



Revisión

Polimorfismos del receptor D2



María Eugenia Céspedes

División Endocrinología, Hospital J. M. Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 23 de agosto de 2016

Aceptado el 15 de diciembre de 2016

On-line el 14 de febrero de 2017

Palabras clave:

Prolactinoma

Receptor dopaminérgico D2

Isoformas del DRD2

Polimorfismos del DRD2

Keywords:

Prolactinoma

Dopamine D2 receptor

DRD2 isoforms

DRD2 polymorphisms

R E S U M E N

Los prolactinomas son tumores bien diferenciados que se originan en las células lactotropas pituitarias, una línea celular que secreta fisiológicamente prolactina (PRL). A nivel hipofisario, la dopamina está implicada en la regulación de la secreción de PRL por las células lactotropas y este efecto inhibitorio está mediado por la activación del receptor de prolactina tipo 2 (DRD2).

Hay varios polimorfismos del DRD2, el primero y más estudiado es TaqI A1; está demostrado que este alelo se encuentra asociado a una reducción de la actividad cerebral dopaminérgica, además de observarse una reducción en su capacidad de unión de aproximadamente un 30%. Este alelo se ha vinculado con una menor densidad de DRD2 en el cuerpo estriado, especialmente en el putamen y caudado ventral, y la cantidad de DRD2 en portadores del alelo A1 fue un 30-40% más bajo que en los no portadores (es decir, TaqI A2 homocigotos).

En la literatura, hay evidencia que apoya la posible participación de los polimorfismos DRD2 en la regulación de la secreción hormonal.

© 2016 Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

D2 receptor polymorphisms

A B S T R A C T

Prolactinomas are well differentiated tumours that originate in the pituitary lactotrope cells, a cell line that physiologically secretes prolactin (PRL). At pituitary level, dopamine is involved in the regulation of PRL secretion by lactotropes, and this inhibitory effect is mediated by activation of prolactin type 2 receptor (DRD2).

Of the several DRD2 polymorphisms, the first and most studied is TaqI A1. It has been demonstrated that this allele is associated with a reduced dopaminergic brain activity, and a reduction in its binding capacity of approximately 30% also being observed. This allele was associated with a lower density of DRD2 in the striatum, especially in the putamen and ventral caudate. The amount of DRD2 in A1 allele carriers was 30 - 40% lower than in non-carriers (this is, TaqI A2 Homozygotes).

Correo electrónico: mecespedes@hotmail.com

<http://dx.doi.org/10.1016/j.raem.2016.12.002>

0326-4610/© 2016 Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

There is evidence in the literature, that supports the possible involvement of DRD2 polymorphisms in the regulation of hormonal secretion.

© 2016 Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El prolactinoma hipofisario es una patología poco frecuente con una prevalencia de 44,4 casos por 100.000 habitantes, según fue reportado recientemente¹, pero constituye el 40% de los tumores hipofisarios. Son tumores bien diferenciados que se originan en las células lactotropas pituitarias, una línea celular que secreta fisiológicamente prolactina (PRL), hormona involucrada en la lactancia y la reproducción, la cual es secretada y liberada bajo el control tónico negativo de la dopamina hipotalámica². Por lo tanto, a nivel hipofisario, la dopamina está implicada en la regulación de la secreción de PRL por las células lactotropas y este efecto inhibitorio está mediado por la activación del receptor de PRL tipo 2³.

Hay varios polimorfismos del DRD2, el primero y más estudiado es TaqI A1; está demostrado que este alelo se vincula con una reducción de la actividad cerebral dopaminérgica, además de observarse una reducción en su capacidad de unión de aproximadamente un 30%. El alelo A1 TaqI está asociado a una menor densidad de DRD2 en el cuerpo estriado, especialmente en el putamen y el caudado ventral, y la cantidad de DRD2 en portadores del alelo A1 fue un 30-40% más bajo que en los no portadores (es decir, TaqI A2 homocigotos)⁴.

Por lo tanto, el interés para la realización de esta revisión fue analizar las posibles implicancias de los polimorfismos del DRD2, principalmente en la regulación de los adenomas secretores de PRL, y si esto condiciona de alguna manera la evolución clínica y/o respuesta terapéutica en dicha patología.

Prolactina

La PRL es esencial en la producción de leche durante el embarazo y la lactancia. Funciones biológicas adicionales atribuidas a la PRL incluyen efectos a nivel reproductivo y metabólico, el desarrollo mamario, inmunomodulación, osmorregulación y modificaciones generales de la conducta. Hasta el presente, no se conoce el espectro completo de sus funciones en los mamíferos. Hoy se sabe que la PRL, la hormona de crecimiento (GH) y la lactógeno placentaria se encuentran íntimamente relacionadas por compartir la familia de genes que codifican para cada una de estas moléculas. Se supone que antiguamente constituyeron un único gen, que se ha diferenciado durante la evolución humana. Así parece corroborarlo el hecho de que GH posee una leve acción lactogénica, por su similitud estructural con la PRL².

El receptor D2

A nivel hipofisario, la dopamina está implicada en la regulación de la secreción de PRL por las células lactotropas

pituitarias y su efecto inhibitorio está mediado por la activación del DRD2. La dopamina es liberada a la adenohipófisis desde el hipotálamo mediante la vía del sistema portal hipotálamo-hipofisario. Cualquier factor que interrumpa la llegada de dopamina a la hipófisis anterior, o bien cualquier disturbio en la transducción de la señal, podría resultar en hiperprolactinemia².

El receptor D2 posee 7 dominios de transmembrana, de 20 a 25 residuos hidrofóbicos cada uno, y están acoplados a sistemas de transducción intracelular mediante proteínas G. Los 7 dominios están conectados de forma alterna por asas citoplasmáticas (i1, i2, i3) y extracelulares (e1, e2, e3), con una región amino terminal que corresponde a un dominio extracelular glucosilado y una región carboxilo terminal intracelular que interacciona con las proteínas G. La unión de la dopamina activa las subunidades alfa de Gi y las proteínas que inician la transducción de señales intracelulares de la vía. En particular, G alfa i activado reduce la actividad de la adenilciclase y, posteriormente, el nivel de AMPc intracelular⁵. La exocitosis y la transcripción de PRL es consecuentemente reducida. La proliferación de las células lactotropas es disminuida por la dopamina⁶ y la evidencia indica que implica tanto efectos citostáticos y citotóxicos provocados por la activación de DRD2⁷. Por lo tanto, los receptores de dopamina son clasificados en 2 subfamilias, basados en sus efectos diferenciales a nivel de la adenilciclase. Los receptores D2 disminuyen la actividad de la adenilciclase, mientras que los receptores D1 la estimulan. En la adenohipófisis, el receptor predominante es D2 y, por lo tanto, este inhibe la secreción de PRL en presencia de dopamina. El gen DRD2 está localizado en el cromosoma 11 a nivel q22 q23 y está comprendido por 270 kilobases y tiene 8 exones⁵. Los receptores de dopamina genéticamente alterados en las células lactotropas podrían producir un aumento de la transducción de señal, con la consiguiente hiperprolactinemia y, si esta situación se prolonga, a un crecimiento adenomatoso. Esta hipótesis es atractiva para el desarrollo de los prolactinomas y sería debido a un defecto molecular en el DRD2 o bien en sus segundos mensajeros que libera el lactotrofo de la inhibición tónica de la dopamina. Por lo tanto, la dopamina podría ser capaz de ejercer efectos antiproliferativos en los lactotropos⁶ y se ha propuesto un posible papel del DRD2 en la patogénesis de los adenomas pituitarios secretores de PRL. Sin embargo, aunque se ha demostrado que los defectos de la señalización de la dopamina pueden dar lugar a la hipersecreción de PRL y la proliferación lactotropa, los prolactinomas mantienen parcialmente la capacidad de respuesta a la dopamina en términos de inhibición tanto de secreción de PRL, como de proliferación celular. Como consecuencia, los pacientes con prolactinomas son eficazmente tratados con agentes dopaminérgicos (bromocriptina y cabergolina [CAB]) y solo un 10-15% de los pacientes no responden al tratamiento con CAB en

términos de inhibición de la secreción hormonal y/o reducción tumoral⁸.

Polimorfismos del receptor D2

Un splicing alternativo del gen del DRD2 a nivel del exón 6 origina un receptor de 443 aminoácidos (AA) (D2L: *isoforma larga*) y otro de 414 AA (D2S: *isoforma corta*). Esos 29 AA adicionales están presentes en el dominio intracitoplasmático, donde el receptor interactúa con la proteína G y la alteración en la distribución de estas isoformas puede modificar la transducción de señales⁹. El primer polimorfismo y el más estudiado es TaqI A; está constituido por un polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (restriction fragment length polymorphism [RFLP]), ubicado a nivel del exón 6. TaqI A es un polimorfismo de la cinasa ankirina 1 (ANKK1), gen localizado a nivel 3' de DRD2, que causa un cambio no codificante de glutamato a lisina en el codón 713¹⁰. Todavía no está claro si los alelos del gen ANKK1 desempeñan un papel directo o si este polimorfismo está en asociación con el desequilibrio de otras variaciones genómicas más directamente implicadas en la regulación del sistema dopaminérgico¹¹.

En los últimos 20 años, varios estudios analizan el papel del receptor de dopamina D2 en la patogénesis de las enfermedades o trastornos psiquiátricos (p. ej., esquizofrenia, alcoholismo, tabaquismo, abuso de sustancias como opiáceos y susceptibilidad a la migraña), pero pocos son los datos disponibles acerca de la asociación de DRD2 y los prolactinomas.

Impacto de las variantes DRD2

Es ampliamente aceptado que el alelo TaqI A1 está asociado con una reducción de la actividad cerebral dopaminérgica. Un estudio *in vitro* post mortem ha demostrado en muestras de núcleo caudado que el genotipo TaqI A se caracteriza por diferencias significativas en la unión del DRD2, en este caso por el ligando H3-spiperona. En particular, la unión a DRD2 fue aproximadamente un 30% menor en las muestras de pacientes con alelo TaqI A1 (A1/A1 homocigotos y heterocigotos) que en TaqI A2 homocigotos¹². Se observaron resultados similares en otro estudio post mortem en el que la unión del DRD2 se midió por otro ligando más específico (racloprida) en el putamen, el caudado y el núcleo accumbens. En este estudio, el alelo TaqI A1 se asoció a una menor densidad de DRD2 en el cuerpo estriado, especialmente en el putamen y el caudado ventral, y la cantidad de DRD2 en portadores del alelo A1 fue un 30-40% más bajo que en los no portadores (es decir, TaqI A2 homocigotos)⁴. Estos datos fueron confirmados por tomografía por emisión de positrones (PET), estudio que utilizó el trazador 11C-racloprida en una cohorte finlandesa de voluntarios sanos. Se observó que los sujetos TaqI A1/A2 heterocigotos tenían una menor disponibilidad de receptores en el cuerpo estriado que los homocigotos A2¹³. Sin embargo, estos datos no fueron confirmados por un estudio posterior en el que no hubo diferencias estadísticamente significativas en la unión al receptor entre portadores TaqI A1 y no portadores, aunque sí se documentó una tendencia (menor unión en los homocigotos A1)¹⁴. Más recientemente, un estudio investigó

además del polimorfismo TaqI A, el papel de otros polimorfismos, como TaqI B y -141insC, en la expresión de DRD2 en voluntarios suecos sanos. La evaluación de la expresión de DRD2 se realizó por PET con 11C-racloprida y confirmó una menor densidad de DRD2 en sujetos con el alelo TaqI A1, mientras que no se detectó asociación con el genotipo TaqI B1. Por el contrario, el promotor del polimorfismo del alelo 141insC se asoció con una mayor densidad de receptores¹⁵.

En cuanto al polimorfismo NcoI C/T, el alelo NcoI T se encontró que se asocia con una reducción de la expresión DRD2 en algunas áreas del cerebro, como el cuerpo estriado, en estudios por imágenes *in vivo*. Estos datos son concordantes con la disminución de la estabilidad y la síntesis de ARNm DRD2 observadas en células que expresan esta variante alélica^{16,17}. Por su parte, los efectos del polimorfismo HphI en la expresión DRD2 fueron evaluados en estudios post mortem, en donde se observó que los homocigotos G tenían una mayor expresión de la forma corta DRD2 que otros genotipos^{18,19}. Sin embargo, el análisis de polimorfismo S311 C por transfección de células ováricas de hámster CHO-K1 (chinese hamster ovary) no demostró diferencias en la expresión del receptor, pero mostró una mejoría en la reducción fisiológica de AMPc inducida por la dopamina^{20,21}.

Polimorfismos DRD2 y trastornos endocrinológicos

En la literatura hay alguna evidencia que apoya la posible participación de los polimorfismos DRD2 en la regulación de la secreción hormonal. Se sabe que tanto la L-dopa, precursor de la dopamina, y los agonistas dopaminérgicos inducen la secreción de GH². Dos estudios japoneses investigaron el papel de los polimorfismos TaqI y -141insC de DRD2 en la regulación del eje GH-IGF-I. Las personas con el alelo A1 TaqI eran más frecuentes en la cohorte de pacientes afectados con baja talla idiopática (idiopathic short stature [ISS]) en comparación con el grupo control. Por otra parte, teniendo en cuenta los pacientes solo con ISS, aquellos con el alelo A1 tenían los niveles más bajos de IGF-I²². En otro estudio realizado en personas sanas se demostró que aquellos que tenían la delección -141C eran significativamente más altos que los que no tenían esta variante²³. Aunque está bien establecido que el crecimiento es un rasgo poligénico y la actividad del sistema dopaminérgico solo representa una pequeña fracción de la variación total, estos estudios son concordantes con el papel de ciertos polimorfismos DRD2 en el crecimiento y, en particular, en la determinación de la talla final, al menos en la población japonesa.

Los polimorfismos del DRD2 también han sido vinculados a hipertensión arterial (HTA)²⁴. Se compararon los genotipos (CC, CT y TT) con variables antropométricas, endocrinas, metabólicas y hemodinámicas, en una cohorte de 284 hombres sanos de 51 años de edad. Los pacientes homocigotos para el alelo C constituyeron el 49% de los hombres y los homocigotos para el alelo T el 9%, mientras que eran heterocigotos un 41%. El genotipo TT fue significativamente más frecuente entre pacientes con HTA grado 1 (leve: presión arterial entre 140-159/90-99 mmHg) comparados con controles normotensos y esta asociación fue independiente de otras

variables, como el índice de masa corporal y la relación cintura/cadera. Este polimorfismo también se asoció a trastornos de la personalidad tipo paranoide o esquizoide, vinculado con una densidad disminuida del receptor. Se postula entonces que la activación de DRD2 es capaz de reducir la descarga de norepinefrina del sistema nervioso simpático, lo que resulta en un aumento del tono simpático y la HTA²⁵. Menzaghi et al. investigaron el papel de varios polimorfismos del gen de la subunidad alfa de la proteína Gi 2 (GNAI2) en una cohorte de 655 pacientes italianos y hallaron que el alelo -318G se asoció a HTA sistólica superior y menor expresión de esta proteína in vitro²⁶. Teniendo en cuenta que la transducción de señal dopaminérgica requiere la activación de Gi 2, es tentador especular que una similar reducción en la expresión de la proteína G o de su función podrían estar implicados en la respuesta variable a los fármacos dopaminérgicos.

Polimorfismos DRD2 e hiperprolactinemia

La biología molecular de la hiperprolactinemia y los prolactinomas continúa siendo un área de difícil análisis, pero de intenso interés de investigación. En el estudio de Hansen et al.²⁷ se evaluaron 45 pacientes, de los cuales 21 tenían diagnóstico de hiperprolactinemia vs. 24 controles normales. Los pacientes se presentaron con irregularidades menstruales, galactorrea o alguna evidencia de hipogonadismo. La hiperprolactinemia se definió como la elevación de la PRL en ayunas por encima del rango normal (> 20 ng/ml) y se realizó resonancia magnética de silla turca a todos los pacientes con hiperprolactinemia: en 5 se hallaron microadenomas, en 2 se observaron los cambios posquirúrgicos luego de la cirugía transeptoefenoidal (TSE), en 3 silla turca vacía y en 11 pacientes fue normal. Se cuantificaron 2 polimorfismos del exón 7 del gen DRD2 (1: involucra al nucleótido 3420, y 2: al nucleótido 3438) y se halló un aumento en la frecuencia del polimorfismo 1 en estado homocigoto en los pacientes con hiperprolactinemia (54,8% vs. 37,5%, intervalo de confianza [IC] del 95%). Esto podría hacer pensar en una predisposición genética a la hiperprolactinemia asociada a un aumento del polimorfismo 1 del exón 7 del DRD2 en estado homocigoto, influyendo en la distribución de las isoformas DRD2 en los lactotrofos. Dicho de otro modo, el aumento en la frecuencia de este alelo en estos pacientes podría indicar que estarían en *mayor riesgo de desarrollar hiperprolactinemia*. Aunque la mayoría de los polimorfismos, tanto en regiones codificantes como en no codificantes, son funcionalmente neutrales, algunas variantes, aun cuando sean sinónimas, es decir, codones distintos que codifican para un mismo AA, podrían tener consecuencias funcionales²⁸. Los polimorfismos de nucleótido único no cambian la secuencia de AA de la proteína codificada. Son los polimorfismos más comunes en el genoma humano y la mayoría de ellos son silentes, si bien podrían estar asociados a una enfermedad o causar una alteración molecular sutil en el fenotipo²⁹.

Los receptores D2 han sido localizados en los lactotrofos de prolactinomas, tanto in vitro como in vivo. *En una subpoblación de prolactinomas resistentes a la bromocriptina se observa una disminución en la densidad del DRD2 en la superficie celular de los lactotrofos*. Estos adenomas tienen también alteraciones en

las isoformas DRD2 y en las proteínas Gi/Gs³⁰. Por lo tanto, la resistencia a la terapia con agonistas dopaminérgicos parece así involucrar a múltiples cambios en los diferentes niveles de los múltiples mecanismos de acción de la dopamina en las células lactotrofos. En ratones hembra nulos, es decir, sin el receptor D2, la hiperprolactinemia con hiperplasia de los lactotrofos se produce a los 9-12 meses de edad³¹ y a los 17-20 meses desarrollan prolactinomas. Los ratones machos los desarrollan sin antecedentes de hiperplasia³². Estos resultados indican que hay complejos mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de los prolactinomas y que la disminución del tono dopaminérgico en un apropiado medio endocrino puede dar lugar a adenomas solitarios.

Otros estudios previos de células lactotrofos en prolactinomas han encontrado receptores D2 normales. Las posibles explicaciones de estos resultados podrían ser una asociación con diferentes densidades de isoformas del DRD2 en las células lactotrofos o un mecanismo molecular defectuoso en la señalización posreceptor, como podría ser una mutación somática inactivante en una proteína Gi, lo que resulta en la función autónoma de lactotrofos con hiperplasia temprana seguida de la formación de adenomas³³. Las mutaciones, entonces, que en definitiva dan lugar a diversas interacciones del receptor-proteína G, tales como Gs en lugar de Gi, podrían resultar en función autónoma lactotropa.

Polimorfismos DRD2 y adenomas hipofisarios secretores de prolactina

El prolactinoma es una patología poco frecuente, con una prevalencia de 44,4 casos por 100.000 habitantes, según fue reportado recientemente¹, y una incidencia estimada en 6 a 10 casos por millón de habitantes por año³⁴. Los prolactinomas son tumores bien diferenciados que se originan en las células lactotrofos pituitarias, una línea celular que secreta fisiológicamente PRL, hormona implicada en la lactancia y la reproducción; la misma es secretada y liberada bajo el control tónico negativo de la dopamina hipotalámica. La pérdida de este control inhibitorio es en parte por la pérdida de células lactotrofos debido a la transformación adenomatosa subyacente. De hecho, la dopamina en dosis farmacológicas es eficaz para controlar la hipersecreción de PRL de la mayoría de los prolactinomas y esta propiedad ha sido la base para el amplio uso de los agonistas dopaminérgicos en el tratamiento de estos tumores. Por lo tanto, hoy en día estos fármacos, y en particular los derivados amida del ácido lisérgico como CAB, son la primera opción tratamiento en estos pacientes.

La CAB es un potente agonista oral de DRD2, con mejor farmacocinética y menos efectos secundarios en comparación con los otros agonistas disponibles e induce la normalización de PRL y/o reducción del tamaño tumoral en el 85 al 95% de los pacientes, incluso a dosis relativamente bajas. Dicho de otro modo, solo un 10-15% de los pacientes son resistentes al tratamiento convencional. La resistencia primaria a los agonistas dopaminérgicos, es decir, la falta de respuesta terapéutica, se observa más comúnmente con bromocriptina (24%) que con CAB (11%), y la misma se presenta tan pronto se inicia el tratamiento⁸. Sin embargo, la base biológica mediante la cual una pequeña pero no despreciable

proporción de pacientes no responden a los agonistas de la dopamina aún no está clara. La respuesta a la terapia con CAB es definida como la reducción de los niveles de PRL a valores dentro del rango normal. Cabe aclarar que no hay consenso general en la evaluación de la respuesta terapéutica en términos de reducción del tamaño tumoral. En la literatura, el porcentaje de reducción del tamaño tumoral considerado significativo oscila entre el 20 y el 80%⁸. Hasta la fecha, no se han identificado mutaciones en el gen DRD2 en prolactinomas no respondedores al tratamiento médico³⁵. Una reducción en la expresión de Gi, proteína G que participa en la señalización del receptor, así como la reducción del nivel de la isoforma corta de DRD2 y la disminución en la expresión del ARNm DRD2, se han reportado en prolactinomas resistentes a agonistas dopaminérgicos^{36,37}. La reducción de la unión de dopamina in vitro³⁶ y la reducción de la expresión DRD2 se han reportado en un subgrupo de tumores extraídos de pacientes que no responden al tratamiento médico³⁸. Sin embargo, en estos estudios la posible asociación de estos fenotipos con variantes del DRD2 no fue evaluada. Un estudio farmacogenético ha sido llevado a cabo con el fin de evaluar el papel de los polimorfismos del DRD2 en la capacidad de respuesta a agonistas de la dopamina en pacientes con prolactinoma³⁹. Una cohorte de 203 pacientes con prolactinomas fueron evaluados para una posible correlación entre parámetros hormonales y clínicos, y 4 polimorfismos DRD2: TaqI A1/A2, TaqI B1/B2, HphI G/T y NcoI. En este estudio, la falta de respuesta al tratamiento se definió como: el fracaso en normalización de los niveles de PRL o una reducción menor del 30% del tumor durante el tratamiento con CAB a una dosis mayor a 3 mg/semana. No hubo diferencias estadísticamente significativas en el genotipo y las proporciones alélicas entre el grupo con prolactinoma y el control. Por lo tanto, el papel de las variantes del receptor como susceptibilidad para el desarrollo de prolactinomas estaría desestimado. Cuando el fenotipo clínico de los pacientes con prolactinoma fue examinado, no se halló asociación entre polimorfismos del DRD2 y variables como sexo, edad del diagnóstico y niveles de PRL; y por otro lado, cuando estos pacientes fueron evaluados de acuerdo con el tamaño tumoral, una fuerte asociación entre los polimorfismos TaqI A1 y HphI T se halló solo en los pacientes portadores de microadenomas; es decir, un tumor con un diámetro menor de 10 mm. Teniendo en cuenta la relación entre los alelos TaqI A2, HphI G, la alta densidad del DRD2 en muestras del núcleo caudado⁴⁰ y el aumento de expresión de la forma corta del DRD2 en portadores del alelo G^{18,19}, estos datos concuerdan con la idea de que los microadenomas son generalmente buenos respondedores a la terapia con CAB. Entre los pacientes resistentes, aquellos con genotipo DRD2 NcoI T+ (homocigotos o heterocigotos para el alelo T) fueron significativamente más frecuentes que los pacientes con DRD2 NcoI T- (homocigotos para el alelo C). En particular, el alelo NcoI T fue detectado en el 56,6% de los pacientes que no normalizaron PRL y en el 45,3% de los que normalizaron con CAB a una dosis menor a 3 mg/semana. En cuanto al efecto de la CAB en la reducción del tamaño tumoral, el alelo NcoI T se presentó con mayor frecuencia entre los que no respondieron (70,4%, 12/17), en comparación con el grupo que sí respondieron (41,4%, 77/186, $p=0,006$)³⁹. Un análisis de regresión

logística posterior, teniendo en cuenta la ausencia en la normalización de los niveles de PRL con una dosis de CAB menor a 3 mg/semana como una variable dependiente, demostró que solo el genotipo NcoI T+ fue un predictor significativo de falta de respuesta a la CAB en la normalización de PRL (IC del 95%, $p=0,015$). Finalmente, el análisis de haplotipos ha demostrado que aquellos con alelos TaqI A1-, B1 TaqI-, HphI T- y NcoI T- (es decir, homocigotos A2 TaqI, B2 TaqI, G y C HphI NcoI) estuvieron presentes en el 34,5% de los pacientes que normalizaron los niveles de PRL vs. un 11,3% de los que no lo hicieron. Por el contrario, no hubo asociación entre haplotipos y reducción del tamaño tumoral. Llama la atención que este haplotipo comprende homocigotos TaqI A2, B2 y C TaqI NcoI que habían sido previamente asociados a una mayor disponibilidad o expresión DRD2 en el cerebro^{12,16}. En conjunto, estos datos indican que el alelo NcoI T está asociado con la falta de respuesta al tratamiento con CAB en prolactinomas. Esto es concordante con los datos previos que mostraban que este alelo se asocia a una disminución de la estabilidad y la síntesis de ARNm DRD2 in vitro, así como la expresión reducida del receptor en ciertas áreas del cerebro, como el cuerpo estriado en los estudios por imágenes in vivo^{16,17}. Por esta razón, es posible la hipótesis de que la misma reducción en la expresión o función del DRD2 puede ocurrir a nivel de la hipófisis en los pacientes con prolactinoma portadores del alelo NcoI T, como variante principal a una respuesta reducida a CAB. En síntesis, en este estudio, estos polimorfismos, y en particular NcoI, mostraron una tasa de asociación con la resistencia a CAB que oscila entre el 56 y el 70%. Varios de los estudios entonces reportaron niveles bajos de expresión de DRD2 o isoformas DRD2 asociadas a la falta de respuesta a agonistas de la dopamina³⁸; el fenotipo resistente, sin embargo, no puede atribuirse exclusivamente al DRD2. Los sucesos moleculares que son necesarios para la transducción de la señal de dopamina incluyen una serie de pasos posreceptor, desde el sistema de segundos mensajeros a la maquinaria transcripcional. En la actualidad, aunque hubo algunos intentos de estudio de la vía de transducción de segundos mensajeros³⁷, el enfoque todavía está en el receptor DRD2. Por último, se han reportado muy pocos casos de prolactinoma exhibiendo resistencia secundaria, es decir, que muestran una respuesta inicial a los agonistas dopaminérgicos, pero luego se tornan refractarios al mismo y que, en algunos casos, se presenta años después del inicio del tratamiento satisfactorio⁴¹. En ciertos casos son descriptos en el contexto de una transformación maligna del tumor⁴². El mecanismo molecular no se entiende completamente, aunque al igual que en la resistencia primaria podrían estar implicadas alteraciones en el receptor D2 de las células tumorales, como una expresión reducida y/o alteraciones en la transducción de señales intracelulares^{8,36}. La sensibilidad de los prolactinomas a los agonistas dopaminérgicos es altamente variable y es considerada en un espectro que va desde pacientes altamente sensibles hasta parcialmente/completamente resistentes⁴³. No está definida la dosis umbral para asignar el estado de resistencia a agonistas dopaminérgicos; sin embargo, con una dosis de CAB más allá de 3-3,5 mg/semana no parecería encontrarse beneficio terapéutico^{43,44}. Se halló una reducción del DRD2 en aquellos pacientes con prolactinomas resistentes, o respondedores parciales, a pesar de que

la afinidad por la dopamina no parece cambiar^{36,38,45}. Shimazu et al.⁴⁶ evaluaron 12 casos de prolactinomas resecados con diagnóstico constatado por hallazgos histopatológicos; las indicaciones quirúrgicas incluían: embarazo, efectos adversos intolerables a agonistas dopaminérgicos y deseo del paciente, y se clasificaron según la respuesta previa a los agonistas dopaminérgicos. El ARNm DRD2 estaba expresado en todas las muestras de prolactinomas y en las muestras hipofisarias normales. El promedio total de ARNm DRD2 en muestras de los pacientes pobremente respondedores fue la mitad respecto a los buenos respondedores, y 9 veces más bajo en los casos de resistencia secundaria respecto a los buenos respondedores. La isoforma predominante en hipófisis fue D2L y su expresión se halló reducida significativamente en pacientes con resistencia secundaria y en los pobremente respondedores, respecto de los buenos respondedores. Se postula, por otro lado, que la administración continuada de los agonistas dopaminérgicos hasta la cirugía TSE en los pacientes pobremente respondedores o resistentes podría afectar a la expresión del ARNm DRD2. Sin embargo, el tratamiento crónico con CAB no ha demostrado alterar la expresión del ARNm DRD2 en el cuerpo estriado de monos parkinsonianos⁴³ y no se ha reportado evidencia en adenomas pituitarios. Otros estudios que examinaron la expresión del D2R en prolactinomas resistentes han hallado resultados conflictivos^{47,48}, lo cual ha sido relacionado con la heterogeneidad tumoral y particularmente con las técnicas empleadas para su análisis. La resistencia también podría estar mediada por la disrupción de la señalización del factor de crecimiento autocrino (nerve growth factor [NGF]), que ejerce un papel inhibitorio en el control de la proliferación y la progresión tumoral. Hay estudios que demuestran que el mismo está presente en los tumores dopamino-sensibles^{8,49}.

Para terminar, es importante aclarar que todos estos datos merecen algunas consideraciones. En primer lugar, con el fin de establecer o negar una asociación entre las variantes del DRD2 y la capacidad de respuesta a CAB, debe ampliarse a una mayor cohorte de pacientes y controles sanos, además de evaluar otras variantes del DRD2. El análisis de las variantes genéticas presentes en la población normal puede conseguirse mediante un análisis del gen DRD2 (promotor incluido) en un amplio grupo por secuenciación directa o cromatografía líquida de alta presión (denaturing high pressure liquid chromatography [dHPLC]) y este enfoque permitiría calcular con exactitud las frecuencias de las variantes y elegir los polimorfismos que se incluirán en los estudios de asociación.

Conclusiones

Si bien la mayoría de los adenomas secretores de PRL responden exitosamente a los tratamientos disponibles en la actualidad, la base biológica mediante la cual una pequeña pero no despreciable proporción de pacientes no lo hacen aún no está clara.

Como hemos visto, el receptor D2 es un buen candidato como variable de respuesta a CAB, pero el estudio de los mecanismos genéticos responsables de la resistencia a la CAB en pacientes con prolactinomas debería extenderse a la serie de moléculas implicadas tanto a nivel posreceptor como en la transducción de la señalización de dopamina.

El genotipo NcoI T+ fue predictor significativo de falta de respuesta a la CAB, además de asociarse ciertos polimorfismos con hiperprolactinemia y comorbilidades como HTA. Por lo tanto, estos trabajos presentados demuestran la importancia del genotipo del DRD2 no solo para determinar la evolución clínica de aquellos pacientes que lo poseen, sino que además su evaluación podría ser de utilidad para individualizar la terapia óptima en cada paciente, pudiendo actuar como un factor predictivo, identificando rápidamente, por ejemplo, a portadores de prolactinomas resistentes a agonistas dopaminérgicos. Sin embargo, es incierto si dicha evaluación previa al tratamiento sería clínicamente relevante, ya que las modalidades de tratamiento empleadas en la actualidad permiten un control clínico y/o bioquímico en gran parte de los pacientes, independientemente del genotipo.

Se puede inferir así que se requerirán más estudios preferentemente prospectivos para determinar su verdadero impacto clínico.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A toda la División Endocrinología del Hospital J. M. Ramos Mejía; y en particular a la doctora Amelia Rogozinski por su dedicación y permanente apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fernandez A, Karavitaki N, Wass JA. Prevalence of pituitary adenomas: A community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). *Clin Endocrinol.* 2010;72:377-82.
2. Melmed S, Kleinberg D, Capítulo 8 Adenohipófisis. *Williams Tratado de Endocrinología.* 11th ed. Elsevier Saunders: España; 2009. p. 159-268.
3. Fitzgerald P, Dinan TG. Prolactin and dopamine: What is the connection? A review article. *J Psychopharmacol.* 2008;22 2 Suppl.:12-9.
4. Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggott M, Lloyd S, Perry EK. D2 dopamine receptor gene (DRD2) TaqIA polymorphism: Reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics.* 1997;7:479-84.

5. Stojilkovic SS, Murano T, Gonzalez-Iglesias AE, Andric SA, Popovic MA, Van Goor F, et al. Multiple roles of Gi/o protein-coupled receptors in control of action potential secretion coupling in pituitary lactotrophs. *Ann NY Acad Sci.* 2009;1152:174-86.
6. Stefaneanu L, Kovacs K, Scheithauer BW, Kontogeorgos G, Riehle DL, Sebo TJ, et al. Effect of dopamine agonists on lactotroph adenomas of the human pituitary. *Endocr Pathol.* 2000;11:341-52.
7. Radl DB, Zárate S, Jaita G, Ferraris J, Zaldivar V, Eijo G, et al. Apoptosis of lactotrophs induced by D2 receptor activation is estrogen dependent. *Neuroendocrinology.* 2008;88:43-52.
8. Gillam MP, Molitch ME, Lombardi G, Colao A. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr Rev.* 2006;27:485-534.
9. Giros B, Sokoloff P, Martres MP, Riou JF, Enorine L, Schwartz JC. Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature.* 1989;342:923-6.
10. Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, et al. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet.* 1989;45:778-85.
11. Neville MJ, Johnstone EC, Walton RT. Identification and characterization of ANKK1: A novel kinase gene closely linked to drd2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mutat.* 2004;23:540-5.
12. Noble EP, Blum K, Ritchie T, Montgomery A, Sheridan PJ. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor binding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry.* 1991;48:648-54.
13. Pohjalainen T, Rinne JO, Någren K, Lehtikoinen P, Anttila K, Syvälahti EK, et al. The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry.* 1998;3:256-60.
14. Laruelle M, Gelernter J, Innis RB. D2 receptors binding potential is not affected by TaqI polymorphism at the D2 receptor gene. *Mol Psychiatry.* 1998;3:261-5.
15. Jönsson EG, Nöthen MM, Grünhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P, et al. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationship to striatal dopamine receptor density of health volunteers. *Mol Psychiatry.* 1999;4:290-6.
16. Hirvonen M, Laakso A, Någren K, Rinne JO, Pohjalainen T, Hietala J. C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor (DRD2) gene affects striatal DRD2 availability in vivo. *Mol Psychiatry.* 2004;9:1060-1.
17. Duan J, Wainwright MS, Cameron JM, Saitou N, Sanders AR, Gelernter J, et al. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum Mol Genetics.* 2003;12:205-16.
18. Zhang Y, Bertolino A, Fazio L, Blasi G, Rampino A, Romano R, et al. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:20552-7.
19. Bertolino A, Fazio L, Caforio G, Blasi G, Rampino A, Romano R, et al. Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia. *Brain.* 2009;132:417-25.
20. Cravchik A, Sibley DR, Gejman PV. Functional analysis of the human D2 dopamine receptor missense variants. *J Biol Chem.* 1996;271:26013-7.
21. Pohjalainen T, Cravchik A, Gejman PV, Rinne J, Någren K, Syvälahti E, et al. Antagonist binding characteristics of the Ser311→Cys variant of human dopamine D2 receptor in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;232:143-6.
22. Miyake H, Nagashima K, Onigata K, Nagashima T, Takano Y, Morikawa A. Allelic variations of the D2 dopamine receptor gene in children with idiopathic short stature. *J Hum Genet.* 1999;44:26-9.
23. Arinami T, Iijima Y, Yamakawa-Kobayashi K, Ishiguro H, Ohtsuki T, Yanagi H, et al. Supportive evidence for contribution of the dopamine D2 receptor gene to heritability of stature: Linkage and association studies. *Ann Hum Genet.* 1999;63:147-51.
24. Rosmond R, Rankinen T, Chagnon M, Pérusse L, Chagnon YC, Bouchard C, et al. Polymorphism in exon 6 of the dopamine D2 receptor gene (DRD2) is associated with elevated blood pressure and personality disorders in men. *J Hum Hypertens.* 2001;15:553-8.
25. Rump LC, Schwertfeger MJ, Schuster U, Schaible U, Frankenschmidt A, Schollmeyer PJ. Dopamine DA2-receptor activation inhibits noradrenaline release in human kidney slices. *Kidney Int.* 1993;43:197-204.
26. Menzaghi C, Paroni G, De Bonis C, Soccio T, Marucci A, Bacci S, et al. The -318 C>G single-nucleotide polymorphism in GNAI2 gene promoter region impairs transcriptional activity through specific binding of Sp1 transcription factor and is associated with high blood pressure in Caucasians from Italy. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:S115-9.
27. Hansen KA, Zhang Y, Colver R, Tho SP, Plouffe L Jr, McDonough PG. The dopamine receptor D2 genotype is associated with hyperprolactinemia. *Fertil Steril.* 2005;84:711-8.
28. Lida K, Akashi H. A test of translational selection at "silent" sites in the human genome: Base composition comparisons in alternatively spliced genes. *Gene.* 2000;261:93-105.
29. Kreitman M. Nucleotide polymorphism at the alcohol dehydrogenase locus of *Drosophila melanogaster*. *Nature.* 1983;304:412-7.
30. Caccavelli L, Cussac D, Pellegrini I, Audinot V, Jaquet P, Enjalbert A. D2 dopaminergic receptors: Normal and abnormal transduction mechanisms. *Horm Res.* 1992;38:78-83.
31. Kelly MA, Rubinstein M, Asa SL, Zhang G, Saez C, Bunzow JR, et al. Pituitary lactotroph hyperplasia and chronic hyperprolactinemia in dopamine D2 receptor-deficient mice. *Neuron.* 1997;19:103-13.
32. Asa SL, Kelly MA, Grandy DK, Low MJ. Pituitary lactotroph adenomas develop after prolonged lactotroph hyperplasia in dopamine D2 receptor-deficient mice. *Endocrinology.* 1999;140:5348-55.
33. Senogles SE, Benovic JL, Amlaiky N, Unson C, Milligan G, Vinitsky R, et al. The D2-dopamine receptor of anterior pituitary is functionally associated with a pertussis toxin-sensitive guanine nucleotide binding protein. *J Biol Chem.* 1987;262:4860-7.
34. Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML, et al. The prevalence of pituitary adenomas: A systematic review. *Cancer.* 2004;101:613-9.
35. Friedman E, Adams EF, Höög A, Gejman PV, Carson E, Larsson C, et al. Normal structural dopamine type 2 receptor gene in prolactin secreting and other pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:568-74.
36. Pellegrini I, Rasolonjanahary R, Gunz G, Bertrand P, Delivet S, Jedynak CP, et al. Resistance to bromocriptine in prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;69:500-9.
37. Caccavelli L, Morange-Ramos I, Kordon C, Jaquet P, Enjalbert A. Alteration of Ga subunits mRNA levels in bromocriptine resistant prolactinomas. *J Neuroendocrinol.* 1996;8:737-46.
38. Caccavelli L, Feron F, Morange I, Rouer E, Benarous R, Dewailly D, et al. Decreased expression of the two D2 dopamine receptor isoforms in bromocriptine resistant prolactinomas. *Neuroendocrinol.* 1994;60:314-22.
39. Filopanti M, Barbieri AM, Angioni AR, Colao A, Gasco V, Grotto S, et al. Dopamine D2 receptor gene polymorphisms and response to cabergoline therapy in patients with

- prolactin-secreting pituitary adenomas. *Pharmacogenomics J.* 2008;8:357-63.
40. Ritchie T, Noble EP. Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics. *Neurochem Res.* 2003;28:73-82.
 41. Behan LA, Draman MS, Moran C, King T, Crowley RK, O'Sullivan EP, et al. Secondary resistance to cabergoline therapy in a macroprolactinoma: A case report and literature review. *Pituitary.* 2011;14:362-6.
 42. Kars M, Roelfsema F, Romijn A, Pereira AM. Malignant prolactinoma: Case report and review of the literature. *Eur J Endocrinol.* 2006;155:523-34.
 43. Delgrange E, Daems T, Verhelst J, Abs R, Maiter D. Characterization of resistance to the prolactin-lowering effects of cabergoline in macroprolactinomas: a study in 122 patients. *Eur J Endocrinol.* 2009;160:747-52.
 44. Fusco A, Gunz G, Jaquet P, Dufour H, Germanetti AL, Culler MD, et al. Somatostatinergic ligands in dopaminesensitive and resistant prolactinomas. *Eur J Endocrinol.* 2008;158:595-603.
 45. Passos VQ, Fortes MA, Giannella-Neto D, Bronstein MD. Genes differentially expressed in prolactinomas responsive and resistant to dopamine agonists. *Neuroendocrinology.* 2009;89:163-70.
 46. Shimazu S, Shimatsu A, Yamada S, Inoshita N, Nagamura Y, Usui T, et al. Resistance to dopamine agonists in prolactinoma is correlated with reduction of dopamine D2 receptor long isoform mRNA levels. *Eur J Endocrinol.* 2012;166:383-90.
 47. Kovacs K, Stefaneanu L, Horvath E, Buchfelder M, Fahlbusch R, Becker W. Prolactin-producing pituitary tumor: Resistance to dopamine agonist therapy. Case report. *J Neurosurg.* 1995;82:886-90.
 48. Petrossians P, de Herder W, Kwekkeboom D, Lamberigts G, Stevenaert A, Beckers A. Malignant prolactinoma discovered by D2 receptor imaging. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:398-401.
 49. Missale C, Losa M, Sigala S, Balsari A, Giovanelli M, Spano PF. Nerve growth factor controls proliferation and progression of human prolactinoma cell lines through autocrine mechanism. *Mol Endocrinol.* 1996;10:272-85.