

Análisis del cambio de residuos entre tubulina $\alpha\beta$ II y $\alpha\beta$ III en el sitio de la colchicina, como posible mecanismo de resistencia a los AIMs

María Guadalupe Pascual-Alejo^a, Litzia Christell Cerón-Romero^a, Omar Aristeo Peña-Morán^{a*}

^aUniversidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Básicas, Carretera Cunduacán-Jalpa KM 1, Colonia Esmeralda, Cunduacán, Tabasco, México.

*omar.pena@ujat.mx

Palabras clave: cáncer, tubulina β III, colchicina, fármaco-resistencia.

Introducción

La isoforma β III de la tubulina, se ha encontrado sobreexpresada en distintas líneas celulares de cáncer¹ lo anterior es atribuido a una resistencia celular en respuesta al tratamiento con Agentes que Interfieren en los Microtúbulos (AIMs) como en el caso de los alcaloides de la vinca y el paclitaxel.^{2,3} Estos pequeños cambios en la conformación estructural de las isoformas de la tubulina en los sitios de unión de ligandos, podrían representar una causa de falla al tratamiento con AIMs. El objetivo de este trabajo fue analizar el cambio de residuos en el sitio de unión de la colchicina (SUC) entre la tubulina isoforma $\alpha\beta$ II y $\alpha\beta$ III; utilizando para ello, el *docking* molecular *in silico*, que es un método para la predicción de la conformación molecular más estable energéticamente y usado para conocer la afinidad de enlace entre ambas moléculas, mediante una función de *scoring*.⁴

Metodología

En este trabajo se realizó un *docking* de proteína rígida y ligandos flexibles, efectuando un análisis comparativo de 19 ligandos modelados (conocidos por unirse al SUC),⁵ optimizados (campo de fuerza MMFF94) y acoplados *in silico* contra dos modelos del dímero de α/β tubulina, el primero con la tubulina α I isoforma β II ($\alpha\beta$ II) y el segundo con la tubulina α I isoforma β III ($\alpha\beta$ III), los modelos fueron descargados de la PDB ($\alpha\beta$ II: 4o2b; $\alpha\beta$ III: 5ij0) y optimizados con el campo de fuerza AMBER. Para el acoplamiento *in silico* se utilizó autodock vina con 25 repeticiones.

Resultados y discusión

Se corrieron los algoritmos de búsqueda conformacional, para los 19 ligandos contra las proteínas tubulina $\alpha\beta$ II y $\alpha\beta$ III. Se visualizaron y analizaron las conformaciones de menor energía y los *scores* obtenidos (energía de afinidad en Kcal/mol) se compararon entre uno y otro modelo, obteniendo que la afinidad de los ligandos fue favorable con el modelo $\alpha\beta$ II (Tabla 1)

Tabla 1. Comparación de energías de afinidad entre el modelo de tubulina $\alpha\beta$ II y $\alpha\beta$ III, de 19 ligandos que se unen al sitio de la colchicina.

Ligando	$\alpha\beta$ II	$\alpha\beta$ III	Ligando	$\alpha\beta$ II	$\alpha\beta$ III
1. Colchicina	-8.1	47.1	11. BNC-105	-4.0	47.2
2. Combretastatina	-7.9	16.5	12. Indibulina	-9.3	32.7
3. Fenstatina	-7.8	18.5	13. Crolibulina	-5.3	46.1
4. Podofilotoxina	-8.5	47.9	14. MPI-0441138	-7.4	18.7
5. Esteganacina	-9.3	54.6	15. CYT997	-7.1	37.3
6. Nocodazol	-7.8	20.1	16. Denibulina	-8.2	41.2
7. Curacina	-6.5	20.5	17. CI-980	-6.6	34.2
8. 2-ME 2-metoxiestradiol	-9.1	31.5	18. CP 461	-9.9	29.0
9. ABT-751	-8.1	20.4	19. TN16	-7.8	19.8
10. T138067	-8.2	16.4			

Valores energéticos en Kcal/mol.

Al realizar un análisis del SUC, se identificaron 17 residuos que lo conforman, observándose 15 idénticos entre las cadenas $\alpha\beta$ II y $\alpha\beta$ III. La pérdida de la afinidad para los 19 ligandos puede ser explicado por el cambio en los residuos Cys241 en $\alpha\beta$ II por una Serina en $\alpha\beta$ III, Ile318 en $\alpha\beta$ II por una Valina en $\alpha\beta$ III y por la gran flexibilidad de los residuos Lys254 y Lys352 en $\alpha\beta$ II (Figura 1).

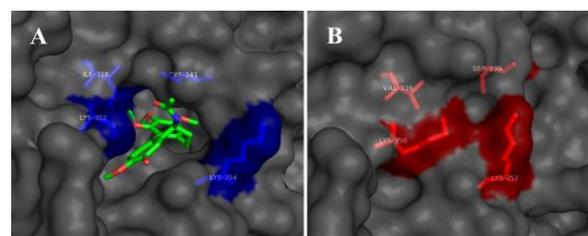


Figura 1. Cambio en los aminoácidos Cys241/Ile318 por Val316/Ser239 y flexibilidad de lisinas entre los modelos $\alpha\beta$ II (A) y $\alpha\beta$ III (B). Visualización con el programa PyMol.

Los residuos cambiados y las lisinas en el SUC en el modelo $\alpha\beta$ III, podrían estar bloqueando o disminuyendo la afinidad de los AIMs. Sin embargo, en distintas líneas celulares se ha observado que la expresión de isoformas de tubulina es heterogénea,¹ es decir, que se expresan más de una isoforma de esta proteína, lo que sugiere que al intercambiar la isoforma $\alpha\beta$ II (ampliamente expresada en tejidos sanos) por $\alpha\beta$ III (expresión en células cancerosas de alta malignidad) podría representar un mecanismo de resistencia farmacológica.^{6,7}

Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren un cambio conformacional en el SUC en el dímero $\alpha\beta$ III que podría causar que los AIMs analizados bajen su afinidad por el sitio, representando un posible mecanismo de resistencia farmacológica. En este trabajo se exploró con un *docking* de proteína rígida y ligandos flexibles, existe la posibilidad que con un *docking* flexibles o estudios de dinámica molecular, la hipótesis sea aceptada o rechazada.

Referencias

1. Hiser, L.; Aggarwal, A.; Young, R.; Frankfurter, A.; Spano, A.J.; Correia, J.J.; Lobert, S. Cell Motil Cytoskeleton. **2006**, 63(1):41-52.
2. Kavallaris, M.; Tait, A. S.; Walsh, B. J.; He, L.; Horwitz, S. B.; Norris, M. D.; Haber, M.; Cancer Res. **2001**, 61(15):5803-9.
3. Mozzetti, S.; Ferlini, C.; Concolino, P.; Filippetti, F.; Raspaglio, G.; Prislei, S.; Gallo, D.; Martinelli, E.; Ranelletti, FO.; Ferrandina, G.; Scambia, G. Cancer Res. **2005**, 11(1):298-305.
4. Lengauer, T.; Rarey, M. Curr Opin Struct Biol. **1996**, 6(3):402-6.
5. Lu, Y.; Chen, J.; Xiao, M.; Li, W.; Duane, M. Pharm Res. Memphis. **2012**, 29(11):2943-71.
6. Lindamulage, I.; Vu, H.; Karthikeyan, C.; Knockleby, J.; Lee, Y.; Trivedi, P.; Lee, H. Sci Rep. **2017**, 7(1): 1-13.
7. Stengell, C.; Newman, S.; Leese, M.; Leese, B.; Reed, M.; Purohi, A. Cancer Res. **2010**, 102:316 – 324.