

EFFECTO DE LA TIBOLONA EN EL AUMENTO DE LA EFICACIA SINÁPTICA (MEJORAMIENTO COGNITIVO)

Angie Carolina Santos Padilla¹, Julián David Rivera Romero¹, Luis Daniel Moreno¹, Eliana Neuta¹, Lorena Jerez Álvarez¹, George. Barreto¹, Janneth. González¹

¹Departamento de nutrición y bioquímica, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C., Colombia.

janneth.gonzalez@javeriana.edu.co

RESUMEN

Los receptores de estrógenos dependientes de un ligando para la regulación de varios procesos fisiológicos, como la neuro-protección en humanos, se pueden asociar al 17beta-estradiol, un derivado del colesterol que disminuye a lo largo del tiempo. Esto hace necesario el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para tratar enfermedades neuro-degenerativas. Teniendo en cuenta lo anterior se realizó un análisis a partir de herramientas bioinformáticas para predecir la posible interacción de la tibolona, un esteroide sintético que logra remplazar la ausencia del 17beta-estradiol. Los resultados arrojados en este estudio teórico han permitido proponer una interacción del receptor ER-alfa con diana farmacológica, la tibolona. El análisis de esta interacción indica la formación de un complejo estable unido por puentes de hidrogeno o fuerzas de van der Waals. Esto puede generar lugar a nuevos estudios para el tratamiento de enfermedades neuro-degenerativas.

Palabras clave: Docking, receptor, esteroide.

INTRODUCCIÓN

El receptor de estrógeno alfa es uno de los miembros de la familia de factores de transcripción de receptores nucleares, activado por una hormona sexual denominada estrógeno, y codificado en humanos por el gen ESR1 (Walter, P, 1985); compuesto de varios dominios implicados en la unión de la hormona, la unión al ADN y la activación de la transcripción. Se han descrito hasta 5 variantes transcripcionales del gen ESR1 obtenidas mediante splicing alternativo, que dan lugar a 5 ARNm's diferentes los cuales se diferencian en las regiones 5' no traducidas.

Adicionalmente, se ha encontrado que Los dos receptores de estrógeno de mamíferos clonados hasta la fecha, α y β , se expresan en el cerebro. Los receptores de estrógenos α se expresan abundantemente en muchas áreas del cerebro, entre ellas el hipocampo, hipotálamo, el mesencéfalo, el cuerno dorsal de la médula espinal y los ganglios de la raíz dorsal; el receptor de estrógeno β también se expresa en estas regiones y en otras regiones tales como el cerebelo, que es la forma clásica predominante de este receptor de estrógeno. En algunas regiones, estos dos receptores de estrógeno se localizan dentro de las mismas células, mientras que en otros, sólo una forma se expresa en una célula dada. Por otra parte, el papel de cada uno de los receptores de estrógenos en la neuro-protección aparentemente es dependiente del parámetro celular analizado, el tipo de lesión y la localización de la misma. (Lydia L. DonCarlos, 2010).

Actualmente, el 17 beta- estradiol ha tomado gran importancia debido a que este se encuentra implicado en diferentes vías de señalización acompañado por segundos mensajeros como el Ca^{2+} intracelular y receptores de estrógeno, así mismo se ha reportado que puede inhibir la proteína quinasa glucógeno sintetasa-3 (GSK3) para permitir la síntesis del glicógeno, proteínas y activación de factores de transcripción implicados en supervivencia celular, esto conlleva a su uso como neuro-protector. (Ceperda-Prado, Lopez-Tobon, Garcia-Segura, & Cardona-Gomez, 2008). Sin embargo a lo largo del tiempo este compuesto se va perdiendo y a su vez se van alterando los procesos que ayuda a coordinar.

La tibolona es un medicamento de reemplazo hormonal, corresponde a un esteroide sintético regulador de actividad estrogenica selectiva del tejido. Comúnmente se ha utilizado como una opción para remplazar el estrógeno. Permitiendo la prevención de

la osteoporosis y el tratamiento de síntomas climaterios, sin provocar efectos adversos en el endometrio y la mama (Guzmán, et al, 2007). La tibolona por sí misma no tiene ninguna actividad biológica, por lo que sus efectos son el resultado de la acción de sus metabolitos en los diferentes tejidos. La acción selectiva de la tibolona sobre determinados tejidos se presenta debido a la combinación de la activación del receptor ER α y la metabolización de los esteroides (Escande, et al, 2009). Los metabolitos de la tibolona corresponden a 3 α -hydroxytibolona (3 β OH-tibolona), 3 β -OH-tibolona, que se acoplan al receptor alfa estrogénico (ER α) (compuestos que también se encuentran inactivos en una forma sulfatada) y en Δ 4 - isómero (Δ 4 - tibolona), con propiedades progestágenas y androgenas (Sharma, Mahajan, Kumar & Tandon, 2006; Lund, et al, 2003). Investigaciones han demostrado que el efecto estrogénico de la tibolona, mediado por los metabolitos 3OH que estimulan la actividad endógena mediante un promotor impulsado por ERE (Elemento de respuesta ER α) en humanos, imitarían los efectos de 17 β - estradiol (E2), el cual ejerce una amplia gama de acciones en el sistema nervioso central, actuando sobre la plasticidad sináptica, la morfología neuronal y la neuro-protección glial (Guzmán, et al, 2007). Actividad que al parecer esta mediada por la inhibición de los canales de calcio y posiblemente en parte por un mecanismo dependiente del óxido nítrico (Lund, et al, 2003). Un aporte importante se debe a que los metabolitos estrogénicos de la tibolona no presentan actividad antagonista lo que permitiría mediar sus efectos solo al unirse al sitio activo (Guzmán, et al, 2007).

Un papel importante en la neuro-protección inducida por los estrógenos se ha basado en la influencia de E2 sobre los oligodendrocitos, que modula la activación de los astrocitos después de las lesiones cerebrales, ayudando a la proliferación de células gliales y mejorando la expresión de marcadores específicos para los astrocitos. Adicional a esto se ha planteado que la neuro-protección inducida por E2, corresponde a un mecanismo de protección indirecta para los astrocitos, estimulando la protección de las neuronas en la muerte celular. Lo que nos llevaría a que la actividad estrogénica de la tibolona al influenciar la actividad de E2, permitiría una protección generalizada la corteza cerebral e hipocampo a pesar de que ER no se exprese en todas las neuronas (Guzmán, et al, 2007). Debido a la información recopilada se pretende hacer un estudio teórico de la posible interacción de la Tibolona con el receptor de estrógeno ER α para mediar una acción neuro-protectora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del receptor

Para realizar el docking se tomó la estructura del receptor ER α unido al anti-estrógeno (GW5638) que se obtuvo de la base de datos National Center of Biotechnology Information (NCBI) y extrajimos manualmente el anti-estrógeno para tener solo la estructura del receptor.

Preparación del ligando

La α -tibolona fue construida mediante el programa ChemSkech basándonos en la bibliografía encontrada y posteriormente se hizo un mejoramiento para estructuras 3D para usar en PyMol.

Docking

Para el análisis de unión entre el ligando y el receptor hemos utilizado el programa de superposición molecular HEX, donde usamos su servidor para realizar el Docking y se seleccionó la interacción que tuviera los sitios activos y por lo menos tres uniones al receptor.

Descripción de las propiedades químicas del ligando

La descripción del ligando (α -tibolona) se hizo una revisión bibliográfica.

Identificación Dominios

Para la identificación de los dominios conservados se usó la herramienta de NCBI; donde se buscó el receptor estrógeno, y se seleccionó estrógeno receptor isoforma 1 [Homo sapiens] (Secuencia: NP_000116.2).

Sitios activos

El servidor de estructuras de proteínas y predicción de funciones I-TASSER <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>; para predecir posibles sitios de unión y encontrar sitios con energía de unión favorable, donde se determinaron como los sitios de unión más probables de la molécula.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tibolona es un esteroide sintético regulador de la actividad estrogenica cuya fórmula molecular es C₂₁H₂₈O₂. Esta se encuentra constituida por cuatro anillos de carbono

(FIGURA 1). A su vez el 17 beta-estradiol es un esteroide derivado del colesterol que comparte con la tibolona los cuatro anillos de carbono y su forma molecular es $C_{18}H_{24}O_2$ (FIGURA 2). Se ha demostrado la actividad del 17 beta-estradiol como agente neuroprotector al asociarse con segundos mensajeros como el Ca^{++} y receptores de hidrogeno como el ER α (FIGURA 3) (Ceperda-Prado, Lopez-Tobon, Garcia-Segura, & Cardona-Gomez, 2008). A través del tiempo las concentraciones de 17 beta-estradiol disminuyen, por ello se ha planteado que en la tibolona pueda ejercer el mismo papel del estradiol por su similitud.

Con el análisis de secuencias se encontraron tres Dominios conservados, el dominio del ligando de unión que se activa por la hormona 17 beta – estradiol (estrógeno) (LBD) [cd06949], Dominio de unión a ADN de los receptores de estrógeno (ER), se compone de dos dedos de zinc de tipo C4 [cd07171] y un dominio de unión al ligando del C-terminal (LBD C) [pfam12743].

Posteriormente se realizó la búsqueda de los posibles sitios activos y se obtuvieron 76 posibles sitios activos de 10 proteínas similares al receptor ER α . Y se escogió la que más alto Cscore presentaba.

Adicionalmente al emplear la herramienta bioinformáticas como HEX molecular docking se encontraron más de 20 posibles resultados, donde se eligió el resultado número 6 ya que este poseía 1 sitio activo compatible con el resultado número 1 de I-TASSER y se hallaban interacciones entre la tibolona y el receptor en 4 puntos más (FIGURA 3).

Al comparar los resultados obtenidos de I-TASSER y HEX se puede observar la interacción de estas dos moléculas por medio de puentes de hidrogeno o fuerzas de van der Waals, ya que la tibolona al parecer podría unirse a los aminoácidos del receptor ER α gracias a los puentes de hidrogeno (Thr, Asp, Trp, Tyr) o fuerzas de van der Waals (Thr, Asp, Trp, Leu, Tyr). Siendo un resultado positivo ya que permiten que las dos moléculas interactúen sin generar enlaces covalentes que puedan volver toxica la molécula (FIGURA 5).

Los efectos selectivos de tejidos de tibolona son el resultado de la metabolización, la regulación de enzimas y de la activación de receptor que varían en diferentes tejidos. La tibolona parece ser eficaz en los síntomas de insuficiencia de estrógenos, comparándose con los efectos ejercidos por los tratamientos a base de estrógenos, que se encuentran asociados a procesos fisiológicos que se dan, a causa del envejecimiento como el periodo climaterio y el deterioro cognitivo en mujeres menopáusicas (Genazzani, Pluchino, Bernardi, Centofanti, & Luisi, 2006).

La interacción de la tibolona con los aminoácidos del receptor ER α , por medio de las fuerzas de van der Waals, es una evidencia de los múltiples beneficios que podría traer el uso de la tibolona, no solo como un medicamento para los síntomas climaterios, si no también, como un ligando de los receptores de estrógenos, que permitirían la regulación de importantes procesos neurobiológicos y de

neuroprotección, los cuales involucran el mejoramiento de la eficacia sináptica principalmente, la protección contra el deterioro cognitivo en mujeres en el inicio del periodo menopáusico (Voytko, Tinkler, Browne, & Tobin, 2009; Tinkler & Voytko, 2005; Wu, Zhu, & Wu, 2008). Dando evidencia acerca de los procesos de neuroprotección de los estrógenos en mujeres en el periodo de la menopausia que disminuye significativamente como resultado, del cese de la función ovárica (Tinkler & Voytko, 2005). Estos procesos de neuroprotección dados por los estrógenos, se encuentran involucrados en el procesamiento de información asociada, al aprendizaje, razonamiento, atención, memoria, resolución de problemas y toma de decisiones; como también en la disminución de las probabilidades de riesgo de desarrollar demencia en mujeres posmenopáusicas (Voytko, Tinkler, Browne, & Tobin, 2009; Wu, Zhu, & Wu, 2008). Sustentando la importancia del uso de la tibolona no solo como una terapia de reemplazo hormonal durante la menopausia, sino también resaltando su importancia en el abstinencia de estrógenos, que permiten la preservación de las funciones cognitivas y la prevención del deterioro cognitivo en mujeres posmenopáusicas (Genazzani, Pluchino, Bernardi, Centofanti, & Luisi, 2006; Wu, Zhu, & Wu, 2008).

CONCLUSIÓN

Existen grandes desafíos e incógnitas acerca del papel de los estrógenos, sobre los procesos neurodegenerativos asociada al envejecimiento. A partir de la revisión bibliográfica y los resultados obtenidos acerca de la tibolona y su interacción con los receptores de estrógeno, se sugiere que la tibolona como una fuente de esteroides sintéticos confiere potenciales beneficios de rendimiento cognitivo. Sin embargo se debe tener en cuenta que varias variables pueden afectar la cognición en mujeres posmenopáusicas tales como el tipo de terapia de reemplazo hormonal, la duración del tratamiento y la estructura cerebral. Por consiguiente el presente artículo proporciona información valiosa y orientación, para el desarrollo de nuevas investigaciones, que permitan el avance de intervenciones terapéuticas y tratamientos más apropiados para contrarrestar los síntomas fisiológicos, asociadas a la protección de las funciones cognitivas y neurobiológicas durante el envejecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Pontificia Universidad Javeriana por los recursos brindados para la elaboración de este proyecto especialmente a los profesores Janneth González y George Barreto por su colaboración y guía durante todo el proceso del artículo así como a todos aquellos que nos brindaron su apoyo en el laboratorio de bioinformática

BIBLIOGRAFÍA

- Aguiar, R. B., Dickel, O. E., Cunha, R. W., Monserrat, J. M., Barros, D. M., & Martinez, P. E. (2006). Estradiol valerate and tibolone: Effects on memory. *ELSEVIER*, 689–696.
- Cepeda-Prado E, Lopez-Tobon A, Garcia-Segura L, Cardona-Gómez G (2008) El 17 β -estradiol disminuye la expresión y asociación de quinasas responsables de la hiperfosforilación de Tau. *Colombia Médica* 39(3):38-45
- DonCarlos, L. L., Azcoitia, I., & Garcia-Segura, L. M. (2009). Neuroprotective actions of selective estrogen receptor modulators. *Psychoneuroendocrinology*, 34, S113-S122.
- Escande, A. Servant, N. Cavailles, V. Balaguer, P. Maudelonde, T. Kloosterboer, H. (2009) Regulation of activities of steroid hormone receptors by tibolone and its primary metabolites. *Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 116: 8-14
- Fernández, S. H. (2011). Efecto de tibolona sobre biomarcadores asociados a deterioro cognitivo leve en pacientes menopausicas. 1-71.
- Genazzani, A. R., Pluchino, N., Bernardi, F., Centofanti, M., & Luisi, M. (2006). Beneficial effect of tibolone on mood, cognition, well-being, and sexuality in menopausal women. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 299–307.
- Greene, G. L., Gilna, P., Waterfield, M., Baker, A., Hort, Y., & Shine, J. (1986). Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science*, 231(4742), 1150-1154.
- Guzmán C. B., Zhao C., Collins S. D., Kleerekoper M., Benjamins J. A. & Skafar D. F. (2007). Agonist Activity of the 3-Hydroxy Metabolites of Tibolone Through the Oestrogen Receptor in the Mouse N20.1 Oligodendrocyte Cell Line and

Normal Human Astrocytes. *Journal of Neuroendocrinology*. 19: 958–965

- Lund C. O., Nilas L., Dalsgaard T., Pedersen S. H. & Ottesen V. (2003). Acute effects of tibolone on cerebral vascular reactivity in vitro. *Climacteric*. 6:228–237
- Qiu, J., Bosch, M. A., Rønnekleiv, O. K., Kloosterboer, H. J., & Kelly, M. J. (2008). Tibolone Rapidly Attenuates the GABAB Response in Hypothalamic Neurones. *J Neuroendocrinol*, 310–1318.
- Sharma S., Mahajan A., Kumar S. & Tandon V. R. (2006). Tibolone : A Selective Tissue Estrogenic Activity Regulator. *Jk Science*. 4:229-230
- Tinkler, G. P., & Voytko, M. L. (2005). Estrogen modulates cognitive and cholinergic processes in surgically menopausal monkeys. *Elsevier*, 423–431.
- Voytko, M. L., Tinkler, G. P., Browne, C., & Tobin, J. R. (2009). Neuroprotective effects of Estrogen therapy for cognitive and neurobiological profiles of monkey models of menopause. *Am J Primatol*, 794–801.
- Walter, P., Green, S., Greene, G., Krust, A., Bornert, J. M., Jeltsch, J. M., ... & Waterfield, M. (1985). Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(23), 7889-7893.
- Wu, J., Zhu, Y., & Wu, J. (2008). Effects of estrogen and estrogenic compounds on cognition in ovariectomized rats. *Climacteric*, 212–220.

ANEXOS

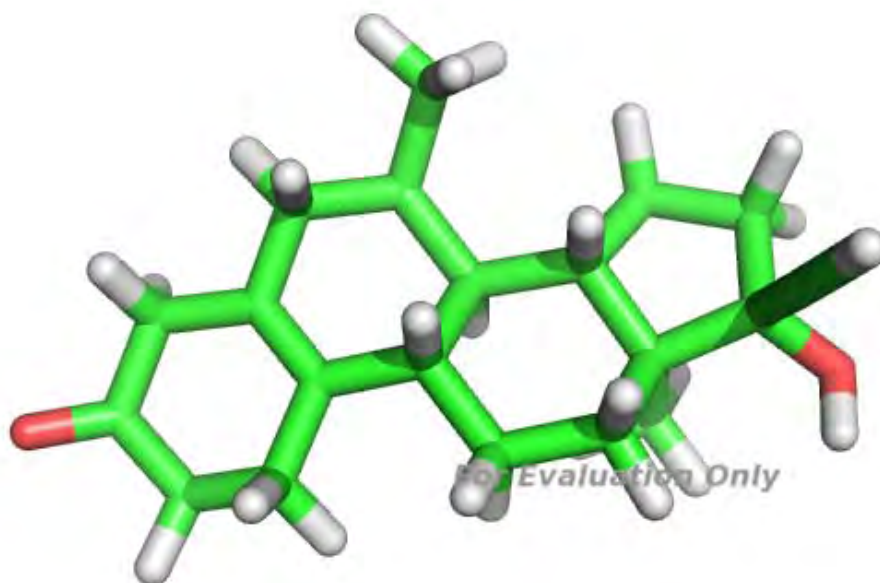


Figura 1 Estructura molecular de la tibolona; los anillos de Carbono se encuentra de color verde, Oxígeno unido al anillo de color Rojo e Hidrogeno (Blanco)

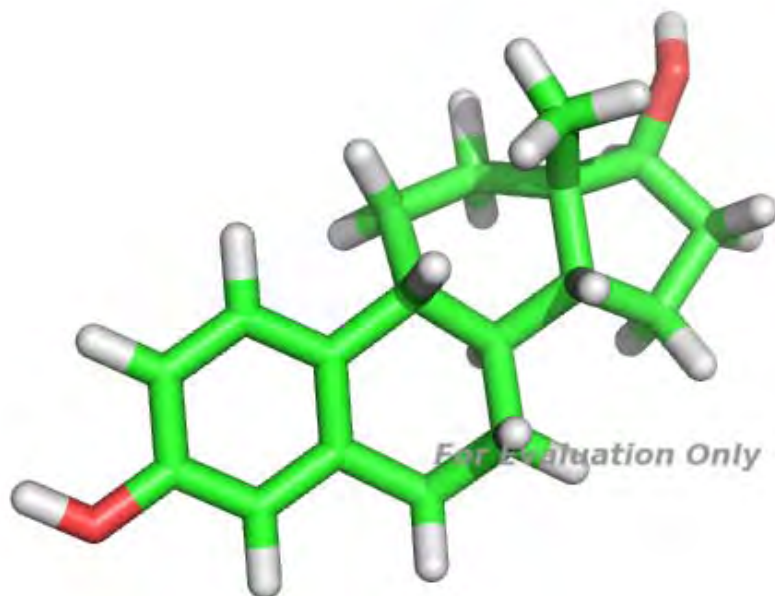


Figura 2 Estructura molecular del 17 beta-estradiol; los anillos de Carbono se encuentran de color Verde, Oxígeno unido al anillo de color Rojo mientras que el Hidrógenos de color Blanco.

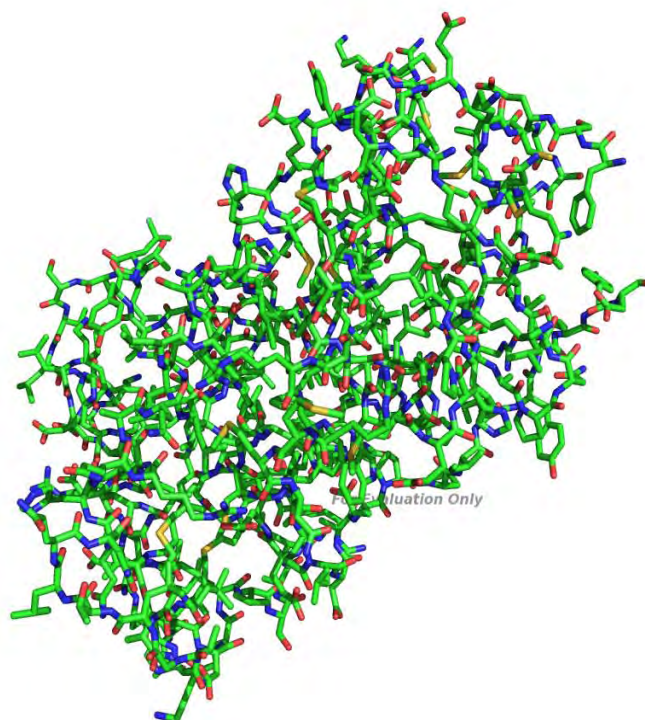


Figura 3. Estructura molecular del Receptor ER alpha, los átomos del esqueleto son Carbonos que forman anillo que se encuentran de color (Verde), a estos anillos se les une átomos de Oxígeno (Rojo), Nitrógeno (Azul), Azufre (Naranja) e Hidrógeno (Blanco).



Figura 4. Estructura molecular de la Unión de la tibolona con Treonina, la estructura de la tibolona se encuentra de color verde que se une a la Treonina de color Acido aspartico (Amarillo), Triptófano (Magenta), Leucina (Cyan) y Tirosina (Naranja).

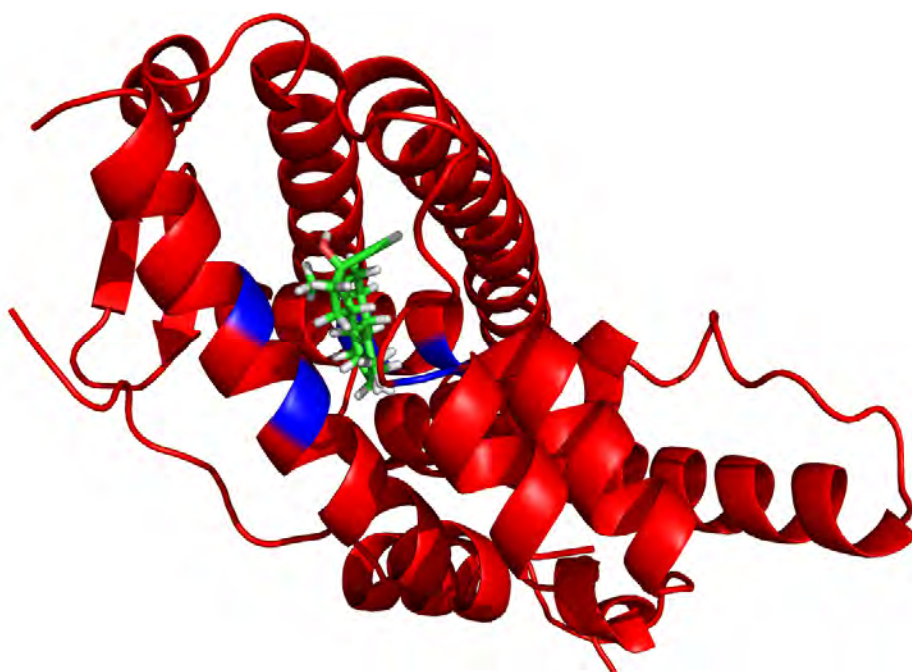


Figura 5 Interacción ligando- receptor; diagrama de cintas del receptor que se encuentra de color rojo y las uniones de ligando al receptor de color azul, la estructura molecular Tibolona es encuentra de color Verde , unida al diagrama de cintas del ligando al receptor .

Tabla 1 Posibles sitios activos del receptor tomado de
<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/output/S179440/>

#	Cscore	Posibles activos
1	0.3	349,350,353,384,388,391,394,404,423,521,524,525

Tabla 2 Descripción de los aminoácidos unidos a la tibolona y sus posibles interacciones.

Aminoácido en el receptor	Posición	Interacción
Thr	346	Fuerzas de van der Waals, Puentes de hidrogeno
Asp	350	Fuerzas de van der Waals, Puentes de hidrogeno
Trp	382	Fuerzas de van der Waals, Puentes de hidrogeno
Leu	386	Fuerzas de van der waals
Tyr	536	Fuerzas de van der Waals, Puentes de hidrogeno