

O gene *ESR1* e suas implicações na saúde



ESTROGÊNIO

Jeanine Schütz Cardoso Teófilo¹, Maria Luiza Guimarães de Oliveira²,
Juliana Dal-Ri Lindenau³

¹Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular e Genética, Florianópolis, Brasil

²Doutora pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular e Genética, Florianópolis, Brasil

³Docente do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular e Genética, Florianópolis, Brasil

Autor para correspondência - juliana.lindenau@ufsc.br

Palavras-chave: *ESR1*, receptor de estrogênio alfa, polimorfismos genéticos, câncer de mama, metabolismo, obesidade

O gene do receptor de estrogênio 1 (*ESR1*), que codifica o receptor de estrogênio alfa ($ER\alpha$), regula como nosso corpo responde ao estrogênio, influenciando o funcionamento dos sistemas nervoso central, cardiovascular e imunológico. Ele está ligado a funções importantes, como proteger nossos ossos, controlar o metabolismo e influenciar o risco de doenças como o câncer de mama e a obesidade. Estudar suas variantes genéticas pode ajudar a desenvolver tratamentos mais eficientes ou personalizados.

Gene *ESR1*

O gene *ESR1*, situado no cromossomo 6, no braço longo, na região 2, na banda 5 (6q25), foi descrito pela primeira vez em 1986, logo após sua clonagem por Walter *et al.* a partir de uma linhagem celular de câncer de mama. Na época, foi relatado como possuindo oito **éxons** separados por sete **íntrons** (Figura 1). Recentemente, éxons adicionais foram descritos, chegando a 29 éxons únicos (dados não mostrados na figura). Múltiplas variantes de **recomposição alternativa** (*splicing* alternativo) foram identificadas, aumentando a variabilidade proteica produzida.

A transcrição de *ESR1* pode ser iniciada por pelo menos sete diferentes regiões promotoras, que são regiões do DNA onde ocorre a ligação dos fatores gerais de transcrição e da RNA polimerase, iniciando a transcrição de modo diferencial em relação ao ponto de início. Tanto o início de transcrição diferen-

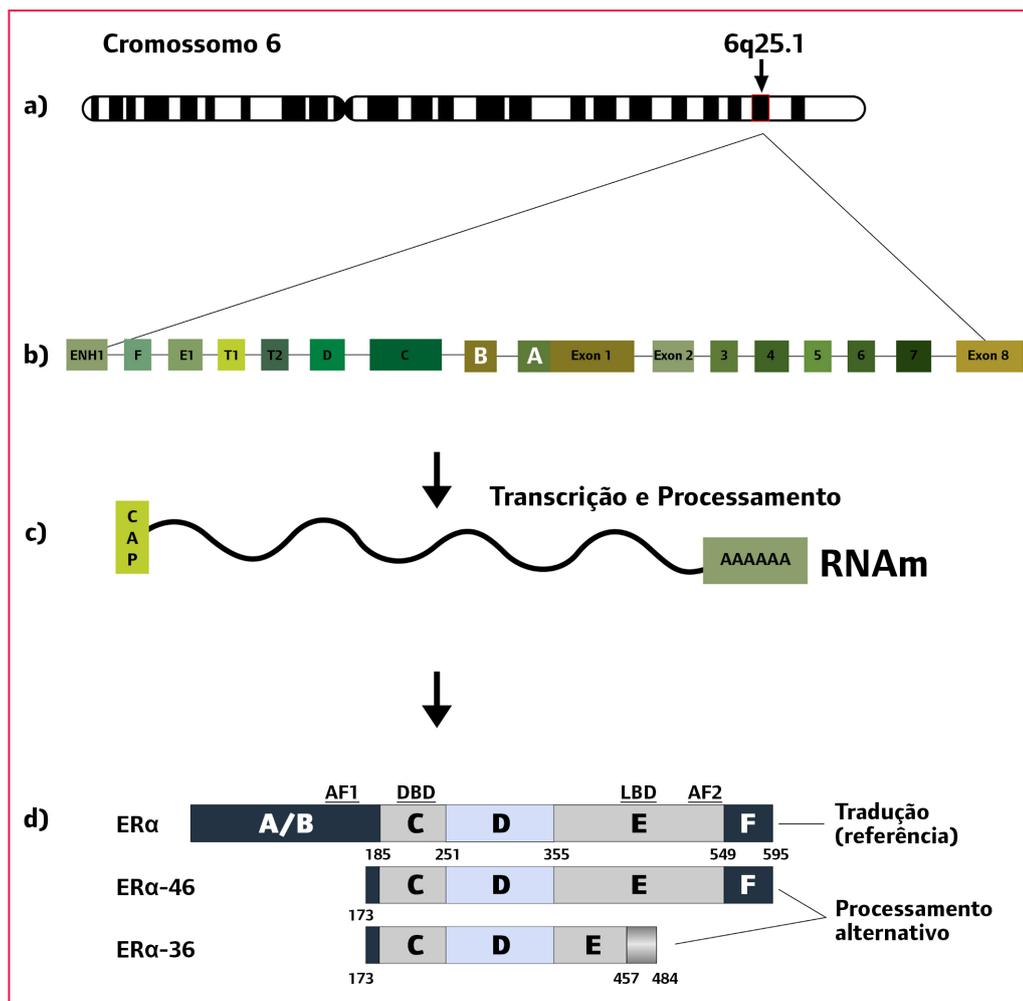
cial quanto a recomposição alternativa resultam em diversos grupos de formas alternativas de RNAm de *ESR1*, o que aumenta a diversidade de proteínas produzidas e pode alterar os domínios funcionais da proteína em diferentes tecidos, como pode ser visto nos exemplos mostrados na Figura 1.

O gene *ESR1* codifica a proteína do receptor de estrogênio alfa ($ER\alpha$), que é composta por cerca de 595 aminoácidos. Essa proteína tem seis regiões diferentes (chamadas de domínios, de A até F) e cada uma desempenha uma função específica. Algumas dessas regiões ajudam o receptor a se ligar ao DNA e ativar genes, enquanto outras servem para receber sinais do estrogênio e desencadear uma série de respostas celulares, conforme explicaremos a seguir. Por exemplo, o domínio C se conecta ao DNA de um gene-alvo, enquanto o domínio E é a parte da proteína à qual o estrogênio se liga diretamente, ativando a resposta. Já o domínio F ajusta como o receptor age em diferentes tecidos do corpo.

Éxons - são sequências de um gene que permanecem no RNAm maduro após seu processamento; são geralmente codificadoras, pois contêm informação para a sequência de aminoácidos na produção de proteínas.

Íntrons - são sequências não codificadoras do gene que serão transcritas no RNAm inicial, mas serão removidas no processo de *splicing* e não farão parte do RNAm maduro.

Recomposição alternativa - também chamado de *splicing* alternativo, é o processo em que um único gene pode formar diferentes tipos de RNAm no processo de *splicing*, pois os éxons podem ser combinados de formas alternativas e, conseqüentemente, diferentes proteínas podem ser produzidas.



Tradução ou síntese

proteica - processo no qual as informações contidas na molécula de RNAm são convertidas em sequências de aminoácidos na proteína.

Figura 1.

Esquema do gene *ESR1*. **a)** Localização no cromossomo 6; **b)** estrutura do gene *ESR1* com diagrama que identifica 8 dos éxons (números 1 a 8) e suas regiões promotoras (ENH1; F; T1; T2; D; C; B; A); **c)** representação do transcrito; **d)** representação da proteína ERα, com seus domínios A, B, C, D, E e F (**tradução** da sequência de referência) e exemplos do resultado proteico após processamento alternativo do RNAm de *ESR1*.

A regulação de ERα

A proteína ERα faz parte da superfamília dos receptores nucleares dos mamíferos e está distribuída em órgãos e tecidos como útero, epidídimo, mama, fígado, rim, tecido adiposo branco, próstata, ovário, testículos, esqueleto e cérebro. Esse receptor possui várias formas de ação dentro das células, que podem ser genômicas ou não genômicas.

As vias de ação genômicas ocorrem por dimerização do ERα. O ERα encontra-se inativo no citosol associado a um complexo inibidor, ligado a **chaperonas**, como Hsp90 e Hsp70, que são proteínas de choque térmico (do inglês, *Heat Shock Proteins* – HSP). O hormônio estrogênio, devido à sua alta solubilidade em lipídios, atravessa facilmente

a membrana celular e liga-se ao ERα, ativando-o. Então, ERα dissocia-se das chaperonas e forma dímeros que migram ao núcleo celular e se ligam ao DNA, ativando os eventos de transcrição gênica (Figura 2). Quando o estrogênio se liga ao ERα, ele funciona como um interruptor que ativa funções importantes no corpo, como a proteção dos ossos e o controle do acúmulo de gordura. Esse mecanismo ajuda a explicar por que o equilíbrio hormonal é tão crucial para a saúde.

As vias de ação não genômicas ocorrem quando o ERα é ativado por outras vias de sinalização celular, por exemplo, quando fatores de crescimento ativam cascatas de proteínas cinases que ativam o receptor. O principal ativador de ERα é o estrogênio, mas ele pode ser também ativado por outros **fatores de crescimento** (como o fator de crescimento epidérmico, EGF).

Chaperonas - são proteínas que auxiliam no correto dobramento de outras proteínas da célula, evitando que as moléculas recém-sintetizadas se dobrem incorretamente ou formem agregados, o que poderia levar à perda de função ou produção de estruturas tóxicas. Também atuam no transporte de proteínas através da membrana e na degradação das proteínas que foram mal dobradas.

Fatores de crescimento - grupo específico de substâncias que desempenham função na comunicação celular, promovendo ativação da proliferação, diferenciação e movimentação e apoptose celular.

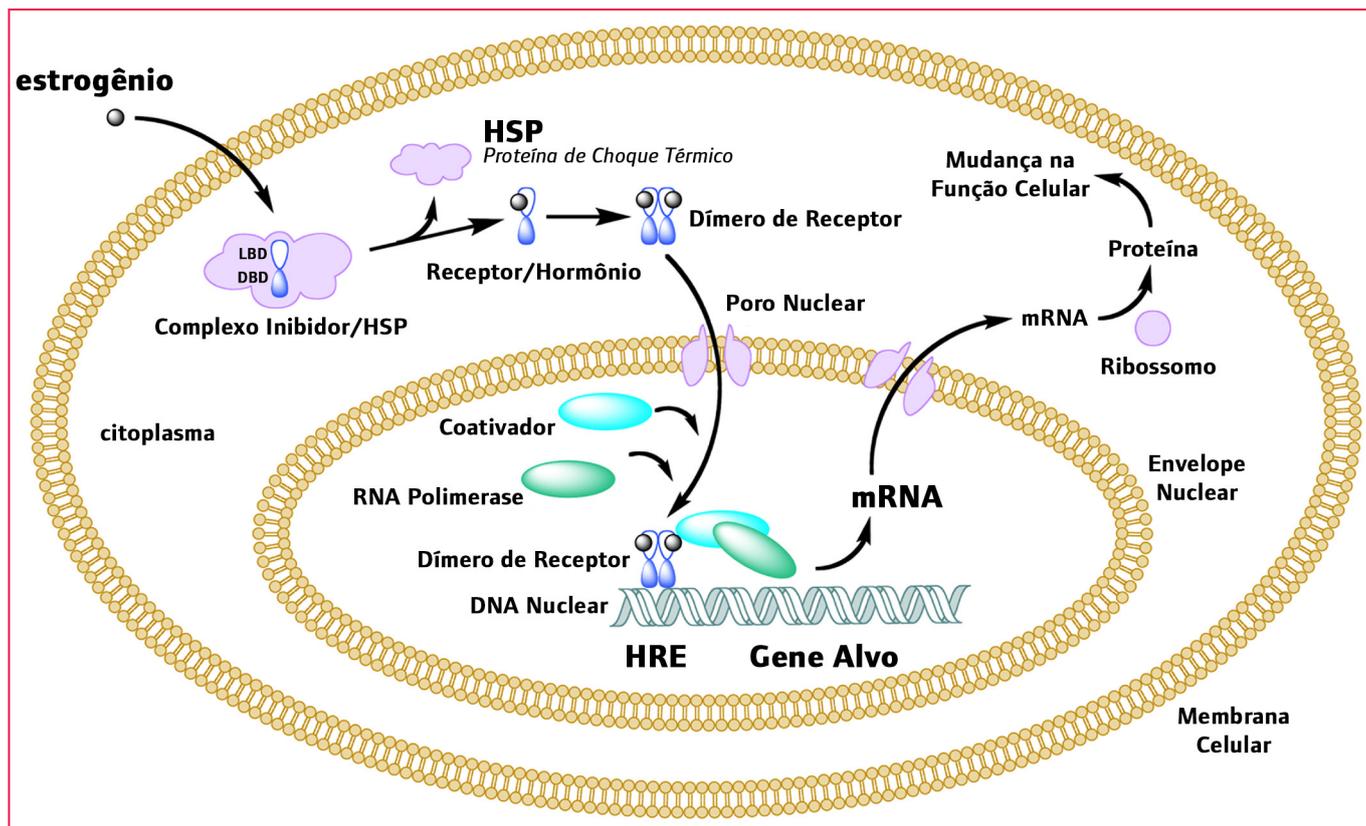


Figura 2. Representação esquemática de uma resposta mediada por receptores nucleares, como o ER α . Legenda: HRE – elementos responsivos hormonais. Figura traduzida de Boghog2. Domínio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2375278>.

Estrogênio é um termo genérico para, pelo menos, quatro hormônios esteroides que ocorrem naturalmente, o estetrol (exclusivamente durante a gravidez), estriol (predominante durante a gravidez), estrona (predominante em mulheres pós-menopausa) e estradiol (estrogênio mais potente biologicamente, predominante em mulheres na idade reprodutiva). O estradiol existe sob duas **formas isoméricas**: 17 alfa-estradiol (17 α -E2) e 17 beta-estradiol (17 β -E2). O 17 β -E2 é o mais potente e biologicamente ativo, com a capacidade de inibir a alimentação, aumentar o gasto energético e limitar o armazenamento de energia, promovendo um equilíbrio energético negativo. É um hormônio esteroide que regula o crescimento, diferenciação e metabolismo em mamíferos. Nas mulheres em idade reprodutiva, as células da **teca ovariana** são as principais fontes de estrogênio. Já nas mulheres em menopausa e em homens, a principal fonte é extragonadal, principalmente o tecido adiposo, além de outras fontes como a pele, os ossos, a musculatura lisa da aorta e endotélio vascular, hipotálamo e amígdala. Nos tecidos extragonadais, as enzimas aromatase (Aro) e 17 beta-hidroxiesteroide são as principais responsáveis pela produção do estrogênio.

Teca ovariana - camada de células ovarianas situadas ao redor dos folículos ovarianos, externamente à camada de células da granulosa, responsável pela proteção dos folículos em desenvolvimento e pela produção dos hormônios femininos.

Formas isoméricas - substâncias diferentes que possuem a mesma fórmula molecular, mas propriedades e fórmulas estruturais diferentes.

Elemento de resposta - sequência específica do DNA ou RNA em que receptores ou proteínas são capazes de se ligar e realizar a ativação da expressão gênica.

ER α pode agir direta ou indiretamente na ativação gênica. Na atuação direta, o dímero de ER α liga-se a um **elemento de resposta** ao estrogênio (ERE), que é uma sequência específica do DNA anterior a um gene alvo da regulação por estrogênio

(Figura 3, letra a). Quando atua indiretamente, interage com um fator de transcrição (FT), como a proteína ativadora 1 (AP-1) ou o **NF- κ B**, e se liga na região promotora

do gene (Figura 3, letra b). Ainda, fatores de transcrição podem ativar proteínas quinases, levando à fosforilação dos dímeros de ER α que farão ligação ao ERE (Figura 3, letra c).

NF- κ B - do inglês *fator nuclear kappa B*, corresponde a uma família de fatores de transcrição com papel central na regulação das respostas imune e inflamatória, resposta ao estresse e ativação de apoptose (ou morte celular programada).

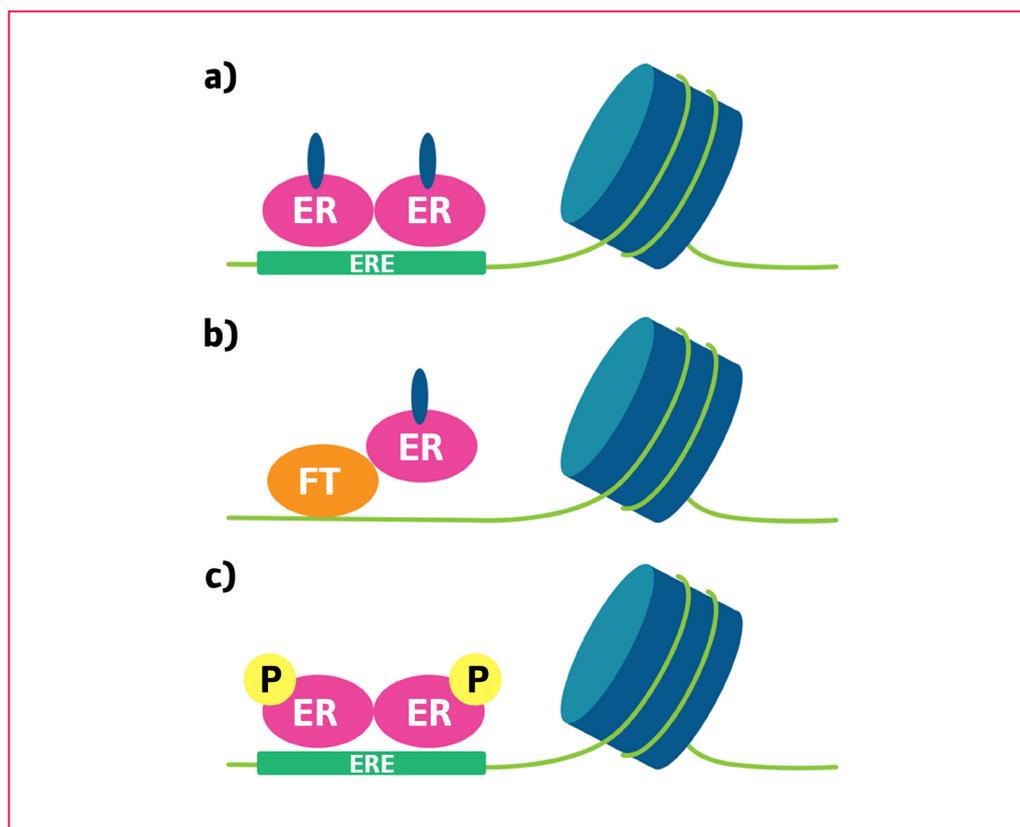


Figura 3. Representação esquemática do DNA com a região de ligação ao elemento de resposta ao estrogênio (ERE). **a)** mecanismo direto de ligação ao DNA, dímeros de ER α ativados por ligante conectados ao ERE; **b)** mecanismo indireto de ligação ao DNA, fatores de transcrição (FT) ligados ao ER α ativado por ligante; **c)** ação genômica independente de ligante, em que fatores de crescimento ativam cascatas de proteínas cinases que levam à fosforilação (ativação) de dímeros de ER α conectados ao ERE.

Imunoprecipitação de cromatina - técnica usada para identificar proteínas que estão ligadas ao DNA no contexto da cromatina, ou seja, na forma como o DNA está organizado dentro do núcleo da célula. O princípio básico envolve o uso de anticorpos específicos que reconhecem a proteína de interesse, permitindo sua captura junto com o DNA ao qual ela está ligada. Posteriormente, o DNA é separado e analisado, revelando os locais específicos onde a proteína interage com o material genético. Essa abordagem ajuda a compreender como os genes são regulados em diferentes condições.

A atuação do ER α , seja de forma direta ou indireta, recruta proteínas correguladoras (coativadoras ou correpressoras) para a região promotora do gene alvo do ER, aumentando ou diminuindo os níveis de RNAm transcritos, que são traduzidos e levam a uma resposta fisiológica. Sendo assim, a regulação da transcrição gênica de ER α é um processo que une diversos e complexos eventos celulares. Estudos que utilizam diversas técnicas e tecnologias têm buscado encontrar os genes alvo de ER. De forma geral, os genes regulados pelos ER estão relacionados a processos celulares anti-apoptóticos, portanto, relacionados à proliferação celular. Em um estudo de genoma amplo de **imunoprecipitação de cromatina** (ChIP) para o receptor de estrogênio, mais de 3600 sítios de ligação foram encontrados.

Variantes genéticas em *ESR1*

Diversas variantes genéticas foram descritas no gene *ESR1* e, aqui, serão abordadas as mais estudadas. Dentre elas estão os STRs – do inglês *Short Tandem Repeat*, também chamados de **microssatélites**, que são repetições de pares de bases. A variação está baseada no número de repetições, como das bases (TA)¹⁴⁻¹⁵ localizada entre as regiões promotoras A e B de *ESR1* (Figura 1) e (GT)¹⁶, também na região promotora, ambos influenciando na transcrição ou na estabilização do RNAm.

Os SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*) são pequenas variações na sequência de bases do DNA, nas quais um único nucleotídeo é substituído por outro. Essas alterações podem impactar a proteína produzida quando ocorrem em regiões do DNA que codificam proteínas ou influenciar a expressão dos genes quando estão em áreas que regulam sua atividade.

Dois exemplos bem estudados no gene *ESR1* são os SNPs rs2234693 e rs9340799, localizados em uma região não codificadora (intron 1). A base C no rs2234693 está relacionada a uma maior expressão do *ESR1*, enquanto a presença da base T no rs2234693 e da base G no rs9340799 diminuem a expressão do gene, pois aumentam a ligação de proteínas que regulam a atividade genética, como E2A, TFAP4 e outras. Esses SNPs estão frequentemente associados a outros **polimorfismos** próximos, uma condição chamada de **desequilíbrio de ligação**, como ocorre com rs2175898, rs712221 e outros. Além disso, o SNP rs9340799 interage com um gene chamado *MTHFR*, que também apresenta uma variação genética conhecida como rs2274976. Essa interação entre os dois genes é chamada de **epistasia**, ou seja, um gene influencia o funcionamento do outro. O gene *MTHFR* é importante porque ajuda a produzir substâncias chamadas grupos metil, que são essenciais para controlar a atividade dos genes no nosso DNA. Quando ocorre a variação rs2274976 no gene *MTHFR*, esse processo pode ser alterado, impactando o funcionamento de outros genes, como o

ESR1. Na presença da variação rs9340799, que aumenta a produção do receptor de estrogênio, essa interação pode afetar processos regulados pelo hormônio, como o metabolismo e o crescimento das células.

Esses polimorfismos no *ESR1* estão associados a várias condições de saúde, como maior risco para câncer de mama, obesidade, crescimento fetal restrito, pré-eclâmpsia, idade da menarca, puberdade precoce, endometriose, diabetes tipo 2, entre outros.

ESR1 e câncer (CA) de mama

ESR1 é frequentemente implicado no câncer (CA) de mama, uma doença multifatorial caracterizada pelo crescimento descontrolado de células malignas do tecido mamário. A doença acomete principalmente mulheres, sendo uma das principais causas de morte da população feminina, embora também ocorra em homens. Diversos fatores de risco contribuem para o desenvolvimento da doença, como consumo de álcool e cigarro, obesidade e inatividade física, assim como variantes genéticas em genes de predisposição a esse tipo de câncer, como *BRCA1* e *BRCA2*, que contribuem de maneira expressiva para a doença.

Além das variantes genéticas, combinações específicas de polimorfismos em genes que codificam receptores hormonais podem constituir um estimador de risco de câncer. Estudos indicam que polimorfismos no gene *ESR1* contribuem para a carcinogênese mamária, sendo essa uma condição multifatorial, ou seja, a presença de variantes em diferentes genes contribui para o risco, além dos fatores ambientais. Dentre as variantes, destacam-se os microssatélites, como a repetição dos dinucleotídeos (TA)¹⁴⁻¹⁵ e os (GT)¹⁶, presentes na região promotora do gene *ESR1*, que não são transcritos, mas atuam como sítios de ligação para proteínas que regulam o processo de transcrição gênica. Essas variações de sequência podem estar associadas a alterações de função em genes adjacentes. Os polimorfismos rs2234693 e rs9340799, anteriormente mencionados, também estão relacionados a um maior risco de CA de mama.

Polimorfismos do tipo microssatélites - regiões do genoma altamente variáveis, as quais são constituídas por sequências curtas repetitivas (STR – do inglês *Short Tandem Repeat*). O seu comprimento varia na população, pois o número de cópias das sequências repetitivas é variável.

Polimorfismos - variações na sequência do DNA genômico que podem ocorrer em um único nucleotídeo ou em sequências maiores, como as inserções e deleções de alguns pares de bases no DNA, com frequência de pelo menos 1% na população.

Desequilíbrio de ligação - associação não aleatória de **alelos** em dois ou mais loci gênicos que estão no mesmo cromossomo.

Alelos - são as formas alternativas de um determinado gene em um mesmo locus (posição) em cromossomos homólogos.

Epistasia - interação entre alelos de diferentes loci gênicos, com um locus influenciando a expressão fenotípica do outro.

Em casos de CA de mama, o ER α é um importante biomarcador de predição de desfecho. Quando o tecido tumoral expressa o receptor de estrogênio, é classificado como ER+ (*Estrogen Receptor* positivo), quando ausente é tido como ER- (*Estrogen Receptor* negativo). Aproximadamente 70 a 75% dos casos são ER+ e isso permite a resposta ao tratamento medicamentoso que visa antagonizar a ação do estrogênio, com o objetivo de destruir as células tumorais. O receptor ER α é o alvo primário dessa terapia hormonal, sendo que a ligação do fármaco a esse receptor ocorre na região AF2. Apesar de sua grande eficácia, há casos de resistência intrínseca (desde o início) ou resistência adquirida à terapia farmacológica, sendo um importante obstáculo para o tratamento de câncer de mama, e isso se relaciona à progressão da doença no cenário metastático, ou seja, quando as células cancerosas se espalharam para outras partes do corpo.

A falha em responder à terapia hormonal pode ser causada por muitos mecanismos, como mutações com perda de função de *ESR1*, fusões de *ESR1* com outros genes, perda de expressão de receptor, entre outros. Até o momento, mais de 50 variações do tipo SNP em *ESR1* já foram descritas em amostras de CA de mama. A grande maioria das que são patogênicas e contribuem para a resistência à terapia hormonal se localizam entre os códons correspondentes aos aminoácidos 536-538, na região de domínio de ligação à molécula ligante a AF2. Nessas posições, ocorrem as alterações dos aminoácidos tirosina para serina na posição 537 (p.Tyr537Ser) e ácido aspártico para glicina na posição 538 (p.Asp538Gly), correspondendo a cerca de 70% das mutações encontradas em *ESR1* nos casos de tumor ER+ resistentes ao tratamento, como demonstrado na Figura 4. Ambas as mutações fazem com que o ER α permaneça constantemente ativo, mesmo sem a presença do estrogênio.

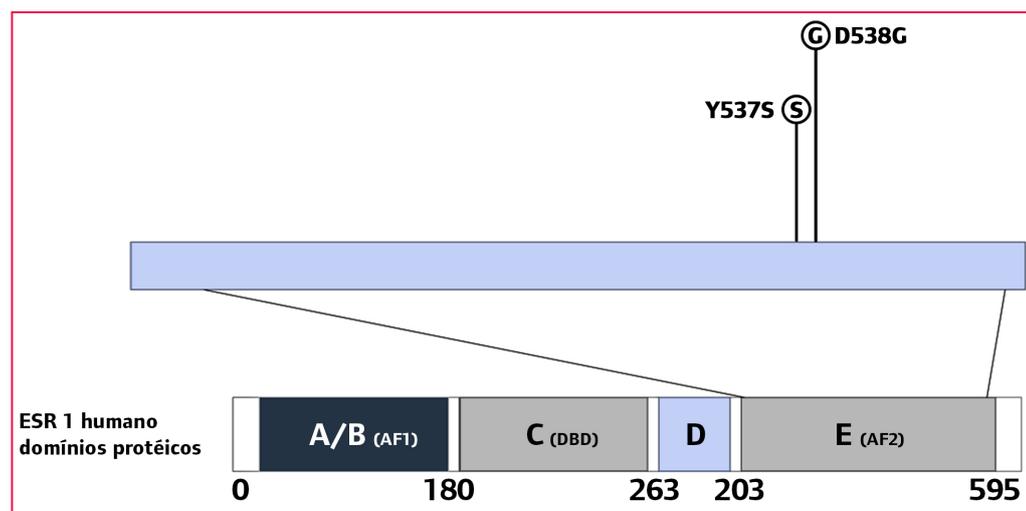


Figura 4.

Representação esquemática da localização, na proteína, das mutações relacionadas à menor resposta à terapia hormonal em casos de câncer de mama resistentes ao tratamento. As posições dos aminoácidos 537 e 538, com as substituições proteicas de tirosina para serina (Y537S) e ácido aspártico para glicina (D538G), respectivamente, ressaltadas.

ESR1 e obesidade

Outra condição associada aos polimorfismos do gene *ESR1* é a obesidade, que é um importante fator de risco para doenças cardiometabólicas, como diabetes tipo 2 (DM2), dislipidemia, hipertensão e doença arterial coronariana (DAC), além de estar associada à mortalidade prematura, representando uma grave ameaça à saúde pública. Resulta de complexa interação entre fatores ambientais e biológicos, com forte componente ge-

nético envolvido na variação interindividual do peso corporal, que determina a resposta ao ambiente “obesogênico”. Dentre os genes envolvidos na resposta multifatorial, alterações no gene *ESR1* representam um relevante fator de risco.

Em adultos, a distribuição e o metabolismo do tecido adiposo variam de acordo com o sexo e são regulados por esteroides sexuais, especialmente estrogênios, que afetam a diferenciação e a atividade secretora dos adipócitos, a capacidade de armazenamento

de lipídios no tecido adiposo e a resistência à insulina (condição metabólica em que há redução da resposta celular ao hormônio insulina). Os estrógenos atuam principalmente na ativação dos ER que estão presentes em diversas células do corpo, incluindo os adipócitos.

Estudos apontam para uma associação entre acúmulo de gordura, disfunção mitocondrial e redução da expressão do RNA de *ESR1* em tecido adiposo de indivíduos obesos em comparação com indivíduos não obesos. Gêmeos idênticos, que diferem em relação ao índice de massa corporal (IMC), apresentam diferentes assinaturas de expressão em genes mitocondriais de adipócitos, indicando uma relação entre disfunção mitocondrial e adiposidade. Em modelos animais de roedores, a deleção do gene que codifica $ER\alpha$ em adipócitos interferiu no equilíbrio metabólico, influenciando no ganho de peso nesses animais. A expressão de *ESR1* foi ainda inversamente associada com gordura abdominal e positivamente correlacionada à sensibilidade à insulina. Logo, indivíduos com menor expressão de *ESR1* tendem a ter maior acúmulo de tecido adiposo e resistência à insulina, características da **disfunção metabólica**. Embora mulheres possam ter menor propensão à doença metabólica do que homens, a menopausa reverte essa proteção, pois leva à troca do tipo de estrogênio produzido, de estradiol por estrona.

Após a menopausa, ocorre declínio na sensibilidade à insulina, o que coincide com um aumento expressivo no IMC, nos níveis de marcadores inflamatórios circulantes, do colesterol do tipo LDL (do inglês *low-density lipoprotein*), triglicerídeos e ácidos graxos. O $ER\alpha$ pode influenciar a expressão de proteínas envolvidas na regulação dos lipídios plasmáticos, como apolipoproteína E e receptor de LDL. Diversos polimorfismos estão envolvidos na mediação dos efeitos do estrogênio sobre o metabolismo de LDL, HDL (do inglês *high-density protein*) e triglicerídeos. No caso do polimorfismo rs2234693, o genótipo C/C foi associado a uma melhor resposta ao medicamento hipolipemiante oral (sinvastatina/atorvastatina), com maior aumento de HDL comparado aos indivíduos com genótipo C/T e T/T, sendo o aumento de HDL

relacionado ao menor risco cardiovascular. Esses achados colocam *ESR1* como potencial alvo para medicamentos que intensifiquem o metabolismo celular de gorduras, podendo auxiliar futuramente no combate à obesidade e condições metabólicas associadas.

O que aprendemos?

Descobrimos que o gene *ESR1*, que codifica o receptor de estrogênio 1 ($ER\alpha$), funciona como um maestro que regula várias atividades no corpo, como a resposta ao estrogênio e o controle do metabolismo. Ele contribui de forma importante como fator de risco em doenças multifatoriais como o câncer de mama e a obesidade. Ao entender melhor como as variantes desse gene funcionam, podemos avançar em tratamentos personalizados, ajudando pacientes a lidar com condições metabólicas e a responder melhor a terapias medicamentosas, incluindo as hormonais.

Para saber mais

GIBSON, Douglas A.; SAUNDERS, Philippa T.K.. Estrogen dependent signaling in reproductive tissues – A role for estrogen receptors and estrogen related receptors. *Molecular And Cellular Endocrinology*, [S.L.], v. 348, n. 2, p. 361-372, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.09.026>.

GRINSHUPUN, Albert; CHEN, Vincent; SANDUSKY, Zachary M.; FANNING, Sean W.; JESSELSON, Rinath. *ESR1* activating mutations: from structure to clinical application. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer*, [S.L.], v. 1878, n. 1, p. 188830-188838, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188830>.

HEVENER, Andrea L.; RIBAS, Vicent; MOORE, Timothy M.; ZHOU, Zhenqi. $ER\alpha$ in the Control of Mitochondrial Function and Metabolic Health. *Trends In Molecular Medicine*, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 31-46, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2020.09.006>.

SUN, J.W.; COLLINS, J.M.; LING, D.; WANG, D. Highly Variable Expression of *ESR1* Splice Variants in Human Liver: Implication in the Liver Gene Expression Regulation and Inter-Person Variability in Drug Metabolism and Liver Related Diseases. *J Mol Genet Med*. 2019;13(3):434. Epub 2019 Sep 30. PMID: 32457812; PMCID: PMC7249510.

Disfunção metabólica - conjunto de distúrbios que ocorrem quando os processos metabólicos do organismo funcionam de maneira inadequada.