

Estrógeno *versus* isquemia cerebral: hormônio feminino como agente neuroprotetor

MELISSA CALEGARO NASSIF¹
HELENA ITURVIDES CIMAROSTI²
LAUREN LÚCIA ZAMIN³
CHRISTIANNE GAZZANA SALBEGO⁴

1. Farmacêutica, mestranda em Ciências Biológicas, Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
2. Farmacêutica-bioquímica, doutoranda em Ciências Biológicas, Bioquímica - UFRGS.
3. Bióloga, mestranda em Ciências Biológicas, Bioquímica - UFRGS.
4. Docente Pesquisadora, Departamento de Bioquímica - UFRGS.
Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas - UFRGS.
Rua Ramiro Barcelos, 2600, Anexo, Laboratório 37 - 90035-003, Porto Alegre (RS).
Autor responsável - e-mail: salbego@terra.com.br

INTRODUÇÃO

O interesse pelo hormônio feminino estrógeno e suas ações no organismo têm crescido muito, nos últimos anos, principalmente devido às discussões sobre a validade e a segurança da terapia de reposição hormonal (TRH) em mulheres, no período pós-menopausa. Nos últimos 100 anos, a expectativa de vida das mulheres cresceu para cerca de 80 anos ou mais, mas o início da menopausa continua sendo entre 40 e 50 anos de idade. Por isso, as mulheres têm vivido um período maior de suas vidas em um estado hipoestrogênico, pós-menstrual, que pode contribuir para o aumento do risco de uma variedade de doenças neurodegenerativas, como a isquemia cerebral e doença de Alzheimer (WISE, P.M., 2002).

Muitos estudos na área da neurociência estão sendo realizados, a fim de esclarecer os efeitos benéficos dos estrógenos e seus mecanismos de neuroproteção no sistema nervoso central (SNC) frente a diversas doenças, especialmente a isquemia cerebral. Essas pesquisas podem contribuir para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos que possuam mecanismos de ação neuroprotetores similares aos estrógenos, sem apresentarem, porém, efeitos indesejados, tais como o aumento do risco de câncer de mama e de útero, e o desenvolvimento de características sexuais secundárias, permitindo, dessa forma, sua administração também em homens.

ESTRÓGENOS: FUNÇÕES FISIOLÓGICAS E PRINCIPAIS PRECURSORES

Estrógenos são hormônios esteróides monofenólicos que exercem numerosas atividades clássicas bem documentadas em todo o organismo. Nas mulheres, suas ações clássicas estão relacionadas à dos progestogênios, abrangendo ações neuroendócrinas envolvidas no controle da ovulação, no desenvolvimento e preparo cíclico do sistema

reprodutor para a fertilização, implantação do óvulo, além de muitas características sexuais secundárias femininas (WILLIAMS, C.L. E STANCEL, G.M., 1996). Os tecidos reprodutores masculinos, tais como testículos e próstata, são igualmente alvo de estrógenos (CLARK, J.H. et al., 1992).

O estrógeno mais potente de ocorrência natural nos seres humanos é o 17- β -estradiol (FIGURA 1), seguido pela estrona e estriol (principal forma de excreção do hormônio).

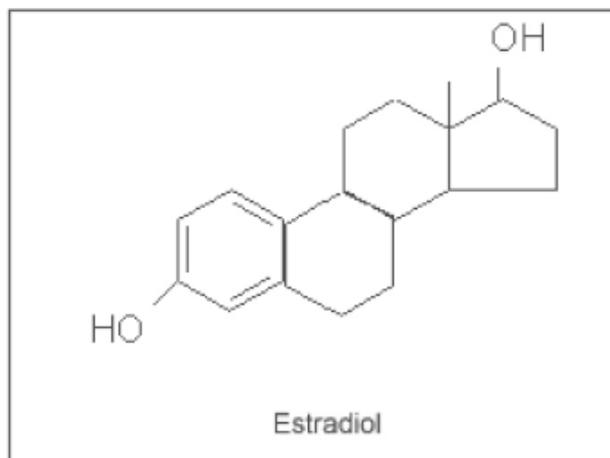


FIGURA 1: Molécula de estradiol, mostrando o anel fenólico e a posição 17 contendo uma hidroxila (OH). No 17 β -estradiol, este grupamento encontra-se em conformação β .

Em mulheres na pré-menopausa e não grávidas, os estrógenos são primariamente sintetizados nos ovários, utilizando o colesterol como precursor (FIGURA 2) (ÖSTERLUND, M.K. ET AL., 2001). Mas sua síntese, tanto em mulheres como em homens, ocorre também localmente em tecidos não-endócrinos, tais como o fígado, o tecido adiposo e o cérebro, através da conversão do hormônio masculino testosterona em estradiol sob ação da enzima conversora aromatase (FIGURA 2).

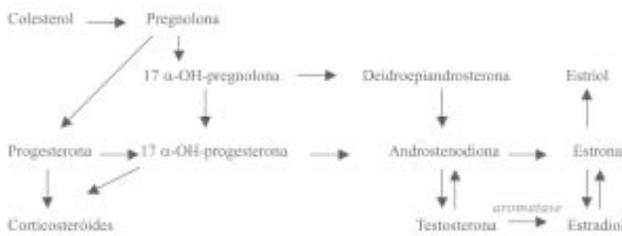


FIGURA 2: Biossíntese do hormônio estradiol a partir do colesterol. Em itálico, a enzima aromatase, presente em alguns tecidos não-endócrinos, como o fígado, o tecido adiposo e cérebro (adaptado de ÖSTERLUND, M.K. AND HURD, Y.L., 2001).

ESTRÓGENO E O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Até o início dos anos 80, época do desenvolvimento de estudos sobre as diferenças morfológicas no cérebro entre os sexos em pássaros e mamíferos, os efeitos dos estrógenos em áreas, como o SNC, fora das regiões envolvidas na reprodução, eram irrelevantes (GARCIA-SEGURA, L.M. et al.; 1999 e 2001). Os estudos realizados em neurociências comumente utilizavam grupos compostos por machos e fêmeas em seus experimentos, até ser observado um alto grau de variabilidade nos resultados. A partir desta observação, as variações hormonais presentes nas fêmeas passaram a ser consideradas, e sua influência em distúrbios neurológicos e mentais começou a ser investigada. (GARCIA-SEGURA, L.M. et al., 2001).

O estradiol que chega aos neurônios pode ser proveniente de várias fontes (FIGURA 3). Uma delas é via corrente sanguínea, a partir da síntese nos ovários e em outros tecidos periféricos. Esta via é muito importante em mulheres no período pré-menopausa, pois estas possuem concentrações fisiológicas elevadas de estradiol provenientes principalmente dos ovários.

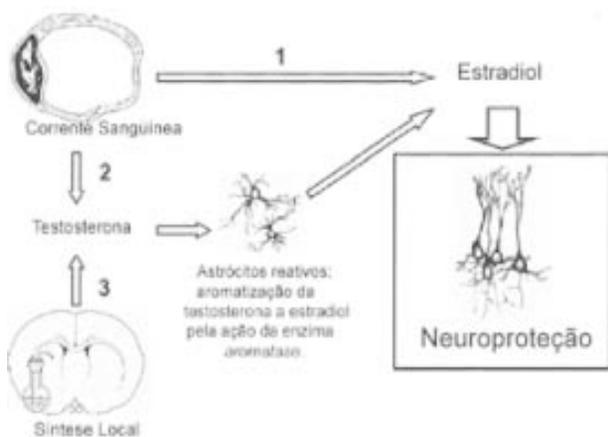


FIGURA 3: Possíveis fontes de estradiol para células neuronais lesionadas no sistema nervoso central. O estradiol pode chegar aos neurônios diretamente a partir da circulação, origem significativa nas mulheres (1), pela conversão da testosterona proveniente da periferia pelos astrócitos, importante nos homens (2) ou após a conversão da testosterona recém produzida nos astrócitos (síntese local), acontecendo em ambos os sexos (3). (Adaptada de GARCIA-SEGURA et al., 2001).

As células gliais, componentes essenciais na função neural normal, assim como em situações de dano ao SNC, estão envolvidas, tanto na síntese, como também no metabolismo dos compostos esteróides, em especial o estradiol (MELCANGI, R.C. et al., 1999). Nos homens, é nas células gliais, principalmente nos astrócitos, onde ocorre a conversão da testosterona, vinda através da corrente sanguínea, em estradiol, a partir da reação catalisada pela enzima aromatase (HUTCHISON, J.B. et al., 1999). Os astrócitos podem também sintetizar testosterona e transformar este hormônio recém sintetizado em estradiol em ambos os sexos (síntese local).

ISQUEMIA CEREBRAL

A isquemia cerebral (popularmente chamada de *derame cerebral* ou AVC - Acidente Vascular Cerebral) constitui uma das principais causas de mortalidade na população adulta e idosa, ficando atrás apenas dos problemas cardiovasculares e câncer (SIEGEL, G.F. et al., 1999). Os pacientes que sobrevivem a uma isquemia cerebral freqüentemente sofrem de incapacidades físicas e/ou mentais permanentes. A isquemia cerebral é a segunda principal causa de demência, após a doença de Alzheimer (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1999), e 30% dos pacientes sofrem de depressão, observando-se maior risco em mulheres idosas (KOTILA, M., et al. 1998).

As principais causas de uma isquemia cerebral são a oclusão de vasos sanguíneos cerebrais, ocasionada principalmente por trombos, que acarreta perda da circulação sanguínea em uma determinada região cerebral (infarto cerebral oclusivo, cerca de 8% dos casos). Pode ocorrer também a ruptura de tais vasos, levando a hemorragias (*hemorragia intracranial*, representando 20% dos casos) (HORST, G.J.T AND KORF, J., 1997). Uma outra causa importante ocorre com a diminuição transitória do fluxo de sangue para o cérebro inteiro (isquemia global), como ocorre, durante uma parada cardíaca.

A perda do fluxo sanguíneo cerebral, local ou global, acarreta uma cascata de eventos patofisiológicos que interagem de forma complexa. Os principais processos envolvidos são deficiência energética, perda da homeostase iônica celular, acidose, aumento de cálcio intracelular, excitotoxicidade e toxicidade mediada por radicais livres (LIPTON, P., 1999; SIEGEL G.J., et al., 1999).

Este conjunto de eventos pode levar à morte celular. Não existe, até o momento, um protocolo terapêutico clinicamente eficaz para reduzir o dano celular causado pela isquemia cerebral. Desde os anos 80, testes clínicos com drogas indiscutivelmente eficazes em estudos experimentais (como antagonistas de glutamato ou cálcio, e *scavengers* de radicais livres) têm demonstrado pouca eficácia clínica (WHITE, B.C. et al., 2000).

NEUROPROTEÇÃO POR ESTRADIOL

Vários estudos demonstram que homens e mulheres

diferem na incidência da isquemia cerebral, com mulheres no período pré-menopausa exibindo uma menor susceptibilidade a danos isquêmicos quando comparadas com homens e mulheres pós-menopausa com idades equivalentes. A menor incidência do insulto isquêmico em mulheres pré-menopausa pode estar relacionada com os níveis mais altos circulantes de estrógenos, principalmente, o 17- β -estradiol (BEHL, C., 2003).

O estradiol exerce seus efeitos neuroprotetores, através de múltiplos mecanismos celulares e moleculares, que podem ser dependentes ou independentes da ativação de receptores intracelulares para estrógenos (ERs). Estudos demonstram que os mecanismos específicos de ação do estrógeno podem ser determinados pela dose de hormônio administrada. Em geral, níveis farmacológicos de estradiol protegem o cérebro, através de mecanismos que não requerem a ativação dos receptores, enquanto que níveis fisiológicos agem, através de mecanismos dependentes da ativação destes receptores (WISE, P.M. et al., 2002).

Mecanismos dependentes de receptores de estrógeno: clássicos

A maior parte dos hormônios é de peptídeos e, devido à sua estrutura, não pode atravessar a membrana celular, como por exemplo a insulina. Seus receptores estão localizados na superfície externa das células. Os hormônios esteróides, como o estradiol, possuem características lipofílicas, sendo, portanto, capazes de atravessar facilmente as membranas celulares. Seus receptores são encontrados intracelularmente, tendo sido descritos dois tipos de receptores estrogênicos, receptores α e β (ER- α e ER- β) (ÖSTERLUND, M.K. et al., 2001).

Estes receptores específicos encontram-se no citoplasma e no núcleo da célula, funcionando como fatores de transcrição ligante-ativados, possuindo acesso direto ao DNA celular, inclusive nos neurônios. Uma vez formado o complexo biologicamente ativo estradiol-receptor, uma sequência complexa de eventos se inicia: alterações conformacionais na molécula do receptor levam, finalmente, à alteração da taxa de transcrição gênica.

Esta característica permite ao estrógeno ativar ou inibir a transcrição de certos genes, resultando no estímulo ou na inibição da síntese de determinadas proteínas, alterando o estado funcional da célula em questão e elevando a expressão de moléculas que podem agir na recuperação neuronal (BEAR, M.F. et al., 2002). Via receptores, o estradiol pode alterar o balanço de genes responsáveis pela expressão de proteínas pró e anti-apoptóticas (*apoptose*: também chamada morte celular programada), estimular a síntese de fatores de crescimento e seus receptores e também pode interagir com vias de transdução de sinal, levando à neuroproteção.

Algumas características estruturais das células nervosas são também influenciadas pela ativação de receptores estrogênicos, como a melhora da plasticidade celular, a manutenção do citoesqueleto celular e a recuperação de axônios após um dano. Tudo isto leva à recuperação de

conexões sinápticas entre neurônios e pode fortalecer as células na luta pela sobrevivência pós-insulto (CARDONA-GÓMEZ, G.P. et al., 2001).

Mecanismos independentes de receptores de estrógeno: não-clássicos

Mecanismos neuroprotetores independentes da ativação de receptores intracelulares também são bastante descritos para os estrógenos. Em concentrações farmacológicas, as ações do estradiol parecem ser mais rápidas e não envolvem transcrição gênica. Ações mais diretas e profiláticas estão relacionadas à diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo e de sua ação sobre o endotélio vascular, como no estímulo de enzimas que promovem vasodilatação (ex: eNos - *nitric oxide synthase*), diminuindo a vulnerabilidade a um evento isquêmico.

O estradiol pode ainda diminuir os níveis de substâncias pró-inflamatórias presentes, após uma lesão, atenuando o dano tecidual. Uma das ações mais documentadas do estradiol é a sua capacidade antioxidante, independente da ativação de receptores estrogênicos e que é favorecida pela sua estrutura, contendo um anel fenólico (FIGURA 1). O átomo de hidrogênio pertencente ao grupo fenólico da molécula de estradiol pode ser doado e, assim, detoxificar radicais hidroxilas altamente reativos, suprimindo o estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio, ânions superóxido e outras neurotoxinas pró-oxidantes geradas após uma lesão (BEHL, C., 2003).

Apesar de ainda não bem esclarecido, outro modo do estradiol atuar na célula é ligando-se a sítios específicos na membrana plasmática. Através da sua ligação a esses “receptores de membrana”, o estradiol pode ativar cascatas de sinalização associadas à membrana celular que resultam em neuroproteção (GARCIA-SEGURA, L.M. et al., 2001), como as vias de sinalização envolvendo as enzimas ativadas por estresse celular, como as ERKs (*extracellular-signal-regulated kinases*) e outros membros das MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), proteínas chaves nas vias anti-apoptóticas (THOMAS, G.M. AND HUGANIR, R.L., 2004). Estas sinalizações membrana-associadas podem envolver modificações no estado de fosforilação de proteínas e alterações nos níveis intracelulares de segundos mensageiros, como o AMPc (WALTON, M.R. AND DRAGUNOW, M., 2000) e cálcio intracelular (POZZO-MILLER, L.D. et al., 1999), levando à sobrevivência celular.

CONCLUSÕES

Os efeitos neuroprotetores dos estrógenos contra lesões cerebrais, especialmente a lesão isquêmica, são variados e possivelmente dose-dependentes: os estrógenos, particularmente o 17- β -estradiol, têm sua ação dependente da dose administrada. Em níveis fisiológicos, eles podem atuar, através de mecanismos dependentes da ativação de seus receptores intracelulares, ER- α e ER- β . São mecanismos mais lentos e que requerem um tempo maior de uso (crônico) para se manifestar.

Em níveis farmacológicos, comumente mais elevados que os fisiológicos, o estradiol parece atuar mais direta e rapidamente, como agente antioxidante ou como antagonista de receptores de aminoácidos excitatórios os quais, em altas concentrações, levam a lesão celular. Nestas concentrações, o estradiol pode ainda agir como agente profilático de doenças cardiovasculares, ao diminuir os níveis de colesterol sanguíneo. As mulheres no período pré-menopausa possuem uma reduzida incidência de eventos isquêmicos, demonstrando os efeitos benéficos dos estrógenos frente a estas lesões.

O uso dos estrógenos como agentes terapêuticos neuroprotetores esbarra, porém, em questões bastante importantes e atuais. Apesar de seus efeitos benéficos no SNC, o estradiol apresenta efeitos deletérios em outros tecidos, como seu envolvimento no desenvolvimento do câncer de mama e uterino. Mais estudos são necessários para o desenvolvimento de fármacos que possam ter ações agonistas ao estradiol em tecidos como o tecido cerebral e, ao mesmo tempo, com ação antagonista a ele nos tecidos onde o seu efeito é deletério, como nos tecidos reprodutivos.

Estudos bastante recentes demonstraram que compostos sintéticos com características agonistas-antagonistas do estradiol, também chamados moduladores de receptores de estradiol ERM, do inglês *estrogen receptor modulator* (MOVÉRARE, S. et al., 2003). Outra questão desafiadora no desenvolvimento de drogas neuroprotetoras com mecanismos semelhantes aos do estradiol é a produção de substâncias que possam ser administradas tanto em homens quanto em mulheres, evitando o desenvolvimento de características sexuais secundárias femininas em homens.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à agência financiadora das bolsas de pós-graduação, Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e ao Departamento de Bioquímica da Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS), local de trabalho e estudo de todas as autoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN HEART ASSOCIATION. 2000. *Heart and Stroke Update*. Dallas, TX: American Heart Association, 1999.
2. BEAR, M.F., CONNORS, B.W. AND PARADISO, M.A. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. 2ª. ed., Porto Alegre: Artmed, p.547- 579, 2002.
3. BEHL, C. Estrogen can protect neurons: modes of action. *J. Steroid Biochem. Biol.* v.83, p.195-197, 2003.
4. CARDONA-GÓMEZ, G.P., MENDEZ, P., DONCARLOS, L.L., AZCOITIA, I. and GARCIA-SEGURA, L.M. Interactions of estrogens and insulin-like growth factor-I in the brain: implications for neuroprotection. *Brain Res. Reviews* v.37, p. 320-334, 2001.
5. CLARK, J.H., SCHRADER, W.T. AND O'MALLEY, B.W. Mechanism of action of steroid hormones. In: Wilson, J., Foster, D.W. (eds.), *Textbook of Endocrinology*. W.B. Saunders, Philadelphia, p. 35-90, 1992.
6. GARCIA-SEGURA, L.M., AZCOITIA, I. AND DON CARLOS, L.L., Neuroprotection by estradiol, *Prog. Neurobiol.* v.63, p. 29-60, 2001.
7. GARCIA-SEGURA, L.M., NAFTOLIN, F., HUTCHISON, J.B., AZCOITIA, I. AND CHOWEN, J.A. Role of astroglia in estrogen regulation of synaptic plasticity and brain repair. *J. Neurobiol.*, v.40, p.574-584, 1999.
8. HORST, G.J.T AND KORF, J., (eds.), *Clinical Pharmacology of Cerebral Ischemia*, Humana Press Inc., New Jersey, pp. 1-60, 1997.
9. HUTCHISON, J.B., WOZNIAK, A., BEYER, C., KAROLCZAK, M. AND HUTCHISON, R.E. Steroid metabolizing enzymes in the determination of brain gender, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* v.69, p.85-96, 1999.
10. KOTILA, N.L., NUMMINEN, H., WALTIMO, O. AND KASTE, M. Depression after stroke. Results of the FINNSTROKE Study, *Stroke*, v.29, p.368-372, 1998.
11. LIPTON, P. Ischemic cell death in brain neurons, *Physiol. Reviews* v.79, n.4, p.1432-1532, 1999.
12. MELCANGI, R.C., MAGNAGHI, V. AND MARTINI, L., Steroid metabolism and effects in central and peripheral glial cells. *J. Neurobiol.* v.40, 0.471-483, 1999.
13. MOVÉRARE, S., DAHLUND, J., ANDERSSON, N., ISLANDER, U., CARLSTEN, H., GUSTAFSSON, J., NILSSON, S. AND OHLSSON, C. Estren Is a Selective Estrogen Receptor Modulator with Transcriptional Activity, *Mol. Pharmacol.* v. 64:1428-1433, 2003.
14. ÖSTERLUND, M.K. AND HURD, Y.L. Estrogen receptors in the human forebrain and relation to neuropsychiatric disorders. *Prog. Neurobiol.* v.64, p.251-267, 2001.
15. POZZO-MILLER, L.D., INOUE, T. AND MURPHY, D.D. Estradiol increase spine density and NMDA-dependent Ca²⁺ transients in spines of CA1 pyramidal neurons from hippocampal slices. *J. Neurophysiol.* v.81, p.1404-1411, 1999.
16. SIEGEL G.J., AGRANOFF B.W., ALBERTS R.W., FISCHER S.K. AND UHLER M.D. (Eds.) *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical aspects*. 6th. ed. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven, 1999.
17. THOMAS, G.M. AND HUGANIR, R.L. MAPK cascade signaling and synaptic plasticity. *Nature Neurosc. Review*. v.5, p.173-183, 2004.
18. WALTON, M.R. AND DRAGUNOW, M. Is CREB a key to neuronal survival? *TRENDS Neurosci.* v.23, p.48-53, 2000.
19. WEAVER, C.E., PARK-CHUNG, M., GIBBS, T.T., FARB, D.H. 17 β-Estradiol protects against NMDA-induced excitotoxicity by direct inhibition of NMDA receptors. *Brain Res.* v.761, p.338-341, 1997.
20. WHITE B. C., SULLIVAN J. M., DEGRACIA D. J., BRIAN J. AND O'NEIL B. J. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J. Neurol. Sci.*, v.179, p. 1-33, 2000.
21. WILLIAMS, C.L. E SATNCEL, G.M., Estrôgenios e Progestogênios. In: HARDMAN, J.G. AND LIMBIRD, L.E., *Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 9 ed., Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill, p.1045-1067, 1996.
22. WISE, P.M. Estrogens and neuroprotection. *TRENDS Endocrinol. Metab.* v.13, n.6, p. 229-230, 2002.