



---

Universidad  
de La Laguna



# REGULACIÓN DEL TRANSPORTADOR DE DOPAMINA POR AUTORRECEPTORES

**Estudiante: Andrea Moreno Marrero**

**Tutores: Pedro Javier Barroso China y Tomás González  
Hernández**

**Titulación: Grado de Farmacia**

**Convocatoria: Septiembre**

**Facultad Ciencias de la Salud: sección Farmacia**

**Tenerife, Universidad de La Laguna  
Fecha: 26 de julio de 2017**

Los profesores Dr. Pedro Barroso China y Dr. Tomás González Hernández del Departamento Ciencias Médicas Básicas de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de La Laguna

**CERTIFICAN**

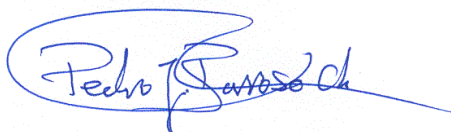
X Que el Trabajo Fin de Grado (TFG) titulado “**Regulación del transportador de dopamina por autorreceptores**” ha sido realizado bajo nuestra supervisión de D<sup>a</sup> Andrea Marrero Moreno, alumna matriculada en el grado de Farmacia.

X Que una vez revisada la memoria final del TFG, damos nuestro consentimiento para ser presentado a la evaluación (lectura y defensa) por el Tribunal designado por la Comisión Académica de la Titulación.

Y para que así conste, firmamos la presente en La Laguna, a 26 de julio de 2017

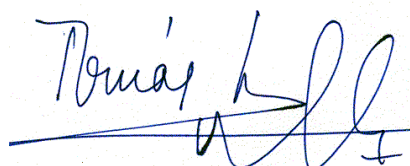
Visto bueno de los responsables/tutores

Fdo.:



Dr. Pedro Barroso China

Fdo.:



Dr. Tomás González Hernández

## RESUMEN

La dopamina (DA) es una monoamina que actúa como neurotransmisor en diferentes procesos cerebrales. La DA ejerce sus funciones a través de receptores postsinápticos y presinápticos. La disponibilidad de DA a nivel de los receptores está regulada por el transportador de dopamina (DAT), encargado de la recaptación de DA extracelular hacia el interior de la neurona presináptica después de su liberación. La enfermedad de Parkinson (EP) y trastornos psiquiátricos como esquizofrenia, trastorno bipolar y déficit de atención con hiperactividad se han relacionado con disfunción del DAT. La actividad del transportador está regulada por modificaciones postraduccionales e interacción con diferentes proteínas presinápticas y autorreceptores dopaminérgicos D2 y D3 que facilitan el reclutamiento de DAT en la membrana o su internalización para ser reciclado o degradado. Teniendo en cuenta el papel de DAT en trastornos neuro-psiquiátricos y la amplia prescripción de agonistas D2/D3 en el tratamiento de la EP, y antagonistas en la depresión, el objetivo de este trabajo es hacer una revisión sobre la interacción de autorreceptores D2 y D3 con DAT. Los datos indican que la estimulación del receptor D2 aumenta la expresión de DAT en la membrana y la recaptación de DA, tanto por interacción física como por mecanismos dependientes de proteínas G. En cambio, la estimulación del receptor D3 tiene un efecto bifásico. De forma aguda induce reclutamiento de DAT y aumento de la recaptación de DA a través de un mecanismo proteínas G (MAPK y PI3K)-dependiente. Mientras que su estimulación prolongada tiene el efecto opuesto, inhibe la actividad DAT. Este efecto adaptativo a largo plazo parece estar mediado por dos mecanismos diferentes, fosforilación e internalización, y formación de complejos oligoméricos no funcionales de DAT. A través de estos mecanismos, los agonistas D3R pueden tener efectos beneficiosos en la EP y depresión.

## ABSTRACT

Dopamine (DA) is a monoamine neurotransmitter involved in different brain functions such as behavior, cognition, motor activity, motivation and learning. DA actions are exerted through DA post- and pre-synaptic receptors. The availability of DA on DA receptors is regulated by the dopamine transporter (DAT), a membrane glycoprotein responsible for the uptake of DA into the presynaptic neuron after its release. DAT dysfunction has been implicated in Parkinson's disease (PD) and in psychiatric disorders such as schizophrenia, bipolar disorder and attention deficit hyperactivity disorder. DAT activity is regulated by posttranslational modifications such as glycosylation, phosphorylation and ubiquitination, and interactions with different presynaptic proteins including DA D2 and D3 autoreceptors. These interactions promote the recruitment of DAT to the plasma membrane or its internalization to be either recycled or degraded. Bearing in mind the role of DAT in different neuro-psychiatric conditions, and the extensive prescription of DA D2/D3 ligands: agonists in PD, and antagonists in depression and bipolar disorder, the aim of this work is to review the current knowledge on the interaction between DA D2 and D3 autoreceptors with DAT. Data show that D2 receptor stimulation leads to an increase in DAT membrane expression and DA uptake, and that this effect is mediated by both direct DAT-D2 interaction and a G-protein mediated mechanism. However, D3 receptor stimulation has a biphasic effect. Acute stimulation promotes DAT recruitment to the plasma membrane and an increase in DA uptake through a G-protein (MAPK and PIK3)-dependent mechanism. But after prolonged stimulation, DAT uptake decreases. This long-term adaptive effect is probably mediated by both phosphorylation and subsequent internalization, and the formation of non-functional DAT oligomeric complexes. Through these adaptive mechanisms, D3 receptor agonists may exert beneficial effects on PD and depression.

## ÍNDICE

1. Introducción.....	página 04
1.1 Definición y funciones de la dopamina.....	página 04
1.2 Sistema dopaminérgico mesoestriatal.....	página 04
1.3 Manejo de la dopamina en el cerebro.....	página 05
1.4 Transportador de dopamina y vulnerabilidad dopaminérgica .....	página 06
1.5 Receptores dopaminérgicos.....	página 07
1.6 Ligandos dopaminérgicos en enfermedades neurológicas y psiquiátricas.....	página 08
2. Objetivos.....	página 09
3. Material y Método.....	página 09
4. Resultados y Discusión.....	página 10
4.1. Interacción D2-DAT.....	página 10
4.2. Interacción D3-DAT.....	página 11
4.3. Potencial traslación clínica de estos efectos.....	página 12
5. Conclusiones.....	página 13
6. Referencias.....	página 14

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Definición y funciones de la dopamina

La dopamina (DA) es la principal catecolamina que actúa como neurotransmisor en el sistema nervioso central de los mamíferos y controla una gran variedad de funciones como la modulación de la actividad sensorial, la actividad motora, la actividad endocrina, el aprendizaje, la memoria, la emotividad, la afectividad y la motivación [1, 2]. Teniendo en cuenta el papel de la DA en estas funciones, su desregulación se relaciona con el desarrollo de trastornos neurológicos como la esquizofrenia, déficit de atención con hiperactividad (TDAH), síndrome de piernas inquietas, depresión, enfermedad de Parkinson (EP), así como el abuso de drogas psicoestimulantes [2].

### 1.2. Sistema dopaminérgico mesoestriatal

Las neuronas responsables de sintetizar DA se encuentran en diferentes regiones del sistema nervioso central, especialmente en la sustancia negra *pars compacta* (SNc), el área tegmental ventral (ATV) del mesencéfalo y el hipotálamo, dando origen a los sistemas dopaminérgico mesoestriatal, mesocorticolímbico y tuberoinfundibular, respectivamente [3] (ver figura 1). El sistema mesoestriatal tiene su origen en la SNc, cuyas neuronas se localizan en el mesencéfalo y proyectan principalmente a la parte dorsal del estriado [4, 5]. Este sistema mesoestriatal está implicado en la regulación motora y su degeneración es la principal patología en la EP.

Por otro lado, las neuronas que constituyen el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico tiene su origen en el ATV, también localizada en el mesencéfalo. Dichas células dopaminérgicas envían proyecciones fundamentalmente a la corteza frontal, amígdala y parte ventral del estriado y núcleo accumbens [6, 7]. Este sistema dopaminérgico está relacionado con respuestas motivacionales y afectivas. De hecho, existen evidencias que demuestran que el sistema mesocorticolímbico juega un papel importante en el desarrollo de la esquizofrenia y en la fisiopatología de la depresión [8].

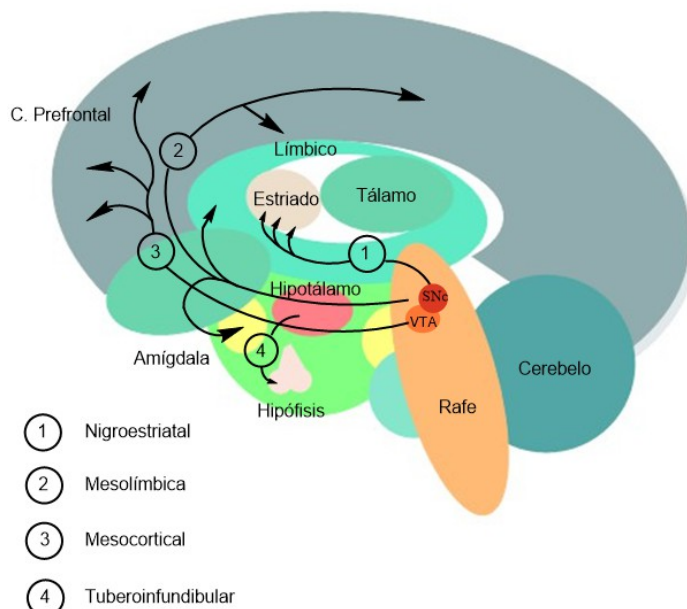


Fig. 1. Esquema de los sistemas dopaminérgicos en humano.

### 1.3. Manejo de la dopamina en el cerebro

Los efectos de la DA sobre sus receptores dependen de los niveles de DA a nivel extracelular y éstos del equilibrio entre diferentes procesos que en conjunto llamamos manejo de la DA. El manejo de la DA incluye: síntesis, almacenamiento vesicular, liberación, recaptación y metabolización. La DA se sintetiza a partir de la hidroxilación del aminoácido L-tirosina y el oxígeno como sustratos, la tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactor, y la enzima tirosina hidroxilasa (TH, enzima limitante en este proceso) dando lugar a la L-DOPA. La descarboxilación de ésta por la acción de enzima dopa descarboxilasa da lugar a la DA. La DA es almacenada en vesículas sinápticas a través del transportador vesicular de monoaminas VMAT2. Tras la fusión de la membrana vesicular con la membrana plasmática se libera la DA al espacio extracelular, donde actúa sobre los receptores. Posteriormente es recaptada por la neurona dopaminérgica a través del transportador de DA (DAT). La DA puede ser metabolizada tanto a nivel extracelular como intracelular. La DA citosólica no vesiculada puede metabolizarse por autooxidación o a través de dos enzimas, la monoamino-oxidasa (MAO), de la que se han descrito dos isoformas (MAO-A y MAO-B) y la catecol-o-metiltransferasa (COMT; ver figura 2). El catabolismo enzimático de la DA, vía MAO, induce la formación de peróxido de hidrógeno, y su auto-oxidación a la síntesis de neuromelanina, y ésta a la formación de radicales hidroxilo al unirse al hierro [9, 10]. Teniendo en cuenta este fenómeno, se ha sugerido que la DA, además de ser neurotransmisor de las neuronas dopaminérgicas, cuyo déficit caracteriza la EP, puede ser responsable de la susceptibilidad de las neuronas dopaminérgicas a la degeneración [11].

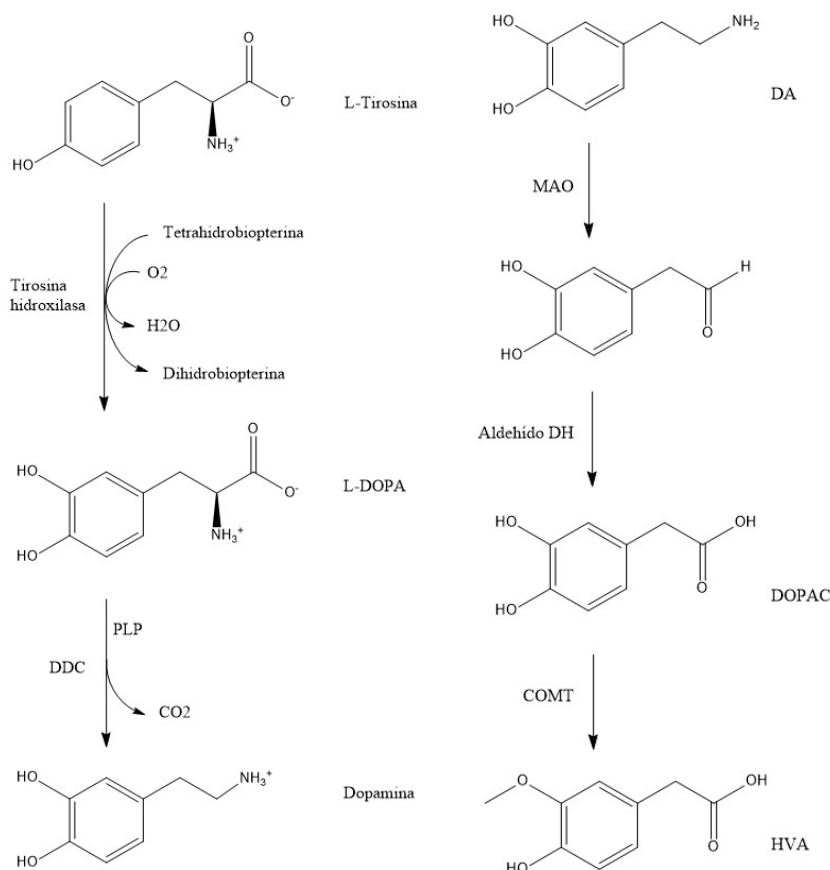


Fig. 2. Esquema de la síntesis y metabolización de la dopamina

#### 1.4. Transportador de dopamina y vulnerabilidad dopaminérgica

Los niveles de DA intracelular dependen fundamentalmente de su recaptación desde el espacio extracelular por el DAT. DAT es una glicoproteína con 12 dominios transmembrana  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  dependiente, específica de las neuronas dopaminérgicas, presente en la membrana presináptica que recapta la DA desde el espacio sináptico hacia el citosol, lo que lo convierte en un elemento esencial en la intensidad de señalización, inactivación y reciclaje de la DA extracelular [12, 13]. Teniendo en cuenta que VMAT2 es el responsable de la vesiculación de DA citosólica, podemos decir que los niveles de DA citosólica dependen del balance entre estos dos transportadores (ver figura 3). Además, ambos transportadores también pueden ser utilizados por metabolitos de la DA o tóxicos exógenos que compartan similitudes estructurales con ésta [14]. El hecho de que DAT aumenta los niveles de DA o de tóxicos en el citosol, lo convierte en un factor de riesgo ante la degeneración, mientras que el VMAT2, al almacenarlos en las vesículas y reducir sus niveles en el citosol, lo convierte en un factor neuroprotector [15, 16, 17].

La desregulación de DAT se ha implicado en diferentes trastornos neurológicos como TDAH, depresión, abusos a drogas, EP y esquizofrenia [18, 19, 20]. Actualmente se sabe que la función de DAT está regulada por diversos factores como la propia DA extracelular [13], la actividad de la proteína quinasa C (PKC) [21, 22], la interacción con diferentes proteínas presinápticas [23], y los autorreceptores dopaminérgicos D2 y D3 [24, 25]. Estos factores favorecen su tráfico y reclutamiento en la membrana plasmática facilitando su disponibilidad funcional [13, 28] o por el contrario su internalización para ser reciclado o degradado [25].

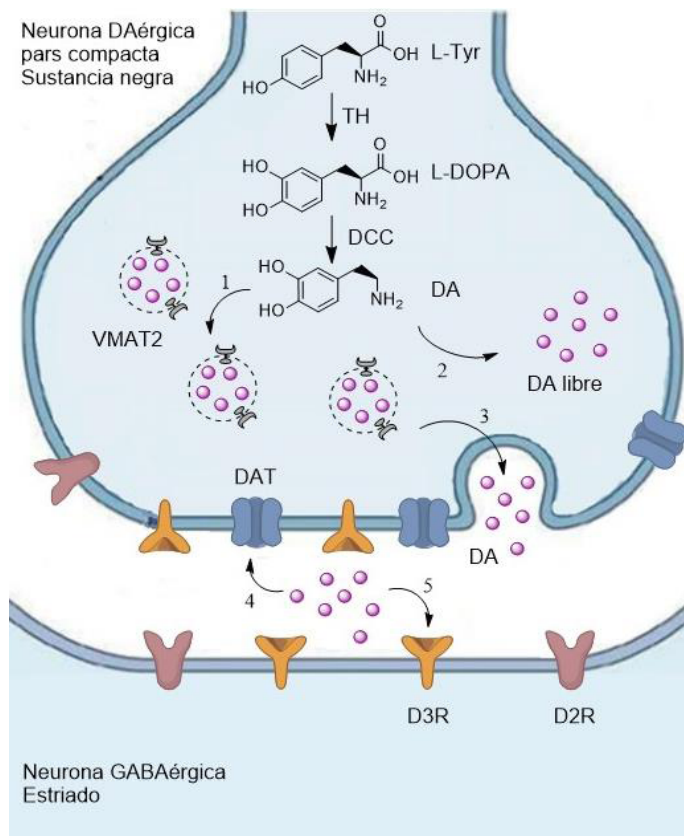


Fig. 3. Manejo de la dopamina en el sistema dopaminérgico mesoestriatal.

### 1.5. Receptores dopaminérgicos

Los receptores dopaminérgicos se clasifican en dos familias en función de sus propiedades estructurales, farmacológicas y bioquímicas: *la familia D1*, que comprende a los receptores D1 y D5 y *la familia D2*, que incluye a los receptores D2, D3 y D4 [26, 27]. Estos receptores están constituidos por siete segmentos transmembrana unidos por 3 segmentos intracelulares y 3 extracelulares, con un extremo inicial amino externo (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) y un extremo carboxilo final intracelular (COO<sup>-</sup>) acoplados a proteína G [1, 27]. En el caso de los receptores de la subfamilia D1, que se acoplan a proteína G<sub>s</sub>, los podemos clasificar a grandes rasgos como estimuladores de la actividad de la adenilato ciclasa, ya que produce un incremento del AMPc intracelular [28, 29]. En cambio, la activación de los receptores de la subfamilia D2, que se acoplan a proteína G<sub>i/o</sub>, inhiben la actividad de la adenilato ciclasa, disminuyendo la producción de AMPc [30, 31] (ver figura 4).

#### Familia de receptores DAérgicos D1-D5

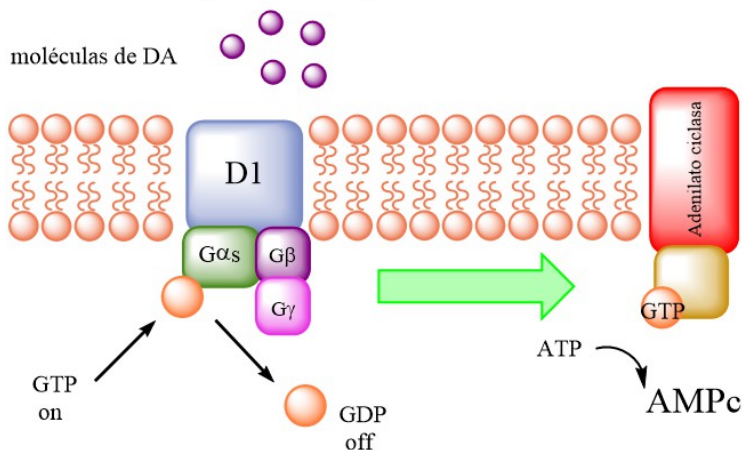
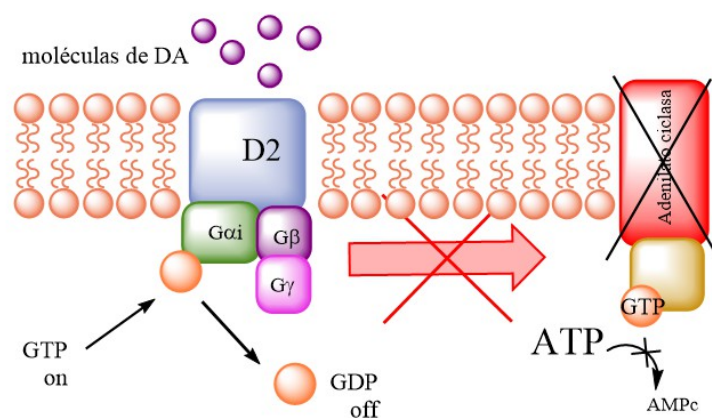


Fig. 4. Mecanismo de acción de los receptores dopaminérgicos de la Familia D1 y D2.

#### Familia de receptores DAérgicos D2-D3-D4





Los receptores dopaminérgicos, en general, se encuentran ampliamente distribuidos en el cerebro y fuera de él. Dentro del cerebro se expresan preferentemente a nivel postsináptico, pero también a nivel presináptico [32]. Con respecto a la familia D2, los receptores tipo D2 están ampliamente distribuidos en diferentes zonas cerebrales: su expresión es alta en estriado, núcleo accumbens y el tubérculo olfatorio, y en menor medida en la SNc, ATV, hipotálamo, áreas corticales, septum, amígdala e hipocampo [1, 35].

Este receptor tiene la particularidad que, al ser cortado a nivel de ARNm, surgen dos isoformas del receptor denominadas D<sub>2S</sub> (corto) y D<sub>2L</sub> (largo). El receptor D<sub>2L</sub> difiere del corto por una inserción de 29 aminoácidos. El D<sub>2L</sub> tiene una distribución preferencial postsináptico, mientras que el D<sub>2S</sub> es mayoritariamente presináptico [36]. Con respecto al receptor D3 se encuentra preferentemente en el núcleo accumbens, el tubérculo olfatorio y las islas de Callejas, a niveles más bajos en estriado dorsal y neuronas dopaminérgicas mesencefálicas, y está prácticamente ausente en la corteza cerebral [1, 37]. Se le ha vinculado con procesos motivacionales como el de reforzamiento y de recompensa [1, 38]. En el estriado, los de la familia D2 (D2 y D3) se localizan tanto en terminales presinápticos como postsinápticos, [33, 34]. Como autorreceptores, los receptores D2 y D3 controlan la velocidad de disparo y la síntesis, liberación y “turnover” de DA [39].

#### **1.6. Ligandos dopaminérgicos en enfermedades neurológicas y psiquiátricas**

Teniendo en cuenta la implicación de la transmisión dopaminérgica nigroestriatal en la fisiopatología de la EP, y la mesolímbica en la esquizofrenia, psicosis y trastorno bipolar, los agonistas dopaminérgicos son actualmente usados como tratamiento de primera línea para paliar el síndrome motor debido al déficit de DA estriatal en la EP, y los antagonistas dopaminérgicos para reducir las alucinaciones y los episodios maníacos en la psicosis y esquizofrenia. Aunque sabemos que los receptores D2 y D3 se expresan tanto a nivel postsináptico como presináptico, se asume que los efectos de estos ligandos son debidos fundamentalmente a sus acciones sobre los receptores postsinápticos. Teniendo en cuenta, por un lado, el papel del DAT en la regulación de los niveles de DA extracelular y en la vulnerabilidad de las neuronas dopaminérgicas, y por otro, la evidencia a nivel experimental de que DAT está regulado por autorreceptores dopaminérgicos D2 y D3, sería interesante conocer los datos actuales sobre la interacción D2-DAT y D3-DAT y los efectos de ligandos dopaminérgicos sobre la actividad DAT.

## 2. OBJETIVO

Realizar una revisión bibliográfica sobre los estudios la interacción de autorreceptores D2 y D3 con DAT y los efectos de agonistas D2 y D3 sobre su actividad.

## 3. MATERIAL Y MÉTODO

### 3.1. Tipo de estudio.

Este estudio consiste en una revisión bibliográfica de la literatura científica disponible sobre los procesos bioquímicos que intervienen en la interacción D2-DAT y D3-DAT en el sistema mesoestriatal y los efectos resultantes en la recaptación de DA y su repercusión en el manejo de diferentes enfermedades neurológicas y psiquiátricas.

### 3.2. Estrategias de búsqueda.

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica tanto en castellano como en inglés, utilizando las siguientes palabras clave en diferentes combinaciones: dopamine, dopamine transporter, dopamine agonist, dopamine ligand, dopamine receptor, D2 receptor, D3 receptor.

Se utilizó el punto Q de la biblioteca de la Universidad de La Laguna para acceder a revistas, libros y a las siguientes bases de datos: PubMed, Scopus, CINAHL (Ebsco) y Dialnet usadas en esta revisión.

Por último, se completó la revisión bibliográfica mediante una búsqueda manual utilizando las referencias bibliográficas citadas en los artículos encontrados.

### 3.3. Criterios de inclusión.

- Todos los artículos que se ha publicado en inglés o español relacionados con el tema.
- Artículos disponibles a texto completo.
- Aquellos artículos que hablen de la regulación de la actividad y expresión de DAT vía autorreceptores D2/D3.

### 3.5. Criterios de exclusión.

- Artículos que no se encuentren disponibles para acceder a texto completo.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Interacción D2-DAT

Para entender el estado actual de conocimiento sobre la regulación de DAT por autorreceptores, debemos partir del conocimiento de que un autorreceptor es un sensor de los niveles extracelulares del neurotransmisor para modular su liberación desde la neurona presináptica. Por ejemplo, ante un aumento o disminución de la concentración de DA en el espacio extracelular, el autorreceptor interpreta un exceso o disminución de neurotransmisión, respectivamente, y por tanto, iniciará una vía de señalización dirigida a disminuir o aumentar la concentración de DA extracelular. Hemos de recordar que la expresión del receptor D2 en el cerebro es más robusta que la del D3, y por tanto fue descubierto, secuenciado y estudiado anatómicamente y funcionalmente antes que el D3. Los primeros estudios realizados en los años ochenta mostraron que la estimulación del autorreceptor D2 provocaba una reducción de la velocidad de disparo y de la síntesis y liberación de DA [40, 41]. En los años noventa, tras el descubrimiento y caracterización funcional del DAT [42] se empieza a relacionar a los autorreceptores dopaminérgicos con la recaptación de DA. Por un lado, se observó colocalización de DAT y receptor D2 en terminales presinápticas estriatales [43] y por otro, que el agonista dopaminérgico quinpirole aumentaba la velocidad de recaptación de DA en estriado de ratón, y que este efecto era bloqueado por el antagonista D2 spiperone [44, 45]. Estudios más recientes han demostrado interacción física entre el receptor D2 y DAT y que esta interacción en si misma, en ausencia de agonistas, potencia la localización de DAT en la membrana plasmática y la recaptación de DA [23]. Por otro lado, también se ha visto que la estimulación de D2 activa la vía de señalización PKC- $\beta$ -MAPK/ERK y AKT, independientemente de PI3K para realizar su acción en la transmisión [46, 47]. Por tanto, la idea actual, por otro lado esperada, es que por sus acciones presinápticas, tanto a través de interacción directa con DAT como por sus efectos a través de activación de quinasas, los agonistas dopaminérgicos D2 potencian la actividad DAT, reduciendo los niveles de DA extracelular y aumentando los niveles de DA intracelular.

## 2. *Interacción D3-DAT*

La interacción del autorreceptor D3 con DAT ha sido menos estudiada debido en primer lugar a que el receptor D3 fue identificado casi 20 años más tarde que el receptor D2 [27, 48], en segundo lugar a que su expresión es más restringida que la del receptor D2 y en tercer lugar a la alta similitud molecular con el receptor D2, con el que comparte el 78% de su secuencia de dominios transmembrana [27, 49] lo que ha dificultado su identificación y el diseño de ligandos específicos. Por otro lado las diferencias funcionales entre D2 y D3 no parecen muy llamativas. Los datos indican que la afinidad de D3 por DA es mayor, es decir que responde a concentraciones de DA extracelular más bajas que el receptor D2, con lo que ejercería un efecto modulador más fino de la señalización dopaminérgica [50]. Los primeros estudios sobre los efectos del autorreceptor D3 sobre la recaptación de DA fueron realizados utilizando ratones D3RKO (deficientes en receptor D3) y sus homólogos salvajes tratados con el agonista D3 preferente PD128907 [51, 52]. Los resultados mostraron que PD128907 causaba una reducción de los niveles de DA extracelular, medidos por microdiálisis, en los ratones salvajes pero no en los D3RKO. Además en los ratones salvajes el efecto era bloqueado por el antagonista D3 GR103691, lo que sugería que el autorreceptor D3, al igual que el D2, aumentaba la recaptación de DA. Estudios posteriores del mismo grupo [53], utilizando células HEK transfectadas con DAT y receptor D3 y tratamiento con el agonista quinpirole, observaron que la exposición aguda (minutos) al agonista producía un reclutamiento de DAT a la membrana plasmática con aumento de la recaptación de DA a través de la activación de MAPK/ERK1/2 vía PI3K. En cambio, cuando la exposición al agonista se prolongaba por encima de treinta minutos, el efecto era el opuesto, se producía internalización de DAT y caída de la recaptación de DA. Un efecto similar se ha descrito en dos estudios realizados en ratones. Por un lado, Joyce et al. [24] observaron que el tratamiento prolongado (5 días) con el agonista D3 preferente pramipexol, también producía una caída de la recaptación de DA en el estriado de ratón salvaje pero no en D3R deficientes. Un estudio más reciente de Castro-Hernández et al. [54] ha confirmado que el tratamiento prolongado con pramipexol reduce la recaptación de DA en ratones salvajes pero no en D3R deficientes, y que la caída de la recaptación de DA se acompaña de la formación de oligómeros no-funcionales de DAT en la membrana de las terminales dopaminérgicas. Por tanto, podemos decir que la interacción del receptor D3 con DAT tiene un efecto dual. El tratamiento agudo induce reclutamiento de DAT a la membrana celular y aumento de la recaptación de DA, mientras que el tratamiento prolongado produce una caída de la recaptación de DA y que este efecto puede ser debido tanto a internalización como a la formación de oligómeros de no-funcionantes de DAT.

### 3. *Potencial traslación clínica de estos efectos.*

A la vista de estos hallazgos podemos decir, en primer lugar, que los efectos de los agonistas D2 sobre la transmisión dopaminérgica dependen del predominio de su acción pre- o post-sinápticos. Sus acciones post-sinápticas facilitan la transmisión dopaminérgica al estimular los receptores. En cambio al actuar sobre los receptores presinápticos aumentan la actividad DAT y consecuentemente reducen la dopamina extracelular. Desafortunadamente actualmente no disponemos de compuestos que actúen de forma selectiva, o preferente, a uno u otro nivel y cuando utilizamos agonistas D2 el efecto resultante será la combinación de ambos. En segundo lugar, el efecto de los agonistas D3 sobre la actividad del DAT es diferente al de los agonistas D2, ya que el tratamiento prolongado reduce la recaptación de DA, aumentando la concentración extracelular de DA y reduciendo sus niveles citosólicos, lo que reduce el estrés oxidativo, protegiendo a las neuronas dopaminérgicas, dos efectos interesantes en la EP en la que el estrés oxidativo juega un papel fundamental en la degeneración neuronal a la vez que está reducida la transmisión dopaminérgica por la degeneración de la vía mesoestriatal. Este efecto puede ser interesante también en el tratamiento de la depresión, ya que la inhibición de la recaptación de DA aumenta los niveles de DA a nivel del receptor postsináptico potenciando su transmisión. De hecho, el pramipexol, un agonista D3 preferente ha demostrado sus efectos beneficiosos en el tratamiento de la depresión resistente a los antidepresivos clásicos [55, 56, 57, 58]. Es posible que el mecanismo de acción esté relacionado con el DAT. En cualquier caso, debemos señalar que debido a la alto grado de homología entre la estructura del receptor D2 y D3, no existen fármacos que actúen selectivamente sobre uno de ellos, aunque actualmente disponemos de algunos que han demostrado mayor afinidad por uno de ellos. Tres de ellos particularmente interesantes por su mayor afinidad por D3 que por de D2 son pramipexol, rotigotina y el ropirinol. Actualmente se siguen buscando fármacos más selectivos utilizando técnicas de modelización y simulación por homología estructural [59, 60].

## 5. CONCLUSIONES

1. La estimulación aguda de receptores dopaminérgicos de D2 y D3 causan reclutamiento de DAT en la membrana celular y aumento de la recaptación de DA.
2. El efecto D2 sobre DAT es a través de dos mecanismos diferentes: interacción física directa, independiente de la presencia de ligandos, y la vía de señalización PKC- $\beta$ -MAPK/ERK y AKT, independientemente de PI3K. El efecto de D3 es a través de esta misma vía pero dependiente de PI3K.
3. Por el contrario la estimulación prologada de los receptores D3 induce un efecto opuesto, reducción de la actividad del transportador asociado a una pérdida de afinidad por la DA. En este efecto interviene tanto la internalización del transportador como la formación de oligómeros no-funcionantes de DAT en la membrana.
4. El efecto de la administración prolongada de agonistas D3 sobre DAT puede tener un efecto neuroprotector sobre las neuronas dopaminérgicas en la enfermedad de Parkinson y explicar los efectos beneficiosos del pramipexol en depresión resistente a antidepresivos de primera elección.

## 6. REFERENCIAS

1. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiol Rev.* 1998;78(1):189-225.
2. Collins GT, Woods JH. Narrowing in on compulsions: Dopamine receptor functions. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2008;16(6):498-502.
3. Ungerstedt U. Stereotaxic Mapping of the Monoamine Pathways in the Rat Brain. *Acta physiol Scand Suppl.* 1971;82(637):1-48.
4. Haber SN, Knutson B. The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(1):4-26.
5. Parent A. Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 1990;13(7):254-258.
6. Lindvall O, Björklund A, Skagerberg G. Selective histochemical demonstration of dopamine terminal systems in rat di- and telencephalon: new evidence for dopaminergic innervation of hypothalamic neurosecretory nuclei. *Brain Res.* 1984;306(1-2):19-30.
7. Ikemoto S. Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Res Rev.* 2007;56(1):27-78.
8. Carlsson A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Toxicol.* 2001;41:237-60.
9. Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2001;65(2):135-172.
10. Clarkson ED, Edwards-Prasad J, Freed CR, Prasad KN. Immortalized Dopamine Neurons: A Model to Study Neurotoxicity and Neuroprotection. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222(2):157-163.
11. Dawson TM, Dawson VL. Molecular Pathways of Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *Science.* 2003;302(5646):819-822.
12. Amara SG, Kuhar MJ. Neurotransmitter Transporters: Recent Progress. *Annu Rev Neurosci.* 1993;16:73-93.
13. Mortensen OV, Amara SG. Dynamic regulation of the dopamine transporter. *Eur J Pharmacol.* 2003;79(1-3):159-170.
14. Attwell D, Mobbs P. Neurotransmitter transporters. *Curr Opin Neurobiol.* 1994;4(3):353-359.
15. Cerruti C, Drian MJ, Kamenka JM, Privat A. Protection by BTCP of cultured dopaminergic neurons exposed to neurotoxins. *Brain Res.* 1993;617(1):138-142.
16. Nirenberg MJ, Chan J, Liu Y, Edwards RH, Pickel VM. Ultrastructural Localization of the Vesicular Monoamine Transporter-2 in Midbrain Dopaminergic Neurons: Potential Sites for Somatodendritic Storage and Release of Dopamine. *J Neurosci.* 1996;16(13):4135-4145.
17. Bezard E, Gross CE, Fournier MC, Dovero S, Bloch B, Jaber M. Absence of MPTP-Induced Neuronal Death in Mice Lacking the Dopamine Transporter. *Exp Neurol.* 1999;155(2):268-273.
18. Afonso-Oramas D, Cruz-Muros I, Álvarez de la Rosa D, Abreu P, Giráldez T, Castro-Hernández J, et al. Dopamine transporter glycosylation correlates with the vulnerability of midbrain dopaminergic cells in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2009;36(3):494-508.

19. Amsterdam JD, Newberg AB, Soeller I, Shults J. Greater striatal dopamine transporter density may be associated with major depressive episode. *J Affect Disord.* 2012;141(2-3):425-431.
20. Bowton E, Saunders C, Erreger K, Sakrikar D, Matthies HJ, Sen N, et al. Dysregulation of Dopamine Transporters via Dopamine D<sub>2</sub> Autoreceptors Triggers Anomalous Dopamine Efflux Associated with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *J Neurosci.* 2010;30(17):6048-6057.
21. Miranda M, Wu CC, Sorkina T, Korstjens DR, Sorkin A. Enhanced Ubiquitylation and Accelerated Degradation of the Dopamine Transporter Mediated by Protein Kinase C. *J Biol Chem.* 2005;280(42):35617-35624.
22. Cummings DF, Ericksen SS, Goetz A, Schetz JA. Transmembrane Segment Five Serines of the D4 Dopamine Receptor Uniquely Influence the Interactions of Dopamine, Norepinephrine, and Ro10-4548. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;333(3):682-695.
23. Lee FJ, Pei L, Moszczynska A, Vukusic B, Fletcher PJ, Liu F. Dopamine transporter cell surface localization facilitated by a direct interaction with the dopamine D2 receptor. *EMBO J.* 2007;26(8):2127-2136.
24. Joyce JN, Woolsey C, Ryoo H, Borwege S, Hagner D. Low dose pramipexole is neuroprotective in the MPTP mouse model of Parkinson's disease, and downregulates the dopamine transporter via the D<sub>3</sub> receptor. *BMC Biol.* 2004;2(22).
25. Torres GE. The dopamine transporter proteome. *J Neurochem.* 2006;97(1):3-10.
26. Keibarian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature.* 1979;277(5692):93-106.
27. Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature.* 1990;347(6289):146-151
28. Cavallotti C, Frati A, Cavallotti D, Tranquilli Leali FM. Dopaminergic receptors in rat dura mater: pharmacological characteristics. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004;31(3):190-194.
29. Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res.* 2004;24(3):165-205.
30. Hall DA, Strange PG. Comparison of the ability of dopamine receptor agonists to inhibit forskolin-stimulated adenosine 3'5'-cyclic monophosphate (cAMP) accumulation via D2L (long isoform) and D3 receptors expressed in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Biochem Pharmacol.* 1999;58(2):285-289.
31. Levey AI, Hersch SM, Rye DB, Sunahara RK, Nizkik HB, Kitt CA, et al. Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(19):8861-8865.
32. Dal Toso R, Sommer B, Ewert M, Herb A, Pritchett DB, Bach A, et al. The dopamine D2 receptor: two molecular forms generated by alternative splicing. *EMBO J.* 1989;8(13):4025-4034.
33. Gerfen CR. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci.* 2000;(10 suppl):64-70.
34. Van-Ham I, Banihashemi B, Wilson AM, Jacobsen KX, Czesak M, Albert PR. Differential signaling of dopamine-D2S and -D2L receptors to inhibit ERK1/2 phosphorylation. *J Neurochem.* 2007;102(6):1796-1804.
35. Sokoloff P., Diaz J., Le Foll B., Guillin O., Leriche L., Bezard E, et al. The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS and Neurological Disorders – Drug Targets.* 2006;5(1):25-43.
36. Bahena-Trujillo R, Flores G, Arias-Montaña JA. Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Rev Biomed.* 2000;11:39-60.
37. Mercuri NB, Saiardi A, Bonci A, Picetti R, Calabresi P, Bernardi G, et al. Loss of autoreceptor function in dopaminergic neurons from dopamine D2 receptor deficient mice. *Neuroscience.* 1997;79(2):323-327.



38. Payne SL, Johansson AM, Strange PG. Mechanisms of ligand binding and efficacy at the human D2(short) dopamine receptor. *J Neurochem.* 2002;82(5):1106-1117.
39. Feng Z, Hou T, Li Y. Selectivity and activation of dopamine D3R from molecular dynamics. *Journal of Molecular Modeling.* 2012;18(12):5051-5063.
40. Hoffman IS, Cubeddu LX. Presynaptic effects of tetrahydropapaveroline on striatal dopaminergic neurons. *J Pharmacol Exp Ther.* 1982;220(1):16-22.
41. Haubrich DR, Pflueger AB. The autoreceptor control of dopamine synthesis. An in vitro and in vivo comparison of dopamine agonists. *Mol Pharmacol.* 1982; 21(1):114-20.
42. Giros B, el Mestikawy S, Bertrand L, Caron MG. Cloning and functional characterization of a cocaine-sensitive dopamine transporter. *FEBS Lett.* 1991;295(1-3):149-54.
43. Hersch SM, Yi H, Heilman CJ, Edwards RH, Levey AI. Subcellular localization and molecular topology of the dopamine transporter in the striatum and substantia nigra. *J Comp Neurol.* 1997;388(2):211-227
44. Meiergerd SM, Patterson TA, Schenk JO. D2 receptors may modulate the function of the striatal transporter for dopamine: kinetic evidence from studies in vitro and in vivo. *J Neurochem.* 1993;61(2):764-7.
45. Batchelor M, Schenk JO. Protein kinase A activity may kinetically upregulate the striatal transporter for dopamine. *Journal Neurosci.* 1998;18(24):10304-10309.
46. Bolan EA, Kivell B, Jaligam V, Oz M, Jayanthi LD, Han Y, et al. Shippenberg. D2 receptors regulate dopamine transporter function via an extracellular signal-regulated kinases 1 and 2-dependent and phosphoinositide 3 kinase-independent mechanism. *Mol Pharmacol.* 2007;71:1222-1232.
47. Chen R, Daining CP, Sun H, Fraser R, Stokes SL, Leitges M, et al. Protein kinase C $\beta$  is a modulator of the dopamine D2 autoreceptor-activated trafficking of the dopamine transporter. *J Neurochem.* 2013;125(5):663-672.
48. Madras BK. History of the discovery of the antipsychotic dopamine D2 receptor: a basis for the dopamine hypothesis of schizophrenia. *J Hist Neurosci.* 2013;22(1):62-78.
49. Levant B. The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacol Rev.* 1997;49(3):231-52.
50. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev.* 2011;63(1):182-217.
51. Zapata A, Witkin JM, Shippenberg TS. Selective D3 receptor agonist effects of (+)-PD 128907 on dialysate dopamine at low doses. *Neuropharmacology.* 2001;41(3):351-9.
52. Zapata A, Shippenberg TS. D(3) receptor ligands modulate extracellular dopamine clearance in the nucleus accumbens. *J Neurochem.* 2002;81(5):1035-42.
53. Zapata A, Kivell B, Han Y, Javitch JA, Bolan EA, Kuraguntla D, et al. Regulation of dopamine transporter function and cell surface expression by D3 dopamine receptors. *J Biol Chem.* 2007;282:35842-35854.
54. Castro-Hernández J, Afonso-Oramas D, Cruz-Muros I, Salas-Hernández J, Barroso-Chinea P, Moratalla R, et al. Prolonged treatment with pramipexole promotes physical interaction of striatal dopamine D3 autoreceptors with dopamine transporters to reduce dopamine uptake. *Neurobiol Dis.* 2015;74:325-335.
55. Zarate CA, Payne JL, Singh J, Quiroz JA, Luckenbaugh DA, Denicoff KD, et al. Pramipexole for bipolar II depression: a placebo-controlled proof of concept study. *Biol Psychiatry.* 2004;56(1):54-60.

56. Goldberg JF, Burdick KE, Endick CJ. Preliminary randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pramipexole added to mood stabilizers for treatment-resistant bipolar depression. *Am J Psychiatry*. 2004;161(3):564-6.
57. Hori H, Kunugi H. Dopamine agonist-responsive depression. *Psychogeriatrics*. 2013;13(3):189-95.
58. Fawcett J, Rush AJ, Vukelich J, Diaz SH, Dunklee L, Romo P, et al. Clinical Experience With High-Dosage Pramipexole in Patients With Treatment-Resistant Depressive Episodes in Unipolar and Bipolar Depression. *The Am J Psychiatry*. 2016;173(2):107-11.
59. Platania CB, Salomone S, Leggio GM, Drago F, Bucolo C. Homology modeling of dopamine D2 and D3 receptors: molecular dynamics refinement and docking evaluation. *PLOS One*. 2012;7(9):e44316.
60. Leggio GM, Bucolo C, Platania CB, Salomone S, Drago F. Current drug treatments targeting dopamine D3 receptor. *Pharmacol Ther*. 2016;165:164-77.