

Revisión de los modelos computacionales que relacionan la estructura química con la disrupción del sistema endocrino

Goya-Jorge, E.^{1,2}, de Julián-Ortiz, J.V.³, Gozalbes, R.^{1*}

¹ ProtoQSAR SL., CEEI (Centro Europeo de Empresas Innovadoras), Parque Tecnológico de Valencia. Av. Benjamin Franklin 12, 46980 Paterna, Valencia, España.

² Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Av. Vicente Andrés Estellés, s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España.

³ Unidad de Diseño de Fármacos y Topología Molecular, Departamento de Química-Física, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Av. Vicente Andrés Estellés, s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España.

Resumen: El término interruptor endocrino define una amplia y diversa clase de sustancias de origen natural o antropogénico con la capacidad de interferir con alguna función del sistema endocrino y provocar efectos adversos en un organismo o su descendencia. La disrupción endocrina se asocia con cáncer, obesidad, diabetes, disfunción reproductiva e inmunológica. Constituye una forma específica de toxicidad cuyas regulaciones y legislación actualmente carecen de consenso. Los métodos computacionales, y particularmente los estudios quimioinformáticos como las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR), son herramientas valiosas de investigación que han ocupado gradualmente un importante espacio en los estudios toxicológicos. Esta revisión propone un análisis del más reciente estado del arte relativo a la modelación QSAR de la disrupción endocrina. Los casos de estudio seleccionados se centran en tres mecanismos importantes que representan la biosíntesis, el transporte y la interacción con los receptores hormonales mediados por la capacidad inhibitoria de la enzima aromataza, y los efectos sobre la proteína transportadora de transtiretina y el receptor de andrógenos, respectivamente. Estas herramientas predictivas pueden ayudar a priorizar sustancias como posibles alteradores endocrinos y, por lo tanto, son contribuciones importantes que garantizan el ahorro de tiempo, materiales y recursos humanos.

Palabras clave: QSAR, modelos computacionales, interruptor endocrino, TTR, aromataza, hormona.

Abstract: *Protection against Endocrine Disruption through Quantitative Structure-Activity Relationship modelling*

The endocrine disruptors are defined as a broad and diverse class of substances of natural or anthropogenic origin with the ability to interfere with some function of the endocrine system and, in doing so, cause adverse effects on an organism or its descendants. Endocrine disruption, associated with pathologies such as cancer, obesity, diabetes, and reproductive and immunological dysfunction, constitutes a specific form of toxicity whose regulation and legislation currently lack consensus. Computational methods, and within them chemoinformatic studies such as the prediction of quantitative structure-activity relationships (QSAR), are valuable research tools that have gradually occupied an important space in toxicological studies. This review proposes an analysis of the most recent state of the art related to QSAR modelling in the context of endocrine disruption. For this, case studies reported on three important hormonal mechanisms were selected, which represent synthesis, transport, and interaction with receptors. The summarized QSARs modelled the inhibitory capacity of the aromatase enzyme and the effects on the transthyretin transporter protein and the androgen receptor. These predictive tools can assist in prioritizing substances as potential endocrine disruptors and are therefore important contributions that guarantee the saving of time, material, and human resources.

Keywords: QSAR, endocrine disruptor, TTR, aromatase, androgen receptor, hormone.

Introducción

Desde mediados del siglo XX, la capacidad de ciertos compuestos químicos de irrumpir en el organismo y causar modificaciones en las

funciones de las hormonas ha preocupado a la comunidad científica internacional (Gassner et al., 1958). Por su terminología en inglés “*endocrine disruptors*” o “*endocrine disrupting chemicals*”, se ha extendido y popularizado su nombre indistintamente como “disruptores endocrinos” (anglicismo), interruptor o alterador endocrino. En mamíferos, aves, reptiles y peces, los efectos de estas sustancias se han detectado en alteraciones del comportamiento sexual, la masculinización de hembras y la feminización de machos, que incluye la reducción del tamaño de los órganos sexuales, así como la pérdida de su funcionalidad. Otras consecuencias son el desarrollo de malformaciones y procesos cancerosos, niveles séricos anómalos de las principales hormonas, problemas de fertilidad, perturbaciones en la respuesta inmune, disminución de la capacidad de aprendizaje y de la memoria a corto y largo plazo. Niveles elevados de compuestos interruptores endocrinos en fluidos como la leche materna han revelado el riesgo de exposición temprana a estos tóxicos (Schug et al., 2016; Yilmaz et al., 2020).

La publicación del libro de Rachel Carson “*Silent Spring*” en 1962 supuso para el público en general una llamada de atención ante las consecuencias a largo plazo de la contaminación medioambiental, y en particular sobre los riesgos potenciales en la reproducción de productos químicos sintéticos como el dicloro difenil tricloroetano (DDT). Sin embargo, la primera tentativa global de establecer una definición formal de los compuestos que provocan efectos adversos al interactuar con el sistema endocrino data de 1991 (Bern et al., 1991).

A nivel europeo, la primera iniciativa en relación con los alteradores endocrinos fue la aprobación en el Parlamento, en octubre de 1998 de la “Resolución sobre las sustancias químicas que provocan perturbaciones endocrinas” propuesta por la Comisión de Medio Ambiente, Salud Pública y Protección del Consumidor. Comenzó a raíz de esta resolución a aplicarse en la Unión Europea la aún vigente “Estrategia Comunitaria para los Alteradores Endocrinos” con diferentes proyectos de investigación asociados (Karjalainen et al., 2017).

En una de las primeras resoluciones adoptadas por el Parlamento Europeo en el año 2000, se enfatizó la necesidad de desarrollar sistemas de control de riesgo rápidos y efectivos, y de actuar inmediatamente en la identificación de sustancias con potencial toxicidad endocrina. El Parlamento y el Consejo de Ministros se harían eco de este imperativo al proyectar la disrupción endocrina como parte del Reglamento (CE) N.º 1907/2006 (REACH, acrónimo de Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de sustancias y mezclas químicas), así como la creación de la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA, del inglés “*European Chemicals Agency*”). De conformidad con REACH, los alteradores endocrinos se identifican como sustancias extremadamente preocupantes, junto con las consideradas carcinógenas, mutagénicas y tóxicas para la reproducción (sustancias CMR), con objetivo de reducir su uso y sustituirlas progresivamente por otras alternativas más seguras.

Junto a la creciente llamada de atención en torno a la disrupción endocrina en la década de los 90, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) publicaron numerosas directivas en pro de reducir la experimentación animal en la investigación científica. Se intensificaría así el ya notable interés en la aplicación de métodos alternativos al uso de animales, y entre ellos los estudios

*e-mail: rgozalbes@protosar.com

computacionales o modelación “QSAR” (del inglés *Quantitative Structure-Activity Relationships*).

Actualmente, el desarrollo de métodos QSAR continúa siendo una temática de creciente impacto en el campo toxicológico y farmacológico (Gozalbes et al., 2015; Lin et al., 2020). La aplicación de esta metodología para la predicción de la toxicidad endocrina causada por compuestos químicos a través de la enzima aromatasa, la proteína transportadora transtiretina y el receptor de andrógenos será objeto de revisión en este artículo.

El estudio que se presenta fue desarrollado en el contexto del proyecto europeo H2020- PROTECTED: “*Protection against endocrine disruptors; detection, mixtures and health effects, risk assessment and communication*” (<http://protected.eu.com/>) que tiene como objetivo integrar diversos métodos de evaluación de la toxicidad endocrina de compuestos y mezclas químicas, así como promover la conciencia social de los riesgos que supone la disrupción endocrina.

Panorama conceptual y teórico

2.1. El sistema endocrino y su disrupción

2.1.1. Las hormonas

Las hormonas son mensajeros químicos que se encargan de regular y coordinar las funciones metabólicas principales, el crecimiento y el desarrollo de diferentes poblaciones de células en un organismo. No existe ningún órgano o sistema en el cuerpo humano fuera del control de una o varias rutas del sistema hormonal, más conocido como sistema endocrino (Tata, 2017). De acuerdo con su estructura química, las hormonas se clasifican en tres grupos: péptidos/proteínas, esteroides y

aminas. Algunas de las principales hormonas humanas y las glándulas endocrinas donde son secretadas se muestran en la Figura 1.

La complejidad del sistema endocrino queda evidenciada en la diversidad estructural y funcional de las moléculas hormonales representada en la Figura 1 (Leblebicioglu et al., 2013). Existen hormonas de naturaleza puramente hidrofóbica como es el caso de las esteroidales que derivan del lípido colesterol y entre las cuales se encuentran las asociadas con la reproducción como el estradiol, la progesterona y la testosterona. Sin embargo, hormonas peptídicas/proteicas como la insulina secretada en el páncreas o la calcitonina en las glándulas tiroideas, están formadas por múltiples cadenas de aminoácidos que le atribuyen propiedades hidrofílicas. Las hormonas de tipo aminas contienen representantes hidrofílicos como la serotonina o la dopamina y otros lipofílicos como la tiroxina (Soto et al., 2009).

2.1.2. La actividad hormonal

La secreción o síntesis de hormonas es un proceso que implica múltiples tejidos debido a las variadas funciones que tienen estas moléculas en el organismo. En el caso de las hormonas esteroideas, los mecanismos enzimáticos involucrados se agrupan como: enzimas específicas del citocromo P450 (CYPs), hidroxisteroide-deshidrogenasas (HSDs) y esteroide reductasas (Miller WL, 1988). Un ejemplo característico es la enzima P450 aromatasa (CYP19A1), la única capaz de catalizar en vertebrados la reacción de aromatización que transforma andrógenos en estrógenos (Sanderson, J.T., 2006). Otra enzima importante es la hemoproteína transmembrana glicosilada tiroperoxidasa (TPO), que desempeña un papel crucial en la síntesis de hormonas tiroideas (Yen, 2001).

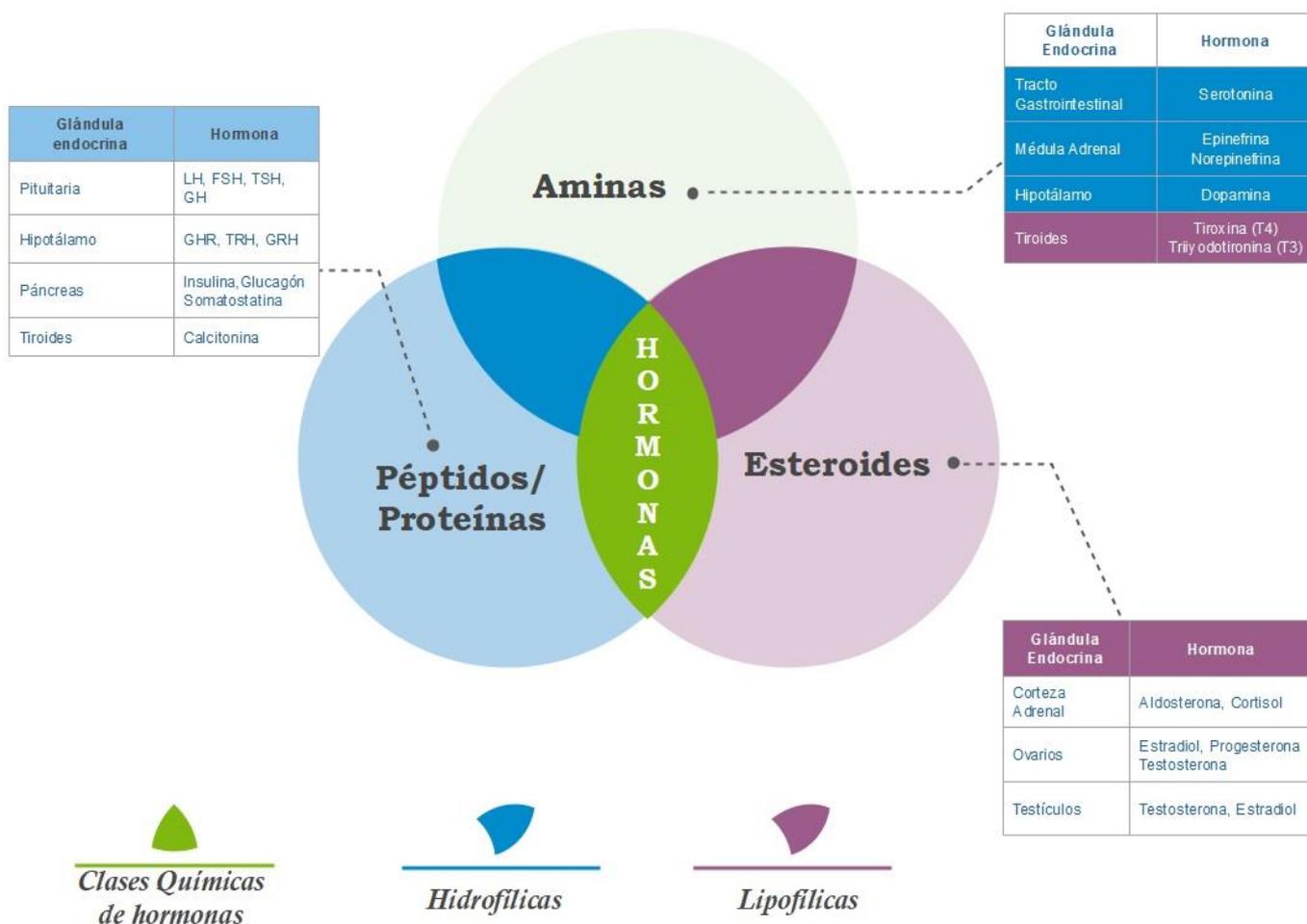


Figura 1: Diagrama de las clases químicas de hormonas y algunos ejemplos de las glándulas endocrinas que las secretan.

El proceso de señalización endocrina involucra a un gran número de receptores y rutas celulares. Un grupo importante es la superfamilia de receptores nucleares (NR), reguladores de la transcripción y activados por ligandos endógenos y exógenos. Estos receptores suelen compartir patrones de organización estructural que incluyen un dominio N-terminal variable, uno central de unión al ADN y uno C-terminal al cual se unen ligandos como las hormonas, pero también prostaglandinas, ciertas vitaminas y ácidos grasos (McEwan, 2016). Están relacionados con diversas funciones fisiológicas en los metazoos que van desde el crecimiento, desarrollo y reproducción hasta el metabolismo y la homeostasia. Algunos de los receptores nucleares más conocidos son el receptor de estrógenos (ESR), el receptor de andrógenos (AR), y los receptores de hormonas tiroideas (TR). Son estos receptores también la diana de múltiples xenobióticos que, mimetizando o antagonizando el efecto de las hormonas, interrumpen la homeostasia endocrina causando diversas consecuencias tóxicas (Balaguer et al., 2019). El ESR tiene como ligando endógeno la hormona 17 β -estradiol (E2). Existen dos subtipos (ESR α y ESR β), ambos con un papel importante en la fisiología humana. Sin embargo, sus efectos pueden llegar a ser antagonísticos en muchos casos. Con el descubrimiento de ESR β se reveló que las funciones estrogénicas no se limitaban a la reproducción femenina, sino que tenían relación con muchos otros órganos y sistemas en ambos sexos (McEwan, 2016; Tata, 2017). Por otro lado, la activación del AR está ligada a las hormonas androgénicas testosterona y 5 α -dihidrotestosterona (5 α -DHT). Fisiológicamente el AR es el responsable de la diferenciación sexual masculina, desde el útero, hasta los cambios que acontecen en la pubertad. En el hombre adulto sus efectos han sido relacionados con la masa y la fuerza muscular (Leblebicioglu et al., 2013). Por último, los receptores tiroideos se pueden encontrar expresados a partir de dos genes independientes (α y β), y cada gen tiene a su vez 2 isoformas del receptor. Intervienen entre otras funciones en el crecimiento, el desarrollo y la regulación del metabolismo (Little, 2016).

2.1.3. La disrupción endocrina

La acción sobre receptores nucleares, como se ha mencionado anteriormente, está entre los mecanismos más comunes por los cuales sustancias de todo tipo pueden alterar el efecto de las hormonas (Balaguer et al., 2019). Sin embargo, muchas otras rutas de interrupción del sistema endocrino han sido identificadas a consecuencia de la acción de entidades químicas (WHO/UNEP, 2013). Los más importantes se representan en la Figura 2.

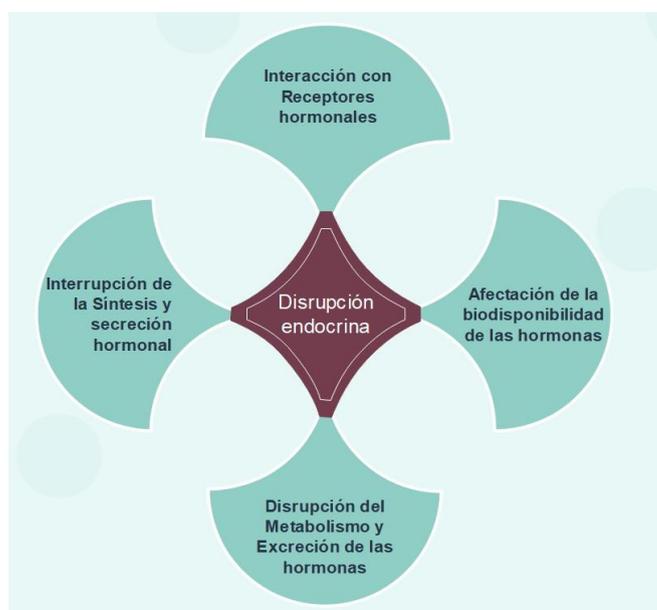


Figura 2: Principales mecanismos de disrupción del sistema endocrino causado por agentes químicos.

La toxicidad sobre el sistema endocrino puede ser causada por la alteración de la síntesis y secreción de hormonas, afectando por ejemplo la aromatasas P450 o inhibiendo la TPO. Diferentes compuestos químicos son capaces de causar también modificaciones en la biodisponibilidad y en la unión a proteínas transportadoras como las globulinas de enlace a hormonas sexuales (SHBG), las de corticosteroides (CBG) y la transtiretina (TTR) (Cheek et al., 1999; Hong et al., 2015). Además, han sido descritos otros mecanismos de disrupción del metabolismo y la excreción de hormonas.

Por otro lado, los elementos que regulan la activación o desactivación no fisiológica de rutas hormonales dependen, entre otros factores, de la capacidad de respuesta de las distintas células y tejidos, lo que a su vez está condicionado por la afinidad hacia el receptor, el número de receptores disponibles, la concentración hormonal y la presencia de cofactores que puedan favorecer o reprimir sus efectos. Los perfiles de expresión de los receptores suelen variar también durante el desarrollo, y una hormona es capaz de cumplir diferentes roles en un momento u otro del crecimiento. Los múltiples elementos involucrados complican por tanto el estudio de las acciones celulares de las hormonas, así como el perfil toxicológico de los compuestos que interfieren con los mecanismos endocrinos (Vandenberg et al., 2013).

Durante décadas de estudio e investigación, diversos compuestos han demostrado tener capacidad para alterar el sistema endocrino ocasionando numerosas consecuencias fisiológicas. Sin embargo, no existe una definición universalmente aceptada por las entidades científicas y regulatorias para los llamados “interruptores endocrinos”. La principal limitación consiste en la dificultad de integrar en un único concepto la diversidad estructural, los mecanismos de acción y los escenarios de exposición asociados con la toxicidad endocrina (Schug et al., 2016).

Así por ejemplo, la Comisión Europea asume la definición establecida por la OMS en el informe emitido por el Programa Internacional de Seguridad Química de 2002 según la cual un interruptor endocrino es “una sustancia o mezcla exógena que altera la(s) función(es) del sistema endocrino, causando consecuentemente efectos adversos para la salud en un organismo, su progenie o (sub)poblaciones” (WHO, 2002). Sin embargo, la *Endocrine Society* de los Estados Unidos, acordó en 2012 definir los alteradores endocrinos como aquellos “compuestos químicos exógenos o mezclas que pueden interferir con cualquier aspecto de la acción hormonal” (Thomas Zoeller et al., 2012). La inclusión pues, de los efectos adversos a la hora de considerar un compuesto como interruptor endocrino ha abierto una brecha entre ambos conceptos, lo que se traduce en significativas diferencias en el número de sustancias a considerar según una u otra definición.

La falta de coherencia en este sentido no ha impedido que los términos como disrupción, interruptores o alteración endocrina se empleen alegando indistintamente cualquiera de los conceptos. Los interruptores endocrinos se han asumido globalmente como compuestos cuya determinación permite establecer parámetros o criterios de toxicidad relativos a las alteraciones que, por múltiples mecanismos, pueden desencadenar diversos agentes químicos sobre las rutas hormonales. Se obvia, por tanto, en muchos casos la definición establecida por la OMS, y se reportan ensayos, mediciones, determinaciones o modelos de disrupción endocrina en los cuales no se demuestra que el efecto sobre el organismo, su progenie o (sub)poblaciones sea adverso, sino que pueda ser considerado, simplemente, un efecto potencial. Existe, claro está, una necesidad de aunar esfuerzos para sistematizar la definición de los compuestos que deberían considerarse interruptores endocrinos, de manera que su estudio pueda ser abordado en distintos contextos sin generar contradicción.

2.2. Generalidades de la modelación QSAR

La información toxicológica es cada vez más específica y amplia debido a los esfuerzos internacionales de proveer datos científicos para regular las sustancias químicas y garantizar la salud de las personas y del medioambiente. Sin embargo, persisten limitaciones y lagunas de

información. En el caso de la toxicidad endocrina, aun cuando algunos mecanismos han sido dilucidados, existen otros en los cuales el volumen de información es escaso o que las mediciones experimentales son objeto de controversia (Delgado et al., 2012).

Los métodos alternativos a la experimentación animal son particularmente importantes en el campo toxicológico donde han ganado una marcada aceptación. Dentro de las múltiples ventajas que ofrecen destacan el ahorro de tiempo y recursos. Además, la capacidad predictiva de los modelos *in vitro* e *in silico* se ha ido perfeccionando durante décadas, llegando a sustituir hoy día a la experimentación animal en la industria cosmética europea y en gran parte de los estudios de toxicidad ocular y cutánea de sustancias (de Ávila et al., 2019; Tourneix et al., 2020).

2.2.1. Conceptualización

En el caso de los métodos computacionales, destacan los estudios basados en la relación existente entre la estructura química de los compuestos y la actividad/propiedad objeto de interés. Difundidos como QSAR/QSPR (de sus siglas en inglés: *Quantitative Structure-Activity Relationships/Quantitative Structure-Property Relationships*), esta metodología de modelación quimiinformática fue introducida hace más de medio siglo en la práctica farmacéutica y toxicológica, con utilidad además en la agroquímica y la química medioambiental. Su aplicabilidad se refleja en los múltiples trabajos científicos publicados que, como se representa en la Figura 3, superan los ochocientos anuales en la última década.

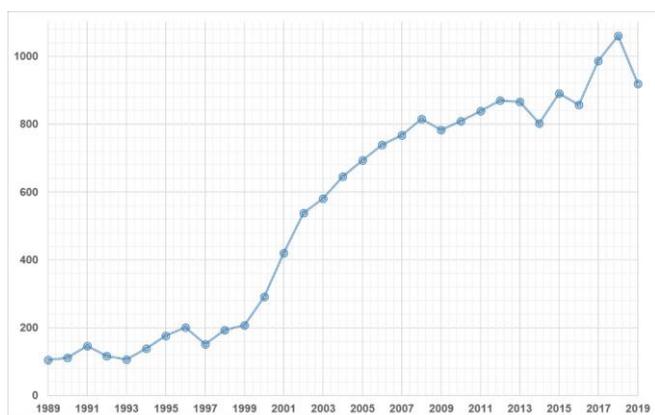


Figura 3: Línea temporal que representa el conteo de publicaciones científicas asociadas con el término MeSH: quantitative structure-activity relationship en la base de datos PubMed

Los modelos QSAR asumen que las características y propiedades de las moléculas, tanto estéricas, geométricas como electrónicas, determinan finalmente su comportamiento en diversos ambientes biológicos, así como las propiedades fisicoquímicas atribuibles a las mismas. Es de esta forma que los tres elementos fundamentales de un estudio QSAR/QSPR son: el concepto de estructura molecular, la definición de descriptores moleculares y la determinación estadística de la relación existente entre la una y la otra.

El concepto de estructura molecular fue un importante aporte de la ciencia de finales del siglo XIX, mientras que la Teoría de Crum-Brown sería el primer sistema de representación gráfica de compuestos químicos, preludio de los que hoy se conocen como descriptores moleculares. Crum-Brown and Fraser introducirían en esa época la llamada “primera formulación de las relaciones cuantitativas estructura-actividad” en la que propusieron que la actividad biológica (Φ) es una función que depende de la constitución química (C), de modo que $\Phi = f(C)$. Por tanto, variaciones en una (ΔC) se reflejan en la otra ($\Delta \Phi$) (Brown and Fraser, 1868).

Transformar la estructura molecular en parámetros que matemáticamente pudieran ser relacionados con las mediciones experimentales de efectos o con las propiedades fisicoquímicas de los

compuestos se convirtió por tanto en elemento crucial. Esta parametrización cuantitativa o descripción de las moléculas no es más que “el resultado final de un procedimiento matemático y lógico que trasforma la información química codificada en la representación simbólica, en un número útil o el resultado de algún experimento estandarizado” (Todeschini and Consonni, 2009).

Derivados del análisis de un gran número de teorías, se han definido miles de descriptores moleculares. El contenido de información en sus definiciones ha avanzado también junto al surgimiento de nuevas herramientas estadísticas para el análisis de datos. En general es posible identificar dos clases de descriptores, los basados en medidas experimentales (ej. polarizabilidad, log P, refractividad molar), y los derivados de la representación simbólica de las moléculas, también conocidos como descriptores teóricos. A su vez, los descriptores teóricos se clasifican en descriptores de 0-5D dependiendo de la información estructural que contienen. En los descriptores 0D no se considera la estructura molecular, únicamente la fórmula química de los compuestos (ej. peso atómico, número de átomos). Los descriptores 1D son listas de fragmentos estructurales de las moléculas, pero sin considerar la estructura molecular en su conjunto (ej. conteo de grupos funcionales o de sustituyentes de interés). Los descriptores 2D (o topológicos), ponderan los átomos con propiedades como la electronegatividad o el volumen y consideran la conectividad, así como las interacciones intra/intermoleculares. Los descriptores 3D (o geométricos) permiten la consideración de elementos estereoquímicas de los átomos, mientras que los 4D incluyen además información de campos de interacción como es el caso de las relaciones con los sitios activos de los receptores. Por último, la descripción 5D estima también elementos estereodinámicos en la parametrización de la estructura química de las moléculas (Sahoo et al., 2016).

2.2.2. Sistemática en la modelación QSAR

El desarrollo de modelos QSAR se encuentra en crecimiento y actualización continuos (Cherkasov et al., 2014). Sin embargo, siete pasos comunes rigen su sistemática (Figura 4).

El primer paso en un estudio QSAR, como se muestra en la secuencia de la Figura 4, es la formulación del problema. Es importante desde el comienzo del estudio determinar el objeto de análisis y el nivel de información requerido. Además, se agrupará el mayor volumen posible de información relevante para la construcción de bases de datos amplias o específicas de acuerdo con el interés del trabajo. Seguidamente, se procederá a la parametrización cuantitativa de las estructuras químicas contenidas en la base de datos, empleando para ello la clase de descriptores moleculares que se estime oportuna. La selección de variables permite escoger aquellas estadísticamente relevantes a través de técnicas como la de pasos sucesivos (SW). Es posible también emplear técnicas de agrupamiento como el análisis de componentes principales (PCA) para generar nuevos descriptores que contengan mayor volumen de información.

La medición de la propiedad de interés suele requerir estrategias de “pretratamiento” de los datos, necesario para garantizar la homogeneidad de la variable respuesta a modelar, dado fundamentalmente el hecho de que a menudo el origen de dichos datos es muy diverso (diferentes fuentes de información, técnicas de medición experimental, etc.). La selección del tipo de modelo QSAR es un paso crucial, y dependerá tanto de la variable respuesta como del conjunto de datos en su totalidad. Según la propiedad o actividad analizada, se identifican globalmente dos tipos de modelos, los de regresión, cuando la variable respuesta es cuantitativa, y los de clasificación, cuando se modelan categorías o clases (Dudek et al., 2006). En ambos tipos de QSARs, la dependencia estadística con los datos estructurales puede o no ser lineal.

Los métodos estadísticos lineales más comunes para relacionar la estructura con la actividad de los compuestos químicos son el análisis discriminante lineal (LDA) para los datos categóricos y la regresión lineal múltiple (MLR) para los datos cuantitativos. También es muy

Sistemática de un estudio QSAR

Pasos Generales



Figura 4: Representación de los siete pasos generales de la modelación QSAR.

empleado el método de mínimos cuadrados parciales (PLS) basado en la factorización de las variables independientes (descriptores). En los modelos PLS se proyectan los descriptores y la variable respuesta en un nuevo espacio y, aunque su aplicación más común es en el análisis de regresión, se ha combinado con el análisis de discriminante (PLS-DA) para modelar categorías binarias.

Las funciones genéticas de aproximación (GFA) son métodos también muy empleados en la construcción de modelos QSAR/QSPR. Inspirados en teorías evolutivas y adaptativas, los GFAs son capaces de generar múltiples modelos de forma eficiente analizando grandes volúmenes de datos. Se han combinado también con los modelos PLS (G/PLS) aprovechando las ventajas de uno y otro (Rogers, 1999). De igual forma, otras funciones que permiten la transformación de los datos como es la basada en el método de Kernel se han acoplado con PLS (KPLS) en el desarrollo de modelos QSAR. En el caso de la clasificación, la técnica de reconocimiento de patrones *k*-vecinos más cercanos (*k*-NN) ha demostrado una marcada utilidad en la modelación quimioinformática.

Los métodos predictivos no lineales más comunes y que se emplean para modelar todo tipo de variables en el análisis QSAR, son los algoritmos de aprendizaje automático (*machine learning*). Dentro de ellos son muy conocidos los árboles de decisión (DT), que en función de la variable de destino serán árboles de clasificación o de regresión. Además, por su elevada capacidad predictiva algoritmos como las máquinas de soporte vectorial (SVM) y las redes neuronales artificiales (ANN) son frecuentemente utilizados tanto para problemas de regresión y como de clasificación.

Vale la pena mencionar además dos tipos de metodologías que, por su amplia aplicabilidad en el descubrimiento de fármacos, se encuentran entre las más renombradas en el campo de modelación QSAR. Éstas son el análisis comparativo de campo molecular (CoMFA) y el análisis comparativo de índices de similitud molecular (CoMSIA). Los métodos CoMFA y CoMSIA son análisis 3D-QSAR con la particularidad del tipo de descriptores moleculares que se emplean para definir las estructuras químicas. CoMFA emplea los campos potenciales de Lennard-Jones y Coulomb para calcular las energías

estéricas y electrostáticas de interacción (Cramer et al., 1988), mientras que CoMSIA calcula las energías de interacción entre los átomos introduciendo una función gaussiana. Por lo general, ambos métodos producen un elevado número de parámetros numéricos que caracterizan las moléculas y que suelen ser agrupados y luego modelados junto a la variable respuesta empleando PLS.

Durante la modelación, es común la división del conjunto de datos en series más pequeñas que son empleadas para el entrenamiento y para la evaluación de la capacidad predictiva de los modelos QSAR. El diseño estadístico de estos subconjuntos de entrenamiento y de predicción puede ser aleatorio o empleando técnicas multivariantes de reconocimiento de patrones para garantizar la distribución racional del conjunto de datos. En cualquier caso, resulta imprescindible aplicar procedimientos de validación para garantizar que los modelos son capaces de generar predicciones confiables, como se detalla a continuación. Por último, la modelación QSAR suele concluirse con la interpretación mecanicista y que generalmente está basada en el análisis de los descriptores moleculares empleados. La mayor aplicabilidad de un modelo predictivo basado en QSAR será en el cribado virtual de compuestos químicos que no han sido estudiados anteriormente.

2.2.3. Principios de validación definidos por la OECD

El proceso de validación de un modelo QSAR demanda la obtención de pruebas estadísticas que demuestren que el método desarrollado es lo suficientemente fiable y reproducible en la generación de los resultados previstos. El espacio químico en el cual un modelo QSAR es capaz de generar predicciones fiables se conoce como dominio de aplicación (Cherkasov et al., 2014; Tropsha et al., 2003). Con el objetivo de estandarizar el desarrollo de los modelos QSAR, la OECD agrupa el proceso de validación en una serie de principios regulatorios (OECD, 2014), representados en la Figura 5 a continuación.

El primer principio de la regulación que establece la OECD, se refiere a definir adecuadamente las variables a modelar (propiedades fisicoquímicas, efectos biológicos o medioambientales). De esta forma, se pretende asegurar la transparencia en la determinación de los parámetros a modelar, ya que pueden haberse obtenido a través de

diferentes protocolos experimentales, o bajo distintas condiciones. La falta de homogeneidad en los datos puede acarrear consecuencias en el desarrollo de los modelos y errores en las predicciones, de ahí la importancia que tiene definir el punto de medición. En el segundo principio se establece que los algoritmos empleados no sean ambiguos, tanto aquellos que definen los descriptores moleculares como los que se emplean en la construcción de las series y los propios modelos estadísticos de QSAR. El establecimiento del dominio de aplicabilidad es un elemento fundamental, que como tercer principio supone la declaración de un espacio de confiabilidad en el cual los modelos desarrollados son capaces de generar predicciones acertadas con una alta probabilidad. La validación propiamente dicha es el cuarto principio, referido a que todo modelo QSAR debe presentar una adecuada bondad de ajuste, robustez y predictividad, sustentado por criterios estadísticos que demuestren el desempeño del modelo (validación interna), y su capacidad para predecir (validación externa). Por último, aun cuando es recomendable, el quinto principio está sujeto a las particularidades de cada tipo de modelo QSAR. En este paso final de control y retroalimentación se sugiere, cuando sea posible, interpretación mecanicista o teórica, que suele implicar el análisis de los descriptores más significativos empleados en la modelación (Tropsha, 2010).

Es así como el modelado QSAR, como importante método alternativo a la experimentación animal es aprobado, bajo determinadas directrices, por entidades científicas y regulatorias. Su aplicación ha sido propuesta para la identificación de múltiples actividades toxicológicas que incluye a la disrupción endocrina. A continuación, se expone una revisión de los principales modelos QSAR disponibles para tres importantes mecanismos de disrupción endocrina.

La disrupción endocrina a través de métodos QSAR: selección de casos de estudio

El desarrollo de modelos QSAR depende de la información disponible, ya que sus inferencias se basan en la extrapolación de los datos existentes para predecir la actividad de compuestos no testeados. Esta es la razón por la cual el mayor número de estudios QSAR en el contexto de la disrupción endocrina se basa en el mecanismo más abordado, la acción de compuestos químicos como moduladores de los receptores estrogénicos.

En esta revisión se han querido compendiar, debido a su importancia, métodos QSAR recientes de otros mecanismos de interrupción del sistema endocrino. Como se encuentra esquematizado en la Figura 6, los tres ejemplos seleccionados representan las principales rutas

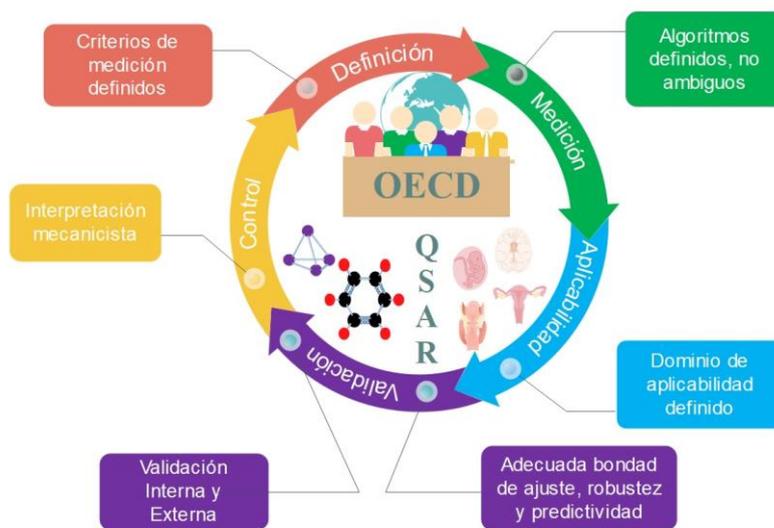


Figura 5: Principios establecidos por la OECD para la validación de los modelos QSAR.

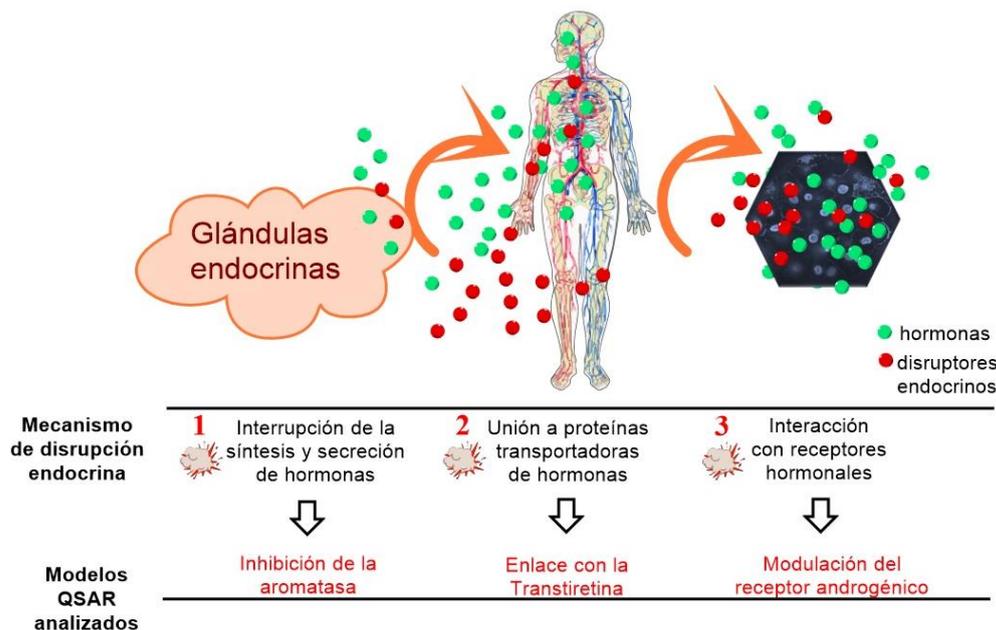


Figura 6: Mecanismos de disrupción endocrina seleccionados para el análisis de los modelos QSAR reportados en la literatura.

potenciales de toxicidad endocrina y en el contexto de hormonas estrogénicas, tiroideas y androgénicas, indistintamente.

En el primer mecanismo objeto de estudio, relacionado con la interrupción de la biosíntesis de estrógenos, se analizan los modelos QSAR desarrollados para predecir la inhibición de la enzima citocromo P450 aromataasa. Compitiendo con las hormonas tiroideas, la unión de compuestos químicos a la proteína transportadora transtiretina, o la interrupción de este mecanismo de transporte hormonal es la segunda ruta potencial de disrupción endocrina abordada. Por último, se analizan los más recientes métodos QSAR enfocados en la modulación, y especialmente el antagonismo sobre el receptor de andrógenos.

3.1 Estudios QSAR basados en los efectos sobre la enzima aromataasa

La interrupción de las rutas biosintéticas de hormonas es un mecanismo potencial de disrupción endocrina. Sin embargo, la información químico-biológica disponible hoy día procede en su mayoría de estudios farmacológicos (Mori et al., 2018). La principal aplicación terapéutica de la inhibición de la enzima P450 aromataasa ha sido en enfermedades neoplásicas asociadas a la producción de estrógenos como es el caso del cáncer de mama (Adhikari et al., 2017b).

Diversos estudios QSAR han pretendido dilucidar la relación entre los rasgos químico-estructurales y los efectos inhibidores de los compuestos sobre la CYP19A1. Los más significativos publicados en la última década se encuentran resumidos en la Tabla 1 a continuación.

De la modelación QSAR reportada entre 2010-2020 en la literatura basada en la inhibición de la enzima aromataasa y representada en los 37 ejemplos de la Tabla 1, destacan los siguientes elementos:

1. Los modelos lineales, particularmente la regresión lineal múltiple o el método de mínimos cuadrados parciales, son las metodologías estadísticas preferidas en el estudio QSAR de la inhibición de la enzima aromataasa, probablemente por su simplicidad e interpretabilidad.
2. Se ha apostado por la alta capacidad predictiva de los métodos de aprendizaje automático como redes neuronales o máquinas de soporte vectorial tanto en problemas de regresión como en problemas de clasificación.
3. Aun cuando la mayoría de los modelos han llevado a cabo la validación interna, muchos no fueron validados con el uso de series externas o con metodologías de 5 o 10-*folds* como es recomendado para garantizar la confiabilidad y capacidad predictiva.
4. En la mayoría de los modelos disponibles, los descriptores moleculares empleados son conocidos y fácilmente interpretables.
5. Metodologías innovadoras en la parametrización de las estructuras han sido propuestas como el análisis multivariante de imágenes empleando la transformada discreta bidimensional de Fourier o descriptores derivados de hipótesis toxicofóricas.
6. Aun cuando la complejidad y el volumen de los datos ha ido en aumento, el uso de bases de datos de congéneres con limitado dominio de aplicabilidad sigue siendo habitual. Especies químicas como flavonoides, cumarinas, benzimidazoles, bis-sulfonamidas, naftoquinonas y arilsulfonamidas han sido modeladas con sus respectivos derivados estructurales cercanos en series que no sobrepasan los 60 compuestos químicos.
7. Hasta el momento, la base de datos más diversa reportada en la inhibición de la enzima aromataasa cuenta con 973 compuestos, e incluye esteroides y estructuras no esteroideas. Modelos de regresión y de clasificación han sido diseñados a partir de esta base de datos y estrictamente validados para la predicción de nuevas entidades con actividad desconocida.

Una de las principales aplicaciones de los modelos computacionales, y

en particular de los estudios QSAR, es el cribado virtual de grandes bases de datos de compuestos con la finalidad de encontrar los llamados “compuestos líderes” de la actividad modelada. Esta utilidad, particularmente ventajosa en el contexto farmacológico, ha sido aprovechada por varios estudios de predicción de los efectos de compuestos químicos sobre la enzima aromataasa.

Dawood *et al.* cribaron 1 720 constituyentes fitoquímicos presentes en 29 plantas medicinales y otros productos naturales usados en la medicina tradicional egipcia. La disrupción endocrina y/o el potencial terapéutico de estos compuestos naturales mediada por la inhibición de la enzima aromataasa, fue predicha de esta forma empleando modelos QSAR (Dawood et al., 2018). En el trabajo de Xie *et al.*, el cribado virtual de la “NCI2000 database” lo desarrollaron con los modelos farmacofóricos previamente y la actividad inhibitoria de los seis compuestos identificados fue predicha a través de los modelos 3D-QSAR diseñados (Xie et al., 2014). Barigye *et al.* cribaron 1 593 compuestos y realizaron la validación experimental *in vitro* de 10 sustancias predichas como inhibidores activos de la aromataasa según el consenso mayoritario de los modelos que propusieron. Esta última constituye la más rigurosa validación del poder predictivo de los modelos QSAR, conocida como validación experimental prospectiva (Barigye et al., 2018).

Finalmente, vale la pena señalar, que no solo la inhibición de la enzima aromataasa ha sido considerada variable respuesta en el estudio de la disrupción endocrina por este mecanismo. La habilidad de actuar como ligandos de la enzima, y que no implica información acerca de sus efectos agonistas/antagonistas ha sido también recomendada en el análisis toxicológico. Como ejemplo representativo, Du H *et al.* modelaron la capacidad de enlace a la aromataasa de 1 552 compuestos diversos obteniendo una elevada robustez y predictividad en los modelos QSAR resultantes (Du et al., 2017). Estas estimaciones son importantes en las fases preliminares de priorización de compuestos, así como en el análisis de los riesgos potenciales. Sin embargo, modelos que logren predecir el efecto consecuente de la interacción con la enzima aportan una información mucho más relevante desde el punto de vista biológico.

3.2 Estudios QSAR basados en los efectos sobre la transtiretina

Varios modelos QSAR han pretendido dilucidar la relación entre xenobióticos, fundamentalmente contaminantes ambientales, y la proteína transtiretina, encargada del transporte de la hormona tiroidea. Los modelos de regresión en su mayoría están basados en porcentajes de inhibición de la unión transtiretina-tiroxina, o valores de IC₅₀ para los compuestos objeto de análisis. Mientras tanto los estudios categóricos suelen basarse en resultados de ensayos de potencia competitiva con la hormona, asignando dos o más clases a estos efectos (ej. activo/inactivo o bajo/moderado/alto) (Kar et al., 2017). En la Tabla 2 se encuentran resumidos los principales modelos QSAR de disrupción del mecanismo de transporte de la hormona tiroxina.

Algunos elementos destacables en la modelación QSAR de la disrupción de la TTR son:

1. La mayor parte de los compuestos cuya evaluación experimental se encuentra disponible para la modelación son sustancias que, por otros mecanismos, han sido sugeridas como potenciales interruptores endocrinos, ej. poli y perfluorocarbonos (PFCs) y los polibromodifenil éteres (PBDEs).
2. Descriptores interpretables han sido empleados en todos los trabajos con la finalidad de dilucidar su relación con la disrupción de la transtiretina.
3. El escaso volumen de información disponible para este mecanismo conlleva a que la regresión lineal, especialmente el método de PLS y la clasificación basada en k-vecinos más cercanos (técnicas además muy interpretables), sean las metodologías estadísticas más comúnmente empleadas.

Tabla 1. Modelos QSAR de compuestos inhibidores de la aromataasa.

n.º	Base de Datos ^a	Descriptoros ^b	Método QSAR	Validación ^c	Ref.
1	116 compuestos diversos	Algunos de los siguientes: Jurs_FNSA_3+0.063, NCOVS, Hbondacceptor- 2, 4.134-AlogP, Jurs_PNSA_3+34.086, AlogP-4.273, Jurs_FNSA_1-0.414, Chiralcenters.	3 modelos GFA (regresión)	$R^2=0.68-0.71$, $Q^2_{int}=0.64-0.69$, $Q^2_{ext}=0.62-0.67$	(Roy and Roy, 2010)
			G/PLS (regresión)	$R^2=0.69$, $Q^2_{int}=0.63$, $Q^2_{ext}=0.63$	
2	57 flavonoides	Parámetros energéticos y electrónicos del enlace ligando-receptor	2 modelos SW-MLR (regresión)	$R^2=0.82-0.87$, $Q^2_{int}=0.63-0.79$, $Q^2_{ext}=0.81-0.83$	(Narayana et al., 2012)
3	280 esteroides	MW, RBN, nCIC, Q _m , nHDon, nHAcc, TPSA, HOMO, LUMO, LogP, Energy, HOMO-LUMO gap, dipole moment	DT (clasificación)	Acc=71.67 % Sn=0.76 Sp=0.67	(Nantasenamat et al., 2013a)
4	690 no-esteroides			Acc=76.79 % Sn=0.58 Sp=0.82	
5	47 triazoles (análogos del letrozol)	-Número de anillos -ALogP -HOMO-LUMO	MLR (regresión)	$R^2=0.81$, $Q^2_{int}=0.76$, $Q^2_{ext}=0.65$	(Nantasenamat et al., 2013b)
6			ANN (regresión)	$R^2=0.82$, $Q^2_{int}=0.76$, $Q^2_{ext}=0.65$	
7			SVM (regresión)	$R^2=0.88$, $Q^2_{int}=0.83$, $Q^2_{ext}=0.66$	
8	12 benzimidazoles	E_ADJ_equ, SC_1, CIC, Jurs_TASA, Shadow_XZ	GFA-PLS (regresión)	$R^2=0.99$, $Q^2_{int}=0.96$	(Dai et al., 2014)
9	44 flavonoides	Algunos o todos los descriptoros siguientes: -RBN -nCIC -nHDon -nHAcc -ALogP -Energy -Dipole moment	MLR (regresión)	n=31 $R^2=0.99$, $Q^2_{int}=0.99$, $Q^2_{ext}=0.99$	(Nantasenamat et al., 2014)
10			ANN (regresión)	n=30 $R^2=0.99$, $Q^2_{int}=0.98$, $Q^2_{ext}=0.99$	
11			SVM (regresión)	n=33 $R^2=0.99$, $Q^2_{int}=0.98$, $Q^2_{ext}=0.98$	
12			DT (clasificación)	n=26 Acc=84.62% Sn=0.85	
13	973 compuestos diversos	Descriptoros basados en SMILES	Método Monte Carlo (regresión)	$R^2=0.63-0.71$ $Q^2_{int}=0.62-0.70$ $Q^2_{ext}=0.61-0.66$	(Worachartcheewan et al., 2014a)
14	34 cumarinas disustituídas	F10[N-O], MAXDP BELe1, Inflammat- 50, B10[C-O], H-047, Psychotic-80.	MLR (regresión)	$R^2=0.96$ $Q^2_{int}=0.92$ $Q^2_{ext}=0.73$	(Worachartcheewan et al., 2014b)
15	66 esteroides	descriptoros CoMFA	PLS c=10 (regresión)	$R^2=0.99$ $Q^2_{int}=0.66$ $Q^2_{ext}=0.64$	(Xie et al., 2014)
16		descriptoros CoMSIA	PLS c=17 (regresión)	$R^2=0.99$ $Q^2_{int}=0.60$ $Q^2_{ext}=0.84$	
17	45 flavonoides	Descriptoros CoMFA	PLS c=6 (regresión)	$R^2=0.92$, $Q^2_{int}=0.83$, $Q^2_{ext}=0.71$	(Awasthi et al., 2015)
18	180 esteroides	C-025, ESpm13r, ESpm14u, ESpm10r, ESpm12x, ESpm15d, Spm10x, H-050, nBM, MATS6p, MATS6e, GATS6m, GATS6p, piPC07, GGI1	Efficient linear method (ELM) (clasificación)	Acc=80.83 ± 0.71% Sn=0.88±0.02 Sp=0.75±0.03 MCC=0.63±0.01	(Shoombuatong et al., 2015)
19	474 diversos (no esteroides)			Acc=80.76 ± 0.33 Sn=0.83±0.01 Sp=0.73±0.01 MCC=0.54±0.01	
20	84 diversos (no esteroides)	CoMFA (modelo farmacofórico)	PLS c=7 (regresión)	$R^2=0.99$ $Q^2_{int}=0.74$ $Q^2_{ext}=0.63$	(Xie et al., 2015)
21		CoMSIA (modelo farmacofórico)	PLS c=6 (regresión)	$R^2=0.93$ $Q^2_{int}=0.71$ $Q^2_{ext}=0.67$	
22	76 compuestos: -diarilalquilimidazoles -diarilalquiltriazoles	nTB, BEHv2, ATS3m, ATS7m, nCp, G(N...N), Hyd.E, G(O...O), SRW07	MLR (regresión)	$R^2=0.83$ $R^2_{pred}=0.70$ $Q^2_{ext}=0.91$	(Ghodsi and Hemmateenejad, 2016)
23	67 no esteroides (análogos del letrozol)	SaaN, JGI7, MATS8c, CLogP, CMR	SW-MLR (regresión)	$R^2=0.90$ $Q^2_{int}=0.86$ $Q^2_{ext}=0.85$	(Adhikari et al., 2017a)
24		"fingerprints" moleculares (hologramas)	PLS c=6 (regresión)	$R^2=0.87$ $Q^2_{int}=0.76$ $Q^2_{ext}=0.61$	
25		Fragmentos Subestructurales	Model bayesiano (clasificación)	Acc=88.0% Sen=0.89 Spe=0.88	
26		descriptoros CoMFA	PLS c=7 (regresión)	$R^2=0.94$ $Q^2_{int}=0.54$ $Q^2_{ext}=0.62$	
27	11 compuestos (1,4-naftoquinonas)	Mor04m, H8m, Mor08e, G1v, SIC2	MLR	$R^2=1.00$ $Q^2_{int}=0.98$	(Prachayasittikul et al., 2017)

28	973 compuestos diversos	Descriptores basados en el análisis multivariado de imágenes (MIA) empleando la transformada discreta bidimensional de Fourier (2D-DFT)	ANN (clasificación)	Acc=88.74% Sn=0.86 Sp=0.91	(Barigye et al., 2018)
29			LDA (clasificación)	Acc=84.23% Sn=0.72 Sp=0.95	
30			SVM (clasificación)	Acc=85.14% Sn=0.76 Sp=0.93	
31			BT (clasificación)	Acc=84.68% Sn=0.81 Sp=0.88	
32			kNN (clasificación)	Acc=85.59% Sn=0.82 Sp=0.88	
33	16 esteroides	Descriptores derivados de hipótesis farmacofóricas (PHASE)	PLS c=3 (regresión)	R ² =1.00 Q ² _{int} =0.49 Q ² _{ext} =0.21	(Dawood et al., 2018)
34	25 no esteroides		PLS c=5 (regresión)	R ² =1.00 Q ² _{int} =0.34 Q ² _{ext} =0.09	
35	17 bis-sulfonamidas	GATS6v, Mor03m	MLR (regresión)	R ² =0.80 Q ² _{int} =0.68	(Leechaisit et al., 2019)
36	30 arilsulfonamidas	aLogP, HBA, HBD, RB, HAC, RC, PSA, E-state, MR, Polar	MLR (regresión)	R ² =0.83 Q ² _{int} =0.76	(Fantacuzzi et al., 2020)

^a Número de compuestos usados en la modelación (incluyendo series de entrenamiento y de validación)

^b Descriptores que se incluyeron en los modelos finales. Para más detalles, se recomienda consultar las referencias de cada modelo o el *Handbook* (Todeschini and Consonni, 2000)

^c En modelos de regresión: el coeficiente de correlación (R²), el coeficiente de validación interna (generalmente resultantes de la validación cruzada) (Q²_{int}) y el de validación externa (Q²_{ext}). En modelos de clasificación, solamente se muestran los resultados de la validación con la serie de predicción a través de la exactitud (Acc), sensibilidad (Sn), especificidad (Sp) y el coeficiente de correlación de Matthews (MCC).

Tabla 2. Modelos QSAR de compuestos moduladores de la transtiretina.

n.º	Base de Datos ^a	Descriptores ^b	Método QSAR	Validación ^c	Ref.
1	24 poli y perfluorocarbonos (PFCs)	Diversos: -propiedades moleculares -índices topológicos y de carga -tiempos de retención (HPLC)	PLS c=2	R ² =0.61 Q ² _{int} =0.41	(Weiss et al., 2009)
2	17 Polibromodifenil éteres (PBDEs)	Qpmax, MATS6v	MLR	R ² =0.96 Q ² _{int} =0.93 Q ² _{ext} =0.90	(Papa et al., 2010)
3	29 PBDEs	DISPe, nArOH	k-NN k=3	n=20 Acc _{class1} = 87.5% Acc _{class2} = 100% Acc _{class3} = 100% Sn=1.00 Sp=0.87	(Kovarich et al., 2011)
			k-NN k=3	n=29 Acc _{class1} = 83.3% Acc _{class2} = 88.9% Acc _{class3} = 100% Sn=0.94 Sp=0.83	
4	28 PBDEs	Descriptores CoMSIA	PLS c=4	R ² =0.98, Q ² _{int} =0.75, Q ² _{ext} =0.93	(Yang et al., 2011)
5	19 PFCs	AMW, HATS6m	k-NN k=1	Acc=100% Sn= Sp=1.00	(Kovarich et al., 2012)
		nH, HATS6m		Acc=100% Sn= Sp=1.00	
		nH, F06[C-O]		Acc=90% Sn=1.00, Sp=0.75	
		T(F..F), HATS6m		Acc=100% Sn= Sp=1.00	
6	53 halogenados (PFCs & PBDEs)	nArOH, (F03[Br-Br]), HATS6m	k-NN k=5	n=53 Acc=89% Sn=1.00, Sp=0.86	(Papa et al., 2013)
7		R5u, F07[C-O], nArOH	MLR	n=32 R ² =0.89, Q ² _{int} =0.81	
8	47 compuestos -36 fenólicos -11 no ionizables	Diversos: Ej: log D, MW, nX, E _{HOMO} , E _{LUMO} , qH ⁺ , qC ⁻ , qO ⁻	PLS c=2	R ² =0.86, Q ² _{int} =0.84, Q ² _{ext} =0.93	(Yang et al., 2013)
9	178 compuestos diversos	14 descriptores 2D -Propiedades fisicoquímicas ej. hidrofobicidad, carga parcial. -conteo de fragmentos: ej. hidroxilos, átomos de halógeno	PLS c=5	Acc=79% Sn=0.94 Sp=0.69	(Zhang et al., 2015)
10			kNN k=4	Acc=82% Sn=0.78 Sp=0.85	
11			SVM	Acc=77% Sn=0.90 Sp=0.73	
12	15 PFCs	IC3, Σ β' _s	GFA-MLR	R ² =0.86, Q ² _{int} =0.64, Q ² _{ext} =0.73	(Kar et al., 2017)

13	24 PFCs	Me, nCsp2, H-050	LDA	Acc=100% Sn=1.00 Sp=1.00 MCC=0.87	(Kar et al., 2017)
14	29 compuestos -24 PFCs -6 ácidos grasos	HATS6m, qO ⁻ , δA ⁻	PLS	R ² =0.93, Q ² _{int} =0.67, Q ² _{ext} =0.65	(Yang et al., 2017)

^a Número de compuestos usados en la modelación (incluyendo series de entrenamiento y de validación)

^b Descriptores que se incluyeron en los modelos finales. Para más detalles, se recomienda consultar las referencias de cada modelo o el *Handbook* (Todeschini and Consonni, 2000)

^c En modelos de regresión: el coeficiente de correlación (R²), el coeficiente de validación interna (generalmente resultantes de la validación cruzada) (Q²_{int}) y el de validación externa (Q²_{ext}). En modelos de clasificación, solamente se muestran los resultados de la validación con la serie de predicción a través de la exactitud (Acc), sensibilidad (Sn) y especificidad (Sp).

El estudio de clasificación de Zhang *et al.* es posiblemente el más completo hasta el momento para este mecanismo debido al número de estructuras y los diversos métodos aplicados. Los autores desarrollaron además un cribado virtual y seleccionaron un grupo de 23 compuestos para llevar a cabo una validación experimental *in vitro* de los efectos que denominaron “alteradores de la hormona tiroidea” (mediados por la TTR). En el cribado se analizaron 485 contaminantes orgánicos presentes en el polvo que fueron extraídos de la literatura y 433 potenciales metabolitos -determinados *in silico*- de los mismos. Cuatro nuevos compuestos químicos interruptores fueron identificados combinando las metodologías *in silico/in vitro*. En este trabajo se sugirió además la importancia de la activación metabólica para el enlace a la transtiretina (Zhang et al., 2015).

Por otro lado, los estudios de Yang *et al.* han dilucidado la importancia de las formas químicas y la ionización de éstas en las interacciones con TTR. El primer trabajo estuvo enfocado en compuestos fenólicos mientras que el siguiente abordó diversos PCFs. En ambos estudios se concluyó que las diferencias entre formas neutras y aniónicas de los compuestos influyen en la capacidad de enlace con la proteína transportadora TTR (Yang et al., 2017, 2013).

3.3 Estudios QSAR basados en los efectos sobre el receptor de andrógenos

Los andrógenos, entre otras muchas funciones, participan en el desarrollo y el mantenimiento de la próstata. La expresión del receptor androgénico es por tanto una importante diana terapéutica en patologías y malignidades prostáticas, en las cuales se han enfocado diversos estudios de descubrimiento de fármacos. Además, dada su notable importancia fisiológica, la inhibición del AR deriva en reacciones adversas que conllevan a su inclusión como un potencial mecanismo de disrupción endocrina. Sin embargo, la información actual disponible ha derivado en su mayoría de estudios farmacológicos enfocados en el tratamiento del cáncer de próstata a través del efecto anti androgénico de compuestos químicos (Heinlein and Chang, 2004). Los más recientes estudios QSAR enfocados en la inhibición del receptor de estrógenos se encuentran resumidos en la Tabla 3.

La predicción del antagonismo sobre el receptor androgénico ha sido estimada empleando métodos computacionales para grandes bases de datos de compuestos cuya información biológica deriva de ensayos *in vitro* principalmente (Vinggaard et al., 2008). En la última década el estudio de Li *et al.* destaca debido al amplio espacio químico modelado que lo sitúa como una importante herramienta predictiva del antagonismo sobre el receptor androgénico tanto en el panorama farmacológico como toxicológico. Los autores de este trabajo fusionaron varias estrategias de cribado virtual y demostraron la efectividad de esta combinación en comparación con metodologías clásicas (H. Li et al., 2013).

Otros trabajos recientes han aportado modelos de predicción que, aun con un menor número de compuestos, permiten la estimación del efecto inhibitorio en % relativos o en IC₅₀. Son especialmente importantes desde la perspectiva de la disrupción endocrina, la predicción de derivados de contaminantes (ej. PCBs, PBDEs) o de compuestos presentes en altas dosis en la dieta humana como los flavonoides.

Una combinación de las diferentes interacciones ligando-receptor a

través de metodologías de dinámica molecular fue propuesta por Wu Y *et al.* en la clasificación de compuestos activos/inactivos sobre el receptor androgénico. La combinación de estas simulaciones con estudios QSAR resultó en una significativa mejora de la capacidad predictiva de los modelos respecto a metodologías QSAR convencionales (Wu et al., 2016). Sin embargo, este estudio fue desarrollado exclusivamente con flavonoides, por tanto, se necesitan pruebas adicionales para asumir generalizaciones o corroborar la aplicabilidad que tiene esta propuesta en un espacio químico más amplio.

A propósito de esta necesidad, en un trabajo de Trisciuzzi *et al.* se sugiere un innovador y práctico protocolo para el desarrollo de modelos *in silico* altamente predictivos como clasificadores de la actividad androgénica. Estos autores emplearon el acoplamiento molecular (conocido como *docking*), que consiste en la predicción de la energía y de los modos de enlace entre ligandos y proteínas. La exigente validación externa de los modelos y la aplicación de éstos en el cribado de más de 55 mil compuestos químicos relevantes (debido al grado de exposición humana a los mismos), corroboró su capacidad predictiva. Además, la integración de diferentes métodos computacionales se definió como una importante pauta para la interpretación mecanicista de los resultados (Trisciuzzi et al., 2017).

Por otro lado, desde hace varias décadas, diferentes métodos QSAR han sido empleados en la predicción de la capacidad de enlace al AR, la cual resulta útil fundamentalmente en análisis preliminares de riesgo (Loughney and Schwender, 1992; Waller et al., 1996).

Conclusiones

Miles de productos químicos y mezclas que hoy día se emplean en alimentos, suplementos nutricionales, fármacos, cosméticos, envases, productos agrícolas, etc. representan un riesgo potencial como interruptores endocrinos. La evaluación del riesgo de disrupción endocrina es altamente compleja, y las tentativas de aunar esfuerzos para el análisis y la legislación de estos tóxicos son aún insuficientes. Además, la información experimental disponible es limitada y en algunos casos contradictoria, incrementando las dificultades en el establecimiento de pautas apropiadas.

Considerando el número significativo de compuestos químicos con potencial efecto tóxico sobre el sistema endocrino, resulta necesario y ventajoso el uso de métodos alternativos que garanticen el análisis rápido, certero y menos costoso de sustancias. Los modelos computacionales no sólo permiten a los investigadores reducir el número de experiencias en el laboratorio, sino que además asisten y extraen la información relevante de los resultados experimentales.

El empleo de metodologías predictivas, particularmente modelos quimiinformáticos es recomendado en todas las normativas vigentes para el control toxicológico de compuestos químicos. Desde hace algunos años, diversos estudios QSAR han sido descritos en la predicción de la disrupción endocrina.

Los modelos QSAR empleados en la predicción de la actividad inhibitoria sobre la enzima aromatasas han sido revisados (Adhikari et al., 2017c; Shoombuatong et al., 2018). De igual forma, varias revisiones han considerado de forma general los mecanismos de disrupción endocrina y la importancia de las metodologías QSAR para

Tabla 3. Modelos QSAR de compuestos antagonistas del receptor androgénico.

n.º	Base de Datos ^a	Descriptores ^b	Método QSAR	Validación ^c	Ref.
1	1220 compuestos diversos	De 5 a 30 descriptores diversos INDUCTIVE MOE & DRAGON	DT	Acc=77.60% Sn=0.74 Sp=0.71	(H. Li et al., 2013)
2			ANN	Acc=80.90% Sn=1.00 Sp=0.79	
3			agregación de Bootstrap (bagging)	Acc=80.90% Sn=0.92 Sp=0.71	
4			kNN	Acc=70.80% Sn=0.81 Sp=0.71	
5	23 PCBs	Descriptores CoMSIA	PLS c=6	R ² =0.95, Q ² _{int} =0.67	(X. Li et al., 2013)
6	60 compuestos diversos	análisis de campo molecular (MFA) CH3/334, H+/467, CH3/543, H+/600, CH3/193, CH3/187, CH3/606	PLS c=8	R ² =0.84, Q ² _{int} =0.79	(Suresh, 2013)
7		análisis de superficie del receptor (RSA) TOT/1380, TOT/1104, TOT/2615, TOT/1618, TOT/1974, TOT/2150, TOT/2344		R ² =0.91, Q ² _{int} =0.86	
8		descriptors 2D CH3/77, CH3/156, CH3/127, CH3/141, H+/171		R ² =0.86, Q ² _{int} =0.74	
9	53 flavonoides	Descriptores CoMSIA	PLS c=3	R ² =0.95 Q ² _{int} =0.60	(Wu et al., 2016)
10	20 bisphenols	nROH, V _{s,max} , ELUMO	MLR	R ² =0.92 Q ² _{int} =0.82 Q ² _{ext} =0.85	(Yang et al., 2016)
11	36 derivados 7α sustituidos de DHT	IC5, GATS5e, DISPp, HATS3u	GA-MLR	R ² =0.76 Q ² _{int} =0.66	(Wang et al., 2017)
11	21 PBDEs	Descriptores CoMFA	PLS c=1	R ² =0.69 Q ² _{int} =0.38	(Wu et al., 2017)
12		Descriptores CoMSIA	PLS c=1	R ² =0.61 Q ² _{int} =0.23	

^a Número de compuestos usados en la modelación (incluyendo series de entrenamiento y de validación)

^b Descriptores que se incluyeron en los modelos finales. Para más detalles, se recomienda consultar las referencias de cada modelo o el *Handbook* (Todeschini and Consonni, 2000)

^c En modelos de regresión: el coeficiente de correlación (R²), el coeficiente de validación interna (generalmente resultantes de la validación cruzada) (Q²_{int}) y el de validación externa (Q²_{ext}). En modelos de clasificación, solamente se muestran los resultados de la validación con la serie de predicción a través de la exactitud (Acc), sensibilidad (Sn) y especificidad (Sp).

el análisis de riesgo y la predicción de la toxicidad (Vuorinen et al., 2015). Además, la disrupción del receptor de estrógenos, a través de múltiples variables respuesta y bioensayos, se ha modelado en diversas ocasiones (Porta et al., 2016) y sus resultados, junto a otros receptores nucleares y diversas técnicas computacionales se han revisado también (Ruiz et al., 2017). Sin embargo, esta es la primera vez, que, a nuestro conocimiento, se revisan los modelos QSAR disponibles en el estudio de la disrupción de la TTR. También es el primer compendio que analiza, en forma de casos de estudio, exclusivamente la modelación QSAR de la disrupción endocrina mediada por los tres mecanismos de: inhibición de la aromatasa, modulación de la transtiretina y del receptor androgénico.

Muchos de los modelos disponibles para estos tres mecanismos se encuentran rigurosamente validados y sus predicciones pueden contribuir en gran medida al estudio de la disrupción endocrina. Especialmente importante es el uso de las herramientas QSAR en la selección de los compuestos a probar de forma experimental. Además, las predicciones combinadas de estos mecanismos y otros como los estrogénicos pueden proveer de una visión general que garantice la prohibición de sustancias altamente preocupantes.

Agradecimientos

La presente revisión bibliográfica fue realizada como contribución al proyecto PROTECTED (<http://protected.eu.com/>), financiado por el programa de investigación e innovación H2020 Marie Skłodowska-Curie de la Unión Europea No. 722634.

Bibliografía

- Adhikari, N., Amin, S.A., Jha, T., Gayen, S., 2017a. Integrating regression and classification-based QSARs with molecular docking analyses to explore the structure-antiaromatase activity relationships of letrozole-based analogs. *Can. J. Chem.* 95, 1285–1295. <https://doi.org/10.1139/cjc-2017-0419>
- Adhikari, N., Amin, S.A., Saha, A., Jha, T., 2017b. Combating breast cancer with non-steroidal aromatase inhibitors (NSAIs): Understanding the chemico-biological interactions through comparative SAR/QSAR study. *Eur. J. Med. Chem.* 137, 365–438. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.041>
- Adhikari, N., Amin, S.A., Saha, A., Jha, T., 2017c. Combating breast cancer with non-steroidal aromatase inhibitors (NSAIs): Understanding the chemico-biological interactions through comparative SAR/QSAR study. *Eur. J. Med. Chem.* 137, 365–438. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.041>
- Awasthi, M., Singh, S., Pandey, V.P., Dwivedi, U.N., 2015. Molecular docking and 3D-QSAR-based virtual screening of flavonoids as potential aromatase inhibitors against estrogen-dependent breast cancer. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 33, 804–819. <https://doi.org/10.1080/07391102.2014.912152>
- Balaguer, P., Delfosse, V., Bourguet, W., 2019. Mechanisms of endocrine disruption through nuclear receptors and related pathways. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.* 7, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2019.04.008>
- Barigye, S.J., Freitas, M.P., Ausina, P., Zancan, P., Sola-Penna, M., Castillo-Garit, J.A., 2018. Discrete Fourier Transform-Based Multivariate Image Analysis: Application to Modeling of Aromatase Inhibitory Activity. *ACS Comb. Sci.* 20, 75–81. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.7b00155>
- Bern, H., Blair, P., Brasseur, S., Colborn, T., Cunha, G., Davis, W., Al, E., 1991. Statement from the Work Session on Chemically Induced Alterations in Sexual Development: the Wildlife/human

- Connectiontitle, in: The Wingspread Conference. Racine, Wisconsin.
8. Brown, A.C., Fraser, T.R., 1868. On the Connection between Chemical Constitution and Physiological Action; with special reference to the Physiological Action of the Salts of the Ammonium Bases derived from Strychnia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia, and Nicotia. *J. Anat. Physiol.* 2, 224–242.
 9. Cheek, A.O., Kow, K., Chen, J., McLachlan, J.A., 1999. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: Interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ. Health Perspect.* 107, 273–278. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107273>
 10. Cherkasov, A., Muratov, E.N., Fourches, D., Varnek, A., Baskin, I.I., Cronin, M., Dearden, J., Gramatica, P., Martin, Y.C., Todeschini, R., Consonni, V., Kuz'Min, V.E., Cramer, R., Benigni, R., Yang, C., Rathman, J., Terfloth, L., Gasteiger, J., Richard, A., Tropsha, A., 2014. QSAR modeling: Where have you been? Where are you going to? *J. Med. Chem.* 57, 4977–5010. <https://doi.org/10.1021/jm4004285>
 11. Cramer, R.D., David E, P., Bunce, J.D., 1988. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 110, 5959–5967. <https://doi.org/10.1021/ja00226a005>
 12. Dai, Y., Xiao, Q., Wang, S., Wei, X., Zhang, Z., Ma, H., Zheng, M., Hou, M., Zhang, T., 2014. Syntheses and QSAR Studies of Benzylimidazole Derivatives and Benzylcarbazole as Potential Aromatase Inhibitors. *Asian J. Chem.* 26, 70–73. <https://doi.org/10.1093/jae/ejp002>
 13. Dawood, H.M., Ibrahim, R.S., Shawky, E., Hammada, H.M., Metwally, A.M., 2018. Integrated in silico-in vitro strategy for screening of some traditional Egyptian plants for human aromatase inhibitors. *J. Ethnopharmacol.* 224, 359–372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.009>
 14. de Ávila, R.I., Lindstedt, M., Valadares, M.C., 2019. The 21st Century movement within the area of skin sensitization assessment: From the animal context towards current human-relevant in vitro solutions. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 108, 104445. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.104445>
 15. Delgado, L.F., Charles, P., Glucina, K., Morlay, C., 2012. QSAR-like models: A potential tool for the selection of PhACs and EDCs for monitoring purposes in drinking water treatment systems - A review. *Water Res.* 46, 6196–6209. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.08.016>
 16. Du, H., Cai, Y., Yang, H., Zhang, H., Xue, Y., Liu, G., Tang, Y., Li, W., 2017. In Silico Prediction of Chemicals Binding to Aromatase with Machine Learning Methods. *Chem. Res. Toxicol.* 30, 1209–1218. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.7b00037>
 17. Dudek, A., Arodz, T., Galvez, J., 2006. Computational Methods in Developing Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR): A Review. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 9, 213–228. <https://doi.org/10.2174/138620706776055539>
 18. Fantacuzzi, M., De Filippis, B., Gallorini, M., Ammazalorso, A., Giampietro, L., Maccallini, C., Aturki, Z., Donati, E., Ibrahim, R.S., Shawky, E., Cataldi, A., Amoroso, R., 2020. Synthesis, biological evaluation, and docking study of indole aryl sulfonamides as aromatase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 185, 111815. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111815>
 19. Gassner, F.X., Reifenstein, E.C.J., Algeo, J.W., Mattox, W.E., 1958. Effects of hormones on growth, fattening, and meat production potential of livestock. *Recent Prog. Horm. Res.* 14, 183–187.
 20. Ghodsi, R., Hemmateenejad, B., 2016. QSAR study of diarylalkylimidazole and diarylalkyltriazole aromatase inhibitors. *Med. Chem. Res.* 25, 834–842. <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1530-1>
 21. Gozalbes, R., de Julián-Ortiz, J.V., Fito-López, C., 2015. Métodos computacionales en toxicología predictiva: Aplicación a la reducción de ensayos con animales en el contexto de la legislación comunitaria REACH. *Rev. Toxicol.* 31, 157–167.
 22. Heinlein, C.A., Chang, C., 2004. Androgen Receptor in Prostate Cancer. *Endocr. Rev.* 25, 276–308. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0032>
 23. Hong, H., Branham, W.S., Ng, H.W., Moland, C.L., Dial, S.L., Fang, H., Perkins, R., Sheehan, D., Tong, W., 2015. Human sex hormone-binding globulin binding affinities of 125 structurally diverse chemicals and comparison with their binding to androgen receptor, estrogen receptor, and α -Fetoprotein. *Toxicol. Sci.* 143, 333–348. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu231>
 24. Kar, S., Sepúlveda, M.S., Roy, K., Leszczynski, J., 2017. Endocrine-disrupting activity of per- and polyfluoroalkyl substances: Exploring combined approaches of ligand and structure based modeling. *Chemosphere* 184, 514–523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.024>
 25. Karjalainen, T., Hoeveler, A., Draghia-Akli, R., 2017. European Union research in support of environment and health: Building scientific evidence base for policy. *Environ. Int.* 103, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.03.014>
 26. Kovarich, S., Papa, E., Gramatica, P., 2011. QSAR classification models for the prediction of endocrine disrupting activity of brominated flame retardants. *J. Hazard. Mater.* 190, 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.03.008>
 27. Kovarich, S., Papa, E., Li, J., Gramatica, P., 2012. QSAR classification models for the screening of the endocrine-disrupting activity of perfluorinated compounds. *SAR QSAR Environ. Res.* 23, 207–220. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2012.657235>
 28. Leblebicioglu, B., Connors, J., Mariotti, A., 2013. Principles of endocrinology. *Periodontol.* 2000 61, 54–68. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00440.x>
 29. Leechaisit, R., Pingaew, R., Prachayasittikul, Veda, Worachartcheewan, A., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., Prachayasittikul, Virapong, 2019. Synthesis, molecular docking, and QSAR study of bis-sulfonamide derivatives as potential aromatase inhibitors. *Bioorganic Med. Chem.* 27, 115040. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.08.001>
 30. Li, H., Ren, X., Leblanc, E., Frewin, K., Rennie, P.S., Cherkasov, A., 2013. Identification of novel androgen receptor antagonists using structure- and ligand-based methods. *J. Chem. Inf. Model.* 53, 123–130. <https://doi.org/10.1021/ci300514v>
 31. Li, X., Ye, L., Wang, X., Shi, W., Liu, H., Qian, X., Zhu, Y., Yu, H., 2013. In silico investigations of anti-androgen activity of polychlorinated biphenyls. *Chemosphere* 92, 795–802. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.022>
 32. Lin, Xiaoqian, Li, X., Lin, Xubo, 2020. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules* 25, 1–18. <https://doi.org/10.3390/molecules25061375>
 33. Little, A.G., 2016. A review of the peripheral levels of regulation by thyroid hormone. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 186, 677–688. <https://doi.org/10.1007/s00360-016-0984-2>
 34. Loughney, D.A., Schwender, C.F., 1992. A comparison of progesterin and androgen receptor binding using the CoMFA technique. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* 6, 569–581. <https://doi.org/10.1007/BF00126215>

35. *McEwan, I.J.*, 2016. The Nuclear Receptor Superfamily at Thirty, in: *The Nuclear Receptor Superfamily*. Springer Science+Business Media, New York, pp. 3–13. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-575-0>
36. *Miller WL*, 1988. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr. Rev.* 9, 295–318.
37. *Mori, T., Ito, F., Koshiba, A., Kataoka, H., Tanaka, Y., Okimura, H., Khan, K.N., Kitawaki, J.*, 2018. Aromatase as a target for treating endometriosis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 44, 1673–1681. <https://doi.org/10.1111/jog.13743>
38. *Nantasenamat, C., Li, H., Mandi, P., Worachartcheewan, A., Monnor, T., Isarankura-Na-Ayudhya, C., Prachayasittikul, V.*, 2013a. Exploring the chemical space of aromatase inhibitors. *Mol. Divers.* 17, 661–677. <https://doi.org/10.1007/s11030-013-9462-x>
39. *Nantasenamat, C., Worachartcheewan, A., Mandi, P., Monnor, T., Isarankura-Na-Ayudhya, C., Prachayasittikul, V.*, 2014. QSAR modeling of aromatase inhibition by flavonoids using machine learning approaches. *Chem. Pap.* 68, 697–713. <https://doi.org/10.2478/s11696-013-0498-2>
40. *Nantasenamat, C., Worachartcheewan, A., Prachayasittikul, S., Isarankura-Na-Ayudhya, C., Prachayasittikul, V.*, 2013b. QSAR modeling of aromatase inhibitory activity of 1-substituted 1,2,3-triazole analogs of letrozole. *Eur. J. Med. Chem.* 69, 99–114. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.08.015>
41. *Narayana, B.L., Pran Kishore, D., Balakumar, C., Rao, K.V., Kaur, R., Rao, A.R., Murthy, J.N., Ravikumari, M.*, 2012. Molecular Modeling Evaluation of Non-Steroidal Aromatase Inhibitors. *Chem. Biol. Drug Des.* 79, 674–682. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2011.01277.x>
42. OECD, 2014. Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationship [(Q)SAR] Models, OECD Series on Testing and Assessment. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264085442-en>
43. *Papa, E., Kovarich, S., Gramatica, P.*, 2013. QSAR prediction of the competitive interaction of emerging halogenated pollutants with human transthyretin. *SAR QSAR Environ. Res.* 24, 333–349. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2013.773374>
44. *Papa, E., Kovarich, S., Gramatica, P.*, 2010. QSAR Modeling and Prediction of the Endocrine-Disrupting Potencies of Brominated Flame Retardants. *Chem. Res. Toxicol.* 23, 946–954. <https://doi.org/10.1021/tx1000392>
45. *Porta, N., Roncaglioni, A., Marzo, M., Benfenati, E.*, 2016. QSAR Methods to Screen Endocrine Disruptors. *Nucl. Recept. Res.* 3. <https://doi.org/10.11131/2016/101203>
46. *Prachayasittikul, V., Pingaew, R., Worachartcheewan, A., Sitthimonchai, S., Nantasenamat, C., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., Prachayasittikul, V.*, 2017. Aromatase inhibitory activity of 1,4-naphthoquinone derivatives and QSAR study. *EXCLI J.* 16, 714–726. <https://doi.org/10.17179/excli2017-309>
47. *Rogers, D.*, 1999. Genetic Function Approximation: Evolutionary Construction of Novel, Interpretable, Nonlinear Models of Experimental Data, in: *Truhlar, D.G., Howe, W.J., Hopfinger, A.J., Blaney, J., Dammkoehler, R.A.* (Eds.), *Rational Drug Design*. Springer New York, New York, NY, pp. 163–189. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1480-9_13
48. *Roy, P.P., Roy, K.*, 2010. Docking and 3D-QSAR studies of diverse classes of human aromatase (CYP19) inhibitors. *J. Mol. Model.* 16, 1597–1616. <https://doi.org/10.1007/s00894-010-0667-y>
49. *Ruiz, P., Sack, A., Wampole, M., Bobst, S., Vracko, M.*, 2017. Integration of in silico methods and computational systems biology to explore endocrine-disrupting chemical binding with nuclear hormone receptors. *Chemosphere* 178, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.026>
50. *Sahoo, S., Adhikari, C., Kuanar, M., Mishra, B.K.*, 2016. A Short Review of the Generation of Molecular Descriptors and Their Applications in Quantitative Structure Property/Activity Relationships. *Curr. Comput. Aided. Drug Des.* 12, 181–205. <https://doi.org/10.2174/1573409912666160525112114>
51. *Schug, T.T., Johnson, A.F., Birnbaum, L.S., Colborn, T., Guillette, L.J., Crews, D.P., Collins, T., Soto, A.M., Vom Saal, F.S., McLachlan, J.A., Sonnenschein, C., Heindel, J.J.*, 2016. Minireview: Endocrine disruptors: Past lessons and future directions. *Mol. Endocrinol.* 30, 833–847. <https://doi.org/10.1210/me.2016-1096>
52. *Shoombuatong, W., Prachayasittikul, V., Prachayasittikul, V., Nantasenamat, C.*, 2015. Prediction of aromatase inhibitory activity using the efficient linear method (ELM). *EXCLI J.* 14, 452–464. <https://doi.org/10.17179/excli2015-140>
53. *Shoombuatong, W., Schaduengrat, N., Nantasenamat, C.*, 2018. Towards understanding aromatase inhibitory activity via QSAR modeling. *EXCLI J.* 17, 688–708. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1417>
54. *Soto, A.M., Rubin, B.S., Sonnenschein, C.*, 2009. Interpreting endocrine disruption from an integrative biology perspective. *Mol. Cell. Endocrinol.* 304, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.02.020>
55. *Suresh, N.*, 2013. Human Androgen Receptor Inhibitors: Computational 3D QSAR Studies to Design Lead Compounds for Treatment of Prostate Cancer. *Turkish J. Biochem.* 38, 262–279. <https://doi.org/10.5505/tjb.2013.38258>
56. *Tata, J.R.*, 2017. How Hormones, as Ancient Signalling Molecules, Regulate Diverse Biological Processes Through Evolution BT - Hormones in Ageing and Longevity, in: *Rattan, S., Sharma, R.* (Eds.), *Springer International Publishing, Cham*, pp. 3–20. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63001-4_1
57. *Thomas Zoeller, R., Brown, T.R., Doan, L.L., Gore, A.C., Skakkebaek, N.E., Soto, A.M., Woodruff, T.J., Vom Saal, F.S.*, 2012. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: A statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology* 153, 4097–4110. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1422>
58. *Todeschini, R., Consonni, V.*, 2009. *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*. WILEY-VCH.
59. *Todeschini, R., Consonni, V.*, 2000. *Handbook of Molecular Descriptors*, 1st ed. WILEY-VCH, Weinheim. <https://doi.org/10.1002/9783527613106>
60. *Tourneix, F., Alépée, N., Detroyer, A., Eilstein, J., Ez-Zoubir, M., Teissier, S.M., Noçairi, H., Piroird, C., Basketter, D., Del Bufalo, A.*, 2020. Skin sensitisation testing in practice: Applying a stacking meta model to cosmetic ingredients. *Toxicol. Vitro.* 66, 104831. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104831>
61. *Trisciuzzi, D., Alberga, D., Mansouri, K., Judson, R., Novellino, E., Mangiardi, G.F., Nicolotti, O.*, 2017. Predictive Structure-Based Toxicology Approaches to Assess the Androgenic Potential of Chemicals. *J. Chem. Inf. Model.* 57, 2874–2884. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00420>
62. *Tropsha, A.*, 2010. Best Practices for QSAR Model Development, Validation, and Exploitation. *Mol. Inform.* 29, 476–488. <https://doi.org/10.1002/minf.201000061>
63. *Tropsha, A., Gramatica, P., Gombar, V.K.*, 2003. The Importance of Being Earnest: Validation is the Absolute Essential for Successful Application and Interpretation of QSPR Models. *QSAR Comb. Sci.* 22, 69–77. <https://doi.org/10.1002/qsar.200390007>

64. Vandenberg, L.N., Colborn, T., Hayes, T.B., Heindel, J.J., Jacobs, D.R., Lee, D.H., Myers, J.P., Shioda, T., Soto, A.M., vom Saal, F.S., Welshons, W. V., Zoeller, R.T., 2013. Regulatory decisions on endocrine disrupting chemicals should be based on the principles of endocrinology. *Reprod. Toxicol.* 38, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.02.002>
65. Vinggaard, A.M., Niemela, J., Wedebye, E.B., Jensen, G.E., 2008. Screening of 397 chemicals and development of a quantitative structure–activity relationship model for androgen receptor antagonism. *Chem. Res. Toxicol.* 21, 813–823. <https://doi.org/10.1021/tx7002382>
66. Vuorinen, A., Odermatt, A., Schuster, D., 2015. Reprint of “in silico methods in the discovery of endocrine disrupting chemicals.” *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 153, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.08.015>
67. Waller, C.L., Juma, B.W., Earl Gray, L., Kelce, W.R., 1996. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships for androgen receptor ligands. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 137, 219–227. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.0075>
68. Wang, Y., Han, R., Zhang, H., Liu, Hongli, Li, J., Liu, Huanxiang, Gramatica, P., 2017. Combined Ligand/Structure-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulations of Steroidal Androgen Receptor Antagonists. *Biomed Res. Int.* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3572394>
69. Weiss, J.M., Andersson, P.L., Lamoree, M.H., Leonards, P.E.G., Van Leeuwen, S.P.J., Hamers, T., 2009. Competitive binding of poly- and perfluorinated compounds to the thyroid hormone transport protein transthyretin. *Toxicol. Sci.* 109, 206–216. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp055>
70. WHO/UNEP, 2013. State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012 An assessment of the state of the science of endocrine disruptors prepared by a group of experts for the United Nations Environment Programme (UNEP) and WHO, World Health Organization.
71. WHO, 2002. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors., WHO publication no. WHO/PCS/EDC/02.2.
72. Worachartcheewan, A., Mandi, P., Prachayasittikul, V., Toropova, A.P., Toropov, A.A., Nantasenamat, C., 2014a. Large-scale QSAR study of aromatase inhibitors using SMILES-based descriptors. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 138, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2014.07.017>
73. Worachartcheewan, A., Suvannang, N., Prachayasittikul, S., Prachayasittikul, V., Nantasenamat, C., 2014b. Probing the origins of aromatase inhibitory activity of disubstituted coumarins via qsar and molecular docking. *EXCLI J.* 13, 1259–1274. <https://doi.org/10.17877/DE290R-7420>
74. Wu, Y., Doering, J.A., Ma, Z., Tang, S., Liu, H., Zhang, X., Wang, X., Yu, H., 2016. Identification of androgen receptor antagonists: In vitro investigation and classification methodology for flavonoid. *Chemosphere* 158, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.059>
75. Wu, Y., Shi, W., Xia, P., Zhang, X., Yu, H., 2017. Qualitative and quantitative simulation of androgen receptor antagonists: A case study of polybrominated diphenyl ethers. *Sci. Total Environ.* 603–604, 495–501. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.106>
76. Xie, H., Qiu, K., Xie, X., 2015. Pharmacophore modeling, virtual screening, and 3D-QSAR studies on a series of non-steroidal aromatase inhibitors. *Med. Chem. Res.* 24, 1901–1915. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1257-9>
77. Xie, H., Qiu, K., Xie, X., 2014. 3D QSAR studies, pharmacophore modeling and virtual screening on a series of steroidal aromatase inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 20927–20947. <https://doi.org/10.3390/ijms151120927>
78. Yang, W., Shen, S., Mu, L., Yu, H., 2011. Structure-activity relationship study on the binding of PBDEs with thyroxine transport proteins. *Environ. Toxicol. Chem.* 30, 2431–2439. <https://doi.org/10.1002/etc.645>
79. Yang, X., Liu, H., Yang, Q., Liu, J., Chen, J., Shi, L., 2016. Predicting anti-androgenic activity of bisphenols using molecular docking and quantitative structure-activity relationships. *Chemosphere* 163, 373–381. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.062>
80. Yang, X., Lyakurwa, F., Xie, H., Chen, J., Li, X., Qiao, X., Cai, X., 2017. Different binding mechanisms of neutral and anionic poly-/perfluorinated chemicals to human transthyretin revealed by In silico models. *Chemosphere* 182, 574–583. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.016>
81. Yang, X., Xie, H., Chen, J., Li, X., 2013. Anionic phenolic compounds bind stronger with transthyretin than their neutral forms: Nonnegligible mechanisms in virtual screening of endocrine disrupting chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 26, 1340–1347. <https://doi.org/10.1021/tx4001557>
82. Yen, P.M., 2001. Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action. *Physiol. Rev.* 81, 1097–1142. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.3.1097>
83. Yilmaz, B., Terekci, H., Sandal, S., Kelestimur, F., 2020. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 21, 127–147. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z>
84. Zhang, J., Kamstra, J.H., Ghorbanzadeh, M., Weiss, J.M., Hamers, T., Andersson, P.L., 2015. In Silico Approach To Identify Potential Thyroid Hormone Disruptors among Currently Known Dust Contaminants and Their Metabolites. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10099–10107. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01742>