

## Póster

## Búsqueda de fármacos moduladores del receptor de estrógenos



Sara Raquel Santana Hernández<sup>1</sup>, Leandro Fernández Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacología, Departamento Ciencias Clínicas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

*Palabras clave:* receptor de estrógenos; SERM; cáncer

### RESUMEN

**Motivación:** Los estrógenos producen muchos efectos biológicos y están relacionados con enfermedades de gran impacto, como el cáncer. Aunque existen drogas que imitan y/o inhiben el comportamiento de esta hormona, suelen darse efectos colaterales no deseados. Por esta razón, es necesario encontrar nuevos fármacos que modulen el receptor de estrógenos.

**Métodos:** Empleamos células T47D, ER $\alpha$ / $\beta$  +, transfectadas con el plásmido pGL2.TATA.lnr.Luc.neo. Cuando sacamos células para el experimento, retiramos el medio, lavamos con PBS y añadimos 25 ml de medio RPMI sin PEST y con 10% de DCC para retirar los esteroides que puedan interferir. Así están 2 días. Luego sembramos la placa (96 pocillos) con 60000 células/pocillo en un volumen de 200  $\mu$ L. Al día siguiente se realiza el tratamiento. El control con actividad agonista pura fue el 17- $\beta$ -estradiol (E2) y con actividad antagonista pura fue el ICI-182,780. Además, ponemos pocillos solo con el vehículo de los fármacos (DMSO, 0,06%) como referencia del nivel basal de luciferasa que expresan las células. Los productos los probamos en concentraciones de 10  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 0.1  $\mu$ M y 0.01  $\mu$ M. Si se añade únicamente esto a las células se mide la actividad estrogénica, mientras que si se combinan con 0.3  $\mu$ L de E2 0.1 nM, se evalúa la antiestrogénica. Tras 24 horas, extraemos luciferasa de las células (se resuspende en PLB, centrifugamos 5 minutos a 12000 rpm y tomamos el sobrenadante) y medimos la luz que se emite al combinar nuestras muestras con LAR. Además, medimos proteínas con el método de Bradford para corregir la medida de luminosidad.

**Resultados:** Se analizan 4 fármacos. CS1 en presencia de E2 es capaz de inhibir al menos el 50% de la actividad transcripcional dependiente del ER (IC<sub>50</sub>=10 $\mu$ M), mientras que al analizarse solo, la activan también más del 50% (EC<sub>50</sub>=0,006 $\mu$ M). CS2 solo tiene efecto combinado con E2, inhibiendo más del 50% de la actividad transcripcional (IC<sub>50</sub>=0.08 $\mu$ M). Por su parte, CS41 actúa al contrario, tiene un comportamiento parecido al de E2 cuando se ensaya solo (EC<sub>50</sub>=1,25 $\mu$ M). Finalmente, ggc2 no muestra un efecto relevante en ninguno de los dos tipos de ensayo.

**Conclusiones:** CS1 sería un agonista parcial del receptor de estrógenos. En cuanto a CS2, se trataría de un antagonista puro, mientras que CS41 sería agonista puro. Ggc2 no sería un candidato para seguir estudiando. Con los otros, se harán curvas de competición con E2 marcado para ver su afinidad por el ER y ensayos uterotróficos en roedores.

### BIBLIOGRAFIA

- Barkhem T (2002) Molecular Mechanisms of Estrogen and Antiestrogen Action, in *Medical Nutrition* pp 1-75, Karolinska Institute, Stockholm..
- Jones ME, van Leeuwen FE, Hoogendoorn WE, Mourits MJ, Hollema H, van Boven H, Press MF, Bernstein L and Swerdlow AJ (2012) Endometrial cancer survival after breast cancer in relation to tamoxifen treatment: pooled results from three countries. *Breast Cancer Res* 14:R91
- Wilson VS, Bobseine K and Gray LE, Jr. (2004) Development and characterization of a cell line that stably expresses an estrogen-responsive luciferase reporter for the detection of estrogen receptor agonist and antagonists. *Toxicol Sci* 81:69-77.