



O papel dos estrogénios e vias de sinalização do recetor de estrogénio no cancro e infertilidade associados a schistosomose

Mónica C. Botelho

monica.botelho@insa.min-saude.pt

Unidade de Promoção da Saúde. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA, Porto.

Instituto de Patologia e Imunologia Molecular, Universidade do Porto.

Introdução

A schistosomose é uma doença tropical negligenciada causada por um parasita do género *Schistosoma*. A sua transmissão ocorre por meio de água doce. Esta helmintíase é a segunda parasitose mais importante depois da malária causando altas taxas de morbilidade e mortalidade. Em todo o mundo existem pelo menos 76 países afetados por schistosomose com uma prevalência superior a 200 milhões de pessoas. Destes, 20 milhões têm doença grave e 120 milhões são considerados assintomáticos. O risco de infeção afeta cerca de 600 milhões de indivíduos, incluindo viajantes provenientes dos países desenvolvidos (1,2).

Os três principais agentes da schistosomose humana são: *Schistosoma japonicum* e *S. mansoni* que causam a schistosomose intestinal no Leste da Ásia, África, América do Sul e Caribe, enquanto *S. haematobium* ocorre em toda a África e no Médio Oriente, causando a schistosomose urogenital. Existem mais indivíduos infetados com *S. haematobium* do que com as outras espécies. Dos 112 milhões de casos de infeção por *S. haematobium* na África subsaariana, 70 milhões apresentam hematúria, 18 milhões patologia da mucosa da bexiga, e 10 milhões apresentam hidronefrose levando a lesões graves nos rins (3-5). Nestes doentes, a deposição de ovos de *S. haematobium* na mucosa da bexiga leva eventualmente ao carcinoma de células escamosas da bexiga (6,7). Assim, o *S. haematobium* foi classificado como cancerígeno do Grupo 1 pela Agência Internacional do Cancro (IARC) (8,9). Além disso, cerca de 75% das mulheres infetadas com *S. haematobium* sofrem de schis-

tosomose genital feminina (FGS) do trato genital inferior (4). Esta patologia resulta da deposição de ovos de schistosoma no útero, colo do útero, vagina e / ou vulva, com a consequente resposta inflamatória; também aumenta a susceptibilidade da mulher ao HIV (10-12). A FGS causa sangramento, secreção, dor nas relações sexuais e diminuiu a fertilidade, além de ser causa de vergonha e estigma nas populações africanas (13).

Os mecanismos celulares e moleculares que explicam a associação da infeção por *S. haematobium* com cancro e infertilidade ainda não são bem conhecidos (13,14). No entanto, moléculas derivadas do metabolismo de estrogénio e as vias de sinalização do recetor de estrogénio têm sido descritos para ambas as associações.

Objetivo

No presente trabalho discutimos novos dados sobre o papel dos estrogénios e recetores de estrogénio tanto na carcinogénese como na infertilidade associadas a schistosomose urogenital.

Mecanismo molecular do metabolismo dos estrogénios

Os estrogénios são hormonas esteróides produzidas nos ovários, glândulas supra-renais e placenta durante a gravidez. O hipotálamo segrega a hormona libertadora de gonadotropina (GnRH), que estimula a pituitária anterior para libertar a hormona folículo-estimulante (FSH) e hormona luteinizante (LH). A FSH e a LH induzem a produção de estrogénio na forma de estradiol e estrona pelos ovários. Estes estrogénios ligam-se a recetores de estrogénio (ER) em tecidos alvo da mama, do útero, do cérebro, osso, fígado e coração (15). Quando a molécula de estrogénio se liga ao seu recetor, uma alteração conformacional no ER permite a sua interação com uma sequência específica do gene regulador do ERE (elemento de resposta ao estrogénio) que por sua vez induz a transcrição da sequência codificadora alvo. A proteína ER resultante promove mudanças na célula de acordo com o tipo de tecido e condições subjacentes. O ciclo fica completo quando níveis elevados de estrogénio no sangue enviam um *feedback* negativo para o hipotálamo para suprimir a libertação de GnRH (15).

Carcinoma espinocelular da bexiga associado a *S. haematobium*

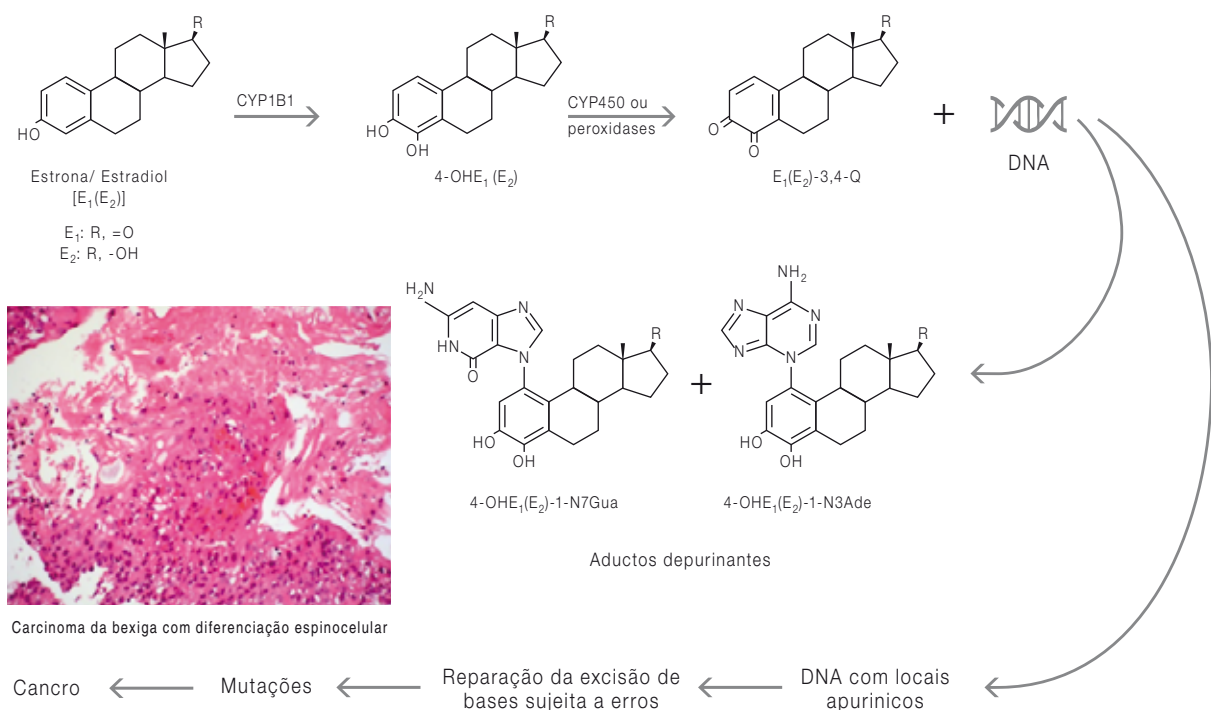
O carcinoma espinocelular (SSC) ou de células escamosas é uma neoplasia maligna pouco diferenciada. O SCC é a forma comum de cancro da bexiga na África rural, onde o *S. haematobium* é predominante (16,17). Em contraste, a maioria do cancro da bexiga em países desenvolvidos e regiões não endémicas para a schistosomose urogenital é o carcinoma urotelial (TCC). Os ovos do parasita que ficam presos na mucosa da bexiga levam à hematuria e à inflamação crónica, aumentando o risco de SCC da bexiga. A incidência de SCC associado a schistosomose urogenital é estimada em 3-4 casos por 100 000 (18).

Ao estudar a causa de hipogonadismo induzido por schistosomose em doentes infectados com *S. haematobium* e *S. mansoni*, Botelho *et al.* (14) observaram uma elevação notável dos níveis séricos de estradiol, enquanto que os níveis de LH e FSH mantiveram-se normais. Colocou-se a hipótese de que o excesso de estradiol seria externo ao hospedeiro (14). Na verdade, verificou-se que a molécula responsável

por este efeito é semelhante ao estrogénio, produzida pelo parasita, e em estudos com células MCF-7 (responsivas ao estrogénio), revelou ser um antagonista do estradiol reprimindo a atividade de transcrição do RE. Além disso, estas novas moléculas estrogénicas foram identificadas no extrato total do parasita, bem como no soro de indivíduos infetados com esta doença parasitária (19). A repressão da transcrição do RE também foi observada em células uroteliais e no tecido de bexiga de ratinhos instilados com extrato total de *S. haematobium* (20).

Estas moléculas estrogénicas também foram identificadas no extrato de ovo de *S. haematobium*, e caracterizadas por Espectrofotometria de Massa (MS). A maioria destes compostos são catecóis de estrogénios (1,2). Os catecóis de estrogénios são formados por hidroxilação do anel aromático de esteróides. A hidroxilação de ambos os C-2 e C-3 de um anel esteróide sofre uma oxidação adicional em estradiol-2,3-quinona. Os efeitos genotóxicos destes metabolitos de estrogénio podem ser atribuídos a oxidação de catecóis de estrogénio para quinonas seguida de ciclos redox e formação de espécies reativas de oxigénio que por sua vez reagem com o DNA (figura 1) (21,22).

Figura 1: Via metabólica dos estrogénios. A formação de catecóis de estrogénio, i.e. 2-hydroxy(OH)E₁(E₂) e 4-OHE₁(E₂) leva à formação de quinonas através da oxidação de semiquinonas, E₁(E₂)-3,4Q que eventualmente reagem com o DNA originando aductos depurinantes. Estes aductos podem levar a mutações que por sua vez podem levar ao carcinoma da bexiga (SCC; microfotografia) (1).





Dado o contexto da associação entre a infeção por *S. haematobium* e cancro de bexiga, a presença de moléculas cancerígenas em ovos de *S. haematobium* pode ter aplicações para novas abordagens para o controlo da doença (1,2,19). O metabolismo de estrogénios e a produção de aductos depurinantes de DNA pode promover danos no DNA do hospedeiro levando eventualmente a transformação celular. O efeito cancerígeno destes aductos poderia explicar a ligação entre a schistosomose haematobia crónica e SCC da bexiga (1,2).

_Schistosoma haematobium e infertilidade

A infertilidade é uma condição médica comum, afetando 1 em cada 6 casais (15-20%) em todo o mundo (23). Estudos em humanos e em animais revelaram uma associação entre níveis baixos de estrogénio e espermatogénese anormal e infertilidade masculina (24-26).

Perturbações hormonais em mulheres com FGS pode estar ligada à infertilidade e fecundidade diminuída (12,27). Recentemente, metabolitos de estrogénio foram detectados por MS em urina de mulheres infetadas com *S. haematobium*. Estes metabolitos são semelhantes aos identificados anteriormente no extrato total e de ovo de *S. haematobium* (1,2). A presença destes metabolitos está significativamente associada à infertilidade em mulheres infetadas (12). Estes compostos reagem com purinas do DNA para formar aductos depurinantes. Estes aductos do DNA podem levar a mutações que por sua vez podem estar subjacentes à infertilidade observada nestas mulheres (12,27).

_Conclusão e perspetivas futuras

São necessários estudos adicionais para identificar e caracterizar a síntese destas moléculas pelo *Schistosoma* e seus efeitos no hospedeiro. Com efeito, bloqueando a ligação da molécula ao seu recetor, com a utilização de terapia anti-hormonal, tal como a ICI 182.780, um anti-estrogénico com a capacidade para inibir e regular negativamente o ER (28), pode ser explorada como uma terapia complementar para a schistosomose.

No futuro, serão avaliados os efeitos específicos das moléculas estrogénicas identificadas nos extratos de schistosomas utilizando modelos celulares e animais.

Referências bibliográficas:

- (1) Botelho MC, Alves H, Barros A, et al. The role of estrogens and estrogen receptor signaling pathways in cancer and infertility: the case of schistosomes. *Trends Parasitol.* 2015;31(6):246-250.
- (2) Botelho MC, Vale N, Gouveia MJ, et al. Tumour-like phenotypes in urothelial cells after exposure to antigens from eggs of *Schistosoma haematobium*: an oestrogen-DNA adducts mediated pathway? *Int J Parasitol.* 2013;43(1):17-26. Epub 2012 Dec 20.
- (3) van der Werf MJ, de Vlas SJ, Brooker S, et al. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Trop.* 2003;86(2-3):125-39.
- (4) Hotez PJ, Fenwick A, Kjetland EF. Africa's 32 cents solution for HIV/AIDS. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(5):e430 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2682705/>
- (5) King CH. Parasites and poverty: the case of schistosomiasis. *Acta Trop.* 2010;113(2):95-104. Epub 2009 Dec 4. Review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2812649/>
- (6) Hodder SL, Mahmoud AA, Sorenson K, et al. Predisposition to urinary tract epithelial metaplasia in *Schistosoma haematobium* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;63(3-4):133-8. <http://www.ajtmh.org/content/63/3/133.long>
- (7) Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer.* 2006 Jun 15;118(12):3030-44.
- (8) Bouvard V, Baan R, Straif K, et al.; WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009;10(4):321-2.
- (9) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A review of human carcinogens. Part B: biological agents. Lyon: IARC, 2009 (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans ; v. 100B). <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100B/mono100B.pdf>
- (10) Feldmeier H, Krantz I, Poggensee G. Female genital schistosomiasis as a risk-factor for the transmission of HIV. *Int J STD AIDS.* 1994;5(5):368-72.
- (11) Kjetland EF, Ndhlovu PD, Gomo E, et al. Association between genital schistosomiasis and HIV in rural Zimbabwean women. *AIDS.* 2006;20(4):593-600.
- (12) Jourdan PM, Roald B, Poggensee G, et al. Increased vascularity in cervicovaginal mucosa with *Schistosoma haematobium* infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(6):e1170. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3110160/>
- (13) Santos J, Gouveia MJ, Vale N, et al. Urinary estrogen metabolites and self-reported infertility in women infected with *Schistosoma haematobium*. *PLoS One.* 2014;9(5):e96774. doi: 10.1371/journal.pone.0096774. eCollection 2014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4029575/>
- (14) Botelho MC, Crespo M, Almeida A, et al. *Schistosoma haematobium* and *Schistosomiasis mansoni*: production of an estradiol-related compound detected by ELISA. *Exp Parasitol.* 2009;122(3):250-3.
- (15) Jensen EV. The contribution of "alternative approaches" to understanding steroid hormone action. *Mol Endocrinol.* 2005;19(6):1439-42.
- (16) Mostafa MH, Sheweita SA, O'Connor PJ. Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):97-111. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88908/>
- (17) Zhong X, Isharwal S, Naples JM, et al. Hypermethylation of genes detected in urine from Ghanaian adults with bladder pathology associated with *Schistosoma haematobium* infection. *PLoS One.* 2013;8(3):e59089.
- (18) Shiff C, Veltri R, Naples J, et al. Ultrasound verification of bladder damage is associated with known biomarkers of bladder cancer in adults chronically infected with *Schistosoma haematobium* in Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006;100(9):847-54.
- (19) Botelho MC, Soares R, Vale N, et al. *Schistosoma haematobium*: identification of new estrogenic molecules with estradiol antagonistic activity and ability to inactivate estrogen receptor in mammalian cells. *Exp Parasitol.* 2010;126(4):526-35.
- (20) Botelho MC, Ribeiro R, Vale N, et al. Inactivation of estrogen receptor by *Schistosoma haematobium* total antigen in bladder urothelial cells. *Oncol Rep.* 2012;27(2):356-62. Epub 2011 Nov 15. <http://www.spandidos-publications.com/or/27/2/356>
- (21) Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, et al. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(20):10937-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC23537/>
- (22) Cavalieri EL, Rogan EG. Unbalanced metabolism of endogenous estrogens in the etiology and prevention of human cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;125(3-5):169-80. Review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4423478/>



artigos breves_ n. 5

- (22) Cavalieri EL, Rogan EG. Unbalanced metabolism of endogenous estrogens in the etiology and prevention of human cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;125(3-5):169-80. Review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4423478/>
- (23) Sousa M, Cunha M, Viana P, et al. Outcomes of human blastocyst transfer after slow-freezing using sequential culture: a clinical report. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(5):1473-8. Epub 2011 Dec 20.
- (24) Saunders PT. Does estrogen receptor beta play a significant role in human reproduction? *Trends Endocrinol Metab.* 2005;16(5):222-7. Review.
- (25) Hess RA. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:52. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC179885/>
- (26) Khattri A, Pandey RK, Gupta NJ, et al. Estrogen receptor beta gene mutations in Indian infertile men. *Mol Hum Reprod.* 2009;15(8):513-20. <http://molehr.oxfordjournals.org/content/15/8/513.long>
- (27) Botelho MC, Sousa M. New biomarkers to fight urogenital schistosomiasis: a major neglected tropical disease. *Biomark Med.* 2014;8(9):1061-3.
- (28) Guerreiro S, Monteiro R, Martins MJ, et al. Distinct modulation of alkaline phosphatase isoenzymes by 17beta-estradiol and xanthohumol in breast cancer MCF-7 cells. *Clin Biochem.* 2007;40(3-4):268-73. Epub 2006 Oct 19.