

Curso Virtual de Capacitación en Climaterio
Homenaje a la Dra. Silvína Witis



HORMONAS ESTEROIDEAS

Mecanismos de acción molecular y eliminación de E y PRG

Andrés CALLE M.,

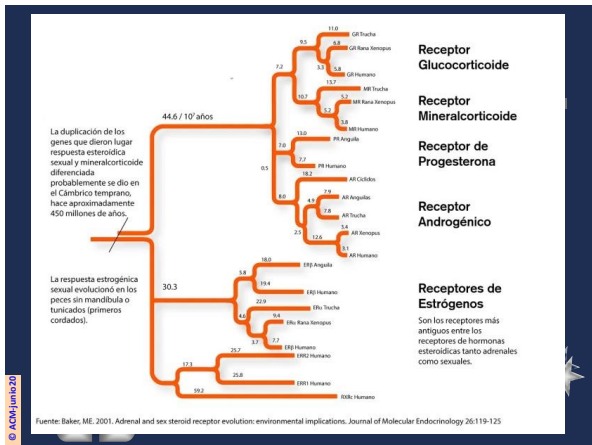
Quito, 23-junio-2020

1

Conflicto de Interés

Ninguno

2



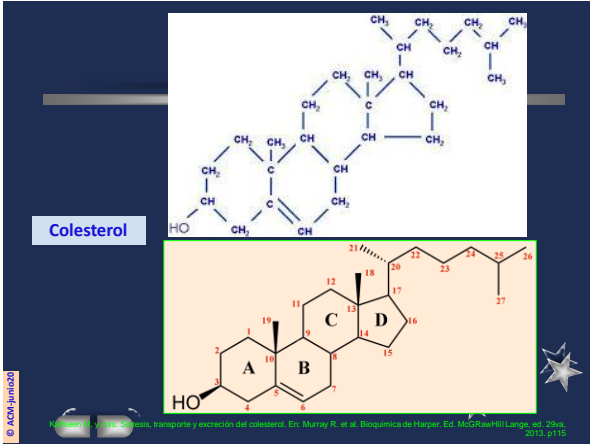
3

HORMONAS ESTEROIDEAS

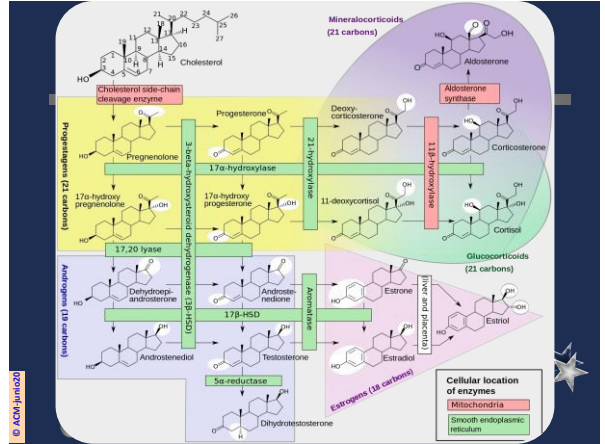
- Papel esencial en la regulación de múltiples procesos biológicos.
- Mayoría se biosintetiza en ovario, testículo y suprarrenal (Placenta y feto)
- Clasificación: Progestinas - Estrógenos - Andrógenos - Gluco y mineralocorticoides.

Pritchard JA, MacDonald PC. *Obstetricia*. 3ª edición. Salvat, Barcelona, 1981.

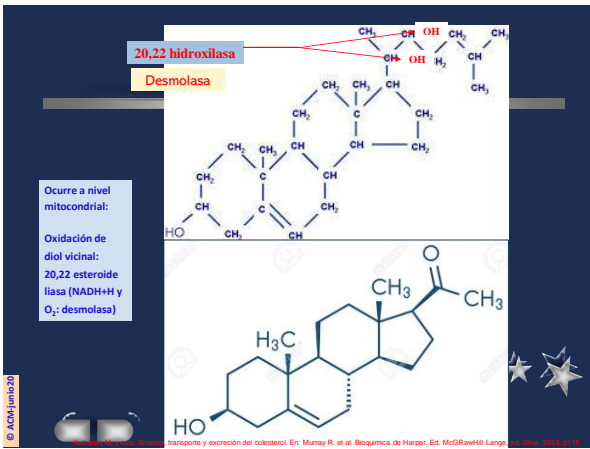
4



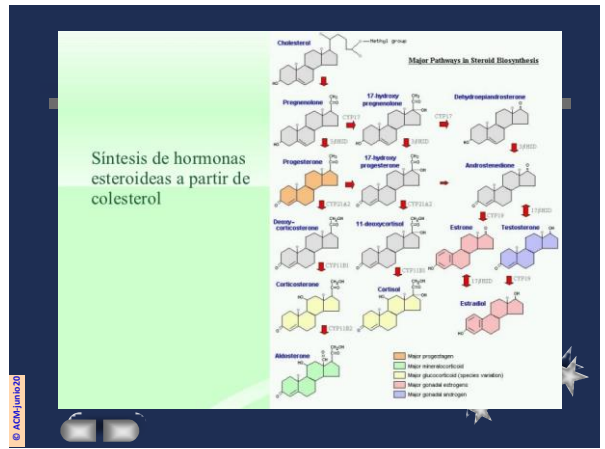
5



6



7



8

Enzimas microsomales:

- 3 beta OH-esteroide deshidrogenasa (NADH+H)
- 3-cetosteroide isomerasa.

Regulación génica autosómica

CC(=O)C[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=CC(=C)C[C@]34C

Pregnenolona

CC(=O)C[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=CC(=C)C[C@]34C

Progesterona

9

1= 19 esteroide hidroxilasa
2= aromataza (reductasa)

CC(O)C[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=CC(=O)C[C@]34C

Testosterona

CC(O)C[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=CC(=O)C[C@]34C

Estradiol

NADH+H

10

MECANISMOS DE ACCIÓN

11

Acoplamiento covalente

Hormona

➔

Receptor

➔

Efecto

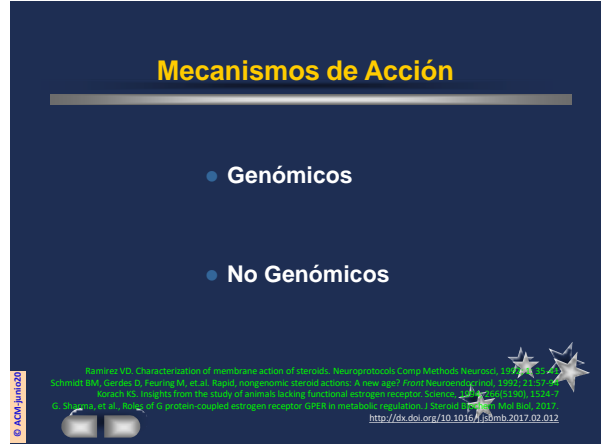
Enlaces covalente

Enzimas: reacciones

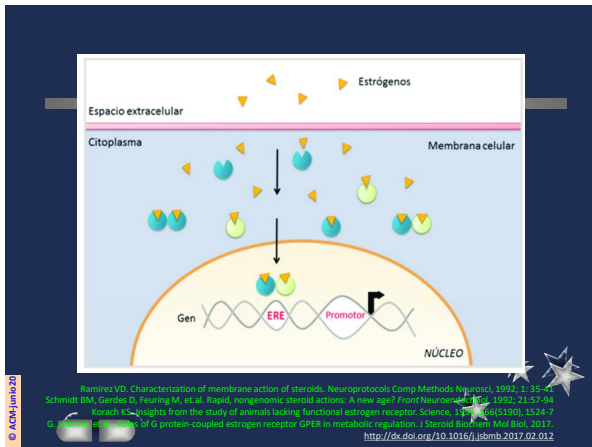
12



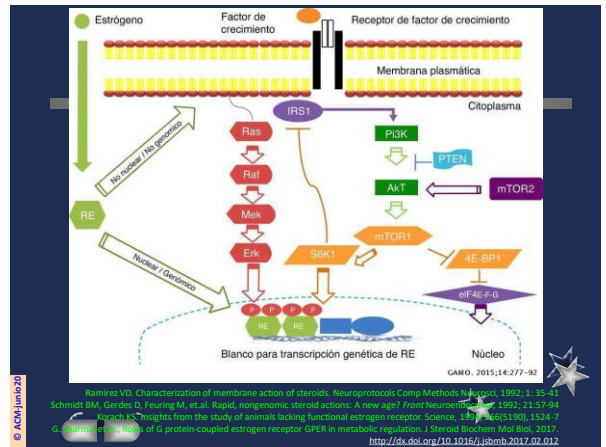
13



14



15



16

Hormonas Esteroides

MECANISMOS DE ACCION (I):

- Hormonas secretadas llegan a órganos blanco
- Existe Globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG)
- Transcortina y Proteína transportadora de andrógenos.

María Cecilia Bottino, Claudia Lanari. Localización extra nuclear de receptores esteroides y activación de mecanismo de acción. MEDICINA (Buenos Aires) 2010; 70: 373-385.
 Galyna Bondar, John Kuo, Nabeed Hamid, Paul Micevych. Estradiol-induced estrogen receptor- α translocation. J Neurosci. 2009 December 2; 29(48): 15323-15330. doi:10.1523/JNEUROSCI.4321-07.2009.
 Madsen Østerlund, Jan-Ake Gustafsson. Estrogen Receptors and the Metabolic Network. Cell Metabolism Review. 2011. DOI: 10.1016/j.cmr.2011.08.005

17

Hormonas Esteroides

MECANISMOS DE ACCION (II):

- Receptor intracelular de hormonas esteroides
- Afinidad muy alta ($pK = 10-10M$)
- Baja concentración en células blanco
- Estudios "in vitro": isótopos, ultracentrifugación, disociación diferencial.

María Cecilia Bottino, Claudia Lanari. Localización extra nuclear de receptores esteroides y activación de mecanismo de acción. MEDICINA (Buenos Aires) 2010; 70: 373-385.
 Galyna Bondar, John Kuo, Nabeed Hamid, Paul Micevych. Estradiol-induced estrogen receptor- α translocation. J Neurosci. 2009 December 2; 29(48): 15323-15330. doi:10.1523/JNEUROSCI.4321-07.2009.
 Madsen Østerlund, Jan-Ake Gustafsson. Estrogen Receptors and the Metabolic Network. Cell Metabolism Review. 2011. DOI: 10.1016/j.cmr.2011.08.005

18

Hormonas Esteroides

MECANISMOS DE ACCION (III):

- Receptores intracelulares para cada hormona esteroidea: citoplasma.
- Unión a receptor: Proteína "activada": afinidad por varios sitios de unión en el núcleo.- sitio aceptor del DNA
- Consecuencia: influir en la expresividad génica

María Cecilia Bottino, Claudia Lanari. Localización extra nuclear de receptores esteroides y activación de mecanismo de acción. MEDICINA (Buenos Aires) 2010; 70: 373-385.
 Galyna Bondar, John Kuo, Nabeed Hamid, Paul Micevych. Estradiol-induced estrogen receptor- α translocation. J Neurosci. 2009 December 2; 29(48): 15323-15330. doi:10.1523/JNEUROSCI.4321-07.2009.
 Madsen Østerlund, Jan-Ake Gustafsson. Estrogen Receptors and the Metabolic Network. Cell Metabolism Review. 2011. DOI: 10.1016/j.cmr.2011.08.005

19

Hormonas Esteroides

MECANISMOS DE ACCION (IV):

- Sitios aceptores: localizados en las secuencias del DNA o muy cerca, cuya transcripción es regulada por hormonas

Cambios moléculares son:

- Transcripción génica específica
- Procesamiento del RNAm precursor
- Traducción a nivel de ribosoma: proteínas específicas que modifican función celular.

María Cecilia Bottino, Claudia Lanari. Localización extra nuclear de receptores esteroides y activación de mecanismo de acción. MEDICINA (Buenos Aires) 2010; 70: 373-385.
 Galyna Bondar, John Kuo, Nabeed Hamid, Paul Micevych. Estradiol-induced estrogen receptor- α translocation. J Neurosci. 2009 December 2; 29(48): 15323-15330. doi:10.1523/JNEUROSCI.4321-07.2009.
 Madsen Østerlund, Jan-Ake Gustafsson. Estrogen Receptors and the Metabolic Network. Cell Metabolism Review. 2011. DOI: 10.1016/j.cmr.2011.08.005

20

Walter P. Green S, Greene G, Krust A, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. Proc Natl Acad Sci. 1985; 82:7889-93

Green S, Walter P, Kumar V, et al. Human estrogen receptor cDNA sequence, expression and homology to v-erb-A. Nature. 1986; 320:134-9

29

Receptor Genómico

Organización estructural de los receptores nucleares

Los receptores esteroides se encuentran organizados en seis dominios (letras A hasta la F). Región A y B están junto al amino terminal de la proteína (región menos estable y conservada entre los distintos receptores nucleares). Justamente esta parte del receptor tiene la función de activación de la transcripción genética (Activator Function 1 o AF-1) y varios sitios de fosforilación, que son importantes en el proceso de activación de la proteína especialmente en los procesos moleculares donde el receptor es activado en ausencia de hormona.

Miller Knowledge DM, Nelson KL, Blawie MC, et al. Coupling of Ras signaling pathways: epidermal growth factor action through the estrogen receptor. Proc Natl Acad Sci. 1997; 94:10548-52

Kato S, Endo M, Mizuno Y, et al. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. Proc Natl Acad Sci. 1995; 92:11494-9

Petras B, Gendron C, Bissler D, et al. ERK 2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. Oncogene. 1999; 19:2124-34

30

Receptores de estrógenos

Cromosoma 6

NH₂ [A/B] [C] [D] [E] [F] COOH

1 180 263 302 595

Función de activación de la transcripción-1 (TAF-1)
Dimerización de unión al ADN

α

Cromosoma 14

NH₂ [A/B] [C] [D] [E] [F] COOH

1 104 485

Localización nuclear
Unión a la proteína del choque térmico
Unión de la hormona
Función de activación de la transcripción-2 (TAF₂)
Influencia en la conformación

β

Green DG, Carlson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcriptional tissue distribution of estrogen receptor alpha and beta. Endocrinology. 1997; 138:463-70

31

Receptores alfa y beta

HERα: [A/B] [C] [D] [E] [F] (NTD, DBD, Bisagra, LDB)

HERβ: [A/B] [C] [D] [E] [F] (26, %, 17, 58, 18)

Activación Transcripcional: AF-1, AF-2

Traslocación Nuclear: [A/B], [C], [D], [E], [F]

Dimenzación: [A/B], [C], [D], [E], [F]

Unión a DNA: [A/B], [C], [D], [E], [F]

Unión a hsp90: [A/B], [C], [D], [E], [F]

Unión a Coactivadores: [A/B], [C], [D], [E], [F]

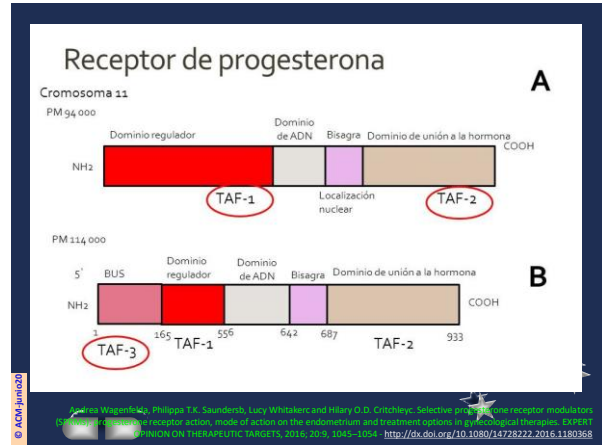
Unión Correpresores: [A/B], [C], [D], [E], [F]

Green DG, Carlson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcriptional tissue distribution of estrogen receptor alpha and beta. Endocrinology. 1997; 138:463-70

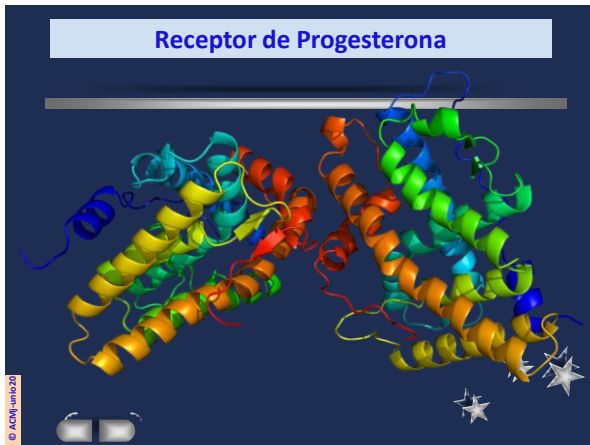
32



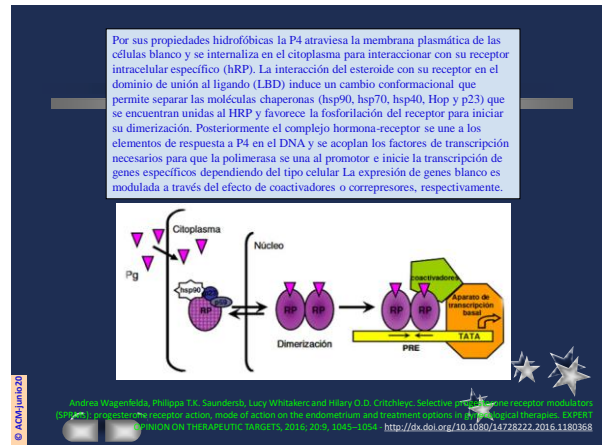
33



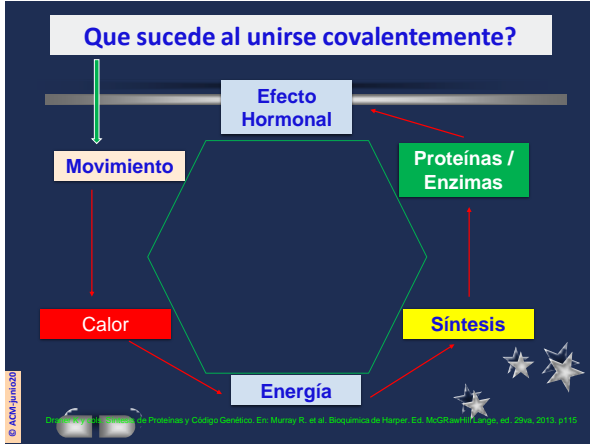
34



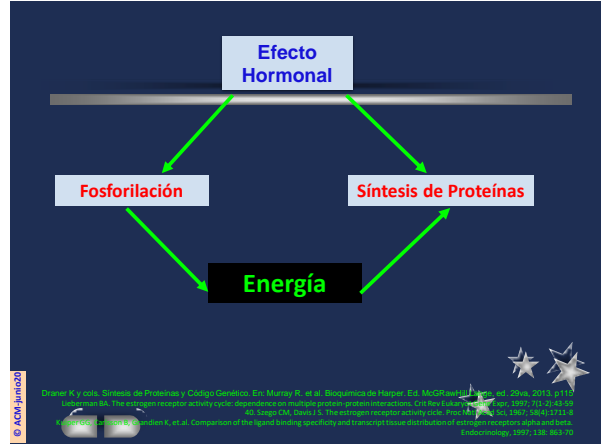
35



36



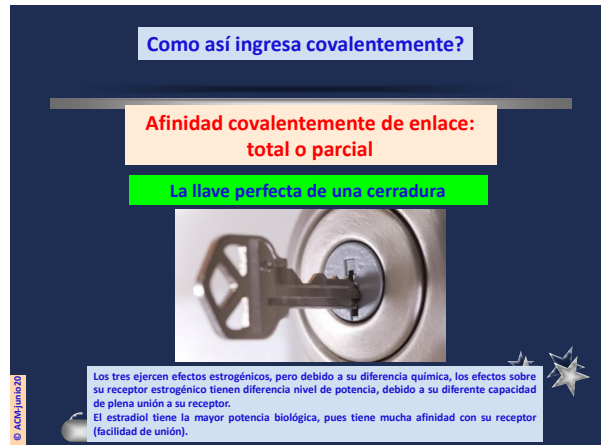
37



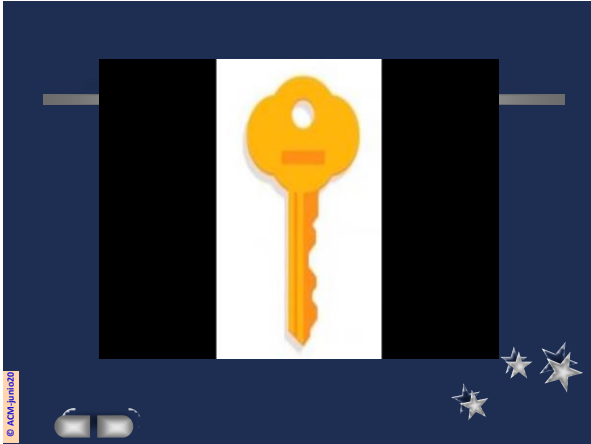
38



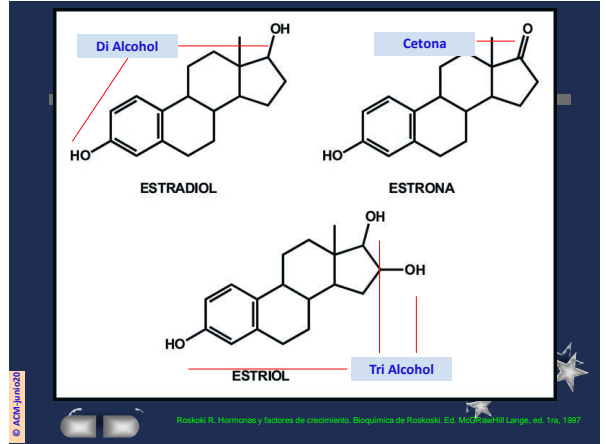
39



40



41



42

Nomenclatura

→ Carbono
→ Oxígeno
→ Hidrógeno

R - Metil (CH₃)

R - Alcohol

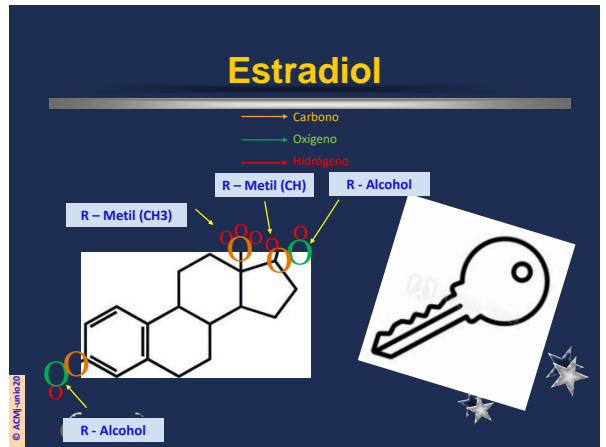
R - Metil (CH₂)

R - Cetona

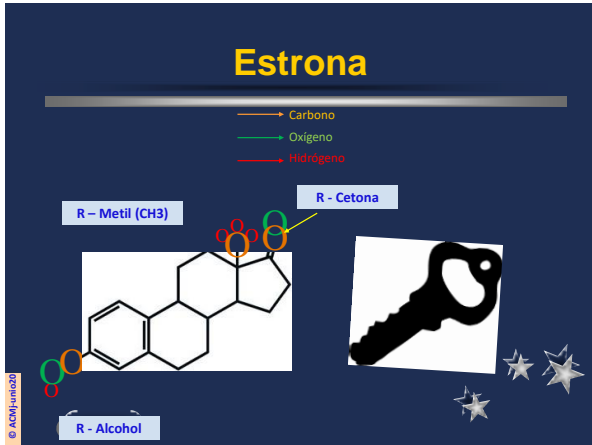
R - Metil (CH)

© ACM-junio20

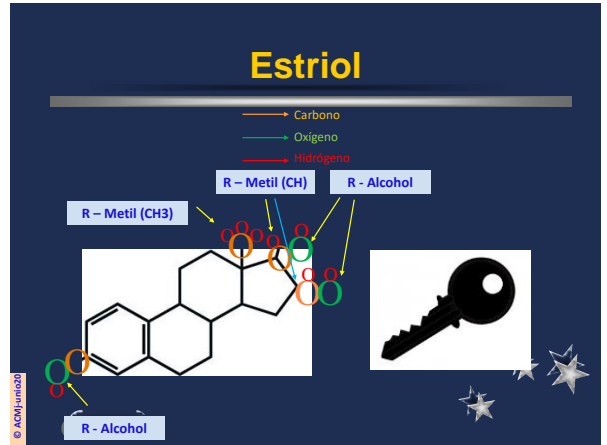
43



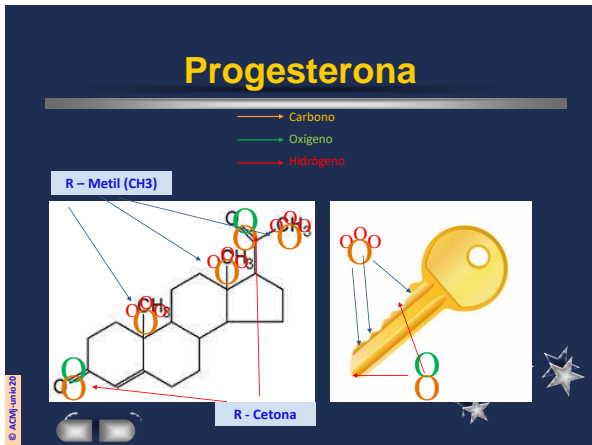
44



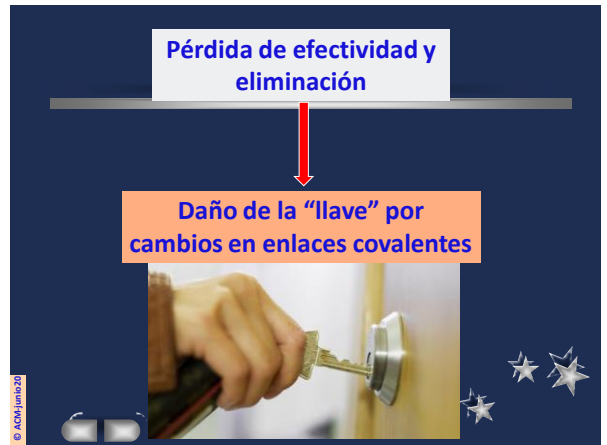
45



46


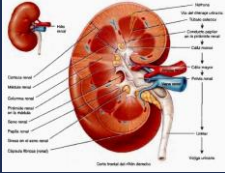


47



48

Daño de la "llave" por cambios en enlaces covalentes

Citocromos - hemoproteínas

© ACM-June2020 Murray y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larson, vol. 29va, 2013, p.115

49

Citocromos

- Son Hemo - proteínas que cumplen reacciones enzimáticas
- En general son enzimas oxidasas generales
- Citocromo P450: pico electroforético de la longitud de onda de la máxima absorción de la enzima cuando está en estado reducido
- Función: síntesis (hormonas esteroides – colesterol, ácidos biliares) y catabolismo de varias moléculas
- Catabolismo: sustancias externas (medicinas) y toxinas que se forman en el organismo.
- Hay mas de 60 genes del Citocromo P450 (hígado y resto de células).
- Mitocondrias: para sintetizar agua y obtener ATP
- Retículo endoplásmico: procesamiento y transporte de proteínas – catabolismo de sustancias externas.

© ACM-June2020 Murray y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larson, vol. 29va, 2013, p.115

50

Citocromos

- Existen variaciones comunes de polimorfismo de Citocromo P450, que pueden afectar la función de las enzimas.
- Este efecto se observa en la destrucción de medicamentos: metabolismo rápido o lento.
- Citocromo P450 representa el 70% del catabolismo de las medicinas.
- Cada gen del Citocromo P450 es conocido como CYP (parte de la familia de genes del C_i P450)

© ACM-June2020 Murray y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larson, vol. 29va, 2013, p.115

51

Citocromos

- El gen recibe un número asociado con un grupo específico dentro de la familia de genes.
- La letra representa subfamilia
- Numero: gen específico dentro de la familia.
- Por ejemplo: CYP 27A1

© ACM-June2020 Murray y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larson, vol. 29va, 2013, p.115

52

Citocromos

- Enfermedades causadas por mutaciones de los genes del CitP450 implican acumulaciones de sustancias en el cuerpo que pueden ser agresivas a las células en mayor o menor proporción.
- CYP1B1 – CYP2C9 – CYP2C19 – CYP4V2 – CYP11B1 – CYP11B2 – CYP17A1 – CYP19A1 – CYP21A2 – CYP27A1

© ACM-June2020



Enzimología y cof. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill Lange, ed. 29va. 2013. p115



53

Citocromos

- Sus mayores efectos moleculares son Fase I:
- Añadir o retirar grupos OH.
- Añadir grupos amino o SH
- Mecanismos de Hidrólisis, oxidación y/o reducción.

© ACM-June2020



Enzimología y cof. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill Lange, ed. 29va. 2013. p115



54

Citocromos

- Fase II: son enzimas transferasas (acetil T, Glucoronil T, Sulfo T, Gluctation T.
- Fase III: transportadores de drogas / medicinas. Epitelios, gastro / intestino, riñón, barrera hematoencefálica, etc.

© ACM-June2020



Enzimología y cof. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill Lange, ed. 29va. 2013. p115



55

Citocromos

Es una Hem-Proteína

© ACM-June2020



Enzimología y cof. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill Lange, ed. 29va. 2013. p115

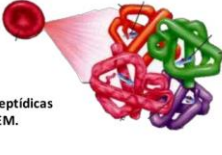


56

HEMOGLOBINA

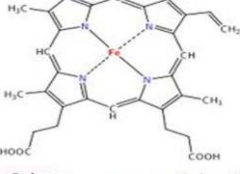
¿QUÉ ES?
Es una proteína globular que está presente en los eritrocitos y su función principal es el transporte de oxígeno a los tejidos; es la encargada de otorgarle el color rojo a la sangre.

ESTRUCTURA
Formada por 4 cadenas polipeptídicas (2 alfa y 2 beta) y 4 grupos HEM.

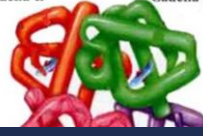


© ACM-junio20
Naciones y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larusa, vol. 29va, 2013, p.115

57



Cadena α Cadena β



Succinil CoA + Glicina

↓

4 pirroles = protoporfirina IX

↓

Protoporfirina IX + Fe = Hem

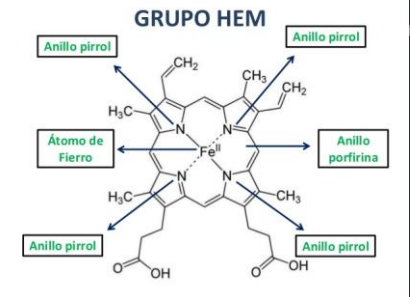
↓

Hem + globina = cadena de Hb

© ACM-junio20
Naciones y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larusa, vol. 29va, 2013, p.115

58

GRUPO HEM



© ACM-junio20
Naciones y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larusa, vol. 29va, 2013, p.115

59

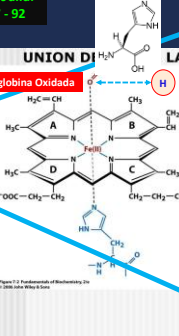
Cadenas alfa:
His 87 - 92

Cadenas beta:
His 58 - 64

UNION DEL HIERRO A LA GLOBINA Y AL OXÍGENO

Hemoglobina Oxidada

Hemoglobina Reducida

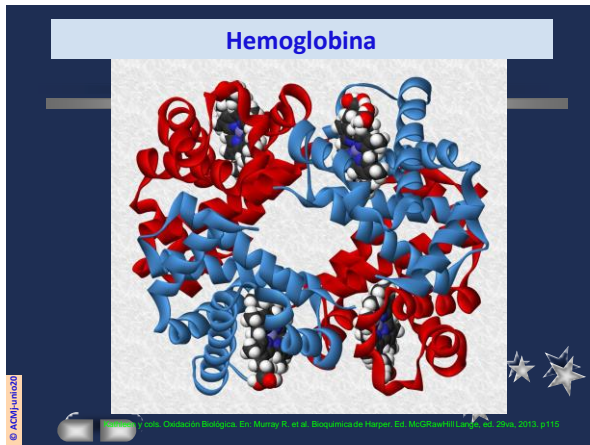


- El hierro se une a la Hys F8 (histidina proximal)
- Al otro lado se une el O₂, y puede interaccionar con la Hys E7 (histidina distal)

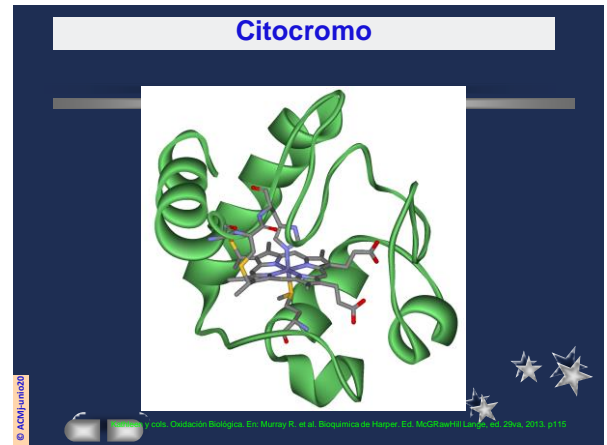
Figura 13.1 Fundamentals of Biochemistry, 5e © 2008 W. H. Freeman & Co.

© ACM-junio20
Naciones y cols. Oxidación Biológica. En: Murray R. et al. Bioquímica de Harper. Ed. McGrawHill/Larusa, vol. 29va, 2013, p.115

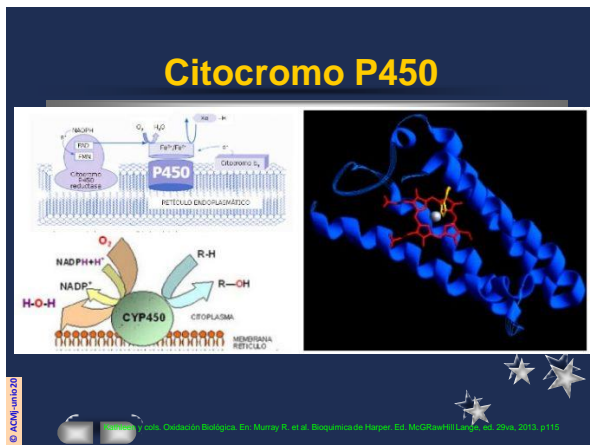
60



61



62



63

Estrógenos: metabolismo periférico

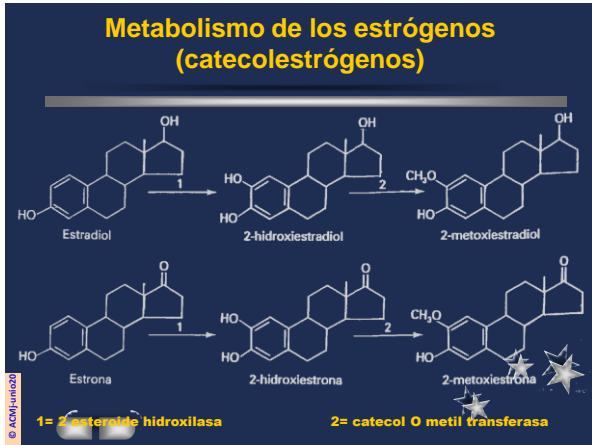
- 17 beta estradiol y estrona: mayor producción.- metabolismo intercambiable
- Hidroxilaciones del Anillo "A": C2 y C4, que pasan a formar los catecolestrógenos
- Hidroxilaciones del Anillo "D": formación de estriol y estetrol.

Etcheberry GS, Cardinali DP, Perez AE, et al. Binding and effects of catecholestrogens on adenosine receptor activity and adenosine receptors, benzodiazepine and GABA receptors in guinea-pig hypothalamic membranes. *Eur J Pharmacol.* 1988; 129: 1-10

Wang J, Li H, Wang J, Tufelweber J. Characterization of catechol estrogen membrane binding sites in estradiol receptor positive and negative human breast cancer cell-lines. *J Recept Res.* 1988; 8: 699-712

© ACMJuno20

64



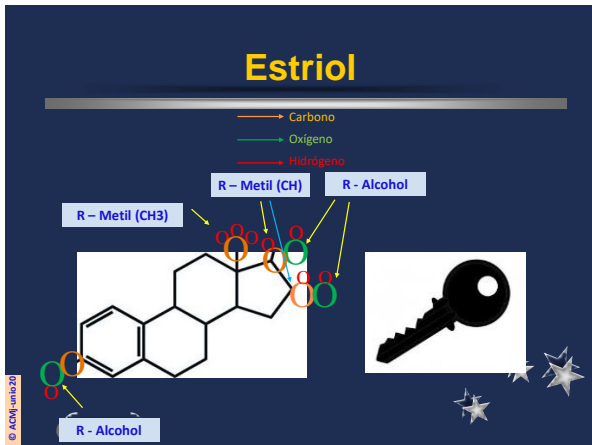
65

Estrógenos: catabolismo y excreción

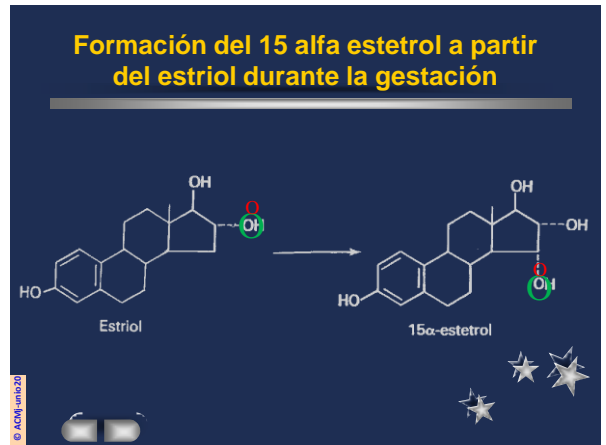
- Catabolitos: eliminación renal y fecal
- Glucoronidos o sulfatos: mayor solubilidad
- 17 beta estradiol: estrona y estriol: glucoronidos y esteres de sulfato.
- Estriol: metabolito predominante
- Estetrol: embarazo (OH C₁₅)

Estrogozen GS, Cardinal DP, Perez AE, et al. Binding and effects of catecholestrógenos on adenylate cyclase activity and adrenergic receptors and their response to gene sig hyperphosphorylation. *Int J Cancer*, 1996; 59: 31-35
 Vignani B, Hozier-Lefebvre J. Characterization of catecholestrógen multimeric binding sites in estrogen receptor-positive and negative human breast cancer cell-lines. *J Steroid Biochem*, 1988; 6:695-712

66



67



68

PROGESTERONA: CATABOLISMO Y EXCRECION

- Dos etapas secuenciales:
- Reducción del anillo A en C3 y C5, y en la cadena lateral.
- Formación de glucuronidos

© ACM Jaramb01

69

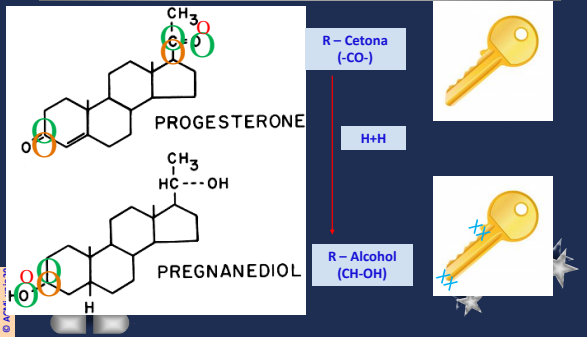
PROGESTERONA: CATABOLISMO Y EXCRECION

- Reducción del anillo A:
- Pregnanediol urinario (5-beta-pregnano-3 alfa, 20 alfa-diol): 30%
- Pregnantriol urinario (5-beta-pregnano-3 alfa, 17 alfa, 20 alfa-triol)
- Glucoroniltransferasas: Glucuronidos

© ACM Jaramb01

70

Pregnanediol



71

Pregnanediol urinario

Pregnatriol urinario

Glucuronido

PRINCIPALES CATABOLITOS URINARIOS DE LA PROGESTERONA Y DE LA 17-OH PROGESTERONA

72

