

QUÃO ESTROGÊNICOS SÃO OS FITOESTROGÊNIOS ?

Lucas Viana Machado

Prof. Titular de Ginecologia da Fac. de Ciências Médicas de MG.

Membro Titular da Academia Mineira de Medicina.

Expert Latino-Americano em Climatério e Menopausa

Para entendermos o mecanismo de ação dos estrogênios e fitoestrogênios é indispensável um conhecimento básico de biologia molecular e particularmente dos receptores dos hormônios esteroides. Langley, em 1905 já dizia: “O efeito das drogas e hormônios se faz através da ligação com os receptores celulares dos órgãos”.

Receptores hormonais são moléculas protéicas que, ao se ligarem aos hormônios, formam um complexo ativo hormônio-receptor e se acoplam a elementos reguladores do DNA (promotores) iniciando e influenciando a transcrição genética.

Hormônios esteroides, hormônio tireoidiano, ácido retinóico e a 1, 25-dihidróxido vitamina D₃, compartilham de um grupo de receptores que possuem uma estrutura semelhante e por isso mesmo são chamados de super família dos receptores nucleares (figura 1). Os receptores estrogênicos α e β assim como os demais desta super família, são divididos em 6 regiões ou domínios, rotuladas de A a F. O receptor estrogênico β é 97% homólogo na seqüência de aminoácidos ao receptor α em seu domínio de ligação ao DNA, 59% homólogo no domínio de ligação hormonal, mas somente 17.5% homólogo no domínio regulador A/B (figura2).

Os diversos domínios possuem funções específicas que são fundamentais nas ativação da transcrição genética:

Domínio regulador (região A/B)

O terminal amino é o mais variável no número de aminoácidos da super família dos receptores, com tamanhos de 20 aminoácidos no receptor da vitamina D, a 600 aminoácidos no receptor de mineralocorticoides. No receptor estrogênico α , este domínio contém vários locais de fosforilação e o TAF-1 (**Função de Ativação de Transcrição -1**). O TAF-1 pode ativar a transcrição genética na ausência da ligação do estrogênio ao receptor. No receptor estrogênico β , o TAF-1 está ausente, e esta diferença pode modificar acentuadamente as ações de ambos receptores como veremos adiante.

Domínio de ligação ao DNA (região C)

Este domínio é essencial para a ativação da transcrição e liga-se através dos chamados dedos de zinco (zinc fingers) a um locus específico do DNA denominado “**steroid response element**” (SRE). No caso específico do receptor estrogênico, “**estrogen response element**” (ERE). O domínio de ligação ao DNA controla qual gene será regulado pelo complexo receptor-esteróide e é responsável pela especificidade do gene alvo, bem como pela alta afinidade de ligação ao DNA.

Domínio Hinge - dobradiça, pivô - (região D)

É a região localizada entre o “domínio de ligação ao DNA” e o “domínio de ligação hormonal”. Contem um sinal importante para orientar o movimento do receptor para dentro do núcleo após a sua síntese no citoplasma. Esta região é também o local de rotação das hélices do receptor, indispensável para permitir a alteração conformacional do complexo receptor –esteróide, o que em última análise conferirá a ação específica do hormônio.

Domínio de ligação hormonal, (região E)

O terminal carboxi do receptor α é o local da ligação hormonal, tanto dos estrogênios quanto dos anti-estrogênios. Além da ligação hormonal formando o complexo hormônio-receptor, esta região é responsável também pela dimerização do receptor e contém o TAF-2

(função de ativação de transcrição-2). Ao contrário da atividade do TAF-1, que pode iniciar a transcrição genética sem a presença do estrogênio, o TAF-2 depende da ligação do receptor com o estrogênio para exercer a sua atividade. É também o local de acoplamento das “heat shock proteins” (especialmente a hsp 90). Esta ligação com as “heat shock proteins” impede a dimerização, a ativação e a ligação do complexo receptor-esteróide ao DNA.

Até certo ponto, as diferenças nas funções dos receptores alfa e beta são influenciadas pela ativação dos TAF-1 e TAF-2. Os agentes que são capazes de ações mistas, agonistas e antagonistas, produzem mensagens agonistas via TAF-1 nos receptores alfa, mas, pelo fato dos receptores beta não possuírem o TAF-1, tais agentes podem ser antagonistas puros nos tecidos que possuem apenas receptores beta .

Região F

É o segmento terminal. Esta região modula a transcrição genética pelos estrogênios e anti-estrogênios de acordo com a sua modificação conformacional. Ela não é necessária na transcrição genética induzida pelos estrogênios, contudo, afeta a magnitude da atividade do complexo hormônio-receptor.

A interação dos diversos domínios do receptor com os hormônios (ligantes) e o tipo de ligação ao DNA das células alvo irá influenciar a transcrição genética por meio de dois mecanismos principais (figura 3):

1º- **“Elemento de Resposta Simples”**. É a maneira clássica, específica para cada esteróide, ao ligar-se diretamente sem intermediários ao SRE do DNA. É a mais importante e confere a especificidade para cada hormônio. No caso dos estrogênios é denominada “Elemento de Resposta Estrogênica Simples” e possui alta afinidade para o estradiol. É desta maneira que os diversos esteróides promovem suas mensagens específicas, ou sejam, estrogênicas, androgênicas, gestacionais, mineralo ou glicocorticoides.

2º- **“Elemento de Resposta Composto” (AP –1 site)**. Atua via TAF-1 e TAF-2. Para que ele seja ativado é necessária a presença de proteínas intermediárias entre o complexo receptor-esteróide e o DNA, denominadas “ERAP” (Estrogen Receptor Associated

Proteins) no caso dos estrogênios, ou simplesmente “ADAPTORS” (proteínas adaptadoras). Estas proteínas são próprias de cada tipo de célula e poderão modificar a resposta fisiológica ao hormônio, ampliando ou limitando, ao produzir uma mensagem co-ativadora ou co-repressora.

Podemos resumir a seqüência dos mecanismos da transcrição genética pelos receptores estrogênicos nas seguintes etapas:

- Acoplamento do hormônio ao domínio de ligação hormonal do receptor que encontra-se inativo pela presença das “heat shock proteins”.
- Ativação do complexo hormônio-receptor pela sua alteração conformacional (transformação halostérica), provocada pela separação das “heat shock proteins”.
- Dimerização do complexo receptor-esteróide.
- Acoplamento do dímero ao ERE do DNA através dos “dedos de zinco” do domínio de ligação ao DNA.
- Iniciação da transcrição, influenciada pelos TAFs e pelo contexto das proteínas adaptadoras.

A resposta celular, por sua vez, dependerá:

1. Da natureza do receptor estrogênico (alfa ou beta).
2. Da prevalência de cada tipo de receptor nos diversos tecidos.
3. Da dimerização do receptor formando homodímeros (dois receptores alfa ou dois receptores beta), ou heterodímeros (um receptor alfa e um receptor beta), cada um deles induzindo mensagens diferentes.

4. Do ERE e promotores vizinhos (AP-1 sites).
5. Do contexto celular das proteínas adaptadoras que podem atuar como co-ativadoras ou co-repressoras.
6. Da potência do ligante (hormônio), que é proporcional ao tempo em que permanece ligado ao DNA.
7. Da modulação pelos fatores de crescimento e agentes que atuam (por via não genômica) nos receptores da membrana celular através das proteína-kinases e fosforilação.

Estes diversos mecanismos que influenciam ou modificam a resposta ao estímulo hormonal fizeram surgir um conceito muito importante, denominado “**contexto celular**”, no qual, o mesmo hormônio poderá produzir respostas diferentes em células diferentes de acordo com contexto celular das proteínas adaptadoras, da homo ou hetero-dimerização e da presença e prevalência dos receptores alfa e beta.

Fato curioso é que o receptor estrogênico possui uma característica que o diferencia dos receptores dos demais esteroides. O seu domínio de ligação hormonal é dobrado em sua forma helicoidal produzindo uma concavidade tipo dobra de sanduíche, para receber a molécula do estrogênio. Apesar do arranjo em forma de pinça em volta do anel A dos esteroides impor um pré-requisito absoluto aos ligantes de conter um anel fenólico aromatizado em sua molécula, o restante da cavidade pode aceitar um número variado de compostos esteroides e não esteroides, contendo diferentes grupos hidrofílicos. Esta “promiscuidade” geral pode ser atribuída ao tamanho da concavidade do receptor (quase o dobro da molécula do estradiol), que poderá ser ocupado por outros compostos de tamanhos espaciais menores ou maiores que a molécula do estradiol, desde que possuam um anel fenólico aromatizado, com um radical oxidrila em um de seus carbonos.

Assim, ao ocupar o receptor de estradiol, o composto poderá exercer uma potente mensagem agonista, como o Estilbestrol e o Dietil-estilbestrol; uma mensagem totalmente antagonista, como o ICI-182780; ou uma mensagem mista (agonista e antagonista), como o Tamoxifeno. Este último exerce a ação **agonista** nos receptores alfa, via formação do complexo tamoxifen-receptor que se liga ao TAF-1 através das proteínas adaptadoras ativando-o, mesmo na ausência do estradiol. Sua ação **antagonista** é exercida ao acoplar-se ao receptor estrogênico e ocupar o ERE impedindo que o estradiol o faça, o que por sua vez impossibilita também a ativação via TAF-2, já que para tanto, é necessária a ligação do complexo receptor-estradiol ao ERE (figura 4).

FITOESTROGÊNIOS

Com estes conhecimentos básicos e indispensáveis, poderemos compreender as ações dos fitoestrogênios. Eles são substâncias naturais encontradas em plantas e podem ocupar os receptores estrogênicos, porque contem em sua estrutura química um anel fenólico aromatizado, com uma oxidrila geralmente ligada ao carbono 3 (figura 5). Ao ocupar o receptor estrogênico, a sua mensagem poderá ser fracamente agonista ou antagonista.

É importante assinalar que fitoestrogênio é natural das plantas e não podemos confundi-los com os hormônios naturais da mulher que são o estradiol, a estrona e o estriol. O fato destes hormônios femininos naturais serem sintetizados no laboratório a partir dos próprios fitoestrogênios (especialmente a diosgenina, que possui a molécula básica do ciclopentano-perhidrofenantreno), da bile dos animais ou do próprio colesterol e não extraídos dos ovários ou do plasma de uma mulher no menácmo, não os desqualificam como hormônios naturais, pois a sua fórmula molecular é rigorosamente a mesma, independente da fonte.

Existem dezenas de fitoestrogênios que são agrupados em três classes principais: Isoflavonas, coumestanos e lignanos. A potência biológica dos fitoestrogênios varia de 120 a

mais de 2.000 vezes inferior ao estradiol (Markiewicz L et al. J Steroid Biochem Mol Biol 1993; 45: 399. – Ghem B D et al. Proc Natl Acad Sci. 1997; 94:14138.), o que significa que ao ocupar um receptor estrogênico, estará impedindo que o mesmo se ligue ao estradiol, reduzindo portanto o seu efeito biológico de 120 a 2.000 vezes. Nestas condições, eles atuam claramente como antiestrogênio.

Outra característica farmacológica importante dos fitoestrogênios é que eles atuam principalmente nos receptores estrogênicos beta, o que de início elimina sua ação agonista no TAF-1, pois ele não se acha presente nesse receptor.

À luz dos conhecimentos da biologia molecular, poderemos interpretar as ações dos fitoestrogênios da seguinte maneira:

Via receptores alfa:

- NO DOMÍNIO DE LIGAÇÃO HORMONAL – Atuam como anti-estrogênio ao impedirem que o receptor seja ocupado pelo estradiol, ou terá uma ação no ERE 120 a 2.000 vezes menor, comparada à ação do estradiol.
- No TAF-1 – Atuam como agonista fraco, ou antagonista, dependendo das proteínas adaptadoras específicas das células do tecido alvo, que podem ter ações co-ativadoras ou co-repressoras.
- No TAF-2 – Não atuam, porque esta função de transcrição somente ocorre quando o ERE estiver acoplado ao complexo receptor-estradiol.

Via receptores beta:

- NO DOMÍNIO DE LIGAÇÃO HORMONAL – Atuam como anti-estrogênio ao impedirem que o receptor seja ocupado pelo estradiol, ou terá uma ação no ERE 120 a 2.000 vezes menor, comparada à ação do estradiol.
- No TAF-1 – Não atuam porque ele se encontra ausente nos receptores beta.
- No TAF-2 - Não atuam porque esta função de transcrição somente ocorre quando o ERE estiver acoplado ao complexo receptor-estradiol.

Podemos muito claramente deduzir que as ações estrogênicas dos fitoestrogênios são extremamente fracas e que eles atuam fisiologicamente muito mais como anti-estrogênios do que como estrogênios. Alias, não existe nenhuma substância química que possa substituir adequadamente os hormônios naturais (estrogênios, progesterona, testosterona, insulina, corticoide, tiroxina, etc) em suas ações específicas. Agrião é um alimento rico em iodo e nem por isto poderá substituir a tiroxina. Se os fitoestrogênios pudessem substituir com a mesma eficiência os estrogênios naturais na terapia de reposição hormonal, certamente as tais japonesas que se alimentam com grandes quantidades de soja desde criancinhas, teriam suas mamas desenvolvidas e menstruariam aos 2 anos de idade. Os efeitos favoráveis relatados na literatura se prendem quase que exclusivamente aos sintomas subjetivos como os constantes nos índices de Kupperman e Blatt. Estes sintomas são influenciados em grau maior ou menor pelo efeito placebo. Quanto mais “maravilhas” forem ditas destes produtos, reforçados principalmente pela divulgação comercial na mídia não científica e por trabalhos sem nenhum rigor metodológico; quanto mais for enfatizada a “ausência de riscos” dos produtos naturais; quanto mais tempo qualquer profissional da saúde ou charlatão que receite tais produtos se detiver na atenção e simpatia dedicada à paciente, certamente este efeito placebo será grandemente potencializado.

Temos que ter bem claro que, por definição, estrogênios (geradores de estro) são substâncias que produzem efeitos biológicos tais como desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, cornificação da mucosa vaginal, crescimento uterino, comportamento estral nos animais e desenvolvimento de um endométrio proliferativo em um animal gonadectomizado. Os fitoestrogênios não preenchem nenhum destes quesitos.

No primeiro estudo Norte-americano para avaliar a eficácia e segurança da isoflavona derivada do Red Clover, conduzido por Lisa Nachtigall e cols. (apresentado no '81st Annual Meeting of the Endocrine Society, realizado em San Diego, California, em junho de 1999), foram monitorizados os sintomas menopausais e a potência estrogênica através das medidas dos níveis séricos de estradiol, FSH e SHBG e pela espessura endometrial. Foram comparados os dados basais pré-tratamento e dois meses após suplementação de isoflavona 40mg/dia. Houve uma diminuição na frequência das ondas de calor em 56% (de 8,1 episódios/dia para 3,6). A espessura endometrial média permaneceu inalterada (2,4mm pré e 2,8mm pós 8 semanas de tratamento). Não houve alteração significativa no colesterol total, LDL, HDL, glicose, **estradiol (31,4 pg/ml antes, 29,4 depois), SHBG (65,6 nMol/L antes, 64,0 depois) ou FSH (79,3 IU/L antes, 87 depois).**

Com referência à alegação de que os fitoestrogênios protegem contra o câncer de mama, vale citar o recente trabalho de Pamela L et al. (Am J epidemiol. 2001;154: 434): Phytoestrogens consumption and breast cancer in a multiethnic population. Estudo caso-controle de 1272 casos e 1610 controles. As diversas isoflavonas apresentaram os seguintes odds ratio: genisteína OR 0,92 – 1. Daidzeína OR 1,0 – 1,2. Biochanina OR 1,0 – 1,2. Formononetina OR 1,0 – 1,2. Isoflavonas totais OR 1,0 – 1,2. Conclusão do trabalho: nenhum efeito protetor.

São estas, as conclusões do Painel sobre ‘O papel das Isoflavonas na saúde menopausal: opinião de consenso da **Sociedade Norte Americana de Menopausa**. (Menopause. 2000; 7: 215).

1. Não há evidências convincentes no controle dos fogachos.
2. Os dados disponíveis são inadequados e não permitem avaliar o efeito das Isoflavonas sobre o câncer de mama e endométrio, massa óssea e secreção vaginal.
3. Reduz o colesterol total em 19%, o LDL em 13%, os triglicérides em 10% e não altera o HDL.

Em junho de 2001, o Boletim prático editado pelo “**Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas**”(ACOG) emitiu uma comunicação “**Alerta aos usuários de tratamento botânico para os sintomas da menopausa**”. Destaco alguns trechos:

----- Os consumidores não podem ser assegurados do conteúdo atual e eficácia de qualquer produto particular. Mais importante, esta falta de controle de qualidade pode resultar em contaminação, adulteração ou falta de identificação de produtos botânicos que podem prejudicar o consumidor.

----- Muitas mulheres percebem os tratamentos “naturais” como seguros e eficazes apesar da falta de estudos científicos adequados provando tais características.

----- A ACOG também alerta que “natural”. não significa seguro ou eficaz e que podem ocorrer interações droga-erva potencialmente perigosas ou letais. Soja e isoflavonas podem ser úteis para sintomas como ondas de calor e suores noturnos.

----- Enquanto seguras em quantidades dietéticas, o consumo de grandes quantidades de soja e suplementos de isoflavonas podem interagir com estrogênios e serem prejudiciais a mulheres com história de câncer estrogênio dependente e possivelmente a outras mulheres.

Por fim, citemos a conclusão do Departamento de Endocrinologia Feminina da ‘Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia’ (www.feminina.org.br) divulgada no recente ‘25º Congresso Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia’- realizado em Brasília, setembro de 2002: “- Até o momento, os estudos in vitro e in vivo não mostraram resultados consistentes e uniformes sobre se os fitoestrogênios poderiam mimetizar as ações estrogênicas em todos os órgãos alvo. Os fracos efeitos na síndrome climatérica e metabolismo ósseo não preenchem os requisitos necessários para serem considerados alternativas à TRHM. Além disso, a falta de informações sobre a segurança de seu uso e controle sobre seus efeitos, além da descrição de efeitos adversos, não recomendam a prescrição de isoflavonas isoladas.”

LEITURA SUPLEMENTAR.

Brzozowski AM, Pike ACW, Dauter Z, et al. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 389: 753-758, 1997.

Parker MG. Structure and functions of estrogen receptors. *Vitamins and Hormones. Advances in research and applications*. Vol 51: 267 – 287; Academic Press, San Diego.

Speroff L. The estrogen receptor: changing concepts. *Climateric*; 3(suppl 1): 2 – 13, 2000

LEGENDAS DAS FIGURAS.

Figura 1.

Estrutura geral da super-família dos receptores nucleares e seus domínios.

Figura 2.

Receptores estrogênicos alfa e beta com os respectivos números de aminoácidos de cada domínio e a porcentagem de homologia dos aminoácidos nos domínios de ligação ao DNA e de ligação Hormonal.

Figura 3.

Mecanismos de ativação da transcrição genética pelo complexo estrogênio-receptor no ERE e AP-1 site.

Figura 4.

Mecanismo de ação do Tamoxifeno

Figura 5.

Ocupação da ‘pre ga de sandwich’ ou ‘pinça’ do domínio de ligação hormonal do receptor estrogênico pelas moléculas do estradiol e da isoflavona.