

AGPAT2: um gene, uma lipodistrofia



Maria Eduarda Cardoso de Melo¹, Aquiles Sales Craveiro Sarmiento², Josivan Gomes de Lima³, Julliane Tamara Araújo de Melo Campos¹

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

² Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN

³ Departamento de Medicina Clínica, Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL)/UFRN, Natal, RN

Autor para correspondência - julliane@ufrn.edu.br

Palavras-chave: síndrome de Berardinelli-Seip, tecido adiposo branco, metabolismo, aciltransferases, retículo endoplasmático



O gene *AGPAT2* codifica para a proteína 1-acil-sn-glicerol-3-fosfato aciltransferase 2. Mutações na sequência nucleotídica do gene *AGPAT2* resultam na rara síndrome de Berardinelli-Seip do tipo 1, também conhecida como Lipodistrofia Congênita Generalizada (LCG) do tipo 1. Esta doença se caracteriza pela ausência quase completa de tecido adiposo desde o nascimento. De modo intrigante, essa síndrome possui alta prevalência no Nordeste do Brasil, local onde os profissionais da saúde ainda não possuem conhecimento suficiente acerca da doença, o que pode comprometer o diagnóstico e tratamento.



O TECIDO ADIPOSEO

Os mamíferos possuem a capacidade de estocar o excesso de calorías consumidas na forma de carboidratos e lipídeos. O tecido adiposo, classificado como um tipo de tecido conjuntivo, é o principal reservatório de lipídeos de função energética no organismo. Esse tecido é formado por células especializadas conhecidas como adipócitos, derivados a partir de células-tronco mesenquimais por meio de um processo denominado adipogênese. Esse processo consiste em dois estágios: o de comprometimento, no qual uma **célula mesenquimal** indiferenciada se diferencia em um pré-adipócito, e o estágio de diferenciação terminal, por meio do qual a célula se tornará um adipócito funcional capacitado para armazenar lipídeos.

Todo esse processo é regulado por moléculas específicas, como o fator de transcrição conhecido como ‘receptor gamma ativado por proliferador de peroxissomo’ (PPAR γ). Esse receptor regula o programa adipogênico necessário para promover a diferenciação de células adiposas e induz um ciclo de **feedback** positivo, mantendo o estado celular diferenciado. O tecido adiposo é funcionalmente dividido em marrom (multilocular) ou branco (unilocular).

O tecido adiposo marrom, cuja função principal é a termogênese, restringe-se a determinadas áreas em humanos adultos, mas é abundantemente encontrado em mamíferos

hibernantes e em recém-nascidos. Histologicamente, suas células são menores, poligonais, com núcleo central e variadas gotículas lipídicas, motivo pelo qual esse tipo de tecido adiposo foi denominado de “multilocular” (Figura 1A).

O tecido adiposo branco, por sua vez, trata-se da forma mais abundante no humano adulto, atuando sobretudo no estoque de lipídeos, e na constituição da matriz extracelular. Suas células são grandes, esféricas, com núcleo excêntrico e com uma única gotícula lipídica em seu interior, sendo conhecido como tecido adiposo “unilocular” (Figura 1B). Gotículas lipídicas nascem do retículo endoplasmático (RE) e estão presentes em quase todos os tipos de células eucarióticas.

Recentemente, novas funções essenciais à homeostase energética foram atribuídas ao tecido adiposo branco: a função endócrina, na qual os adipócitos produzem diversas substâncias, como os hormônios adiponectina e leptina. O primeiro atua como fator protetor de doenças cardiovasculares, sendo responsável por aumentar a sensibilidade do organismo à insulina e exercer atividade anti-inflamatória. O segundo atua na diminuição do apetite, provendo a sensação de saciedade. Nesse sentido, é importante entendermos a relevância do adipócito, célula que também está diretamente relacionada com uma grande variedade de doenças já bastante descritas, como a obesidade, o diabetes e as **lipodistrofias**.

Célula mesenquimal:

célula-tronco pluripotente pertencente ao mesênquima, um tecido embrionário, ou seja, células que não passaram ainda por um processo de diferenciação celular e possuem a capacidade de originar células de diferentes tipos de tecido conjuntivo.

Feedback: é um mecanismo de retroalimentação que ocorre na busca pelo equilíbrio das funções do organismo. Esse processo pode ser de forma negativa, o qual ocorre quando a concentração elevada de determinada substância provoca a redução dessa concentração, sendo, por isso, negativo em relação ao estímulo inicial. Um mecanismo de retroalimentação também pode ser positivo. Nesse caso, quanto maior a concentração de uma determinada substância, maior será o estímulo para a sua produção.

Lipodistrofia: patologia associada à deficiência no tecido adiposo.

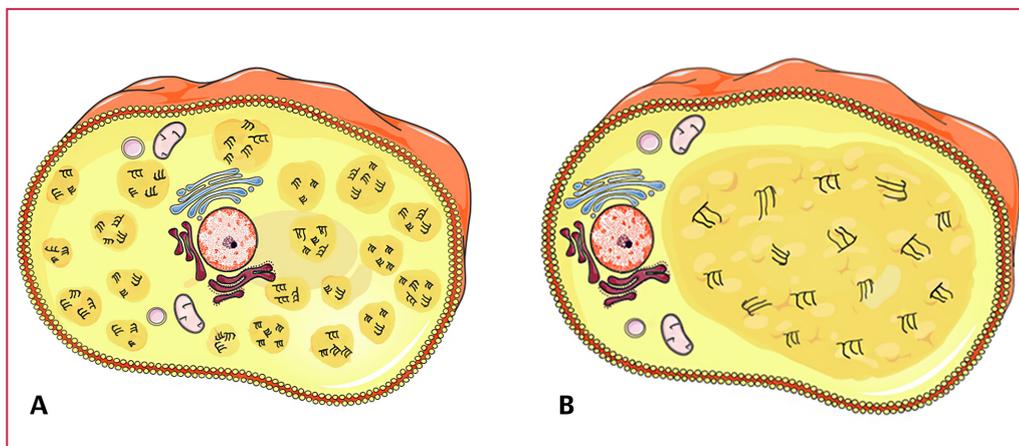


Figura 1.

Representação esquemática das células do tecido adiposo. **A)** Tecido adiposo multilocular, ou marrom, característico por suas múltiplas gotículas lipídicas e núcleo central; **B)** Tecido adiposo unilocular, ou branco, com uma gotícula lipídica principal e núcleo excêntrico. Fonte: Autoria própria utilizando arcabouços fornecidos pelo SMART (SMART - servier medical ART).

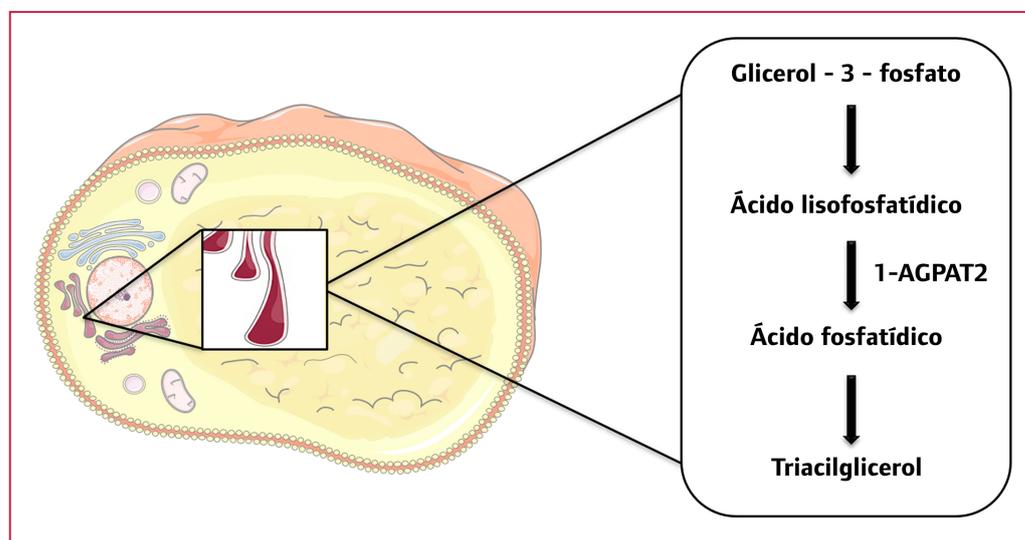
BIOSSÍNTESE DOS TRIACILGLICERÓIS

Acilação: introdução de um radical acila em uma molécula orgânica.

Glicerofosfolípido: um tipo de lipídeo que possui tanto um grupo fosfato quanto um glicerol em sua composição, sendo conhecido como lipídeo anfipático.

Figura 2.

Esquema da biossíntese dos triacilgliceróis. No retículo endoplasmático, a glicose é transformada em glicerol-3-fosfato. Por conseguinte, será formado o ácido lisofosfatídico, que servirá de substrato para a enzima 1-acil-sn-glicerol-3-fosfato aciltransferase 2 (1-AGPAT2), formando o ácido fosfatídico, o qual será desfosfatado e novamente acilado para formar o triacilglicerol. Fonte: Autoria própria utilizando arcabouços fornecidos pelo SMART (SMART - servier medical ART).



A PROTEÍNA 1-AGPAT2

Aciltransferases de acilglicerofosfato (AGPATs) ou aciltransferases de ácido lisofosfatídico (LPAATs) são uma família de 11 **isoenzimas** (AGPATs 1 a 11), as quais são codificadas por genes distintos e possuem estrutura proteica bastante conservada. As enzimas AGPATs/LPAATs foram nomeadas de acordo com sua especificidade de substrato, em que as AGPATs 1 a 5, também conhecidas LPAAT α , β , γ , δ e ϵ , respectivamente, possuem preferência especificamente pelo ácido lisofosfatídico, enquanto as AGPATs 6 a 11 podem exibir atividades enzimáticas adicionais à conversão de ácido lisofosfatídico em ácido fosfatídico. Dessa forma, novos estudos auxiliarão na compreensão das funções de cada isoenzima AGPAT e o seu papel no metabolismo dos triacilgliceróis.

Isoenzimas: enzimas que diferem na sequência de aminoácidos, mas que catalisam a mesma reação química.

Fator de transcrição: proteína que pode atuar como ativador ou repressor da transcrição de um determinado gene.

cerol-3-fosfato aciltransferase 2, conhecida como 1-AGPAT 2, a qual realiza a **acilação** do ácido lisofosfatídico para a formação do ácido fosfatídico. Posteriormente, esse composto é desfosfatado e novamente acilado para a formação do triacilglicerol (Figura 2). Assim, a 1-AGPAT 2 desempenha um papel fundamental para a formação dessa classe de lipídeo de armazenamento, o triacilglicerol. Além disso, o ácido fosfatídico também é um composto necessário para a formação de uma classe de lipídeos estruturais de membrana, os **glicerofosfolípídeos**.

A enzima 1-AGPAT2 (LPAAT β) é codificada pelo gene *AGPAT2*, o qual está localizado no braço longo do cromossomo 9, na posição 34.3 (9q34.3), possui 6 éxons e apresenta menos de 20 mil pares de bases (Figura 3). A enzima 1-AGPAT2 localiza-se no RE, principalmente nas células do fígado, pâncreas, intestino delgado e tecido adiposo, e possui importância na diferenciação dos pré-adipócitos e na promoção do acúmulo de triacilgliceróis em adipócitos maduros. Algumas pesquisas demonstraram que a deficiência em sua atividade interfere negativamente na indução de importantes **fatores de transcrição** envolvidos na adipogênese, como o PPAR γ , o que compromete a expressão de vários genes necessários para a diferenciação adipocitária.

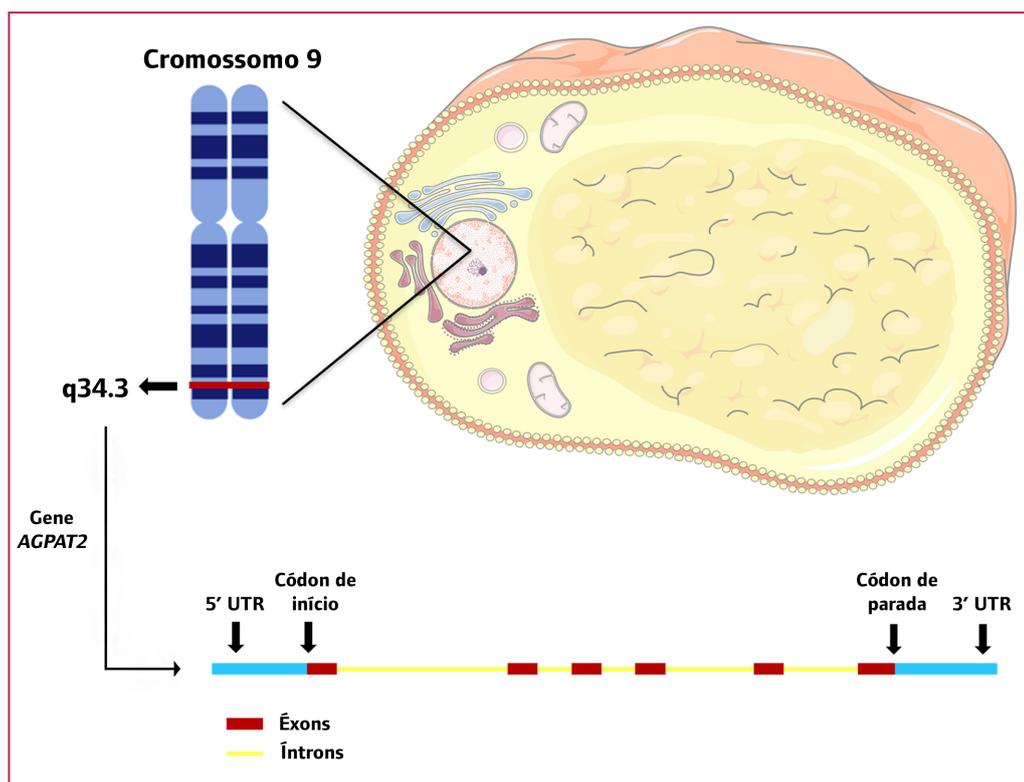


Figura 3. Representação da localização cromossômica e estrutura molecular do gene *AGPAT2* no cromossomo 9. Os 6 éxons correspondem às caixas em vermelho, enquanto os 5 íntrons são representados pelas linhas em amarelo. 5' UTR: Extremidade 5' não traduzida, a qual se localiza antes do códon de início da tradução. Fonte: Autoria própria utilizando arcabouços fornecidos pelo SMART (SMART - *servier medical ART*).

As mutações que ocorrem no gene *AGPAT2* são variadas. Porém, no Brasil, uma das mais comuns é a c.646A>T, uma substituição de adenina por timina na posição 646 da região codificadora desse gene, resultando na formação de um códon de parada prematuro e uma proteína truncada com apenas 215 aminoácidos de comprimento (Figura 4). Essa

modificação afeta diretamente o funcionamento da enzima a qual, usualmente, possui 278 aminoácidos. Além dessa variante, outra importante mutação é a deleção de 1036 pares de bases que resulta na mudança do quadro de leitura da sequência de *AGPAT2*, gerando um códon de parada prematuro e uma proteína estruturalmente diferente.

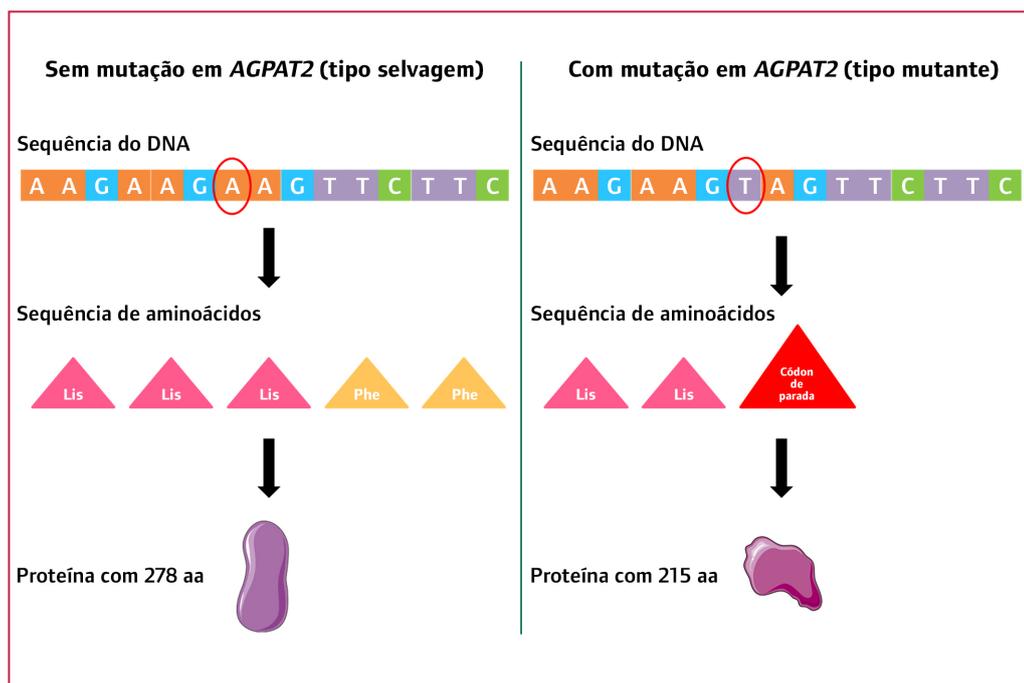


Figura 4. Consequência da mutação c.646A>T no gene *AGPAT2* no DNA e na proteína. A substituição da base adenina (A), painel esquerdo, por timina (T), painel direito, resulta na substituição do aminoácido lisina (*Lis*), no tipo selvagem, por um códon de parada (TAG) no tipo mutante. Nesse sentido, será gerada uma proteína truncada com apenas 215 aminoácidos (aa), ao invés da proteína funcional de 278 aa. As bases A e T envolvidas na mutação foram destacadas pelo círculo vermelho. A: Adenina; G: Guanina; T: Timina; C: Citosina; Lis: Lisina; Phe: Fenilalanina; aa: Aminoácidos. Fonte: Autoria própria utilizando arcabouços fornecidos pelo SMART (SMART - *servier medical ART*).

LIPODISTROFIAS CONGÊNITAS GENERALIZADAS (LCGS)

Tecido adiposo mecanicamente ativo:

realiza principalmente a função de proteção contra os choques mecânicos.

Tecido adiposo metabolicamente ativo:

diz respeito essencialmente ao tecido adiposo visceral, que atua principalmente na liberação de ácidos graxos livres e adipocinas, como a adiponectina e a leptina.

As lipodistrofias congênitas generalizadas (LCGs) são doenças usualmente autossômicas recessivas também conhecidas como síndrome de Berardinelli-Seip. Descritas pela primeira vez, em 1954, por Waldemar Berardinelli e, posteriormente, por Martin Seip, em 1959, possuem alta prevalência no Brasil, principalmente em famílias que realizaram casamentos consanguíneos. A principal manifestação fenotípica dessa síndrome é a quase completa ausência de tecido adiposo desde o nascimento e o desenvolvimento de complicações metabólicas durante a vida. Até o momento, mutações em quatro genes distintos foram associadas às LCGs. Mutações em *AGPAT2* são responsáveis pelo tipo 1 da doença, na qual há comprometimento do **tecido adiposo metabolicamente ativo** na maioria das regiões subcutâneas intra-abdominais e intratorácicas, mas com

preservação do **tecido adiposo mecanicamente ativo** na região orbital, nas palmas das mãos e área periarticular.

Por outro lado, a forma mais severa das LCGs (tipo 2) possui uma das maiores prevalências mundiais no nordeste do Brasil e está associada a mutações em outro gene - *BSCL2*. A proteína codificada por esse gene é denominada de seipina e funciona como um arcabouço proteico na interação com 1-AGPAT2. Seipina é importante para a atividade e expressão de 1-AGPAT2 e auxilia no processo de adipogênese, sendo de grande importância para a formação de gotículas lipídicas e na diferenciação de adipócitos. Nesse tipo de LCG, tanto o tecido adiposo metabolicamente ativo quanto o mecanicamente ativo são afetados. Além de *AGPAT2* e *BSCL2*, mutações nos genes *CAV1* e *CAVIN1* causam os tipos 3 e 4 das LCGs, respectivamente. Entretanto, pacientes lipodistróficos com mutações nesses dois últimos genes ainda não foram descritos no Brasil.



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Hepatoesplenomegalia: aumento anormal do volume do fígado e do baço.

Acantose nigricans: lesões geradas em locais com acúmulo de pele devido ao excesso de queratina e hiperpigmentação, apresentando uma coloração cinza e um aspecto verrugoso.

Cisto ósseo: lesão óssea preenchida por material líquido que, diferentemente de lesão lítica, não sugere algum tipo de tumor.

Dentre as características fenotípicas e clínicas encontradas em grande parte das pessoas com a LCG se destacam: hiperplasia muscular secundária à falta de tecido adiposo, **hepatoesplenomegalia**, **esteatose hepática** (agravada pela deposição de lipídeos ectópicos em tecidos não adiposos), resistência à insulina, **hipertrigliceridemia** e apetite voraz. Ademais, **acantose nigricans**, hipertensão e fraqueza da musculatura respiratória também podem ser encontradas (Figura 5).

Alguns achados mais específicos para LCG tipo 1 são: ausência de tecido adiposo metabolicamente ativo e preservação do mecanicamente ativo, lesões ósseas líticas focais após a puberdade e **acromegalia** com mandíbula, mãos e pés alargados. Além disso, pode ocorrer também a presença de **cistos ósseos**.

Esteatose hepática: acúmulo de gordura nas células do fígado (hepatócitos).

Hipertrigliceridemia: nível elevado de triacilgliceróis no sangue.

Acromegalia: crescimento anormal das extremidades do corpo.

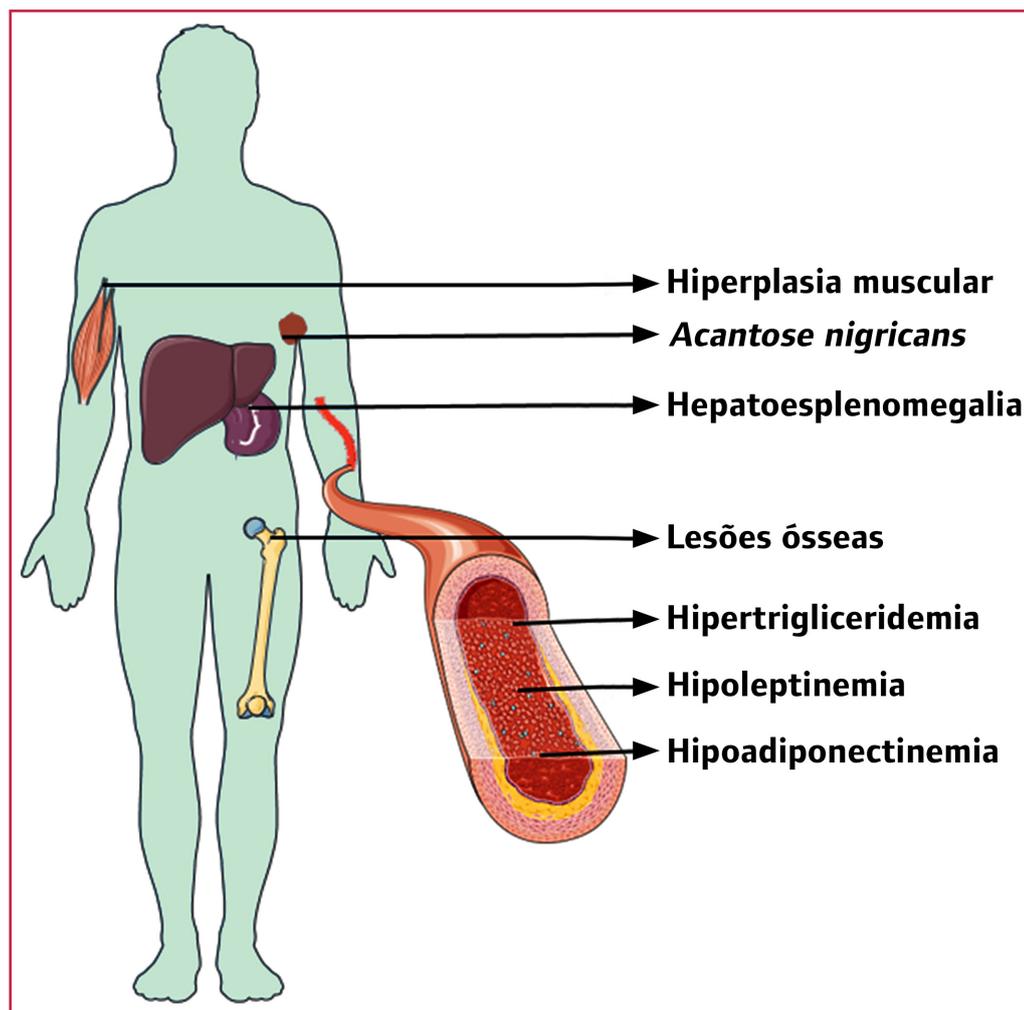
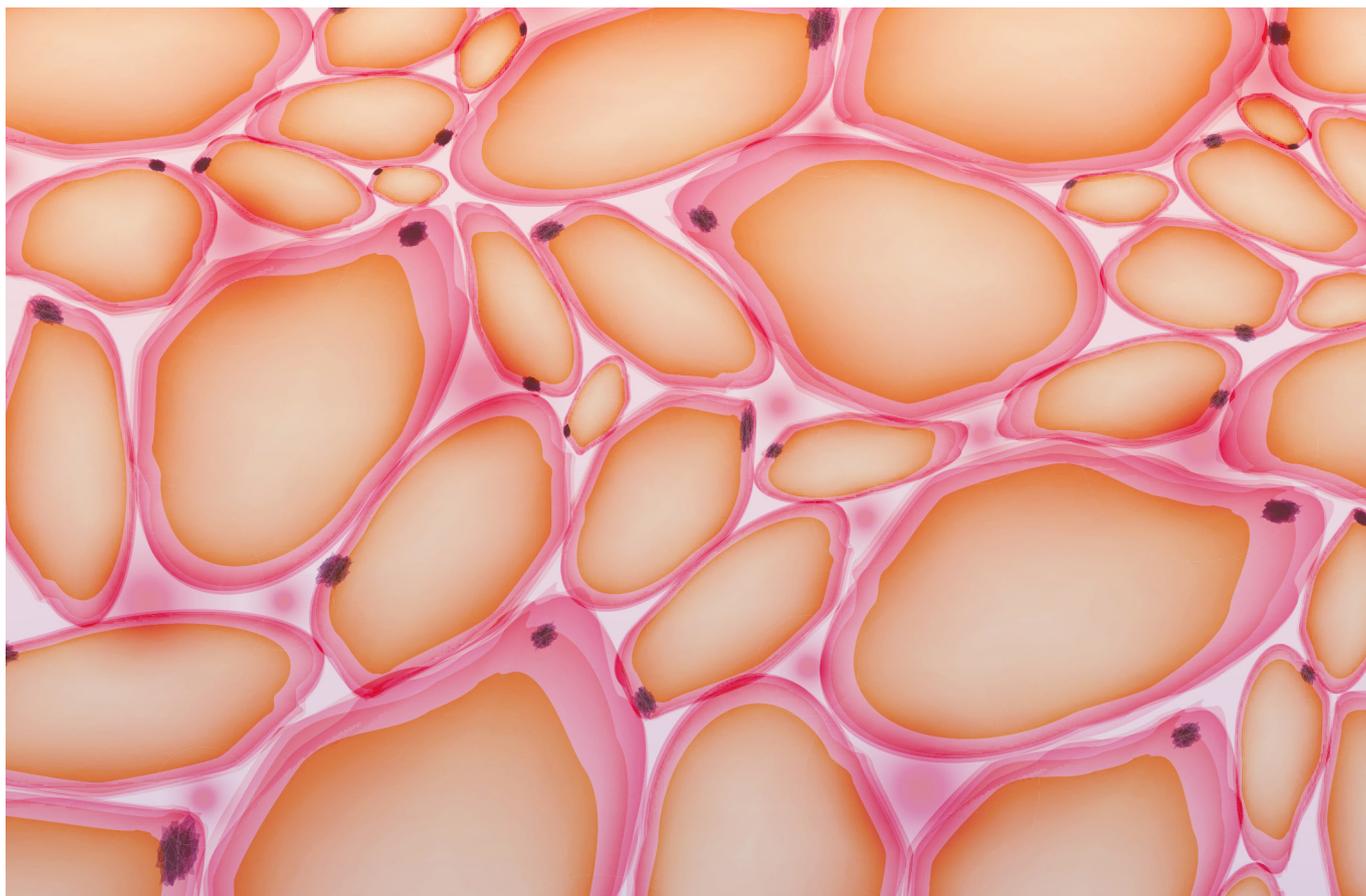


Figura 5. Principais manifestações clínicas encontradas em pessoas com a Lipodistrofia Congênita Generalizada (LCG). Fonte: Autoria própria utilizando arcabouços fornecidos pelo SMART (SMART - *servier medical ART*).

O estudo da LCG pode auxiliar no entendimento acerca da importância do tecido adiposo, da regulação da fome e do Diabetes *melittus*, levando a um avanço no que diz respeito às intervenções terapêuticas, garantindo uma melhor qualidade de vida às pessoas com LCG. Devido à sua alta prevalência no país, é muito importante o conhecimento acerca dessa síndrome, pelos profissionais da saúde, principalmente pela necessidade de um acom-

panhamento médico, psicológico e nutricional visando a manutenção de uma dieta adequada e a realização de atividade física regular. Ademais, por se tratar de uma deficiência na enzima 1-AGPAT2, estudos futuros podem resultar na sua utilização como um novo alvo farmacológico, tanto por meio da inibição dessa enzima (modelo que pode ajudar na obesidade), como via sua estimulação (modelo que pode ajudar nas lipodistrofias).



PARA SABER MAIS

CRAVEIRO SARMENTO, A. S.; DE AZEVEDO MEDEIROS, L. B.; AGNEZ-LIMA, L. F.; LIMA, J. G.; DE MELO CAMPOS, J. T. A. Exploring Seipin: From Biochemistry to Bioinformatics Predictions. *Int. J. Cell Biol.* v. 2018, 9, 1–21, 2018.

DE AZEVEDO MEDEIROS, L. B. *et al.* High prevalence of Berardinelli-Seip Congenital Lipodystrophy in Rio Grande do Norte State, Northeast Brazil. *Diabetol. Metab. Syndr.* v. 9, n.1, p.1-18, 2017.

GARG, A. *et al.* A Gene for Congenital Generalized Lipodystrophy Maps to Human Chromosome 9q34. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* v. 84, p. 3390–3394, 1999.

LIMA, J. G. *et al.* Clinical and laboratory data of a large series of patients with congenital generalized lipodystrophy. *Diabetol. Metab. Syndr.* v. 8, p. 23, 2016. DOI 10.1186/s13098-016-0140-x

PATNI, N.; GARG, A. Congenital generalized lipodystrophies--new insights into metabolic dysfunction. *Nat. Rev. Endocrinol.* v. 11, p. 522–534, 2015.

SALES, A.; SARMENTO, C.; CAPISTRANO, L.; GOMES, J. The worldwide mutational landscape of Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy Exploring Seipin: From Biochemistry to Bioinformatics Predictions. *Int. J. Cell Biol.* Article ID 5207608, 21 p. <https://doi.org/10.1155/2018/5207608>, 2019.

SMART - Servier Medical ART. Disponível em: <<https://smart.servier.com/>>. Acesso em: 22 mai. 2019.