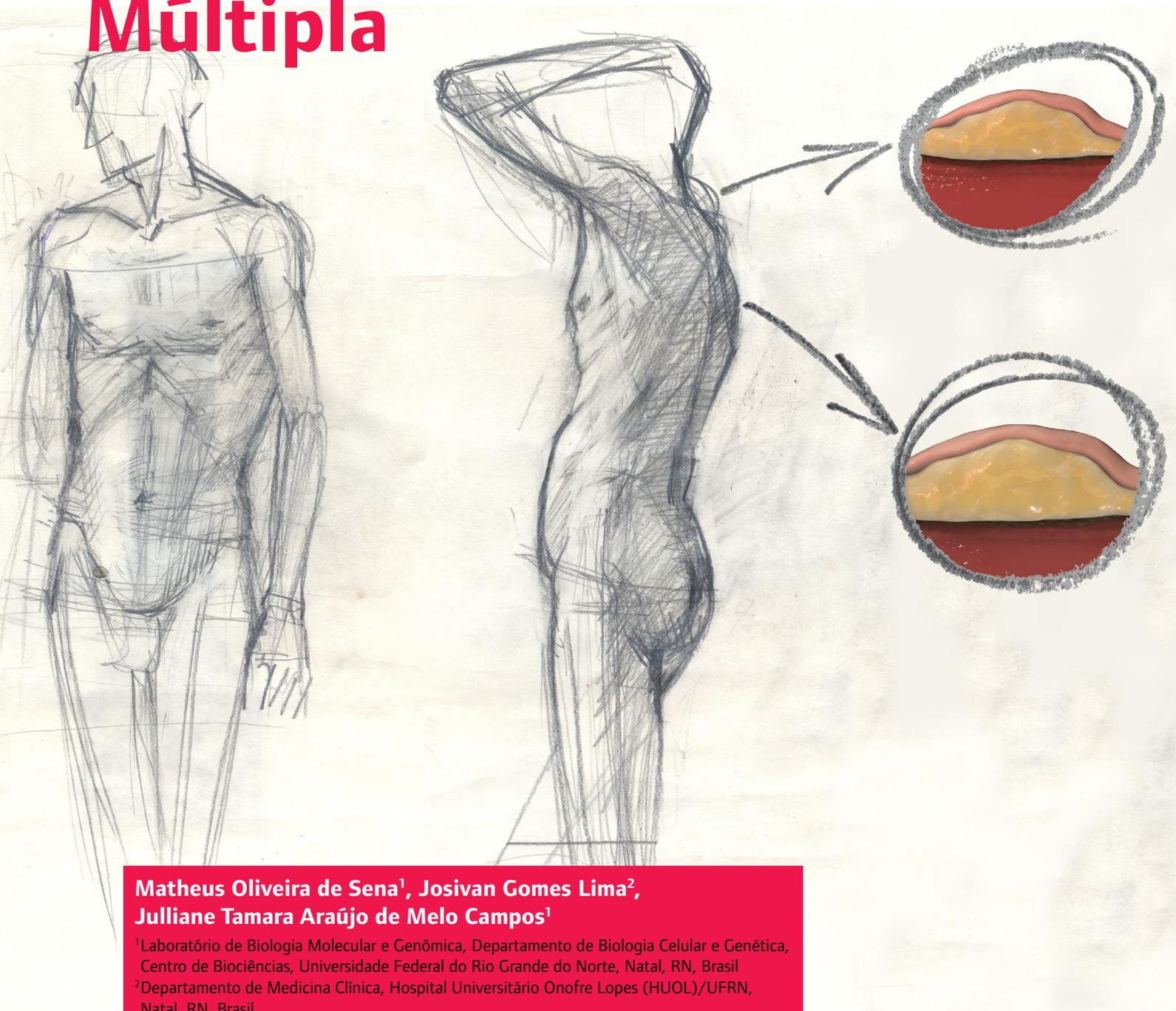


O gene *MFN2* e sua associação com a Lipomatose Simétrica Múltipla



Matheus Oliveira de Sena¹, Josivan Gomes Lima²,
Julliane Tamara Araújo de Melo Campos¹

¹Laboratório de Biologia Molecular e Genômica, Departamento de Biologia Celular e Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil

²Departamento de Medicina Clínica, Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL)/UFRN, Natal, RN, Brasil

Autor para correspondência - tamara_bio@yahoo.com.br

Palavras-chave: lipomatose simétrica múltipla, lipomas, tecido adiposo, mitofusina 2, mitocôndria

O gene *MFN2* codifica a proteína mitofusina 2. Uma variante patogênica pontual na sequência nucleotídica deste gene resulta na rara doença mitocondrial conhecida como Lipomatose Simétrica Múltipla (LSM). A LSM caracteriza-se fenotipicamente pelo desenvolvimento de lipomas benignos principalmente nas regiões supraclavicular, interescapular e pescoço.

Tecido adiposo - Tipo de tecido conjuntivo que apresenta diferentes funções fisiológicas, como armazenamento de gordura (lipídeos), termogênese, proteção contra choques mecânicos e função endócrina (secretando hormônios). É dividido funcionalmente em tecido adiposo multilocular (ou marrom) e tecido adiposo unilocular (ou branco).

Síndrome metabólica - Condição caracterizada por altos níveis de colesterol e glicose no sangue, alto índice de gordura em torno da cintura e hipertensão arterial. Esses fatores aumentam consideravelmente os riscos de ocorrer um acidente vascular cerebral ou um ataque cardíaco.

Atividade termogênica - Produção de calor a partir do desacoplamento da cadeia -transportadora de elétrons durante a cadeia respiratória, a qual ocorre na membrana interna da mitocôndria, gerando calor ao invés de ATP.

Lipólise - Quebra de moléculas de triacilglicerol em moléculas de ácidos graxos e glicerol. Este processo ocorre por meio das enzimas denominadas lipases.

O tecido adiposo marrom, a termogênese e a mitofusina 2

O **tecido adiposo** tem sido extensivamente estudado nos últimos anos devido à sua associação com o desenvolvimento da obesidade, **síndrome metabólica**, **diabetes tipo 2** e **resistência à insulina**. Classicamente, existem dois tipos de tecido adiposo: o branco (WAT, do inglês “*White Adipose Tissue*”) e o marrom (BAT, do inglês, “*Brown Adipose Tissue*”). Enquanto o WAT é o local primário de deposição de triacilgliceróis (gordura) proveniente da dieta, o BAT desempenha **atividade termogênica** por meio do aumento de gasto energético através do desacoplamento da cadeia respiratória. Além do aumento do gasto energético, a ativação do BAT também resulta no aumento da tolerância à glicose.

Os primeiros estudos sobre a localização e fisiologia do BAT reforçaram que este tecido teria função mais significativa nos recém-nascidos, auxiliando na manutenção da temperatura corporal após o nascimento. Contudo, o BAT continua presente em adultos, principalmente ao redor dos vasos e das vértebras, entre as escápulas, abaixo das clavículas e axilas, além de estar associado a pâncreas, baço e rins. Atualmente, sabe-se que o BAT possui importantes funções na regulação do metabolismo e no balanço energético, sendo considerado um tecido alvo para intervenções terapêuticas para o tratamento da obesidade e do diabetes tipo 2 devido às suas funções benéficas para o metabolismo. Em condições de exposição ao frio ou de exercício físico, ocorre **sinalização adrenérgica**, a qual ativa o processo de **lipólise** no BAT, que promoverá a **hidrólise** de triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos. Com isso, os ácidos graxos resultantes entram na mitocôndria para oxidação lipídica, onde serão utilizados na cadeia transportadora de elétrons para produzir calor (termogênese).

Diabetes tipo 2 - Doença crônica caracterizada pela resistência do organismo à insulina, resultando em altos níveis de glicose na corrente sanguínea. Alguns sintomas como sensação de boca seca, vontade frequente de urinar e grande perda de peso sem motivo aparente são marcantes na doença.

Resistência à insulina - Condição na qual o corpo do indivíduo não responde ao hormônio da insulina, resultando no acúmulo de glicose na corrente sanguínea, o que pode levar ao desenvolvimento de diabetes tipo 2.

Sinalização adrenérgica - Sensibilização dos receptores adrenérgicos, resultando em respostas fisiológicas e metabólicas como, por exemplo, alteração da frequência cardíaca, tensão muscular, lipólise e atividade termogênica.

Hidrólise - Processo químico no qual ocorre quebra de uma molécula em meio aquoso.

A Lipomatose Simétrica Múltipla (LSM) e sua associação com o gene *MFN2*

A LSM é uma doença genética de caráter autossômico recessivo, também conhecida como doença de Madelung ou doença de Lanois-Bensaude. Foi mencionada na literatura pela primeira vez em 1846 por Benjamin Brodie, no St. George Hospital de Londres e, poste-

riormente, relatada como uma doença específica por Otto Madelung, a partir da observação de 33 pacientes, em 1888. Dez anos depois, foi caracterizada por Lanois e Bensaude em uma série de 65 casos de pacientes com uma entidade clínica bem definida, denominada Lipomatose Simétrica Benigna. A principal manifestação **fenotípica** dessa doença é o depósito de tecido adiposo de caráter benigno, os chamados lipomas. Estes podem ser de rápido crescimento, principalmente na região cervical, dorso e, mais raramente nos membros (superiores e inferiores), face e genitália (Figura 1). Geralmente o aparecimento dos lipomas está associado com complicações metabólicas, podendo ou não apresentar **neuropatia axonal**.

Característica fenotípica

- Característica observável, determinada pela interação entre a genética do indivíduo e o ambiente no qual ele se encontra.

Neuropatia axonal -

Degeneração do axônio dos neurônios, causando perda sensorial e motora no paciente afetado.

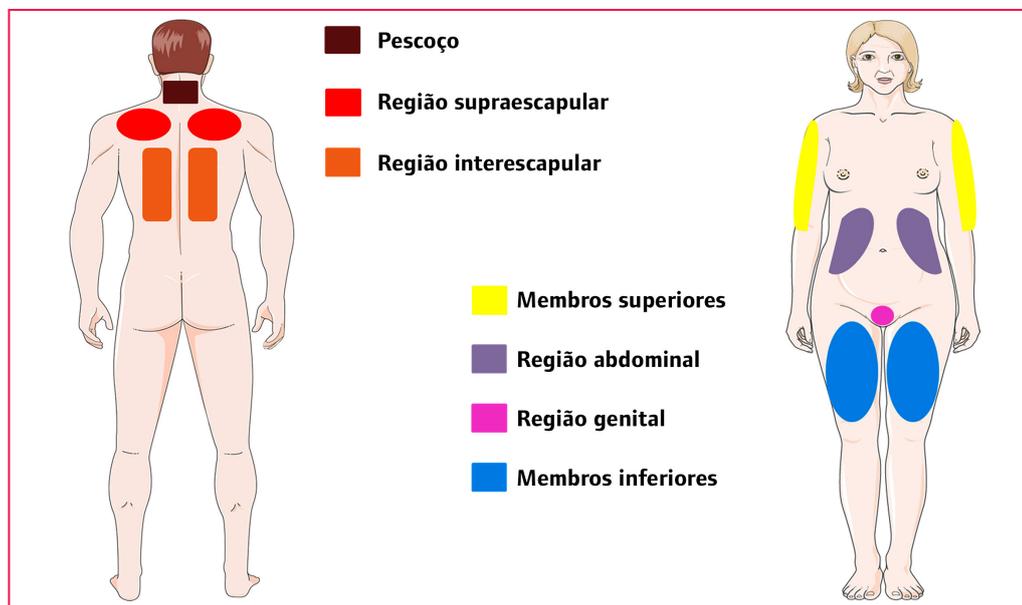


Figura 1.

Regiões do corpo nas quais os lipomas benignos podem se desenvolver. A região do pescoço, supraescapular e interescapular são as mais comumente afetadas pela doença. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

O gene nuclear *MFN2*, localizado no cromossomo 1, no braço curto, região 3, banda 6 (1p36.22) (Figura 2), apresenta um total de 17 éxons, sendo responsável por codificar a proteína mitofusina 2 (Figura 3A), a qual tem 757 aminoácidos em sua estrutura (Figura 3B). Embora o gene *MFN2* seja onipresente nos tecidos dos mamíferos, ele apresenta maiores níveis de expressão em tecidos com alta concentração mitocondrial, como no coração, músculo estriado esquelético e no BAT. Inúmeras variantes patogênicas já foram encontradas e descritas ao longo do gene *MFN2*. A maioria delas é responsável pela manifestação de uma neuropatia axonal denominada Charcot-Marie Tooth do tipo 2A (CMT2A). Porém, até o momento,

apenas a **variante patogênica** c.2.119 C>T neste gene está relacionada ao desenvolvimento da LSM quando presente em homozigose. Esta variante ocorre no **éxon 17**, na posição 2119 da região codificadora do gene *MFN2*, resultando na substituição de uma citosina por timina no DNA, e do aminoácido arginina, localizado na posição 707, pelo triptofano (p.Arg707Trp) na proteína (Figura 3). Nesses casos, o indivíduo pode ou não desenvolver neuropatia axonal. Por sua vez, quando a variante c.2.119 C>T está presente em heterozigose com outras variantes patogênicas em *MFN2* (heterozigoto composto), o indivíduo desenvolve neuropatia axonal com pouco ou nenhum acometimento do tecido adiposo.

Variante patogênica -

Alteração permanente na sequência do DNA que leva ao desenvolvimento de uma doença.

Éxon - Sequência do gene (conjunto de bases nitrogenadas) que são transcritas e posteriormente traduzidas em uma sequência de aminoácidos, diferentemente dos íntrons, os quais não são traduzidos.

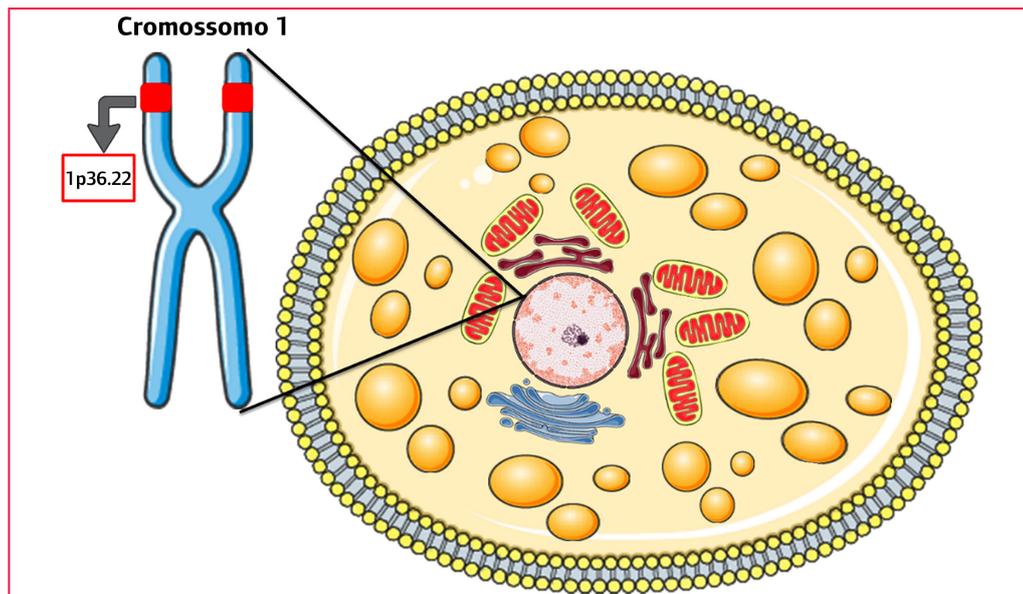


Figura 2. Representação esquemática da localização nuclear do gene *MFN2* em um adipócito marrom (BAT), o qual possui inúmeras gotículas lipídicas e mitocôndrias em seu citoplasma. O gene mitocondrial *MFN2* está presente no genoma nuclear. Porém, a proteína mitofusina 2, codificada por este gene, é direcionada para a mitocôndria, onde exercerá suas funções termogênicas e metabólicas. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

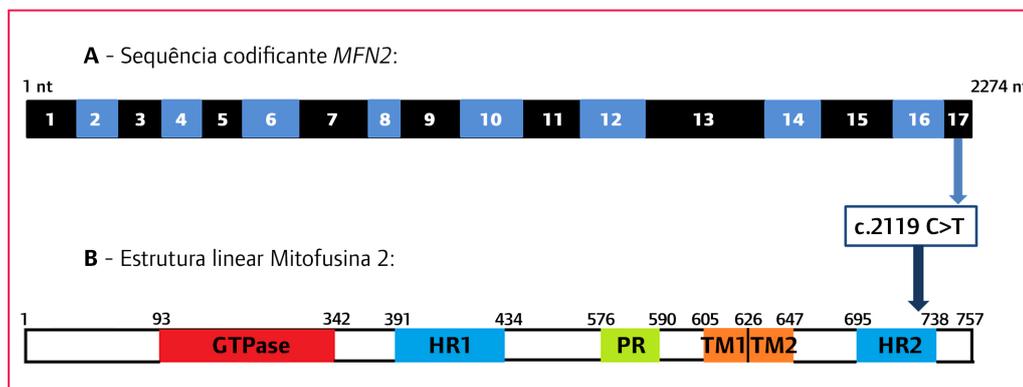


Figura 3. A) Sequência codificante do gene *MFN2*, na qual os retângulos intercalados pretos e azuis representam éxons, resultando num total de 2274 pares de bases de nucleotídeos. B) Estrutura primária (ou linear) da proteína mitofusina 2, evidenciando seus principais domínios: GTPase, HR1 (repetição hepta 1), PR (rico em prolina), TM1 (transmembrana 1), TM2 (transmembrana 2) e HR2 (repetição hepta 2). A variante patogênica na posição 2119 da região codificadora do gene *MFN2* é responsável por alterar o aminoácido arginina, localizado na posição 707, pelo triptofano (p.Arg707Trp), afetando o domínio HR2 na sequência linear (estrutura primária) da proteína mitofusina 2. A sequência referência utilizada para a criação da imagem do gene *MFN2* foi a NM_014874.4. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

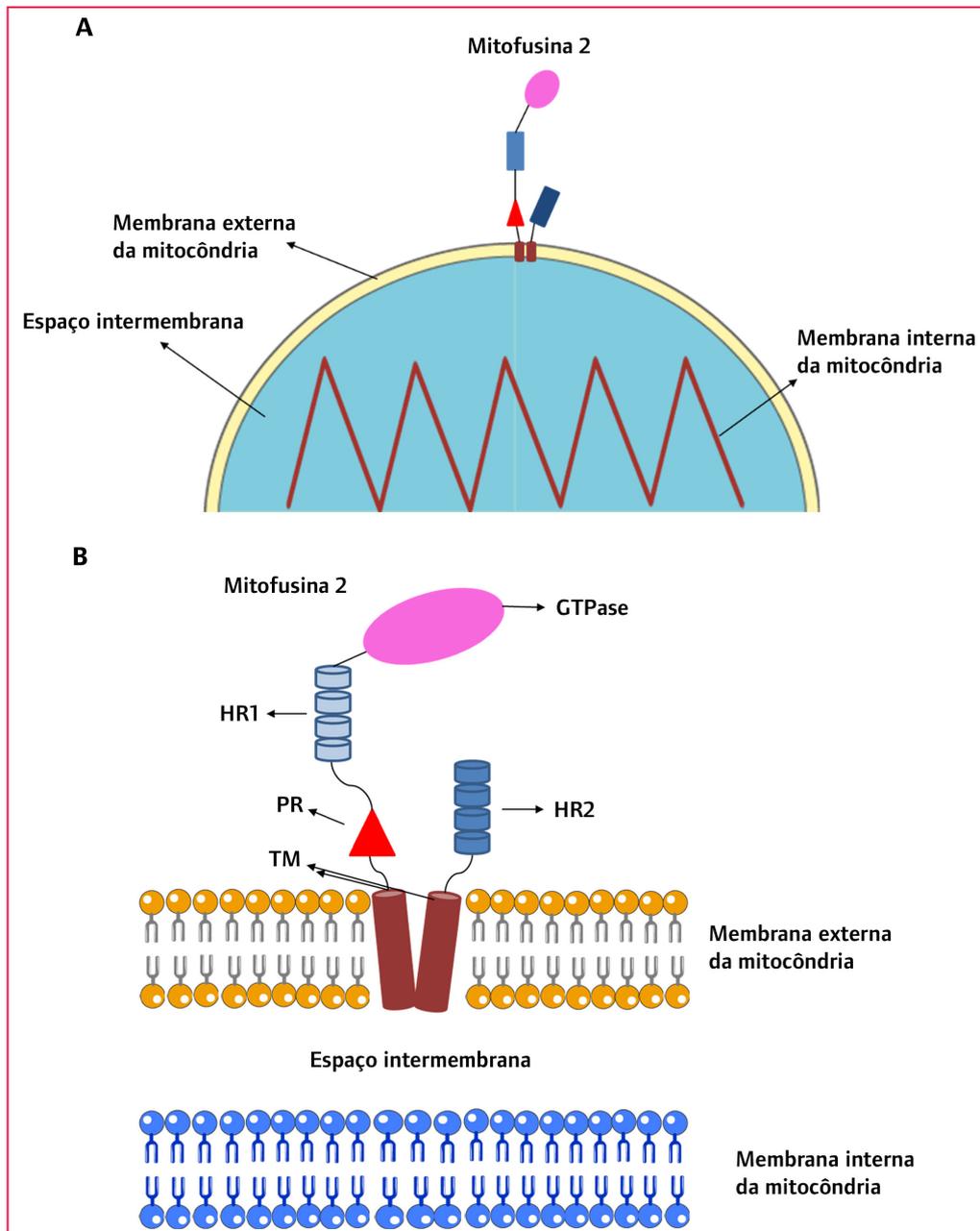
A proteína mitofusina 2

As mitocôndrias se encontram, na maioria das células, dispostas em redes tubulares extremamente dinâmicas e se caracterizam como uma organela citoplasmática de extrema importância para a fisiologia celular, indo muito além da produção de adenosina trifosfato (ATP). A mitofusina 2 é uma proteína localizada na membrana externa da mitocôndria, pertencente à família das **GTPases**, que atua em importantes eventos celulares relacionados à fisiologia mitocondrial. Essa proteína atua promovendo interações entre a mitocôndria e o retículo endoplasmático (RE), sendo uma proteína chave na justaposição entre essas organelas (Figura 4). A comunicação entre o RE e a mitocôndria ocorre através de **interações homotípicas** de mitofusina 2 (ou **heterotípicas** com mitofusina 1), numa região específica da membrana do RE que se encontra associada à mitocôndria. Nessa região, importantes funções celulares são desempenhadas, tais como: síntese e troca de lipídios, homeostase do cálcio e apoptose.

GTPase - Família de enzimas hidrolases (necessitam da água para promover a quebra de ligação) responsáveis por hidrolisar a molécula de GTP.

Interações homotípicas - Interações entre moléculas idênticas (exemplo: interação entre mitofusina 2 com outra mitofusina 2).

Interações heterotípicas - Interações entre moléculas diferentes (exemplo: interação da mitofusina 2 com a mitofusina 1).

**Figura 4.**

Localização e estrutura da mitofusina 2. **A)** Localização mitocondrial da proteína mitofusina 2. **B)** Abaixo é possível ver a estrutura de forma ampliada da proteína, ancorada na membrana externa da mitocôndria através de seus domínios transmembranas (TM). Além disso, são observados outros domínios dessa proteína, como o rico em prolina (PR), os de repetição hepta (HR1 e HR2) dispostos na forma de espiral em bobina e o GTPase. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

É importante compreender que as mitocôndrias não são organelas estáticas. Elas participam de processos dinâmicos intracelulares de **fusão** e **fissão** mitocondrial. Ambos os processos devem estar em equilíbrio para manter as funções da célula, incluindo o controle da função mitocondrial e do ciclo celular. A fusão mitocondrial promove a união de mitocôndrias através da membrana externa, formando uma rede mitocondrial que permite a troca de substâncias e o aumento da produção energética, tanto em relação à proteína mitofusina 2 quanto à proteína mitofusina 1, codificada pelo gene *MFN1*. Já

a fissão mitocondrial é o processo reverso, causando a separação de mitocôndrias e permitindo a eliminação de seu conteúdo ou de mitocôndrias danificadas.

Em mitocôndrias opostas, a mitofusina 1 e 2 interagem fisicamente através da formação de dímeros antiparalelos (trans) entre seus respectivos domínios HR2 (repetição hepta 2) (do inglês, *heptad-repeat domain*) (Figura 3B). Esta interação é responsável por unir fisicamente mitocôndrias diferentes; porém, não é suficiente para completar a fusão mitocondrial (Figura 5). Células possuindo

Fusão mitocondrial - Processo de união física em que se forma uma rede de mitocôndrias para a troca de conteúdos mitocondriais, sendo altamente vantajoso no contexto de uma célula sob alta demanda energética.

Fissão mitocondrial - Processo inverso da fusão mitocondrial, promovendo a separação física entre mitocôndrias. Estes dois mecanismos devem estar em equilíbrio na célula.

variantes patogênicas nos genes *MFN1* e *MFN2* demonstraram morfologia mitocondrial aberrante, bem como fragmentação de suas redes. A deficiência de *MFN2*, mas

não de *MFN1*, leva à profunda disfunção do BAT, prejudicando a capacidade respiratória celular e as respostas ao estímulo adrenérgico que ocorrem nesse tecido.

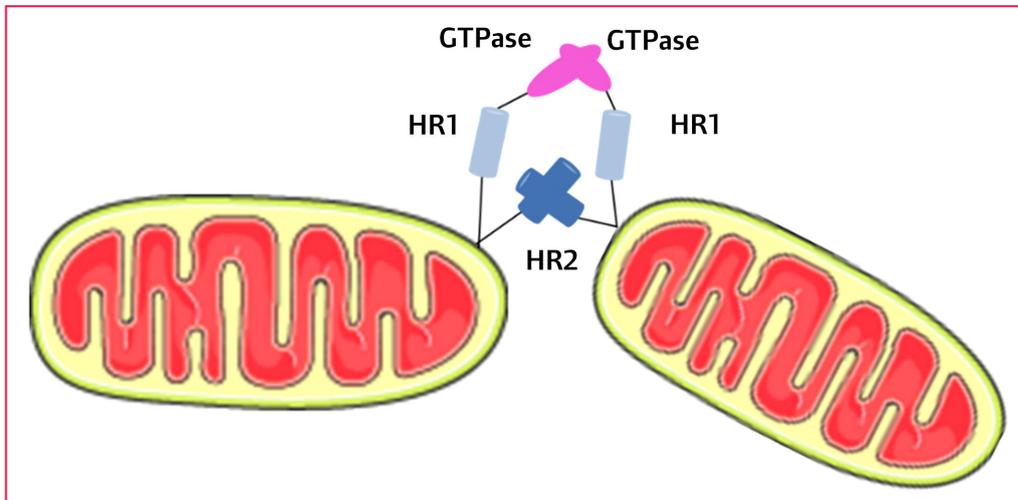


Figura 5.

Demonstração simplificada do papel da mitofusina 2, evidenciando a interação entre os domínios HR2 (verde claro) de diferentes mitocôndrias, no processo de justaposição durante a fusão mitocondrial. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

A mitofusina 2 possui alta expressão no BAT, desempenhando papel fundamental na função termogênica desse tecido por meio do acoplamento da mitocôndria com a gotícula lipídica (situada no interior do adipócito). A mitofusina 2 auxiliará nesse processo através de sua interação com a perilipina 1, proteína expressa nos adipócitos. A perilipina 1 estabiliza as gotículas lipídicas, as quais contêm as gorduras provenientes da dieta, através da inibição da enzima **lipase de triglicérides do tecido adiposo (ATGL)**, uma das enzimas responsáveis pela liberação de ácidos graxos livres para a corrente sanguínea (lipólise). Essa inibição facilita a interação da mitocôndria e a gotícula lipídica dos adipócitos em resposta à estímulos adrenérgicos e protege as células e tecidos da lipotoxicidade, resistência à insulina e do estresse de RE. Dessa forma, a perilipina 1 regula a hidrólise dos gorduras armazenadas nas gotículas lipídicas, evitando a lipólise, processo através do qual ocorre a liberação de ácidos graxos para serem utilizados na produção energética e de calor (termogênica). Por sua vez, a mitofusina 2 contribui para o metabolismo do BAT através do acoplamento das mitocôndrias com as gotículas lipídicas e da manutenção da capacidade oxidativa mitocondrial.

A mitofusina 2 também está relacionada à resposta às proteínas mal dobradas (UPR, do inglês "Unfolded Protein Response") e ao estresse de RE, mecanismo de resposta ao mau do-

bramento de proteínas. Isso ocorre porque a UPR está relacionada a uma maior tensão em regiões onde a membrana do RE se encontra associada à mitocôndria. Essas regiões tensionadas apresentam a proteína mitofusina 2 como um intermediador entre a mitocôndria e o RE. Estudos com roedores e moscas do gênero *drosophila* sp. demonstraram que a **ablação** do gene *MFN2* induz estresse de RE, ratificando a importância da mitofusina 2 na manutenção das funções do RE.

Manifestações Clínicas da LSM

Dentre as características fenotípicas e clínicas manifestadas por pacientes que apresentam a LSM, causada pela variante patogênica no gene *MFN2*, destacam-se: o desenvolvimento de lipomas benignos não encapsulados distribuídos simetricamente nas regiões de pescoço (chamado também de "colar de cavalo"), interescapular e supraclavicular. Essas duas últimas localizações constituem evidências claras de que a origem dos lipomas ocorre no BAT. Indivíduos com LSM também podem apresentar **hepatoesplenomegalia**, **esteatose hepática**, resistência à insulina e **hipertrigliceridemia**. Ademais, os pacientes podem apresentar manifestações neurológicas pé cavo ou pé plano valgo, dor nos membros inferiores, ausência de reflexos

Ablação - Silenciamento genético.

Lipase de triglicérides do tecido adiposo (ATGL)

- Enzima transportada do retículo endoplasmático para as gotículas lipídicas dos adipócitos brancos (WAT), onde atua na etapa inicial de hidrólise dos triglicérides armazenados dentro da gotícula lipídica.

Hepatoesplenomegalia -

Aumento anormal do volume do fígado e baço.

Esteatose hepática - Acúmulo de gordura nos hepatócitos (células do fígado).

Hipertrigliceridemia - Elevada concentração de triacilgliceróis na corrente sanguínea.

patelares e fraqueza distal dos membros superiores ou inferiores. Alguns podem ainda apresentar sintomas observados em pacien-

tes com doenças mitocondriais, tais como surdez, puberdade precoce e hipotireoidismo (Figura 6).

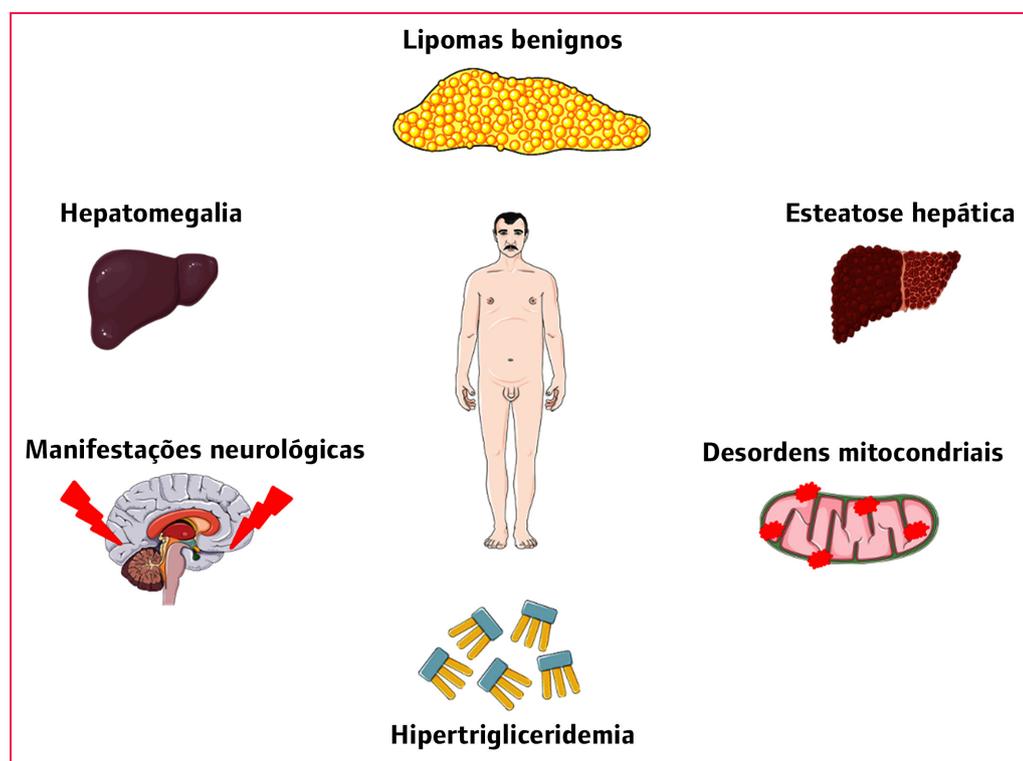


Figura 6.

Representação esquemática das principais manifestações clínicas da LSM. Fonte: Autoria própria utilizando alicerces fornecidos pelo SMART - Servier Medical ART (Les Laboratoires Servier).

A LSM apresenta heterogeneidade na cronologia do aparecimento de suas manifestações, características clínicas e até na gravidade das mesmas. Embora massas lipomatosas tenham sido facilmente diagnosticadas em todos os pacientes, os sinais neurológicos podem passar despercebidos por vários anos. Em pacientes com LSM, também se observam defeitos na lipólise estimulada por sinalização adrenérgica no BAT. Além disso, ensaios clínicos realizados com Salbutamol, um agonista de **receptores β -2 adrenérgicos**, demonstraram significativo efeito terapêutico, com progressão reduzida dos lipomas associada com aumento da taxa metabólica de repouso.

No Brasil, a LSM é uma doença subdiagnosticada. Seu tratamento tem sido realizado com foco principalmente estético, através da remoção dos lipomas. Contudo, o risco de recorrência dos lipomas é alto tendo em vista a origem genética da LSM. Mais estudos são necessários para melhor compreender as funções da proteína mitofusina 2 e sua relação com o desenvolvimento

da LSM. Esses estudos contribuirão para a compreensão das funções metabólicas do BAT nos adultos bem como para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas voltadas para amenizar tanto o aparecimento de mais lipomas bem como as comorbidades metabólicas e neurológicas associadas a essa doença.

Para saber mais:

BOUTANT M., KULKARNI S.S., JOFFRAUD M., RATAJCZAK J., VALERA-ALBERNIM., COMBE R., ZORZANO A. and CANTÓ C. (2017) Mfn2 is critical for brown adipose tissue thermogenic function. *EMBO J* 36:1543–1558.

CAPEL E., VATIER C., CERVERA P., STOJKOVIC T., DISSE E., COTTEREAU A.S., AUCLAIR M., VERPONT M.C., MOSBAH H., GOURDY P. et al. (2018) MFN2-associated lipomatosis: Clinical spectrum and impact on adipose tissue. *J Clin Lipidol* 12:1420–1435.

FILADIR., PENDIN D. and PIZZO P. (2018) Mitofusina 2: from functions to disease. *Cell Death Dis* 9:330.

Les Laboratoires Servier SMART. In: *Servier Med. ART*. <https://smart.servier.com/>.

Receptor β -2 adrenérgico

- Receptor celular capaz de desencadear alterações intracelulares, estimulando a atividade do sistema nervoso autônomo, a partir da ligação com um agonista, molécula capaz de ativar um receptor celular.