema nervioso central, la dopamina funciona como una molécula parácrina con diversos efectos que varían de acuerdo al tejido blanco, sin embargo, por su estructura química no puede cruzar la barrera hematoencefálica por lo que también es sintetizada en el sistema nervioso central para ejercer su actividad neuromoduladora (Bucolo et al., 2019).

Tras su síntesis, la dopamina es almacenada en vesículas localizadas en la terminal presináptica hasta su liberación en el espacio sináptico (Miller et al., 1999). La

liberación axonal de dopamina está mediada por la unión de las proteínas SNARE (Snap receptor) de la vesícula con las de la membrana celular en las zonas activas que alinean la secreción de dopamina con los receptores postsinápticos. Las zonas activas poseen múltiples proteínas de andamiaje y canales de calcio regulados por voltaje (Kaeser & Regehr, 2014). Cuando la neurona se despolariza, los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  permiten la entrada del ion a la neurona lo que induce rápidamente la unión de la vesícula con la membrana celular mediante los sensores a  $\text{Ca}^{2+}$  de la sinaptotagmina del complejo SNARE (Deutch, 2013; Pang & Sudhof, 2010). Sin embargo, además de ser liberada de forma clásica en el axón, la dopamina también es secretada en el soma y las dendritas, lo que se conoce como secreción somatodendrítica. En otras palabras, la transmisión dopaminérgica es diferente a la transmisión sináptica clásica (Liu & Kaeser, 2019).

La concentración extracelular de dopamina está regulada por dos mecanismos, la liberación fásica y la liberación tónica. La liberación fásica está modulada por los potenciales de acción de las neuronas dopaminérgicas que resultan en el aumento rápido y transitorio de las concentraciones de dopamina alrededor de la terminal presináptica. Por otro lado, la liberación tónica es irregular y de baja frecuencia, está mediada por la actividad de otras neuronas sin la necesidad de un potencial de acción y genera concentraciones más bajas y diseminadas de dopamina en el líquido extracelular (Venton et al., 2003; Klein et al., 2019).

Por otro lado, el transportador de dopamina (DAT) es una proteína transmembranal expresada selectivamente en las neuronas dopaminérgicas y es responsable de la recaptura de DA, transportándola del espacio extracelular al intracelular (Sotnikova et

al., 2006). DAT juega un papel importante en la remoción de DA en el estriado controlando las concentraciones sinápticas de DA en las vías mesolímbicas (Savchenko et al., 2023).

La dopamina ejerce su efecto neuromodulatorio en el circuito de recompensa mediante la unión con sus receptores. Estos pertenecen a la familia de los GPCRs, todos son metabotrópicos, es decir, actúan sobre segundos mensajeros y hasta el momento se han descrito 5 tipos diferentes de receptor, los cuales se pueden dividir en dos grupos de acuerdo a su estructura y propiedades farmacológicas (Klein et al., 2019).

## **Receptores unidos a proteínas G**

Los receptores unidos a proteínas G (GPCRs) son proteínas integrales de membrana con un amino terminal extracelular, siete dominios  $\alpha$  hélice transmembranales y un grupo carboxilo terminal intracelular. Los GPCRs reconocen una gran variedad de estímulos como fotones, iones, proteínas, neurotransmisores y hormonas (Rehman et al., 2023) y constituyen la familia más extensa y variada de receptores (Bjarnadóttir et al., 2006). Estos receptores están asociados a varios procesos fisiológicos como la neurotransmisión, diferenciación celular y oncogénesis, entre otros (Almendro et al., 2010). En el sistema nervioso, los GPCRs controlan la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica, la plasticidad y el comportamiento de los individuos a través de diferentes vías de señalización (Gonzalez-Hernandez et al., 2024).

Tras la activación de los GPCRs por su ligando, se lleva a cabo un cambio conformacional que promueve el intercambio de guanósín trifosfato (GTP) por guanósín difosfato (GDP) en la unidad  $G\alpha$ . La unidad  $G\alpha$  puede ser categorizada en cuatro familias (Kim et al., 2020). La familia  $G\alpha_s$  estimula al adenilato ciclasa (AC) unida

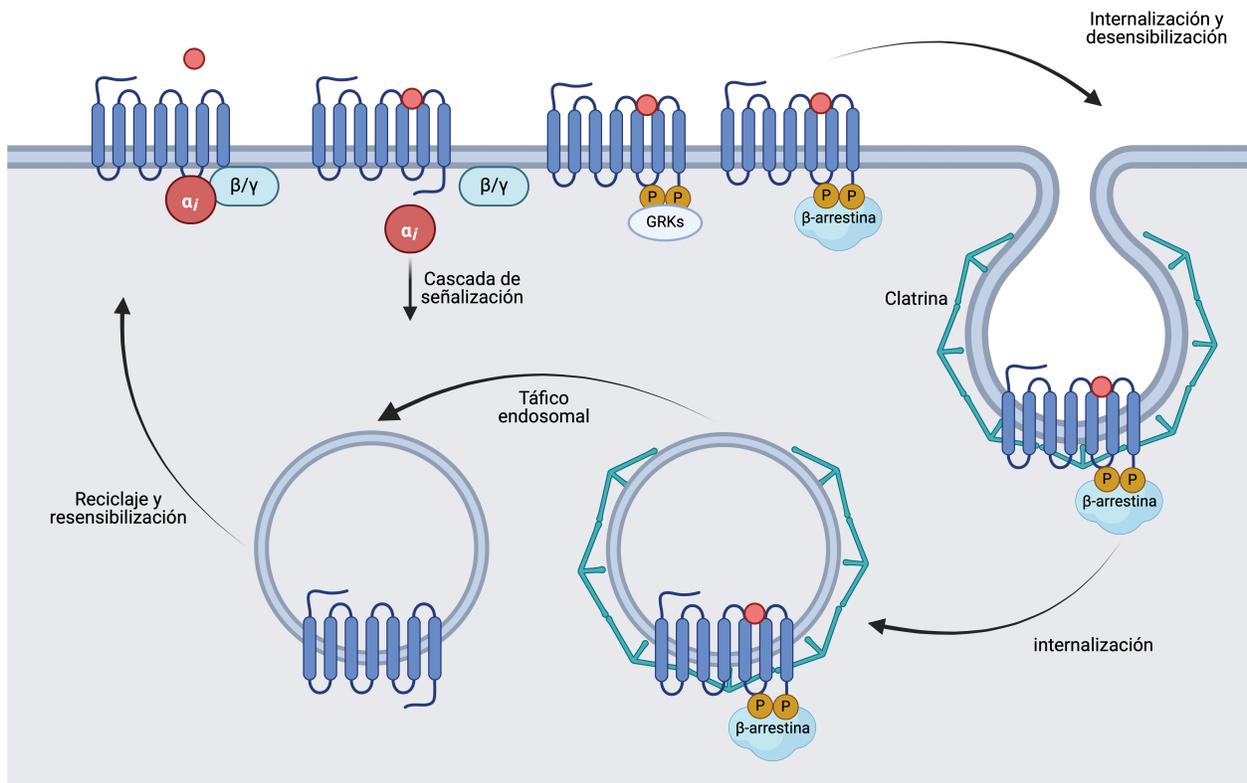


Fig.2 Internalización, desensibilización y reciclaje de los GPCRs. La unión con su ligando promueve la separación de la subunidad  $\alpha$  que induce una cascada de señalización. Las subunidades  $\beta / \gamma$  promueven el reclutamiento de GRKs que fosforilan la cola terminal C. Esta fosforilación es reconocida por las  $\beta$ -arrestinas que previenen la unión de las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Al mismo tiempo recluta otras proteínas como AP-2 y clatrin que promueve la endocitosis del receptor. Finalmente, el endosoma puede ser degradado mediante lisosomas o reciclado a la membrana. Tomado y modificado de: Mohan M et al. 2012. Creado en Biorender.

a la membrana, catalizando la conversión de adenosín trifosfato (ATP) en adenosín monofosfato cíclico (cAMP), el cual puede activar varias vías de señalización río abajo. Por el contrario, la familia G $\alpha_i$  inhibe la AC y por consecuencia la formación de cAMP (Nubbemeyer et al., 2021).

La actividad de los GPCRs está regulada mediante su desensibilización e internalización. Una vez que el agonista promueve un cambio conformacional, el

GPCR es fosforilado mediante uno o más miembros de las cinasas de los receptores unidos a proteínas G (GRKs), las arrestinas se unen a los receptores fosforilados con gran afinidad. Estas arrestinas reclutan varias proteínas asociadas al tráfico vesicular como las clatrininas que promueven la internalización del receptor (Fig.2) (Seyedabadi et al., 2021; Baschieri et al., 2020). Finalmente, el receptor puede ser llevado a endosomas de reciclaje que rápidamente vuelven a sensibilizar a la célula o bien, pueden ser degradados en lisosomas desensibilizando a la célula debido a una disminución en el número de receptores funcionales (Gurevich et al., 2016).

Mutaciones que afectan la actividad basal, la unión a su ligando o la expresión en la membrana celular de los GPCRs, así como alteraciones en la producción y liberación de sus ligandos están implicados en el desarrollo de enfermedades como diabetes, hipertensión, falla cardíaca y Alzheimer, así como en el desarrollo de varios tipos de cáncer (Stoy et al., 2015; Chaudhary et al., 2021). Asimismo, los GPCRs son blanco de un número significativo de fármacos y permanecen como uno de los principales blancos para el desarrollo de nuevos tratamientos para tratar un gran número de enfermedades (Rehman et al., 2023).

Tradicionalmente se diseñaron fármacos ortostéricos, es decir, que actúan directamente sobre el sitio activo para modular la actividad de los GPCRs. Posteriormente se descubrieron moduladores alostéricos que actúan en sitios diferentes al activo (Nickols et al., 2014). Sin embargo, recientemente se ha observado que existe una transactivación bidireccional entre los GPCRs y los receptores unidos a cinasas de tirosina (RTKs) haciendo de esta interacción un nuevo blanco para el desarrollo de terapias farmacológicas dirigidas al tratamiento de un gran número de

enfermedades o a blancos asociados a su desarrollo como es el caso de los receptores a dopamina (Kilpatrick et al., 2021).

## **Receptores a dopamina**

Los receptores tipo 1 que incluyen a los receptores D1R y D5R promueven la producción intracelular de cAMP debido a que están asociados a la subunidad Gas, mientras que los receptores tipo 2 que incluye a los receptores D2R, D3R y D4R, inhiben la producción de cAMP porque están asociados a la subunidad Gai (Baik, 2013).

Los receptores D1R y D2R son los receptores a dopamina más abundantes en el cerebro. El receptor D2 posee dos isoformas generadas por el splicing alternativo del mismo gen (Montmayeur et al., 1991). Estas isoformas son denominadas D2RS (corto) y D2RL (largo) y se diferencian entre sí porque la isoforma L posee 29 aminoácidos extra en el tercer bucle intracelular, el cual se cree que está relacionado con la activación diferencial de segundos mensajeros específicos (Baik, 2013).

Los receptores D2R pueden ser autoreceptores somatodendríticos que regulan la excitabilidad neuronal o autoreceptores presinápticos que disminuyen tanto la síntesis de dopamina, como su empaquetamiento en vesículas inhibiendo la liberación de DA dependiente de impulsos (Baik, 2013).

Existe una diferencia en la afinidad por la DA entre los receptores D1R y D2R. Los receptores de tipo 2 tienen una afinidad de 10 a 100 veces mayor por el neurotransmisor que los receptores del tipo 1, siendo el D1R el que posee la afinidad

más baja (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Esta diferencia sugiere que los receptores responden a concentraciones diferentes de DA.

La actividad repentina de las neuronas dopaminérgicas provocada por un estímulo novedoso o un error en la predicción de una recompensa lleva a un incremento transitorio del neurotransmisor, un componente importante del circuito de recompensa (Schultz, 2007). La liberación fásica de dopamina alcanza concentraciones milimolares por lo que el receptor D1R con una baja afinidad es activado, mientras que el receptor D2R se satura, sin embargo, el transportador de dopamina regresa a las concentraciones iniciales pocos milisegundos después. Por el contrario, la liberación tónica de dopamina alcanza concentraciones nanomolares en periodos largos que van de segundos a minutos y debido a que difunde al espacio circundante, no es afectada significativamente por el transportador de dopamina (Klein et al., 2019). Aunque la concentración de dopamina alcanzada durante la liberación tónica es baja, ésta logra estimular al D2R presináptico que ejerce un mecanismo autoregulatorio e inhibitorio de la liberación de dopamina (Grace et al., 2007).

## **Internalización de D2R**

En respuesta a una estimulación constante, los receptores neuronales son internalizados como una medida de regulación de la excitabilidad celular. Esta dinámica es esencial para la plasticidad neuronal (Paspalas et al., 2006).

En modelos *in vivo* se ha descrito que tanto el receptor D1R como el D2R son internalizados después de haberse unido a la DA, sin embargo, el D1R es principalmente reciclado mientras que D2R es principalmente degradado (Bartlett et al., 2005; Iizuka et al., 2007) lo que resulta en una regulación a la baja de D2R

especialmente después de una exposición prolongada a drogas de abuso, por delección del DAT o debido a exposición crónica a bajas dosis de agonistas de D2R (Volkow et al., 1999).

Por otro lado, en modelos *ex vivo* la aplicación prolongada de DA provoca un decremento en la magnitud de la actividad inhibitoria de D2R dependiente del tiempo y de la concentración del neurotransmisor (Nimitvilai et al., 2014). Asimismo, estudios *in vivo* demuestran que a lo largo del tiempo, existe un descenso en la unión entre D2R y C-raclopride, un antagonista y trazador radioactivo que se puede medir en tiempo real mediante una tomografía de emisión de positrones (PET) (Skinbjerg et al., 2010). Una explicación para que suceda esto es la competencia con la DA sináptica, sin embargo, también puede deberse a la internalización de D2R, un proceso que reduce la población disponible en las membranas neuronales para unirse al radioligando (Goggi et al., 2007).

La liberación tónica de dopamina actúa como un mecanismo inhibitorio debido a que activa al receptor D2R, regulando la excitabilidad neuronal y la liberación de más dopamina, sin embargo, aquellas neuronas que han internalizado al receptor D2R no están sujetas a la inhibición tónica. Conductualmente esto se puede traducir a que una menor expresión de D2R puede estar relacionada con una alta asociación entre un estímulo y la recompensa, o bien a mayor motivación por volver a experimentarlo (Keeler, 2014).

## **D2R y el consumo de alimento**

Los alimentos y las señales ambientales relacionadas a estos activan diferentes áreas del cerebro incluyendo al hipocampo, la amígdala, la corteza prefrontal y el núcleo

accumbens (Kenny P., 2011). Se cree que el circuito mesocorticolímbico promueve el aprendizaje por asociación entre recompensas naturales como los alimentos y las señales ambientales asociados a estos o que los predicen y que promueven disparos rápidos de las neuronas dopaminérgicas favoreciendo así comportamientos dirigidos a la obtención del alimento (Palmiter, 2007).

Un ensayo con ratones knock-out para el gen que codifica para la enzima tirosina hidroxilasa, la enzima limitante para la síntesis de dopamina, demuestra que los ratones dejan de consumir alimento hasta la muerte a menos que se restablezca la actividad dopaminérgica en el estriado dorsal (Szczytko et al., 2001).

El consumo de alimentos provoca un incremento de la concentración de DA extracelular en el NAc de manera similar a las drogas de abuso. Asimismo, variaciones en la expresión de los receptores de dopamina, especialmente del D2R en el estriado, juegan un papel importante en el sobre consumo de alimento y el desarrollo de la obesidad (Salamone & Correa, 2013).

Lo anterior sugiere que la actividad dopaminérgica en el núcleo accumbens está asociada con las propiedades recompensantes de los alimentos. En otras palabras, el estriado ventral regula el consumo hedónico (Halpern et al., 2013, Volkow et al., 2002).

Asimismo, el consumo de alimentos ricos en grasa o azúcar promueve la regulación a la baja de D2R (Small et al., 2013). Johnson y Kenny mostraron en el 2010 que ratones alimentados con una dieta de cafetería (CAFD) consistente de diferentes productos caracterizados por ser altamente palatables con una gran densidad energética, desarrollaron obesidad, trastorno por atracón y una baja densidad de D2R en el estriado. De manera importante, al inducir la pérdida del gen que codifica al D2R en el

estriado ventral mediante un lentivirus, los animales desarrollan obesidad y trastorno por atracón significativamente más rápido que aquellos animales que solo habían consumido la dieta de cafetería (Johnson & Kenny, 2010).

Los modelos animales muestran que el trastorno por atracón (TA) disminuye significativamente después de la estimulación profunda del NAc shell debido a la activación de D2R. El TA no disminuye con la estimulación profunda cuando se realiza en presencia de un antagonista de D2R, el raclopride. Sin embargo, cuando se realiza en presencia de un antagonista de D1R, SCH-23390, la inhibición del TA ocurre normalmente. Por otro lado, la misma estimulación en el estriado dorsal no tiene efecto sobre la conducta (Halpern et al., 2013).

Por otro lado, los pacientes con obesidad a quienes se les muestran imágenes de alimentos palatables, presentan una mayor liberación de dopamina en el estriado en comparación a la observación de imágenes de alimentos con bajo contenido energético. Además, la liberación de dopamina es significativamente mayor en el NAc que en el estriado dorsal lo que refuerza la idea de que éste está involucrado en la regulación de la motivación para obtener una recompensa placentera (Eisenstein et al., 2020).

Estudios en humanos con obesidad o abuso de sustancias, han demostrado que tiende a haber una expresión disminuida de D2R en el estriado ventral (Volkow et al., 2009) y que existe una correlación negativa entre el índice de masa corporal (IMC) y la densidad de D2R, es decir, entre más elevado es el IMC menor es la concentración de D2R (Wang et al., 2001).

Asimismo, el consumo de una dieta alta en grasa durante la niñez y adolescencia provoca que la liberación tónica de dopamina disminuya mientras que la liberación fásica aumente en la adultez lo que puede desencadenar comportamientos adictivos hacia los alimentos palatables y a través de la retroalimentación positiva, mantener el fenotipo obeso (Plaza-Briceño et al., 2023).

## **Receptor cinasa de linfoma anaplástico**

El receptor cinasa de linfoma anaplástico, anaplastic lymphoma kinase (ALK) por sus siglas en inglés es un receptor tirosina cinasa (RTK) unido a la membrana celular. El gen que codifica este receptor es de importancia médica debido a que comúnmente sufre eventos de translocación que resultan en proteínas con la capacidad de generar diferentes tipos de cáncer (Reshetnyak et al., 2021). Sin embargo, recientemente se ha observado que el gen ALK puede funcionar como un regulador importante del gasto energético y el metabolismo en mamíferos de manera similar a lo observado en *Drosophila* (De Munck et al., 2021) y que los RTK, como ALK, están implicados en trastornos neurodegenerativos y psiquiátricos como la depresión y las adicciones (Hamada & Lasek 2020)

Los RTKs regulan una variedad de procesos que incluyen la proliferación, diferenciación, supervivencia, metabolismo (Wintheiser & Silberstein, 2024) y recientemente se ha observado que existe una transactivación bidireccional con los GPCRs (Kilpatrick et al., 2021).

Los RTKs poseen un dominio extracelular de unión a su ligando, una región hidrófoba  $\alpha$ -hélice que corresponde a un único paso transmembranal y un dominio intracelular con actividad cinasa (Reshetnyak et al., 2021). ALK por ejemplo, cataliza la

transferencia de un grupo  $\gamma$ -fosfato del trifosfato de adenosina (ATP) hacia un residuo de tirosina en una proteína sustrato (Huang, 2018)

Desde 1970, la amplia investigación sobre los RTKs llevó a la identificación de la mayoría de sus ligandos, sin embargo ALK fue la excepción (Zhang et al. 2014; Katic & Prisca, 2023) por lo que hoy en día se conoce poco sobre ALK. La hibridación *in situ* de ALK en el sistema nervioso central demuestra que es expresado en regiones específicas como el tálamo, el cerebro medio y el bulbo olfatorio. Asimismo, los cerebros neonatales muestran un alta expresión de ALK, lo que sugiere su posible participación en el desarrollo del sistema nervioso y aunque el cerebro adulto también muestra una expresión de ALK en ciertas regiones, ésta es mucho menor que en el cerebro neonatal (Katic & Prisca, 2023). En resumen, ALK junto con su ligando ALKAL1, también llamado FAM150A o AUG $\beta$ , desempeñan un papel importante en el desarrollo y el funcionamiento normal del sistema nervioso central y periférico (Souttouet al., 2001; Guanet al., 2015).

Existen dos isoformas de ALK denominadas ALK-220 y ALK-140 de acuerdo a su respectivo peso molecular. ALK-220 es blanco de una proteólisis que da como resultado a ALK-140 y un fragmento de 80 kDa cuya actividad biológica es aún desconocida (Moog-Lutz et al., 2005). Se sabe que ALK-140 se asocia con mayor facilidad a D2R que ALK-220 y aunque se desconoce la razón exacta, se cree que es debido a que la estructura de ALK-140 favorece esta interacción (He & Lasek, 2019).

## **Inhibidores de ALK**

Después de que se describieran en el 2007 los mecanismos moleculares mediante los cuales la translocación de ALK provoca ciertos tipos de cáncer (Soda et al., 2007), se

comenzaron a desarrollar inhibidores de ALK como tratamiento para este tipo de padecimientos. En el 2010 se patentó crizotinib como el primer inhibidor de ALK que mostró ser más eficaz que el tratamiento de quimioterapia tradicional sobre tumores ALK positivos (Shaw et al., 2013). Sin embargo, pronto se descubrió que existían mutaciones resistentes a crizotinib por lo que se desarrollaron inhibidores de segunda y tercera generación buscando superar mecanismos de resistencia como la amplificación de ALK y mutaciones secundarias que confirieran mayor resistencia (Lu et al., 2022).

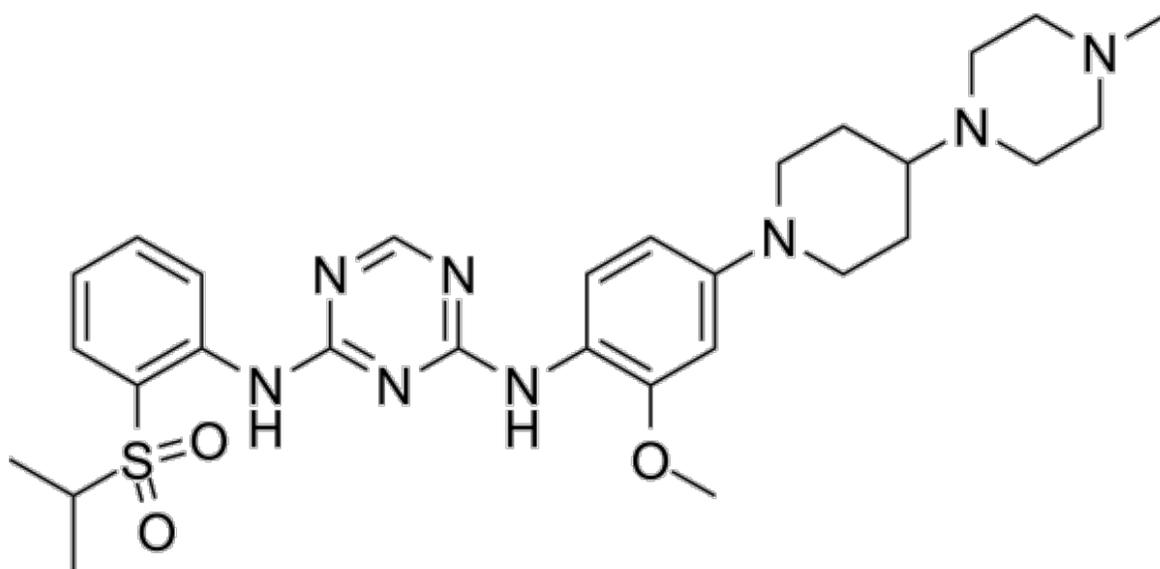


Fig.3. Estructura de ASP3026 (N-{2-Metoxi-4-[4-(4-metilpiperazina-1-il)]piperidin-1-il]fenil}-N'-[2-(propano-2-sulfonil)fenil]-1,3,5-triazina-2,4-diamine (14a). Inhibidor selectivo y oralmente activo de la cinasa de linfoma anaplásico (ALK). Compite con el sitio de unión al ATP. Tomado y adaptado de MedChem Express ASP3026 <https://www.medchemexpress.com/ASP3026.html>. Copyright © 2013-2024 MedChem-Express

## ASP3026

ASP3026 es un inhibidor selectivo de ALK de segunda generación descubierto por Ikubo K. y colaboradores en el 2017 mediante estudios de relación actividad-estructura de derivados de 1,3,5-triazina (Ikubo et al., 2018) (Fig. 3). Posee un peso molecular de 580.74 y es oralmente activo con un IC50 de 3.5 nmol/L para ALK, sin embargo, puede inhibir la fosforilación de otras cinasas de tirosina como IGF-R1, STAT3, AKT y JUNK a concentraciones de 100 y 1,000 nmol/L (George et al., 2014). *In vitro*, este fármaco inhibe la actividad de ALK en una manera dosis dependiente compitiendo por el sitio de unión a ATP (Moriet al., 2014). Actualmente se encuentra en fase I de ensayos clínicos verificando la seguridad para su uso en pacientes humanos.

La pérdida de apetito fue descrita como el segundo evento adverso más comúnmente reportado en un grupo de 29 pacientes japoneses (n= 10, 34.5%) con tumores sólidos que reciben tratamiento con ASP3026 (Ono et al., 2021).

## Antecedentes

Lasek y colaboradores demostraron en el 2011 que los ratones knock-out del receptor  $\alpha$  a estrógenos (ER $\alpha$ ), el cual regula la transcripción de varios genes entre ellos ALK, muestran una mayor sensibilización a la cocaína y una preferencia de lugar condicionada por la misma, además de un aumento en la expresión de ALK en el núcleo accumbens (Lasek et al., 2011).

En este mismo estudio se observó que de manera normal, las neuronas del ATV son inhibidas por acción de la dopamina liberada sobre el receptor tipo 2 (D2R), sin embargo, esta inhibición disminuye con el paso del tiempo en presencia continua de dopamina debido a la internalización de D2R. No obstante, el tratamiento con el inhibidor de ALK, TAE684, mantiene la inhibición inicial. Este fue el indicio de que, de alguna forma, ALK pudiera estar asociado con la desensibilización de D2R en el ATV, sin embargo aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual ALK es activado por D2R (Dutton et al., 2017).

Una propuesta es que, así como D2R activa al receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) promoviendo la conversión de su forma inactiva a la forma activa, D2R promueve la conversión de ALK-220 a ALK-140 o bien, promueve la síntesis de su ligando, ALKAL1 (He & Lasek, 2019). Otra propuesta es que la fosforilación de D2R, produce especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden inactivar fosfatasa de tirosina, las cuales regulan la actividad de los RTKs (Esposito et al., 2003; He & Lasek, 2019).

En el 2019, He y Lasek, demostraron mediante un modelo *in vitro* que la inhibición de ALK logra evitar por completo la internalización de D2R en presencia de dopamina. De

la misma forma, observaron que inhibidores de la proteína cinasa C (PKC) como Go6976 mantienen las concentraciones de D2R en membrana, por lo que una posible vía de señalización para que ALK internalice a D2R, involucra a PKC (He & Lasek 2019). De esta manera, los investigadores propusieron un modelo en el cual, tras la unión de dopamina a D2R, ALK es fosforilado y mediante la cascada de señalización de ALK se activa a GRK2 quien a su vez fosforila regiones de D2R las cuales son

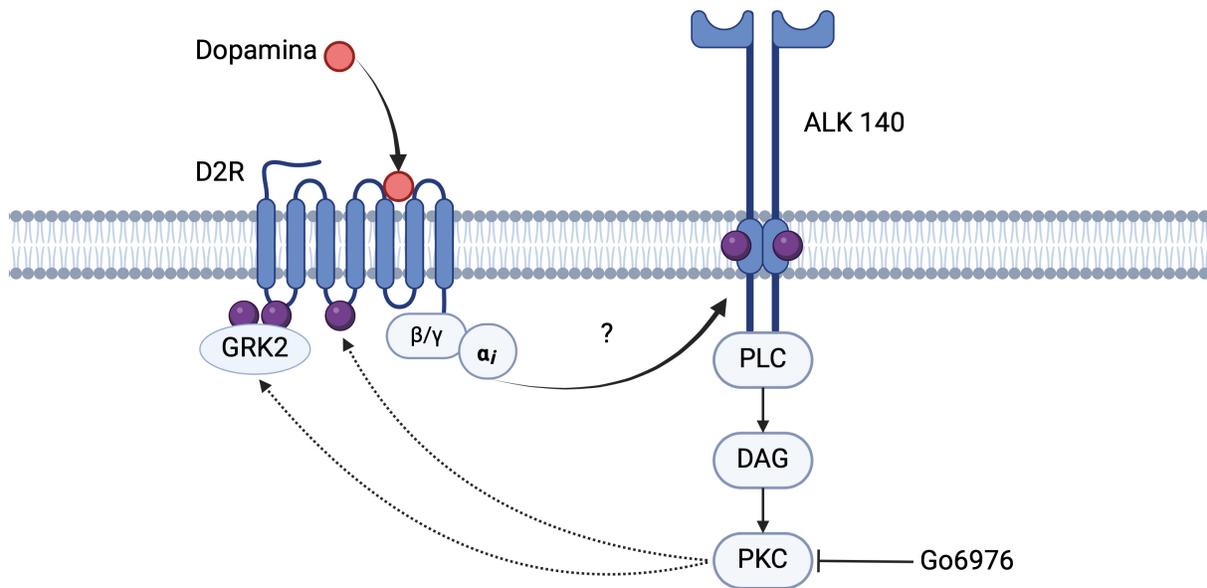


Fig.4 Mecanismo molecular mediante el cual ALK induce la internalización de D2R. La dopamina se une a D2R provocando la separación de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta / \gamma$ . El mecanismo por el cual D2R provoca la fosforilación (esferas moradas) de ALK no se conoce del todo aunque se han propuesto algunas teorías. Una vez que ALK 140 es fosforilado, PKC es activado mediante la fosfolipasa C (PLC) y el diacilglicerol (DAG). PKC a su vez activa a GRK2 que fosforila a D2R en sitios reconocidos por las  $\beta$ -arrestinas, o bien, PKC fosforila directamente residuos en el tercer loop intracelular que inducen la internalización, desensibilización y la subsecuente recuperación en la liberación de dopamina. Go6976, un inhibidor de PKC, reduce la tasa de internalización de D2R en presencia de DA por la activación de ALK-140. Tomado y modificado de: He & Lasek, 2019. Creado en BioRender.com

reconocidas por  $\beta$  arrestinas que median su endocitosis en asociación con ALK para su degradación lisosomal (He & Lasek 2020) (Fig. 4).

Por otro lado, un estudio de asociación de todo el genoma (Genome-wide association study, GWAS) muestra que existe una correlación entre variantes genéticas del gen ALK y un fenotipo de delgadez en humanos. Asimismo, los ratones knock-out ALK<sup>-/-</sup> no desarrollan obesidad al ser expuestos por 16 semanas a una dieta alta en grasas (HFD) en comparación con ratones ALK<sup>+/+</sup> (Orthofer et al., 2020).

En el 2017, Dutton y colaboradores lograron disminuir el consumo de etanol en ratones bajo un modelo de consumo tipo atracción administrando dos inhibidores de ALK, TAE684 y Alectinib, en experimentos aislados. Asimismo, el tratamiento con estos inhibidores logra abolir por completo la preferencia de lugar condicionado al alcohol después de haber sido establecida (Dutton et al., 2017).

## **Planteamiento del problema**

Diferentes evidencias apuntan a que la internalización de D2R en el NAc causada por una constante liberación de dopamina (Nimitvilai et al., 2014; Sander et al., 2016; He & Lasek., 2020; Oceau et al., 2014) participa en el desarrollo de hiperfagia por consumo de alimentos palatables (Wiss et al., 2017). Sin embargo, no se han realizado estudios que muestren que la inhibición de dicha internalización en el NAc pudiera evitar un consumo desmedido de estos alimentos y generar las bases para el desarrollo de terapias encaminadas a disminuir la prevalencia de obesidad inducida por consumo desmedido de alimentos palatales.

## Justificación

La obesidad es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial por el riesgo a desarrollar enfermedades como diabetes tipo II, hipertensión y enfermedades cardiovasculares entre otras y los costos a los sistemas de salud que esto implica. Un factor importante para su desarrollo es el consumo en exceso de alimentos palatables.

El consumo constante de alimentos palatables lleva a un individuo a experimentar una sensación gratificante y a la activación del sistema de recompensa, que eventualmente anula las señales de hambre y saciedad lo que provoca el sobre consumo de alimentos que llevan al desarrollo de sobrepeso y obesidad (Singh, 2014).

Aunado a esto, existen factores genéticos, ambientales y sociales que afectan la transmisión dopaminérgica y están asociados con el riesgo para el desarrollo de adicciones (Triffilief et al., 2017), tanto al consumo de alimentos como al de drogas de abuso por lo que ambos procesos comparten los mismos mecanismos (Finlayson, 2017).

Por ejemplo, se ha observado una disminución en el metabolismo basal del estriado y de la corteza prefrontal así como alteraciones en la transmisión dopaminérgica y una sobre activación de áreas del sistema de recompensa en respuesta a señales asociadas a alimentos palatables en personas con obesidad (Val-Laillet et al., 2015).

Los antecedentes muestran que el consumo de alimentos palatables facilita la internalización de D2R y la evidencia indica que ALK participa en ese proceso, por lo que se justifica la administración de un inhibidor de ALK en el NAc para observar si la conducta alimentaria se ve modificada a consecuencia de que la internalización de

D2R sea inhibida lo que podría contribuir al desarrollo de terapias para padecimientos altamente prevalentes en México como la diabetes tipo II, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

# Hipótesis

La administración del inhibidor de ALK, ASP3026, en el núcleo accumbens de ratas Wistar macho prevendrá la internalización del receptor a dopamina D2R y reducirá el consumo de dieta de cafetería en los animales.

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar el efecto de la inhibición de ALK sobre la internalización del receptor a dopamina tipo 2 del núcleo accumbens de ratas macho y su asociación con el consumo de una dieta de cafetería.

### Objetivos específicos

1. Evaluar la internalización del receptor D2R en el núcleo accumbens de ratas Wistar macho tras la administración del agonista a dopamina, clorhidrato de quinpirol.
2. Analizar el efecto del inhibidor de ALK, ASP3026, en la internalización de D2R en el núcleo accumbens de ratas Wistar macho tras la administración del agonista clorhidrato de quinpirol.
3. Diseñar dos dietas de cafetería isocalóricas que tengan una distribución similar de macronutrientes.
4. Analizar el consumo de alimento entre ratas Wistar macho a las que se les administre el inhibidor de ALK, ASP3026 en el núcleo accumbens en comparación con el grupo control al que se le administrará vehículo.
5. Analizar la internalización del receptor D2R en el núcleo accumbens de ratas Wistar macho alimentadas con dieta de cafetería tratadas con el inhibidor de ALK, ASP3026 vs con su grupo control utilizando para ello la técnica de Western Blot.

# Material y métodos

## Material biológico

Ratas Wistar macho adultas (n=84) de 250-300 g, de aproximadamente 10 semanas de edad, provenientes de diferentes camadas del Bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” (INPRFM) se mantuvieron en pares por caja para prevenir estrés por aislamiento, con un ciclo invertido de luz/obscuridad de 12 h (19:00 -7:00), temperatura constante ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y 40% de humedad relativa. Se mantuvieron con acceso *ad libitum* a una dieta estándar (LabRodentDiet 5001; PMI Feeds, MO, USA) y a agua por una semana hasta que se inició con los experimentos. Las dietas y los tratamientos fueron aprobados por el comité de ética (CEI/C/039/2023) y el comité interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) del INPRFM de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999.

## Microinyección de Quinpirol

Para encontrar una dosis de clorhidrato de quinpirol que induzca una internalización significativa de D2R los animales (n=40) fueron anestesiados con una inyección intramuscular de ketamina 98 mg/kg de peso corporal (Cheminova 10 ml Ciudad de México, México) y xilazina 12.5 mg/kg (PROCIN Pisa 25 ml Guadalajara, México) y se colocaron en un aparato estereotáxico.

Se insertó un microinyector de acero inoxidable (28G) unilateralmente en el NAc en la porción Shell (+1.5 mm AP, +1.5 mm ML y -7.0 mm DV respecto a bregma) de acuerdo al atlas de coordenadas estereotáxicas del cerebro de rata (Paxinos & Watson 2009) y se administraron 0.5  $\mu\text{L}$  de vehículo (n=10) (solución salina NaCl al 0.9%,) o una de tres

dosis diferentes (0.04  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 0.4  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  y 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , n=10/dosis) de clorhidrato de quinpirol (p.m. 275.79 SC-253339 Santa Cruz Biotechnology, Inc., TX, USA) con una bomba de infusión (KdScientific, Legato100, MA, USA) a una velocidad de 0.50  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Después de la administración, el micro inyector se mantuvo en su lugar durante 60 segundos permitiendo la difusión del líquido. Inmediatamente después, se decapitó a los animales y se disectó el cerebro para congelarlo a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis posterior. La internalización de D2R se midió mediante Western Blot de las fases membranal y citosólica del NAc.

### **Microinyección de ASP3026**

Una vez que se obtuvo la dosis de quinpirol (0.6  $\mu\text{g}$ ) que indujera significativamente la internalización de D2R, se pusieron a prueba diferentes dosis de ASP3026 que lograran inhibir esa internalización. Para ello, los animales (n=20) se anestesiaron con una inyección intramuscular de 98 mg/kg de peso corporal de ketamina (Cheminova 10 ml Ciudad de México, México) y 12.5 mg/kg de xilazina (PROCIN Pisa 25 ml Guadalajara, México) y se colocaron en un aparato estereotáxico.

Se colocó unilateralmente una cánula guía de acero inoxidable (23G) en el NAc (+1.5 mm AP, +1.5 mm ML y -7.0 mm DV respecto a bregma) siguiendo el atlas de coordenadas estereotáxicas del cerebro de rata (Paxinos & Watson 2009). Se insertó un inyector (28G) unido a una jeringa Hamilton de 5  $\mu\text{L}$  en la cánula y se inyectaron 0.5  $\mu\text{L}$  de vehículo (sulfóxido de dimetilo 99,5%, DMSO, n=5) (D5879-100 mL Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) o una de tres dosis diferentes (0.4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 4.0  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  y 20  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , n=5/dosis) de ASP3026 (p.m. 580,74 HY-13326 MedChemExpress NJ, USA) con una bomba de infusión (KdScientific, Legato100, MA, USA) a una velocidad de 0.5

$\mu\text{L}/\text{min}$ . Después de la administración, la cánula se mantuvo en su lugar durante 5 minutos permitiendo la difusión del fármaco. El inyector se retiró cuidadosamente de la cánula y se insertó un inyector diferente (28G) unido a una jeringa Hamilton de 5  $\mu\text{L}$  administrándose 0.5  $\mu\text{L}$  de clorhidrato de quinpirol (p.m. 275.79 SC-253339 Santa Cruz Biotechnology, Inc., TX, EE. UU.) a una dosis de 1.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  con una bomba de infusión (KdScientific, Legato100, MA, USA) y con una velocidad de 0.5  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Después de la administración, la cánula se mantuvo en su lugar durante 60 segundos para permitir que el volumen se difundiera. Inmediatamente después, los animales se decapitaron, el cerebro se disectó y se congeló a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis posterior. La internalización de D2R se evaluó mediante un Western Blot de las fases membranal y citosólica del NAc.

## **Dietas y consumo de alimento**

Para poner a prueba el efecto de ASP3026 sobre la conducta alimentaria, una vez que obtuvimos la dosis de ASP3026 que inhibiera la internalización de D2R (2.0  $\mu\text{g}$ ), se diseñaron dos dietas de cafetería diferentes con una distribución similar de macronutrientes, con variedad de texturas y sabores para evitar la habituación y promover la novedad utilizando productos comercialmente disponibles representativos de alimentos altamente palatables y con un alto contenido energético.

La dieta denominada "A" (botana de maíz con queso, malvaviscos, donitas cubiertas de azúcar y jamón de cerdo) con una densidad energética de 4 Kcal/g y la dieta llamada "B" (totopos de maíz sin sal, barra de chocolate con cacahuetes y caramelo, bizcocho con crema sabor fresa y salchicha de cerdo) con 3.6 Kcal/g se administraron

de manera alternativa junto con pellets de comida estándar (LabRodentDiet 5001; PMI Feeds, Brentwood, MO, USA) durante 5 días.

## **Inyección de ASP3026 en el NAc de animales con CAFD**

Para poner a prueba el efecto de ASP3026 sobre la internalización de D2R y sus efectos en la conducta alimentaria, los animales (n= 12) fueron anestesiados con una inyección intramuscular de ketamina 98 mg/kg de peso corporal (Cheminova 10 ml Ciudad de México, México) y xilazina 12.5 mg/kg (PROCIN Pisa 25 ml Guadalajara, México) y se colocaron en un aparato estereotáxico.

Se implantó una cánula guía de acero inoxidable (23G) unilateralmente en el NAc (+1,5 mm AP, +1,5 mm ML y -7,0 mm DV respecto a bregma) de acuerdo al atlas de coordenadas estereotáxicas del cerebro de rata (Paxinos & Watson 2009). Cada animal fue suturado y se le aplicó Barmicil tópicamente (50mg de betametasona, 1mg de clotrimazol y 0.1 mg de gentamicina) (SON'S Puebla, México). Los animales se alojaron individualmente y se mantuvieron en observación durante tres días después de la cirugía. Siete días después de la cirugía, una vez que el consumo de alimento de los animales fue igual al anterior de la misma, se comenzó a ofrecer la CAFD.

Diariamente se colocaron 10 g de cada producto (40 g de CAFD en total) y 40 g de dieta estándar a cada animal al comienzo de la fase de actividad de los animales (+0h) y el remanente de cada producto se pesó 24 horas más tarde durante cinco días. La dieta A se ofreció en los días nones y la dieta B en los días pares. En los días 2, 3 y 4, dos h antes del inicio de la fase de actividad, se insertó un inyector (28G) unido a una jeringa Hamilton de 5  $\mu$ L en la cánula para administrar el vehículo (0.5  $\mu$ L DMSO n=4) ó

0.5  $\mu\text{L}$  de ASP3026 (n=8) (p.m. 580.74 HY-13326 MedChemExpress NJ, USA) a una dosis de 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .

En el día 5, dos horas después del comienzo de la fase de actividad de los animales, fueron decapitados y los cerebros se extrajeron y congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis posterior. La internalización de D2R se midió mediante la técnica de Western Blot de las fases membranal y citosólica del NAc.

## **Western Blot**

Para realizar una estandarización de la separación de fases membranal y citoplásmica del NAc, se disectaron manualmente sobre hielo seco los NAc de 12 ratas naive de acuerdo al Atlas de coordenadas estereotáxicas del cerebro de rata (Paxinos & Watson, 2009) y usando como referencia estructuras asociadas al NAc (tubérculos olfatorios, comisura anterior, el cuerpo calloso). Se obtuvo la fase citosólica de cada NAc agregando 90  $\mu\text{l}$  de buffer de EDTA, 10  $\mu\text{L}$  de sacarosa al 10% y 1  $\mu\text{L}$  del inhibidor de proteasas (Roche cOmplete 12352200 Mannheim, Alemania) homogeneizándose por ultrasonificación. Las muestras se dejaron en reposo 25 min a  $4^{\circ}\text{C}$  y posteriormente se centrifugaron a 15,000 x g durante 60 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . Se recolectó el sobrenadante.

La fase membranal se obtuvo homogeneizando el pellet restante mediante ultrasonificación con 44  $\mu\text{L}$  de buffer de EDTA, 5  $\mu\text{L}$  de deoxicolato de sodio, 1  $\mu\text{L}$  de Nonidet P40 y 1  $\mu\text{L}$  del inhibidor de proteasas (Roche cOmplete 12352200 Mannheim, Alemania). Se mantuvo cada muestra en reposo 60 min a  $4^{\circ}\text{C}$  en agitación y se centrifugaron a 15,000 x g durante 60 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . Se recolectó el sobrenadante de cada muestra, obteniendo una alícuota de 1  $\mu\text{L}$  para la determinación de proteínas utilizando el método de Lowry (Lowry, 1951).

Después de haber sido separadas, las fases citosólica y membranal de 4 animales se juntaron nuevamente para obtener la totalidad de proteínas. Al final se obtuvieron 8 fases citosólicas, 8 fases membranales y 4 fases membranales y citosólicas juntas. La división de fases se corroboró mediante su análisis utilizando la técnica de Western blot para  $\beta$  actina.

Una vez que se estandarizó la técnica, los NAc de los experimentos anteriores fueron disectados de los cerebros congelados de la misma forma descrita anteriormente siguiendo las coordenadas del atlas de las coordenadas estereotáxicas del cerebro de rata (Paxinos & Watson 2009). Se cargaron 30  $\mu$ g de proteína de cada muestra diluida en buffer Laemli a una concentración de 1:1 en pozos de geles SDS PAGE de glicina al 20%. La escalera de proteínas preteñidas (Bio Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) se incluyó en un carril adicional utilizándose como marcador de masa molecular. Después de la electroforesis (20% de poliacrilamida, 90 min, 100 V), las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Hybond-C extra AMERSHAN, Buckinghamshire, UK) (0.18 mAh durante 90 min) y se bloquearon con una solución de albúmina sérica bovina al 5% (PBS 1X Tween 20 0.05%). Las membranas se incubaron con un anticuerpo primario de conejo contra D2R (1:1,000, PA5-115142, Thermo Fisher Scientific, MA, USA) durante 36 h a 4°C y se visualizaron con un anticuerpo secundario anticonejo ligado a la peroxidasa de rábano (1:10.000, ab6721, Abcam, Cambridge, Reino Unido) durante 1 hora a temperatura ambiente y un kit de detección de luminol (Inmuno-Cruz, sc-2048, Santa Cruz, TX, USA).

Las membranas se lavaron durante 10 min con PBS 1X y Tween 20 0.25% a temperatura ambiente y se incubaron con anticuerpos contra  $\beta$  actina obtenido de

ratón (1:1,000, sc47778, Santa Cruz, TX, USA.) durante 12 h a 4°C y se visualizaron con un anticuerpo secundario anti ratón ligado a la peroxidasa de rábano (1:10,000, sc2005 Santa Cruz, TX, USA.) durante 1 h a temperatura ambiente y el kit de detección de luminol (Inmuno-Cruz, sc-2048, Santa Cruz, TX, USA).

## **Análisis y cuantificación de imágenes**

La internalización relativa de D2R se calculó dividiendo la densidad de las bandas correspondientes a la concentración citosólica de D2R entre la concentración membranal, usando como referencia la densidad de las bandas representativas de la concentración de  $\beta$ -actina y asumiendo que el aumento de la concentración de D2R en el citosol respecto a la concentración en la membrana implicó mayor internalización. (D2R citosólico /  $\beta$ -actina) / D2R membranal).

Todas las imágenes de bandas se obtuvieron con el sistema quimioluminiscente Invitrogen iBright CL1000, (MA, USA). Para el análisis semi cuantitativo de densitometría se utilizó el programa ImageJ versión 2.1.0/1.53c (WI, USA).

## **Análisis estadísticos**

La prueba estadística de Kruskal-Wallis es una prueba no paramétrica que permite diferenciar si las poblaciones de datos se originan de la misma distribución. Las comparaciones analizadas con Kruskal-Wallis fueron: 1) Concentración de  $\beta$ -actina entre las fases membranal, citosólica y el total de proteínas (completa n=4, membranal n=8, citosólico n=8) ; 2) Internalización relativa, (como se definió anteriormente) de D2R después de la administración de clorhidrato de quinpirol (0.0  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 0.04  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 0.4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  y 4.0  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  n=10/dosis); 3) Internalización relativa de D2R después de la

administración de ASP3026 y clorhidrato de quinpirol (0.0 µg/µL, 0.4 µg/µL, 4.0 µg/µL y 20 µg/µL de ASP3026 + 0.6 µg de clorhidrato de quinpirol para cada dosis n=5/dosis). Debido a que la prueba de Kruskal-Wallis no identifica entre qué grupos existe la diferencia, cuando los resultados fueron estadísticamente diferentes  $p < 0.05$ , los datos fueron analizados por una prueba post hoc de Dunn. Las comparaciones analizadas con ANOVA de medidas repetidas fueron: 1) Consumo de CAFD bajo la administración de ASP3026 o vehículo cada 24 h durante 5 días (ASP3026 n=10, vehículo n=6). Las comparaciones analizadas con ANOVA de una vía fueron: 1) Internalización relativa de D2R después del consumo de CAFD y la administración de ASP3026 contra el consumo de CAFD y la administración de vehículo (ASP3026 n=10, vehículo n=6).

Se consideró como diferencia estadística cuando  $p < 0.05$ . Todos los análisis se realizaron con PRISMA 8.1 2019 GraphPad Software, MA, USA.

# Resultados

## Separación de fases

Con el objetivo de estandarizar la separación de fases membranal y citoplásmica del NAc se analizó la concentración de  $\beta$ -actina en las diferentes fases. Los resultados mostraron que la concentración de  $\beta$ -actina en la fase membranal disminuyó 69% respecto a las proteínas totales del NAc después de la separación de fases (Fig 5). Por otro lado, la concentración de  $\beta$ -actina de la fase citosólica fue tan sólo 1.6% menor a la concentración del total de proteínas (Fig 5). Este resultado indicó que el método de separación de fases fue efectivo para la cuantificación del receptor de DR2 por western blot.

## Curva dosis respuesta al clorhidrato de quinpirol

La hipótesis del estudio supone que una liberación constante y elevada de dopamina en el NAc provocada por el consumo de alimentos palatables induce la internalización del receptor D2. Como experimento control se decidió administrar diferentes dosis de un agonista del receptor D2R (clorhidrato de quinpirol) en el NAc y observar su efecto a fin de estandarizar la internalización mediante una curva dosis respuesta sobre la internalización del receptor y de esta forma seleccionar una dosis adecuada para poner a prueba el efecto inhibitorio de ASP3026.

En la figura 6 se observa en las barras la creciente internalización relativa del receptor a dopamina tipo 2 (D2R) en el NAc conforme se aumentó la dosis de clorhidrato de quinpirol en los diferentes grupos, mientras que en los blots se observa la disminución de la presencia de D2R en la fase membranal. Es decir, las barras representan la

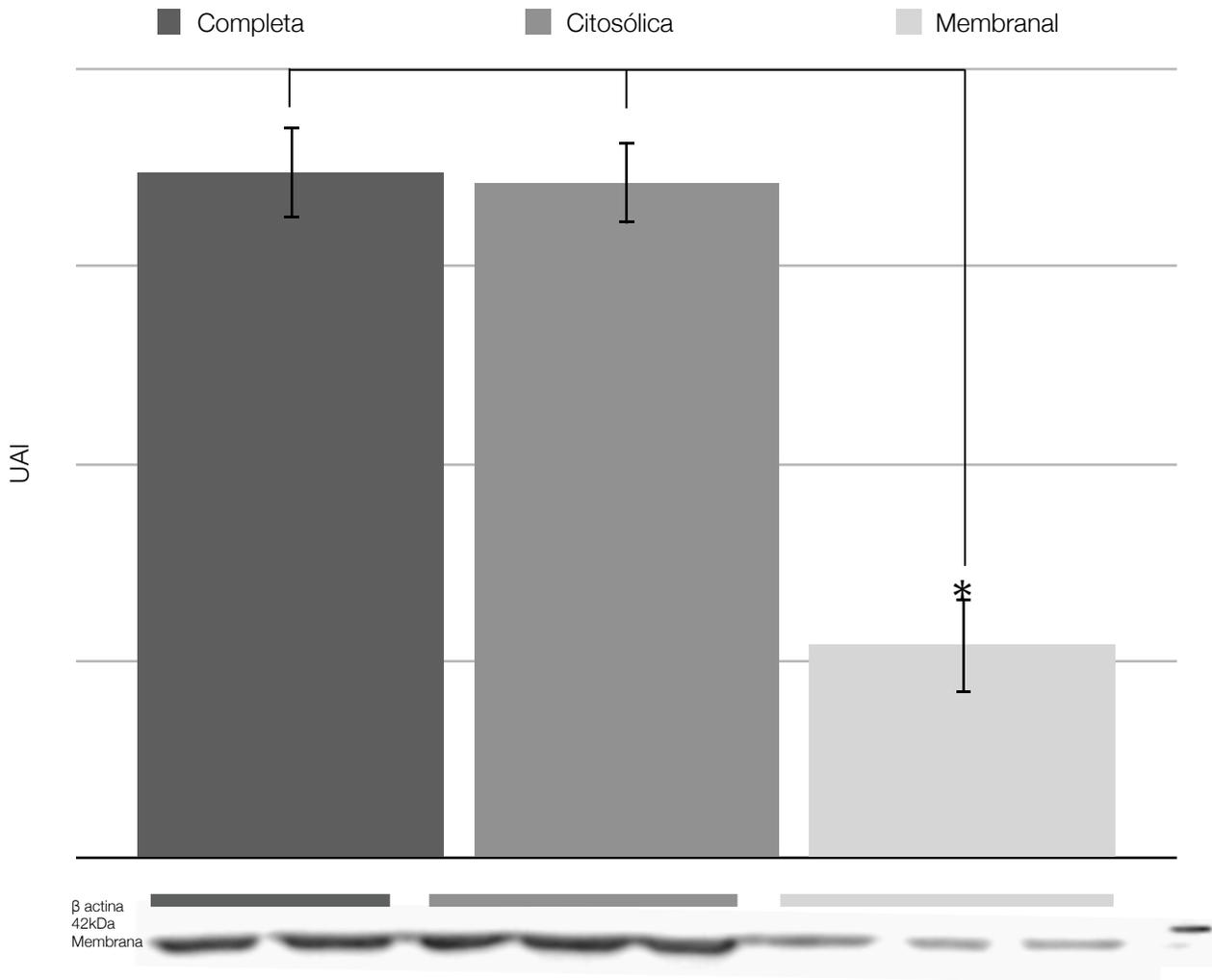


Fig.5 Promedio de la densidad de las bandas de  $\beta$ -actina de las fracciones citosólica, membranar y la unión de ambas. Abajo se observa un blot representativo de  $\beta$ -actina de cada uno de los grupos (completa n= 4, citosólica n=8 y membranar n=8). Las dos primeras bandas representan la célula completa, las siguientes tres la fase citosólica y las últimas tres la fase membranar. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar \* $p < 0.05$  vs membranar Kruskal Wallis post hoc Dunn.

internalización relativa, mientras que los blots representan la presencia de D2R en la membrana.

La relación de la densidad entre las regiones citosólica y membranar de D2R después de la administración de clorhidrato de quinpirol fue 235% y 358% más alta a dosis de 0.2  $\mu$ g y 2.0  $\mu$ g respectivamente en comparación con la observada en el grupo control

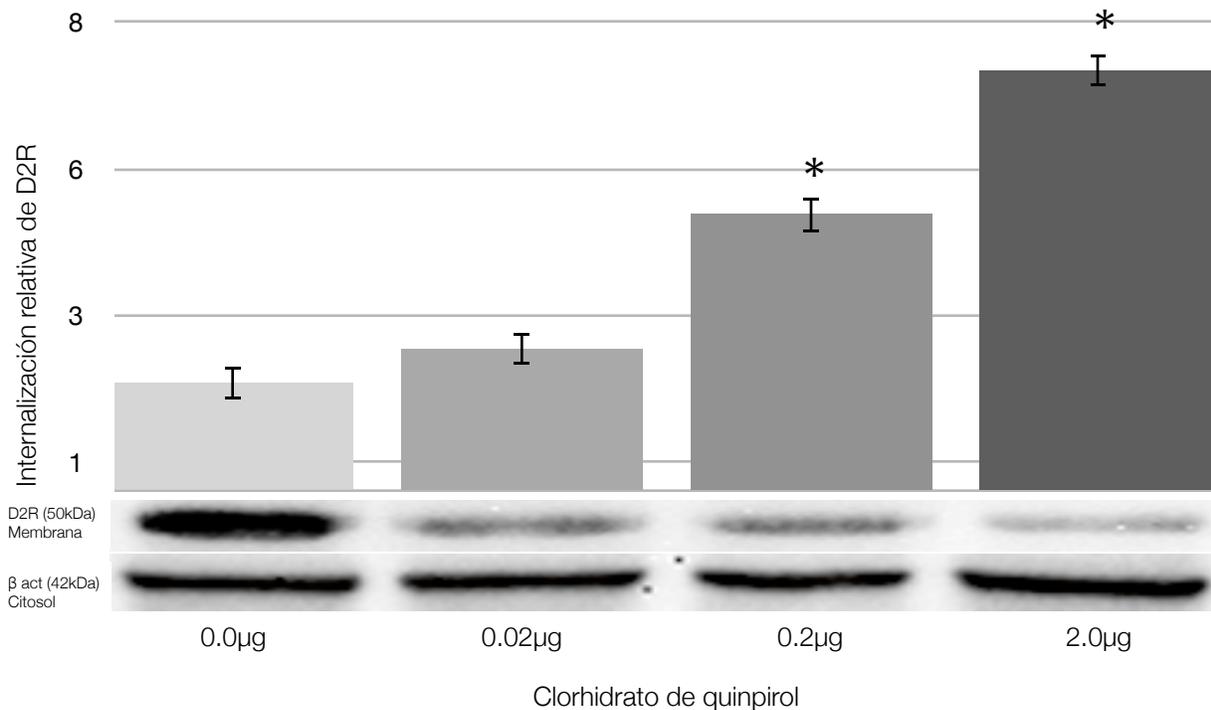


Fig.6 Internalización relativa de D2R después de la administración de 0.0, 0.02, 0.2 y 2.0 µg de clorhidrato de quinpirol o solución salina al 0.9% como vehículo en el NAc (n=10 / grupo). Abajo un blot representativo de la concentración de D2R (50kDa) en la fase membranal y un blot de β-actina como control de carga. A medida que aumenta la internalización relativa (barras), la presencia de D2R en la membrana disminuye (bandas). Media ± error estándar \*p>0,05 vs 0.0 µg Kruskal-Wallis post hoc Dunn.

administrado con solución salina 0.9% (vehículo) (Fig. 6). La curva dosis-respuesta mostró que la concentración efectiva de quinpirol para la internalización de D2R comenzó con 0.2 µg. Después de eso, la curva no aumentó significativamente (Fig. 7).

### Curva dosis respuesta ASP3026

Debido a que no existe bibliografía publicada en relación a la administración intracerebral del inhibidor de ALK, ASP3026, decidimos realizar una curva dosis respuesta con concentraciones crecientes del inhibidor en presencia de la dosis efectiva de quinpirol identificada previamente. La figura 8 muestra que la inhibición de

la internalización relativa D2R inducida con 0.6  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de quinpirol fue evidente a partir de 2  $\mu\text{g}$  de ASP3026, disminuyendo un 24% y un 35% a las dosis de 2  $\mu\text{g}$  y 10  $\mu\text{g}$ , respectivamente. La densitometría cuantitativa del western blot mostró una mayor densidad de D2R en la fase membranal a dosis de 2  $\mu\text{g}$  y 10  $\mu\text{g}$  en comparación con la del grupo de control (0.6  $\mu\text{g}$  de quinpirol y DMSO) (Fig 8). En conclusión, se eligió la dosis de 2  $\mu\text{g}$  de ASP3026 como la óptima para inhibir la internalización de D2R. Cabe resaltar que la concentración efectiva de ASP3026 es igual a su constante de disociación (3.5 nM) o 2  $\mu\text{g}$  (Fig 9).

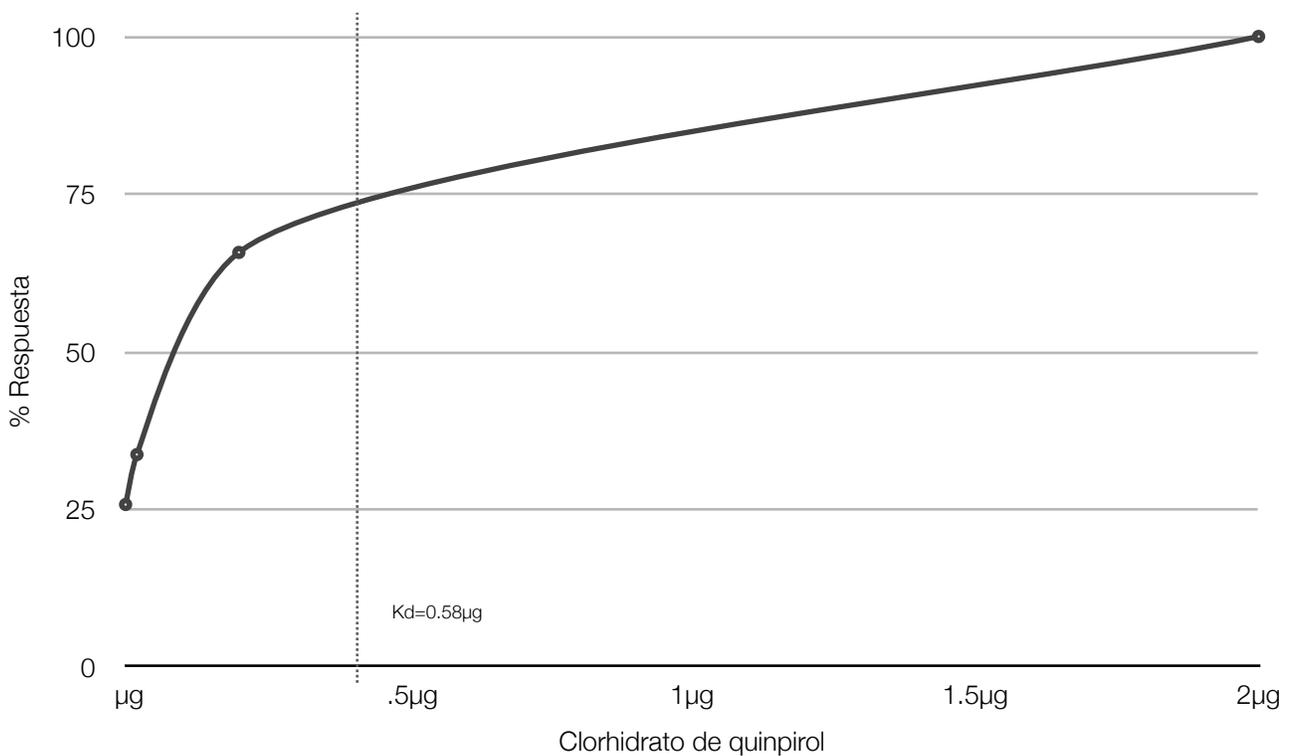


Fig.7 Curva dosis respuesta del clorhidrato de quinpirol. Porcentaje de internalización relativa de D2R al aumento de las concentraciones de clorhidrato de quinpirol (0.0, 0.02, 0.2 y 2.0  $\mu\text{g}$ ). La línea punteada representa la constante de disociación del quinpirol 0.58  $\mu\text{g}$  ( $2,3 \pm 0,3$  nM).

## Efectos del inhibidor ASP3026, en la conducta alimentaria

Las ratas fueron alimentadas con CAFD durante cinco días; en los dos primeros días en los que no se administró ni ASP3026 ni vehículo, se observó que la ingesta total de alimentos fue igual entre los grupos (Fig 10). Al inicio del día 2 se administró una dosis de 2  $\mu\text{g}$  de ASP3026 o vehículo 2 h antes del inicio de su fase de actividad y por lo tanto del consumo de alimento. El procedimiento se repitió cada 24 h durante dos días

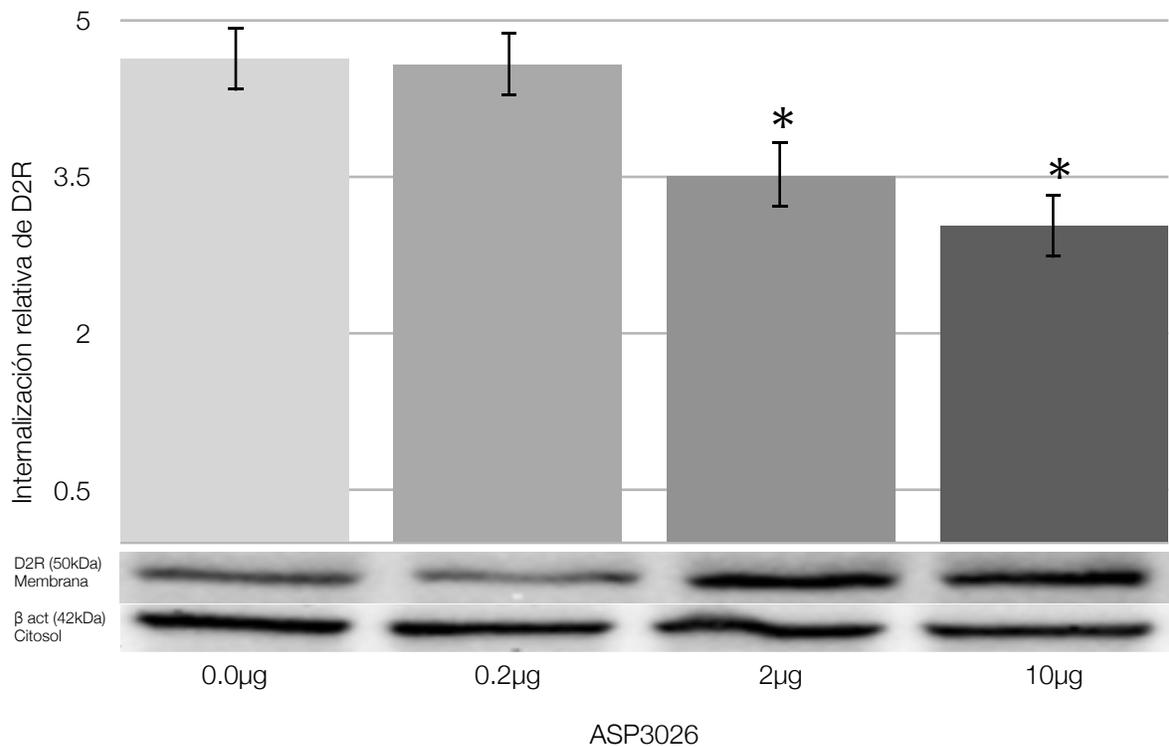


Fig.8 Internalización relativa de D2R después de la administración de concentraciones crecientes de ASP3026 (0.0, 0.2, 2.0 y 10  $\mu\text{g}$ ) o DMSO como vehículo antes de recibir la inyección de 0.6  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de quinpirol en el NAc. Abajo un blot representativo de la concentración de D2R (50 kDa) en la fase membranal y un blot de  $\beta$  actina como control de carga. A medida que la internalización relativa disminuye (barras), la presencia de D2R en la membrana aumenta (bandas). n=10/grupo. Promedio  $\pm$  error estándar \* $p > 0,05$  frente a 0,0  $\mu\text{g}$  Kruskal-Wallis post hoc Dunn.

consecutivos (días 3 y 4). El registro de la ingesta de alimento de los animales tratados con ASP3026 mostró una disminución en promedio de 17.6%, 15.8% y 30.2% en el segundo y tercer día, respectivamente (Fig. 10). Los animales fueron sacrificados el quinto día al comienzo de su fase de actividad.

La administración de 2  $\mu\text{g}$  de ASP3026 fue capaz de inhibir la internalización relativa de D2R en promedio 79% (Fig 11), lo que correlacionó con la reducción de la ingesta de CAFD durante los tres días consecutivos en los que se administró ASP3026.

En conjunto, los resultados de este trabajo muestran que la administración intracerebral del inhibidor de ALK, ASP3026, previene la internalización de D2R en el NAc en presencia de su agonista, el clorhidrato de quinpirol. Asimismo, que la administración intracerebral en el NAc de 2.0  $\mu\text{g}$  de ASP3026, reduce la internalización de D2R en aquellos animales que fueron alimentados con una CAFD, en comparación

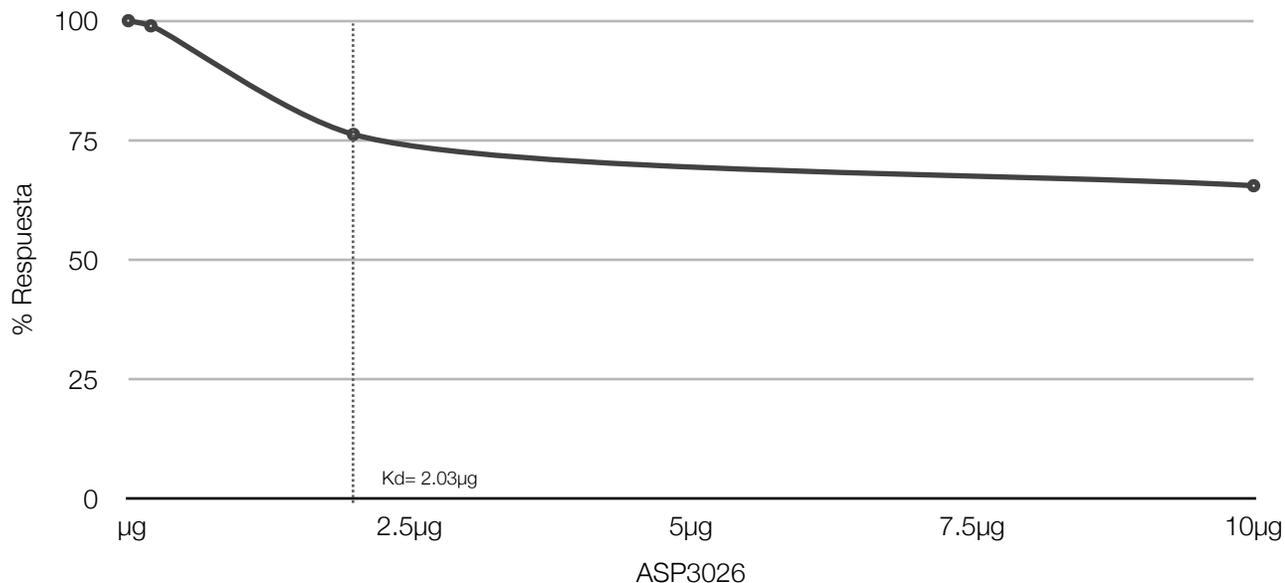


Fig.9 Curva dosis respuesta de ASP3026. Porcentaje de internalización relativa de D2R a dosis crecientes de ASP3026 (0.0, 0.2, 2.0 y 10.0  $\mu\text{g}$ ) administradas antes de la administración de 0.6  $\mu\text{g}$  de quinpirol. La línea punteada representa la constante de disociación de ASP3026 2.03  $\mu\text{g}$  (3.5 nM).

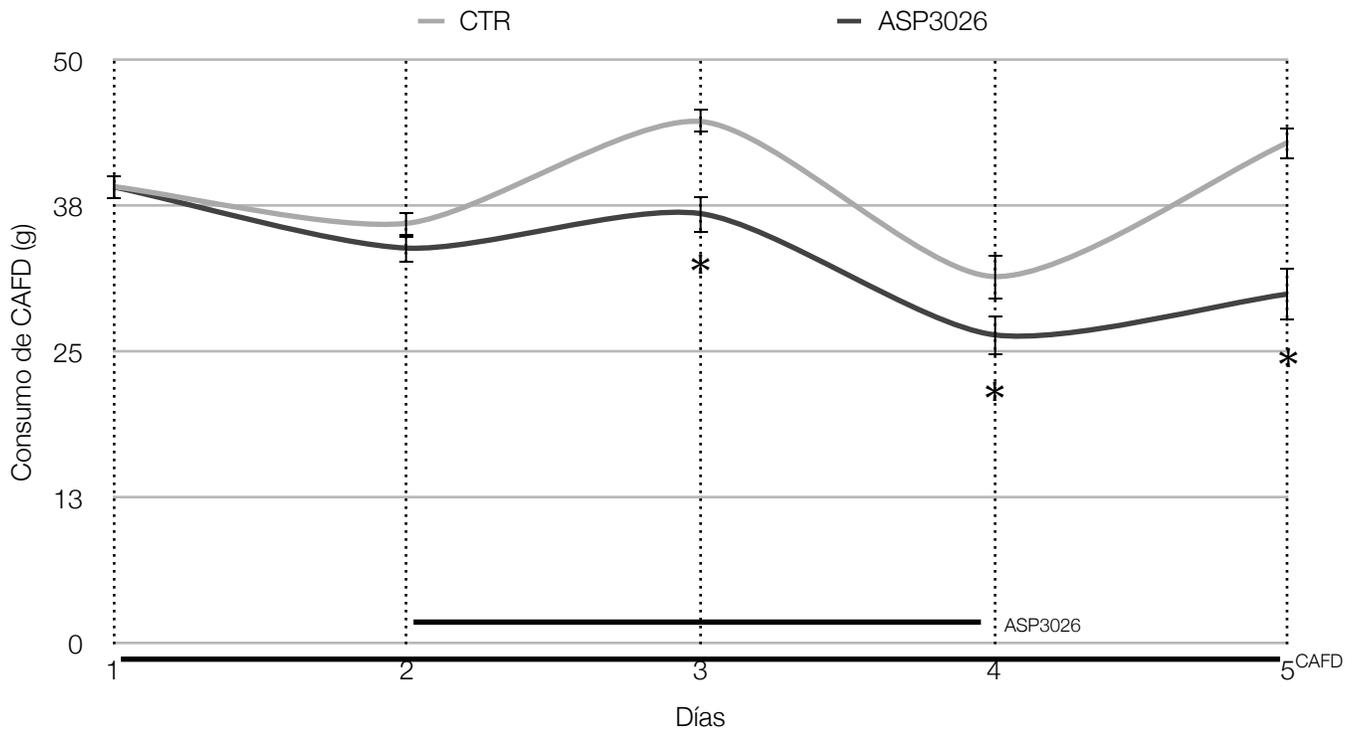


Fig.10. Efecto de la administración intra-acumbens de 2.0  $\mu\text{g}$  de ASP3026 (n=10) o 0.5  $\mu\text{l}$  de DMSO (n=6) como vehículo sobre la conducta alimentaria. Se registró la ingesta de CAFD 24 horas después del inicio de la fase de actividad por 5 días. El ASP3026 se administró por tres días consecutivos en los días 2, 3 y 4 y sus efectos se observaron en los días 3, 4 y 5, 24 horas después de cada administración. Los animales estaban alojados individualmente. Promedio  $\pm$  error estándar \*  $p < 0,05$  ANOVA-RM.

con aquellos animales que consumieron la misma dieta pero se les administró vehículo. De la misma manera, la administración intracerebral en el NAc de 2.0  $\mu\text{g}$  de ASP3026 redujo el consumo de alimento palatable en un período de 24 horas en comparación con los animales a los que se les administró vehículo.

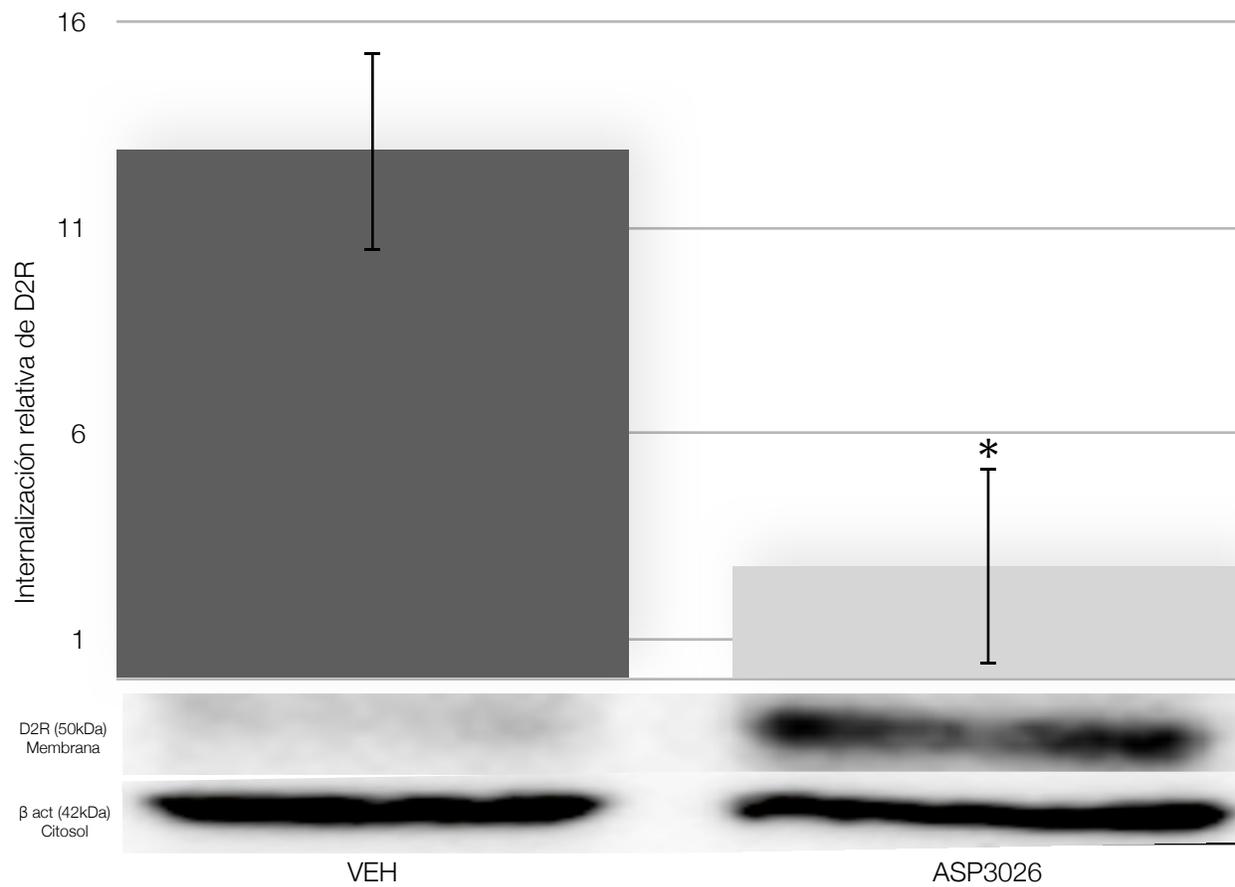


Fig.11. Internalización relativa de D2R en el NAc de animales alimentados con CAFD durante 5 días y tratados con 2.0  $\mu$ g de ASP3026 (n=10) o vehículo (DMSO) (n=6) durante tres días consecutivos. Abajo un blot representativo de la concentración de D2R (50 kDa) de la fase membranal y un blot de  $\beta$  actina como control de carga. Promedio  $\pm$  error estándar \* $p > 0.05$  frente a 0.0 $\mu$ g Kruskal-Wallis post hoc Dunn.

## Discusión

Para realizar este estudio, un paso crítico fue lograr la separación de las proteínas de las fases citosólica y membranal del NAc y poder usar los resultados como una posible evidencia de la internalización de D2R como resultado del consumo de alimentos palatables de las dietas de cafetería que se diseñaron. Previamente se han obtenido resultados similares a los referidos en este estudio usando la misma técnica de separación (Alcántara-Alonso et al., 2017). Utilizando otras técnicas como HPLC y ultracentrifugación se han logrado separar las fases con mayor eficiencia que la obtenida en este estudio que fue de  $\sim 70\%$ . Stokłosa et al., reportan la ausencia de  $\beta$ -actina en la fase membranal y es, hasta donde nosotros conocemos, la única publicación que logra esto mediante centrifugación clásica (Stokłosa et al., 2022). Por todo lo anterior, consideramos que la separación de fases con la técnica utilizada fue suficientemente exitosa para evaluar la disminución de la presencia de D2R en la fase membranal, que nosotros definimos como internalización relativa de D2R. Esta se calculó dividiendo la densidad de las bandas correspondientes a la concentración citosólica de D2R entre la concentración membranal, usando como referencia la densidad de las bandas representativas de la concentración de  $\beta$ -actina y asumiendo que el aumento de la concentración de D2R en el citosol respecto a la concentración en la membrana implicó mayor internalización.  $(D2R \text{ citosólico} / \beta\text{-actina}) / D2R \text{ membranal}$ ).

Al evaluar el efecto de dosis crecientes de clorhidrato de quinpirol en el NAc, se observó que una dosis de  $0.02 \mu\text{g}$  no indujo cambios significativos en comparación con el grupo control, sin embargo, a partir de una concentración de  $0.2 \mu\text{g}$ , se observó

una internalización relativa de D2R significativamente mayor con respecto al grupo control, asimismo, se observó una disminución en la densidad de D2R en la fase membranal evidenciada por el Western Blot. La dosis más alta de 2.0  $\mu\text{g}$  también indujo una internalización significativa respecto al control, sin embargo ésta no fue diferente a la de 0.2  $\mu\text{g}$ . Esto indicó que la dosis más alta no es necesaria para inducir un máximo de internalización. Por otro lado, la internalización relativa de D2R del grupo administrado con vehículo (solución salina NaCl 0.9%) que se observa en la figura 5 se puede deber a que existe una internalización basal del receptor que responde a la liberación tónica de dopamina (Ford, 2014).

A pesar de que la dosis de 0.2  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de quinpirol indujo significativamente la internalización de D2R, la saturación del receptor depende de la temperatura, la concentración de sodio y los nucleótidos de guanina presentes en la membrana. En función de estos resultados, se decidió utilizar la dosis de 0.6  $\mu\text{g}$  o su constante de disociación para DR2 ( $2.3 \pm 0.3 \text{ nM}$  ó 0.58  $\mu\text{g}$ ) para disminuir la probabilidad de variaciones en el efecto durante los siguientes experimentos.

Una vez que se estandarizó y se describió la internalización de D2R por su agonista, el clorhidrato de quinpirol, se decidió poner a prueba los efectos del inhibidor de ALK, ASP3026 sobre esta internalización causada por el clorhidrato de quinpirol. Cabe destacar que en la literatura, la vía de administración clásica para los inhibidores de ALK en modelos animales es la vía oral. De igual modo, sabemos que ALK se expresa en diferentes áreas del sistema nervioso central. Por esta razón decidimos administrar ASP3026 de manera aislada directamente en el NAc, debido a que el efecto de ASP3026 sobre la conducta de consumo de los animales reportada en la literatura

podría estar asociada a un efecto en otros núcleos cerebrales o a un conjunto de ellos y no exclusivamente en el NAc.

La administración de 2 µg de ASP3026 en el NAc de los animales fue efectiva para reducir la internalización relativa de D2R provocada por la inyección de 0.6 µg de clorhidrato de quinpirol, lo que ya fue un indicador de que el inhibidor tiene efecto a nivel cerebral, específicamente en el NAc y que los cambios reportados en la literatura no son consecuencia de la vía administración oral, la cual supone una distribución sistemática del fármaco. Debido a que en la curva dosis respuesta del efecto indirecto de ASP3026 sobre la inhibición de la internalización de D2R causada por el quinpirol no se encontraron diferencias entre las dosis más elevadas, se escogió como dosis efectiva la de 2 µg. Esta dosis además, coincide con la IC50 de ASP3026 para ALK (3.5 nM), e inyectar 10 µg resultaba innecesario puesto que no indujo un efecto significativamente mayor.

Con la observación de la internalización de D2R en el NAc en animales con dieta de cafetería pudimos encontrar una evidencia indirecta de que CAFD facilita la liberación fásica de DA en esta región, ya que se observó un efecto similar al provocado por la administración de 2 µg de clorhidrato de quinpirol. Esta liberación de dopamina en el NAc causada por una dieta palatable ha sido previamente descrita, en ratas Long Evans en un modelo de condicionamiento clásico con alimentos palatables y voltametría que detecta la liberación de dopamina (Gómez et al., 2020). Asimismo, nuestros resultados apoyan la similitud en la internalización de D2R en el NAc con la observada por la exposición crónica a drogas de abuso (Bartlett et al., 2005).

Efectivamente, se observó que el inhibidor de ALK, ASP3026, fue capaz de reducir de manera indirecta la internalización de D2R en el NAc de ratas con consumo de dieta de cafetería. La reducción en la internalización relativa de D2R causada por ASP3026 produjo niveles similares a los niveles basales del grupo control inyectado con vehículo de la curva dosis respuesta del clorhidrato de quinpirol. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por He y colaboradores en el 2020 donde otro inhibidor de ALK, alectinib, logró inhibir por completo la internalización de D2R en presencia de dopamina en un modelo *in vitro* de células HEK-293FT (He et al., 2020).

La evidencia obtenida aquí es la primera que se describe sobre el efecto inhibitor del ASP3026 inyectado intracerebralmente sobre la internalización de D2R en una región del sistema límbico. En realidad, los datos disponibles sobre la farmacocinética de ASP3026 giran principalmente en torno a su aplicación en el área del cáncer. En modelos *in vitro*, se evalúa su efectividad para reducir el crecimiento de células cancerosas ALK positivas (George et al., 2014) y en modelos murinos su principal forma de administración es oral por lo que no se posee información suficiente de la farmacocinética de ASP3026. Sin embargo, se ha observado que ASP3026 junto con otros inhibidores de ALK de segunda generación, atraviesan la barrera hematoencefálica (Guo et al., 2016), razón por la cual se han observado cambios en la conducta de consumo de animales a los que se les han administrado oralmente. Nuestro trabajo demuestra que los efectos de la inhibición de ALK sobre la preferencia de lugar condicionado y el consumo de etanol observados por Dutton et al., no son un artefacto de la administración oral debido a que se ha demostrado que la administración repetitiva de fármacos mediante el uso de una sonda orogástrica

induce estrés en los animales y afecta el consumo de agua y alimento (de Meijer et al., 2010).

Asimismo, a pesar de que en modelos donde la administración de ASP3026 es por la vía oral y que éste atraviesa la barrera hematoencefálica, tiene un efecto directo en el NAc y que el efecto observado en la conducta de consumo no es derivado de la interacción con otro núcleo o conjunto de núcleos.

Diferentes publicaciones (Li et al., 2016; Patnaik et al., 2013; Ono et al., 2021) han descrito que la vida media de ASP3026 por administración oral en humanos va de 18 a 34 horas y que se absorbe en un período máximo de 3 horas por lo que se recomienda una dosis diaria (Li et al., 2016), sin embargo, estos valores están dados en el contexto del cáncer. Dutton y colaboradores usaron una dosis de 60 mg/Kg de alectinib y 10 mg/Kg de TAE684, dos inhibidores de ALK, en ratones C57BL/6J basándose en las dosis efectivas para inhibir el crecimiento de tumores dependientes de ALK (Dutton et al., 2017). Hasta el momento no se ha descrito la farmacodinamia o la farmacocinética de ASP3026 administrado directamente en el NAc en un contexto fuera del cáncer. Por todo lo anterior, se decidió administrar la dosis efectiva (2.0 µg disueltos en 0.5 µl de DMSO) cada 24 horas en nuestro modelo para evitar la internalización de D2R. Esta dosis coincide con la IC50 de ASP3026 para ALK (3.5 nM).

Por otro lado, Li y colaboradores describieron que el 11% de los pacientes con tumores tratados con ASP3026 mostraron disminución del apetito (Li et al., 2016), lo que no parece ser efecto directo del fármaco a nivel del sistema nervioso central, ya que la mayor concentración de éste se identifica en los tumores y no en el plasma pocas horas después de su administración probablemente debido a la gran

concentración de ALK en el tumor (Mori et al., 2014). Por otro lado, no se ha evaluado directamente que proporción alcanza a atravesar la barrera hematoencefálica, sin embargo, en estudios posteriores se podrían evaluar otras vías de administración y su efecto en la inhibición de la internalización de D2R en el NAc..

Los hallazgos de este estudio abren una posible estrategia aún remota pero con buenas probabilidades de éxito en el tratamiento a pacientes con obesidad cuya etiología es el consumo desmedido de alimentos palatables, que en México se ha observado que es de un 16% (Falcón et al., 2021). Sin embargo, se necesitarían experimentos que evalúen una vía de administración efectiva, así como la dosis y la frecuencia para lograr un efecto reductor en el consumo de alimentos palatables en pacientes con obesidad.

A pesar de que se tiene conocimiento de que el consumo de sustancias de abuso tiene un impacto directo en la señalización dopaminérgica del estriado ventral, no ha sido sino hasta años recientes que se ha vislumbrado uno de los posibles mecanismos moleculares que participa en el desarrollo de las adicciones. Anteriormente se observó que los inhibidores de ALK logran disminuir el consumo de etanol en ratones C57BL/6J y que logra abolir la preferencia de lugar condicionado, sin embargo, éste es el primer estudio donde se explora si el mismo mecanismo actúa sobre la conducta alimentaria y si el efecto es exclusivo de la inhibición en el NAc.

Dentro de las limitaciones de este trabajo, se encuentra el hecho de que se utilizó la concentración de  $\beta$ -actina como marcador de la correcta separación de fases y como control de carga en el Western Blot. El uso de otra proteína constitutiva de membrana como GLUT8, el cual pertenece a la familia de los transportadores de glucosa, como

un control de la separación de la fase membranal. GLUT8 se expresa en tejido neuronal y se ha observado que no trasloca a la membrana y no es insulino dependiente (Illsley & Baumann, 2020)

En segunda instancia, se pudo haber caracterizado la dinámica molecular de D2R por el consumo de las dietas de cafetería que se diseñaron. Aunque ya se sabe que el consumo crónico de alimentos palatables induce la liberación de DA y esto a su vez induce la internalización de D2R, el efecto particular y la dimensión del efecto de las dietas de cafetería que aquí presentamos no fue estudiado.

Finalmente, la inhibición de la internalización de D2R por efecto de la administración de ASP3026 es un efecto indirecto, dado que ASP3026 inhibe la actividad de ALK y no de D2R directamente. La activación de ALK se ha asociado con la internalización de D2R como lo propusieron He & Lasek en 2019, sin embargo, en este estudio no se corrobora la interacción entre ALK y D2R.

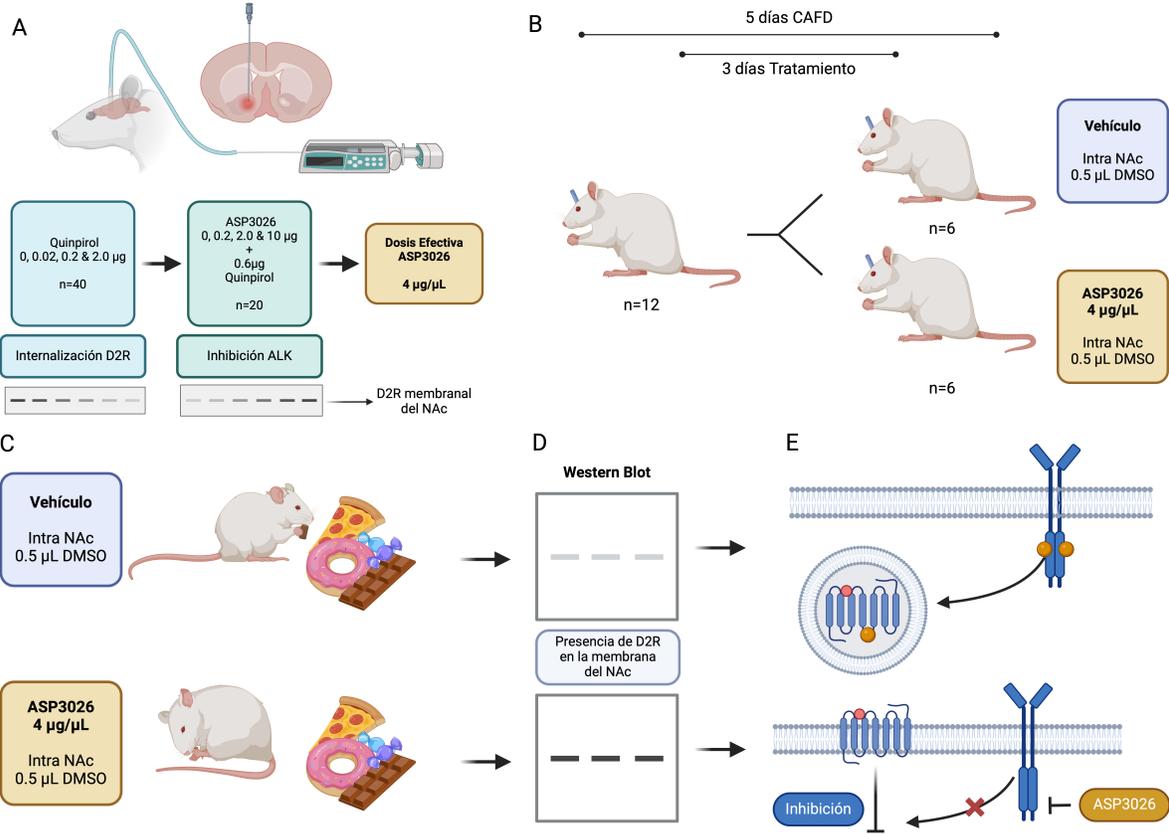


Fig.12 Resumen gráfico. A) Una dosis de 0.6 µg de clorhidrato de quinpirol administrada intraaccumbens induce una internalización significativa de D2R en el NAc de ratas Wistar macho. A su vez, 2 µg de ASP3026, un inhibidor de ALK, reducen significativamente esa misma internalización. B y C) La administración intracerebral de 2 µg de ASP3026 cada 24h disminuye el consumo de alimentos palatables en comparación con el grupo control. D y E) La reducción en el consumo de alimentos palatables está acompañada de una mayor presencia de D2R en la membrana de las neuronas del NAc en comparación con el grupo control que no modificó su consumo. ALK está asociado a la internalización de D2R en un modelo de consumo de dieta de cafetería y su inhibición disminuye el consumo de ésta. Creado en BioRender.-com

## Conclusiones

La administración en el NAc de ASP3026 tiene efectos locales inhibiendo la internalización de D2R mediada por ALK. Es decir, el inhibidor de ALK, ASP3026, impide que el receptor a dopamina tipo 2 sea internalizado en presencia de su agonista, clorhidrato de quinpirol en el NAc de ratas Wistar macho. Igualmente, ASP3026 inhibe la internalización del receptor a dopamina tipo 2 en el núcleo accumbens cuando los animales consumen una dieta de cafetería logrando así modificar la conducta alimentaria disminuyendo el consumo de alimentos palatables.

ALK está involucrado en la dinámica molecular de la motivación por el consumo de alimentos de alta palatabilidad de manera indirecta dado que sólo participa en la modulación de la transmisión dopaminérgica favoreciendo la internalización del receptor a dopamina tipo 2 en el NAc.

# Bibliografía

- 1 Alcántara-Alonso, V., Amaya, M. I., Matamoros-Trejo, G., & de Gortari, P. (2017). Altered functionality of the corticotrophin-releasing hormone receptor-2 in the hypothalamic paraventricular nucleus of hyperphagic maternally separated rats. *Neuropeptides*, 63, 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2017.01.006>
- 2 Almendro, V., García-Recio, S., & Gascón, P. (2010). Tyrosine kinase receptor transactivation associated to G protein-coupled receptors. *Current drug targets*, 11(9), 1169–1180. DOI: 10.2174/138945010792006807
- 3 Andreatta, M., & Pauli, P. (2015). Appetitive vs. Aversive conditioning in humans. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 9, 128. DOI: 10.3389/fnbeh.2015.00128
- 4 Apovian C. M. (2016). Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *The American journal of managed care*, 22(7 Suppl), s176–s185.
- 5 Ariel Y. Deutch, Chapter 6 - Neurotransmitters, Editor(s): Larry R. Squire, Darwin Berg, Floyd E. Bloom, Sascha du Lac, Anirvan Ghosh, Nicholas C. Spitzer, *Fundamental Neuroscience (Fourth Edition)*, Academic Press, 2013, Pages 117-138, ISBN 9780123858702, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385870-2.00006-8>.
- 6 Asko, O., Blenkmann, A. O., Leske, S. L., Foldal, M. D., Llorens, A., Funderud, I., Meling, T. R., Knight, R. T., Endestad, T., & Solbakk, A. K. (2024). Altered hierarchical auditory predictive processing after lesions to the orbitofrontal cortex. *eLife*, 13, e86386. <https://doi.org/10.7554/eLife.86386>
- 7 B. Nubbemeyer, A. Pepanian, A. A. Paul George, D. Imhof. (2021) Strategies towards Targeting Gαi/s Proteins: Scanning of Protein-Protein Interaction Sites To Overcome Inaccessibility *ChemMedChem* 2021, 16, 1697.
- 8 Baik J. H. (2013). Dopamine signaling in reward-related behaviors. *Frontiers in neural circuits*, 7, 152. <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00152>
- 9 Barbano, M. F., Zhang, S., Chen, E., Espinoza, O., Mohammad, U., Alvarez-Bagnarol, Y., Liu, B., Hahn, S., & Morales, M. (2024). Lateral hypothalamic glutamatergic inputs to VTA glutamatergic neurons mediate prioritization of innate defensive behavior over feeding. *Nature communications*, 15(1), 403. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44633-w>
- 10 Bartlett, S. E., Enquist, J., Hopf, F. W., Lee, J. H., Gladher, F., Kharazia, V., Waldhoer, M., Mailliard, W. S., Armstrong, R., Bonci, A., & Whistler, J. L. (2005). Dopamine responsiveness is regulated by targeted sorting of D2 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(32), 11521–11526. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502418102>
- 11 Baschieri, F., Porshneva, K., & Montagnac, G. (2020). Frustrated clathrin-mediated endocytosis - causes and possible functions. *Journal of cell science*, 133(11), jcs240861. <https://doi.org/10.1242/jcs.240861>
- 12 Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews*, 63(1), 182–217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>

- 13 Bergonzoni, G., Döring, J. & Biagioli, M., (2021) D1R- and D2R-Medium-Sized Spiny Neurons Diversity: Insights Into Striatal Vulnerability to Huntington's Disease Mutation *Front. Cell. Neurosci.*, 10 February 2021. Sec. Cellular Neurophysiology. Volume 15 - 2021 | <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.628010>
- 14 Berridge K. C. (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 20(1), 1–25. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(95\)00033-b](https://doi.org/10.1016/0149-7634(95)00033-b)
- 15 Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2015). Pleasure systems in the brain. *Neuron*, 86(3), 646–664.
- 16 Berthoud, H. R., & Münzberg, H. (2011). The lateral hypothalamus as integrator of metabolic and environmental needs: from electrical self-stimulation to opto-genetics. *Physiology & behavior*, 104(1), 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.051>
- 17 Betley, J. N., Cao, Z. F., Ritola, K. D., & Sternson, S. M. (2013). Parallel, redundant circuit organization for homeostatic control of feeding behavior. *Cell*, 155(6), 1337–1350. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.002>
- 18 Bjarnadóttir, T. K., Gloriam, D. E., Hellstrand, S. H., Kristiansson, H., Fredriksson, R., & Schiöth, H. B. (2006). Comprehensive repertoire and phylogenetic analysis of the G protein-coupled receptors in human and mouse. *Genomics*, 88(3), 263–273. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.04.001>
- 19 Bucolo, C., Leggio, G. M., Drago, F., & Salomone, S. (2019). Dopamine outside the brain: The eye, cardiovascular system and endocrine pancreas. *Pharmacology & Therapeutics*, 203, 107392.
- 20 Campos I. (2018) Epidemiología de la Obesidad y sus Principales Comorbilidades en México. Dommarco J, Colchero A, Fuentes L, Gonzalez T, Aguilari A, Hernandez G, Barquera S. (Eds) La obesidad en México (pp. 31-40) México. Instituto Nacional de Salud Pública.
- 21 Chaudhary, P. K., & Kim, S. (2021). An Insight into GPCR and G-Proteins as Cancer Drivers. *Cells*, 10(12), 3288. <https://doi.org/10.3390/cells10123288>
- 22 Christenson, J. G., Dairman, W., & Udenfriend, S. (1970). Preparation and properties of a homogeneous aromatic L-amino acid decarboxylase from hog kidney. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 141(1), 356–367.
- 23 Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18–41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- 24 Day, J. J., & Carelli, R. M. (2007). The nucleus accumbens and Pavlovian reward learning. *The Neuroscientist*, 13(2), 148–159.
- 25 de Meijer, V. E., Le, H. D., Meisel, J. A., & Puder, M. (2010). Repetitive orogastric gavage affects the phenotype of diet-induced obese mice. *Physiology & behavior*, 100(4), 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.04.001>
- 26 De Munck, S., Provost, M., Kurikawa, M., Omori, I., Mukohyama, J., Felix, J., Bloch, Y., et al. (2021). Structural basis of cytokine-mediated activation of ALK family receptors. *Nature*, 600(7887), 143–147.
- 27 de Olmos, J. S., & Heimer, L. (1999). The concepts of the ventral striatopallidal system and extended amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 1–32.
- 28 Dutton, J. W., Chen, H., You, C., Brodie, M. S., & Lasek, A. W. (2017). Anaplastic lymphoma kinase regulates binge-like drinking and dopamine receptor sensitivity in the ventral tegmental area. *Addiction Biology*, 22(3), 665–678.

- 29 Eisenstein, S. A., Black, K. J., Samara, A., Koller, J. M., Dunn, J. P., Hershey, T., Klein, S., & Smith, G. I. (2020). Striatal Dopamine Responses to Feeding are Altered in People with Obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(4), 765–771. <https://doi.org/10.1002/oby.22753>
- 30 Engin A. (2017). The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Advances in experimental medicine and biology*, 960, 1–17. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_1)
- 31 Esposito, F., Chirico, G., Montesano Gesualdi, N., Posadas, I., Ammendola, R., Russo, T., Cirino, G., & Cimino, F. (2003). Protein kinase B activation by reactive oxygen species is independent of tyrosine kinase receptor phosphorylation and requires SRC activity. *The Journal of biological chemistry*, 278(23), 20828–20834. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211841200>
- 32 Falcón, E., Valdés-Moreno, M., Rodríguez, C., Sanabrais-Jiménez, M., Hernández-Muñoz, S., Camarena, B., & de Gortari, P. (2021). Interaction between three stress-related gene polymorphisms and food addiction increases the risk to develop obesity in a sample of Mexican people attending a nutrition clinic. *Psychoneuroendocrinology*, 125, 105099. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.105099>
- 33 Fernstrom, J. D., & Fernstrom, M. H. (2007). Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *The Journal of nutrition*, 137(6 Suppl 1), 1539S–1548S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.6.1539S>
- 34 Finlayson, G. (2017). Food addiction and obesity: unnecessary medicalization of hedonic overeating. *Nature Reviews. Endocrinology*, 13(8), 493–498.
- 35 Fiorillo CD, Newsome WT, Schultz W (2008) The temporal precision of reward prediction in dopamine neurons. *NatNeurosci* 11:966–973.
- 36 Fletcher, P. C., & Kenny, P. J. (2018). Food addiction: a valid concept?. *Neuropsychopharmacology* : 43(13), 2506–2513. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0203-9>
- 37 Ford, C. P. (2014). The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. *Neuroscience*, 282, 13–22.
- 38 George, S. K., Vishwamitra, D., Manshouri, R., Shi, P., & Amin, H. M. (2014). The ALK inhibitor AS-P3026 eradicates NPM-ALK<sup>+</sup> T-cell anaplastic large-cell lymphoma in vitro and in a systemic xenograft lymphoma model. *Oncotarget*, 5(14), 5750–5763. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2170>
- 39 Goggi, J. L., Sardini, A., Egerton, A., Strange, P. G., & Grasby, P. M. (2007). Agonist-dependent internalization of D2 receptors: Imaging quantification by confocal microscopy. *Synapse (New York, N.Y.)*, 61(4), 231–241. <https://doi.org/10.1002/syn.20360>
- 40 Gómez-A, A., Shnitko, T. A., Caref, K. L., Nicola, S. M., & Robinson, D. L. (2022). Stimuli predicting high-calorie reward increase dopamine release and drive approach to food in the absence of homeostatic need. *Nutritional neuroscience*, 25(3), 593–602. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1782613>
- 41 Gonzalez-Hernandez, A. J., Munguba, H., & Levitz, J. (2024). Emerging modes of regulation of neuromodulatory G protein-coupled receptors. *Trends in neurosciences*, 47(8), 635–650. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2024.05.008>
- 42 Grace AA, Floresco SB, Goto Y, Lodge DJ (2007) Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *TrendsNeurosci* 30:220–22

- 43 Guan, J., Umapathy, G., Yamazaki, Y., Wolfstetter, G., Mendoza, P., Pfeifer, K., Mohammed, A., Hugosson, F., Zhang, H., Hsu, A. W., Halenbeck, R., Hallberg, B., & Palmer, R. H. (2015). FAM150A and FAM150B are activating ligands for anaplastic lymphoma kinase. *eLife*, 4, e09811. <https://doi.org/10.7554/eLife.09811>
- 44 Guo, J., Zinner, R., Zaorsky, N. G., Guo, W., & Lu, B. (2016). Systemic therapy for echinoderm microtubule-associated protein-like 4 anaplastic lymphoma kinase non-small cell lung cancer brain metastases. *Journal of thoracic disease*, 8(9), E1028–E1031.
- 45 Gurevich, E. V., Gainetdinov, R. R., & Gurevich, V. V. (2016). G protein-coupled receptor kinases as regulators of dopamine receptor functions. *Pharmacological research*, 111, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.05.010>
- 46 Halpern, C. H., Tekriwal, A., Santollo, J., Keating, J. G., Wolf, J. A., Daniels, D., & Bale, T. L. (2013). Amelioration of binge eating by nucleus accumbens shell deep brain stimulation in mice involves D2 receptor modulation. *The Journal of neuroscience* 33(17), 7122–7129. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3237-12.2013>
- 47 Hamada, K., & Lasek, A. W. (2020). Receptor tyrosine kinases as therapeutic targets for alcohol use disorder. *Neurotherapeutics*, 17(1), 4–16.
- 48 He, D., & Lasek, A. W. (2020). Anaplastic lymphoma kinase regulates internalization of the dopamine D2 receptor. *Molecular Pharmacology*, 97(2), 123–131.
- 49 Hernández Ruiz de Egulaz, M., Martínez de Morentin Aldabe, B., Almiron-Roig, E., Pérez-Diez, S., San Cristóbal Blanco, R., Navas-Carretero, S., & Martínez, J. A. (2018). Multisensory influence on eating behavior: Hedonic consumption. Influencia multisensorial sobre la conducta alimentaria: ingesta hedónica. *Endocrinología, diabetes y nutrición*, 65(2), 114–125. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.09.008>
- 50 Howard, J. D., & Kahnt, T. (2021). To be specific: The role of orbitofrontal cortex in signaling reward identity. *Behavioral neuroscience*, 135(2), 210–217. <https://doi.org/10.1037/bne0000455>
- 51 Hruby A, Frank B. (2015) The Epidemiology of Obesity: A Big Picture *HHS Public Access*.
- 52 Hu F. B. (2023). Obesity in the USA: diet and lifestyle key to prevention. *The Lancet. Diabetes & endocrinology*, 11(9), 642–643. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(23\)00194-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(23)00194-8)
- 53 Huang, H. (2018). Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Receptor Tyrosine Kinase: A Catalytic Receptor with Many Faces. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11).
- 54 Hunger, L., Kumar, A., & Schmidt, R. (2020). Abundance compensates kinetics: similar effect of dopamine signals on D1 and D2 receptor populations. *The Journal of Neuroscience*, 40(14), 2868–2881.
- 55 IJssels, N. P., & Baumann, M. U. (2020). Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1866(2), 165359. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.12.010>
- 56 Iikubo, K., Kondoh, Y., Shimada, I., Matsuya, T., Mori, K., Ueno, Y., & Okada, M. (2018). Discovery of N-{2-Methoxy-4-[4-(4-methylpiperazin-1-yl)piperidin-1-yl]phenyl}-N'-[2-(propane-2-sulfonyl)phenyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine (ASP3026), a Potent and Selective Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Inhibitor. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 66(3), 251–262.

- 57 Iizuka Y, Sei Y, Weinberger DR, Straub RE (2007) Evidence that the BLOC-1 protein dysbindin modulates dopamine D2 receptor internalization and signaling but not D1 internalization. *JNeurosci* 27:12390–12395.
- 58 Itzhak, Y., Perez-Lanza, D., & Liddle, S. (2014). The strength of aversive and appetitive associations and maladaptive behaviors. *IUBMB life*, 66(8), 559–571. <https://doi.org/10.1002/iub.1310>
- 59 Johnson, P. M., & Kenny, P. J. (2010). Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature neuroscience*, 13(5), 635–641. <https://doi.org/10.1038/nn.2519>
- 60 Kaeser, P. S., & Regehr, W. G. (2014). Molecular mechanisms for synchronous, asynchronous, and spontaneous neurotransmitter release. *Annual review of physiology*, 76, 333–363. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170338>
- 61 Keeler, J. F., Pretsell, D. O., & Robbins, T. W. (2014). Functional implications of dopamine D1 vs. D2 receptors: A “prepare and select” model of the striatal direct vs. indirect pathways. *Neuroscience*, 282, 156–175.
- 62 Kenny P. J. (2011). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron*, 69(4), 664–679. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.02.016>
- 63 Kilpatrick, L. E., & Hill, S. J. (2021). Transactivation of G protein-coupled receptors (GPCRs) and receptor tyrosine kinases (RTKs): Recent insights using luminescence and fluorescence technologies. *Current opinion in endocrine and metabolic research*, 16, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.10.003>
- 64 Kim, H. R., Xu, J., Maeda, S., Duc, N. M., Ahn, D., Du, Y., & Chung, K. Y. (2020). Structural mechanism underlying primary and secondary coupling between GPCRs and the Gi/o family. *Nature communications*, 11(1), 3160. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16975-2>
- 65 Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A. R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., & Correa, R. G. (2019). Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cellular and molecular neurobiology*, 39(1), 31–59. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3>
- 66 Koball, A. M., Borgert, A. J., Kallies, K. J., Grothe, K., Ames, G., & Gearhardt, A. N. (2021). Validation of the Yale Food Addiction Scale 2.0 in Patients Seeking Bariatric Surgery. *Obesity surgery*, 31(4), 1533–1540. <https://doi.org/10.1007/s11695-020-05148-1>
- 67 Lasek, A. W., Gesch, J., Giorgetti, F., Kharazia, V., & Heberlein, U. (2011). Alk is a transcriptional target of LMO4 and ERα that promotes cocaine sensitization and reward. *The Journal of Neuroscience*, 31(40), 14134–14141.
- 68 Lee, P. C., & Dixon, J. B. (2017). Food for Thought: Reward Mechanisms and Hedonic Overeating in Obesity. *Current obesity reports*, 6(4), 353–361. <https://doi.org/10.1007/s13679-017-0280-9>
- 69 Levant, B., Grigoriadis, D. E., & DeSouza, E. B. (1992). Characterization of [3H]quinpirol binding to D2-like dopamine receptors in rat brain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 262(3), 929–935.
- 70 Lewis, R. G., Florio, E., Punzo, D., & Borrelli, E. (2021). The brain's reward system in health and disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1344, 57–69.
- 71 Li, T., LoRusso, P., Maitland, M. L., Ou, S.-H. I., Bahceci, E., Ball, H. A., Park, J. W., et al. (2016). First-in-human, open-label dose-escalation and dose-expansion study of the safety, pharmacokinetics, and antitumor effects of an oral ALK inhibitor ASP3026 in patients with advanced solid tumors. *Journal of hematology & oncology*, 9, 23.

- 72 Liu, C. M., & Kanoski, S. E. (2018). Homeostatic and non-homeostatic controls of feeding behavior: Distinct vs. common neural systems. *Physiology & behavior*, 193(Pt B), 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.011>
- 73 Liu, C., & Kaeser, P. S. (2019). Mechanisms and regulation of dopamine release. *Current Opinion in Neurobiology*, 57, 46–53.
- 74 Lu, Y., Fan, Z., Zhu, S. J., Huang, X., Zhuang, Z., Li, Y., Deng, Z., Gao, L., Hong, X., Zhang, T., Li, L., Sun, X., Huang, W., Zhang, J., Liu, Y., Zhang, B., Jiang, J., Gui, F., Wang, Z., Li, Q., ... Deng, X. (2022). A new ALK inhibitor overcomes resistance to first- and second-generation inhibitors in NSCLC. *EMBO molecular medicine*, 14(1), e14296. <https://doi.org/10.15252/emmm.202114296>
- 75 Margolis, E. B., Lock, H., Hjelmstad, G. O., & Fields, H. L. (2006). The ventral tegmental area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons? *The Journal of Physiology*, 577(Pt 3), 907–924.
- 76 Marinescu, A. M., & Labouesse, M. A. (2024). The nucleus accumbens shell: a neural hub at the interface of homeostatic and hedonic feeding. *Frontiers in neuroscience*, 18, 1437210. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1437210>
- 77 Martí Del Moral, A., Calvo, C., & Martínez, A. (2021). Consumo de alimentos ultraprocesados y obesidad: una revisión sistemática [Ultra-processed food consumption and obesity-a systematic review]. *Nutricion hospitalaria*, 38(1), 177–185. <https://doi.org/10.20960/nh.03151>
- 78 Mori, M., Ueno, Y., Konagai, S., Fushiki, H., Shimada, I., Kondoh, Y., Saito, R., Mori, K., Shindou, N., Soga, T., Sakagami, H., Furutani, T., Doihara, H., Kudoh, M., & Kuromitsu, S. (2014). The selective anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase inhibitor ASP3026 induces tumor regression and prolongs survival in non-small cell lung cancer model mice. *Molecular cancer therapeutics*, 13(2), 329–340. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-13-0395>
- 79 MedChem Express ASP026 <https://www.medchemexpress.com/ASP3026.html>. Consultado el 19/09/24 17:34.
- 80 Meredith, G. E., Baldo, B. A., Andrezjewski, M. E., & Kelley, A. E. (2008). The structural basis for mapping behavior onto the ventral striatum and its subdivisions. *Brain Structure & Function*, 213(1–2), 17–27.
- 81 Meule, A., & Gearhardt, A. N. (2014). Food addiction in the light of DSM-5. *Nutrients*, 6(9), 3653–3671. <https://doi.org/10.3390/nu6093653>
- 82 Miller GW, Gainetdinov RR, Levey AI, Caron MG (1999) Dopamine transporters and neuronal injury. *Trends Pharmacol Sci*. 20:424–429
- 83 Miller, E. K. (2000). The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature Reviews. Neuroscience*, 1(1), 59–65.
- 84 Mohan, Maradumane & Vasudevan, Neelakantan & Gupta, Manveen & Martelli, Elizabeth & V Naga, Sathyamangla. (2012). G-Protein Coupled Receptor Resensitization - Appreciating the Balancing Act of Receptor Function. *Current molecular pharmacology*. 5. 10.2174/1874467211205030004.
- 85 Montmayeur, J. P., Bausero, P., Amlaiky, N., Maroteaux, L., Hen, R., & Borrelli, E. (1991). Differential expression of the mouse D2 dopamine receptor isoforms. *FEBS letters*, 278(2), 239–243. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80125-m](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80125-m)

- 86 Moog-Lutz, C., Degoutin, J., Gouzi, J. Y., Frobert, Y., Brunet-de Carvalho, N., Bureau, J., Créminon, C., & Vigny, M. (2005). Activation and inhibition of anaplastic lymphoma kinase receptor tyrosine kinase by monoclonal antibodies and absence of agonist activity of pleiotrophin. *The Journal of biological chemistry*, 280(28), 26039–26048. <https://doi.org/10.1074/jbc.M501972200>
- 87 Mori, M., Ueno, Y., Konagai, S., Fushiki, H., Shimada, I., Kondoh, Y., Saito, R., et al. (2014). The selective anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase inhibitor ASP3026 induces tumor regression and prolongs survival in non-small cell lung cancer model mice. *Molecular Cancer Therapeutics*, 13(2), 329–340.
- 88 Nickols, H. H., & Conn, P. J. (2014). Development of allosteric modulators of GPCRs for treatment of CNS disorders. *Neurobiology of disease*, 61, 55–71. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.09.013>
- 89 Nimitvilai, S., Herman, M., You, C., Arora, D. S., McElvain, M. A., Roberto, M., & Brodie, M. S. (2014). Dopamine D2 receptor desensitization by dopamine or corticotropin releasing factor in ventral tegmental area neurons is associated with increased glutamate release. *Neuropharmacology*, 82, 28–40.
- 90 O'Connor, E. C., Kremer, Y., Lefort, S., Harada, M., Pascoli, V., Rohner, C., & Lüscher, C. (2015). Accumbal D1R neurons projecting to lateral hypothalamus authorize feeding. *Neuron*, 88(3), 553–564.
- 91 Obesity and overweight. (n.d.). Obtenido el July 11, 2024, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- 92 OMS (2009) Global Health Risks: Mortality and burden of diseases attributable to selected major risks *WHO Press Switzerland*
- 93 Ono, A., Murakami, H., Seto, T., Shimizu, T., Watanabe, S., Takeshita, S., Takeda, K., et al. (2021). Safety and Antitumor Activity of Repeated ASP3026 Administration in Japanese Patients with Solid Tumors: A Phase I Study. *Drugs in R&D*, 21(1), 65–78.
- 94 Orthofer, M., Valsesia, A., Mägi, R., Wang, Q. P., Kaczanowska, J., Kozieradzki, I., Leopoldi, A., Cikes, D., Zopf, L. M., Tretiakov, E. O., Demetz, E., Hilbe, R., Boehm, A., Ticevic, M., Nöukas, M., Jais, A., Spirk, K., Clark, T., Amann, S., Lepamets, M., ... Penninger, J. M. (2020). Identification of ALK in Thinness. *Cell*, 181(6), 1246–1262.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.034>
- 95 Palmiter R. D. (2007). Is dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior?. *Trends in neurosciences*, 30(8), 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.004>
- 96 Pang, Z. P., & Südhof, T. C. (2010). Cell biology of Ca<sup>2+</sup>-triggered exocytosis. *Current opinion in cell biology*, 22(4), 496–505. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.05.001>
- 97 Panuganti, K. K., Nguyen, M., & Kshirsagar, R. K. (2023). *Obesity*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- 98 Parkinson, J., & Haggard, P. (2013). Hedonic value of intentional action provides reinforcement for voluntary generation but not voluntary inhibition of action. *Consciousness and Cognition*, 22(4), 1253–1261.
- 99 Paspalas, C. D., Rakic, P., & Goldman-Rakic, P. S. (2006). Internalization of D2 dopamine receptors is clathrin-dependent and select to dendro-axonic appositions in primate prefrontal cortex. *The European Journal of Neuroscience*, 24(5), 1395–1403.
- 100 Patnaik, A., LoRusso, P., Ball, H. A., Bahceci, E., Yuen, G., Papadopoulos, K. P., Kittaneh, M., et al. (2013). Pharmacokinetics and safety of an oral ALK inhibitor, ASP3026, observed in a phase I dose escalation trial. *JCO*, 31(15\_suppl), 2602–2602.

- 101 Perez-Bonilla, P., Santiago-Colon, K., & Leininger, G. M. (2020). Lateral hypothalamic area neuropeptides modulate ventral tegmental area dopamine neurons and feeding. *Physiology & behavior*, 223, 112986. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112986>
- 102 Phaf, R. H., Mohr, S. E., Rotteveel, M., & Wicherts, J. M. (2014). Approach, avoidance, and affect: a meta-analysis of approach-avoidance tendencies in manual reaction time tasks. *Frontiers in Psychology*, 5, 378.
- 103 Plaza-Briceño, W., Velásquez, V. B., Silva-Olivares, F., Ceballo, K., Céspedes, R., Jorquera, G., Cruz, G., et al. (2023). Chronic exposure to high fat diet affects the synaptic transmission that regulates the dopamine release in the nucleus accumbens of adolescent male rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5).
- 104 Randolph T. G. (1956). The descriptive features of food addiction; addictive eating and drinking. *Quarterly journal of studies on alcohol*, 17(2), 198–224.
- 105 Reshetnyak, A. V., Rossi, P., Myasnikov, A. G., Sowaileh, M., Mohanty, J., Nourse, A., Miller, D. J., et al. (2021). Mechanism for the activation of the anaplastic lymphoma kinase receptor. *Nature*, 600(7887), 153–157.
- 106 Rossi, M. A., & Stuber, G. D. (2018). Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding. *Cell metabolism*, 27(1), 42–56. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.021>
- 107 Rehman, S., Rahimi, N., & Dimri, M. (2023). Biochemistry, G Protein Coupled Receptors. In *Stat-Pearls*. StatPearls Publishing.
- 108 Salamone, J. D., & Correa, M. (2013). Dopamine and food addiction: lexicon badly needed. *Biological psychiatry*, 73(9), e15–e24. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.09.027>
- 109 Savchenko, A., Targa, G., Fesenko, Z., Leo, D., Gainetdinov, R. R., & Sukhanov, I. (2023). Dopamine Transporter Deficient Rodents: Perspectives and Limitations for Neuroscience. *Biomolecules*, 13(5), 806. <https://doi.org/10.3390/biom13050806>
- 110 Schultz W. (2007). Behavioral dopamine signals. *Trends in neurosciences*, 30(5), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.007>
- 111 Schultz, W. (2002). Getting formal with dopamine and reward. *Neuron*, 36(2), 241–263.
- 112 Secretaría de Salud (2018). Encuesta nacional de salud y nutrición, ENSANUT, México.
- 113 Seyedabadi, M., Gharghabi, M., Gurevich, E. V., & Gurevich, V. V. (2021). Receptor-Arestin Interactions: The GPCR Perspective. *Biomolecules*, 11(2), 218. <https://doi.org/10.3390/biom11020218>
- 114 Sharpe, M. J. (2024). The cognitive (lateral) hypothalamus. *Trends in Cognitive Sciences*, 28(1), 18–29.
- 115 Shaw, A. T., Kim, D. W., Nakagawa, K., Seto, T., Crinó, L., Ahn, M. J., De Pas, T., Besse, B., Solomon, B. J., Blackhall, F., Wu, Y. L., Thomas, M., O'Byrne, K. J., Moro-Sibilot, D., Camidge, D. R., Mok, T., Hirsh, V., Riely, G. J., Iyer, S., Tassell, V., Jänne, P. A. (2013). Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *The New England journal of medicine*, 368(25), 2385–2394. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1214886>
- 116 Singh M. (2014). Mood, food, and obesity. *Frontiers in psychology*, 5, 925. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00925>

- 117 Skinbjerg, M., Liow, J.-S., Seneca, N., Hong, J., Lu, S., Thorsell, A., Heilig, M., et al. (2010). D2 dopamine receptor internalization prolongs the decrease of radioligand binding after amphetamine: a PET study in a receptor internalization-deficient mouse model. *Neuroimage*, 50(4), 1402–1407.
- 118 Smith, A. E., Ogunseye, K. O., DeBenedictis, J. N., Peris, J., Kasper, J. M., & Hommel, J. D. (2020). Glutamatergic projections from homeostatic to hedonic brain nuclei regulate intake of highly palatable food. *Scientific reports*, 10(1), 22093. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78897-9>
- 119 Soda, M., Choi, Y. L., Enomoto, M., Takada, S., Yamashita, Y., Ishikawa, S., Fujiwara, S., Watanabe, H., Kurashina, K., Hatanaka, H., Bando, M., Ohno, S., Ishikawa, Y., Aburatani, H., Niki, T., Sohara, Y., Sugiyama, Y., & Mano, H. (2007). Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 448(7153), 561–566. <https://doi.org/10.1038/nature05945>
- 120 Sotnikova, T. D., Beaulieu, J. M., Gainetdinov, R. R., & Caron, M. G. (2006). Molecular biology, pharmacology and functional role of the plasma membrane dopamine transporter. *CNS & neurological disorders drug targets*, 5(1), 45–56. <https://doi.org/10.2174/187152706784111579>
- 121 Souttou, B., Carvalho, N. B., Raulais, D., & Vigny, M. (2001). Activation of anaplastic lymphoma kinase receptor tyrosine kinase induces neuronal differentiation through the mitogen-activated protein kinase pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(12), 9526–9531.
- 122 Stokosa, P., Kappel, S., & Peinelt, C. (2022). A Novel Role of the TRPM4 Ion Channel in Exocytosis. *Cells*, 11(11), 1793. <https://doi.org/10.3390/cells11111793>
- 123 Stoy, H., & Gurevich, V. V. (2015). How genetic errors in GPCRs affect their function: Possible therapeutic strategies. *Genes & diseases*, 2(2), 108–132. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2015.02.005>
- 124 Stringfellow, J., Liran, O., Lin, M. H., & Baker, T. E. (2023). Recording neural reward signals in the real world using mobile-EEG and augmented reality. *bioRxiv : the preprint server for biology*, 2023.08.31.555757. <https://doi.org/10.1101/2023.08.31.555757>
- 125 Szczyepka, M. S., Kwok, K., Brot, M. D., Marck, B. T., Matsumoto, A. M., Donahue, B. A., & Palmiter, R. D. (2001). Dopamine production in the caudate putamen restores feeding in dopamine-deficient mice. *Neuron*, 30(3), 819–828. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00319-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00319-1)
- 126 Thompson, B. L., Oscar-Berman, M., & Kaplan, G. B. (2021). Opioid-induced structural and functional plasticity of medium-spiny neurons in the nucleus accumbens. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 120, 417–430.
- 127 Tobler PN, Fiorillo CD, Schultz W (2005) Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science* 307:1642–1645.
- 128 Tremmel, M., Gerdtham, U. G., Nilsson, P. M., & Saha, S. (2017). Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. *International journal of environmental research and public health*, 14(4), 435. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040435>
- 129 Trifilieff, P., Ducrocq, F., van der Veldt, S., & Martinez, D. (2017). Blunted dopamine transmission in addiction: potential mechanisms and implications for behavior. *Seminars in nuclear medicine*, 47(1), 64–74.
- 130 Tyree, S. M., & de Lecea, L. (2017). Lateral hypothalamic control of the ventral tegmental area: reward evaluation and the driving of motivated behavior. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 11, 50.
- 131 Val-Laillet, D., Aarts, E., Weber, B., Ferrari, M., Quaresima, V., Stoeckel, L. E., Alonso-Alonso, M., Audette, M., Malbert, C. H., & Stice, E. (2015). Neuroimaging and neuromodulation approaches to study eating behavior and prevent and treat eating disorders and obesity. *NeuroImage. Clinical*, 8, 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.03.016>

- 132 Vassilopoulou, L., Psycharakis, C., Petrakis, D., Tsiaoussis, J., & Tsatsakis, A. M. (2017). Obesity, Persistent Organic Pollutants and Related Health Problems. *Advances in experimental medicine and biology*, 960, 81–110. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_4)
- 133 Venton, B. J., Zhang, H., Garris, P. A., Phillips, P. E., Sulzer, D., & Wightman, R. M. (2003). Real-time decoding of dopamine concentration changes in the caudate-putamen during tonic and phasic firing. *Journal of neurochemistry*, 87(5), 1284–1295. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02109.x>
- 134 Volkow, N. D., & Morales, M. (2015). The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell*, 162(4), 712–725.
- 135 Volkow, N. D., Fowler, J. S., & Wang, G. J. (1999). Imaging studies on the role of dopamine in cocaine reinforcement and addiction in humans. *Journal of psychopharmacology* 13(4), 337–345. <https://doi.org/10.1177/026988119901300406>
- 136 Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Baler, R., & Telang, F. (2009). Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*, 56 Suppl 1(Suppl 1), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.05.022>
- 137 Volkow, N. D., Wang, G.-J., Maynard, L., Jayne, M., Fowler, J. S., Zhu, W., Logan, J., et al. (2003). Brain dopamine is associated with eating behaviors in humans. *The International Journal of Eating Disorders*, 33(2), 136–142.
- 138 Volkow, N. D., Wise, R. A., & Baler, R. (2017). The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(12), 741–752. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130>
- 139 Wang, G. J., Volkow, N. D., Logan, J., Pappas, N. R., Wong, C. T., Zhu, W., Netusil, N., & Fowler, J. S. (2001). Brain dopamine and obesity. *Lancet*, 357(9253), 354–357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03643-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03643-6)
- 140 Wintheiser, G. A., & Silberstein, P. (2024). Physiology, tyrosine kinase receptors. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- 141 Wiss, D. A., Criscitelli, K., Gold, M., & Avena, N. (2017). Preclinical evidence for the addiction potential of highly palatable foods: Current developments related to maternal influence. *Appetite*, 115, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.12.019>
- 142 Xu, L., Nan, J., & Lan, Y. (2020). The nucleus accumbens: A common target in the comorbidity of depression and addiction. *Frontiers in Neural Circuits*, 14, 37.
- 143 Yager, L. M., Garcia, A. F., Wunsch, A. M., & Ferguson, S. M. (2015). The ins and outs of the striatum: role in drug addiction. *Neuroscience*, 301, 529–541.
- 144 Yale Food Addiction Scale – Food and Addiction Science & Treatment Lab. (n.d.). . Obtenido el July 11, 2024, from <https://sites.lsa.umich.edu/fastlab/yale-food-addiction-scale/>