

Controle da adiposidade por mTORC1

Regulation of adiposity by mTORC1

Juliana Magdalon¹, William Tadeu Festuccia²

RESUMO

A obesidade é caracterizada pelo aumento excessivo da massa de tecido adiposo, estando associada à maior incidência de diversas doenças metabólicas crônicas, como diabetes tipo 2. Sua crescente prevalência é uma questão de saúde pública, e faz-se importante compreender melhor sua etiologia, para desenvolver novas estratégias terapêuticas. As evidências acumuladas por muitos anos indicam que a obesidade está associada à significativa ativação no tecido adiposo do complexo 1 da proteína alvo mecanístico da rapamicina (mTORC1), uma via de sinalização que regula o metabolismo de lipídeos, bem como a formação e manutenção de adipócitos. Curiosamente, mTORC1 também está envolvido no controle da termogênese, independente do tremor muscular, e no recrutamento e *browning* de tecido adiposo branco. Nesta revisão, exploramos as diferentes funções do mTORC1 em adipócitos e apresentamos evidências que sugerem que o mTORC1 pode aumentar ou reduzir a adiposidade, dependendo das condições e de seu nível de ativação.

Descritores: Obesidade; Adiposidade; Adipócitos; Lipídeos; Termogênese

ABSTRACT

Obesity is characterized by an excessive increase in the adipose tissue mass, and is associated with higher incidence of several chronic metabolic diseases, such as type 2 diabetes. Therefore, its increasing prevalence is a public health concern, and it is important to better understand its etiology to develop new therapeutic strategies. Evidence accumulated over the years indicates that obesity is associated with a marked activation in adipose tissue of the mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1), a signaling pathway that controls lipid metabolism, and adipocyte formation and maintenance. Curiously, mTORC1 is also involved in the control of nonshivering thermogenesis and recruitment as well as browning of white adipose tissue. In this review, we explored mTORC1 functions in adipocytes and presented evidence, suggesting that mTORC1 may

either increase or reduce adiposity, depending on the conditions and activation levels.

Keywords: Obesity; Adiposity; Adipocytes; Lipids; Thermogenesis

INTRODUÇÃO

Obesidade é o acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo e, de forma ectópica, em outros órgãos, como fígado, como resultado de períodos crônicos de balanço energético positivo, caracterizado por um aporte calórico maior que o gasto energético. Clinicamente, os pacientes são considerados obesos após atingirem um índice de massa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. A prevalência da obesidade tem aumentado de modo significativo nas últimas décadas, atingindo níveis de pandemia global,⁽¹⁾ fato alarmante atribuído principalmente ao atual estilo de vida, caracterizado por comportamento sedentário e hábitos alimentares não saudáveis. Grande preocupação para a saúde pública é o fato de que a obesidade é frequentemente associada ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas, como diabetes tipo 2,⁽²⁾ doenças cardiovasculares,⁽³⁾ esteatose hepática⁽⁴⁾ e alguns tipos de câncer.⁽⁵⁾ Vale notar que, embora a obesidade seja um importante fator de risco para distúrbios metabólicos, nem todos os indivíduos obesos desenvolvem as doenças citadas. De fato, pacientes obesos, que apresentam acúmulo de gordura principalmente nos depósitos adiposos viscerais, localizados dentro da cavidade peritoneal, têm muito mais probabilidade de desenvolverem distúrbios metabólicos do que aqueles com excesso de gordura nos depósitos adiposos subcutâneos.⁽⁶⁾ Tal fe-

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

² Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Juliana Magdalon – Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05652-000 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 96787-1517 – E-mail: juliana.magdalon@einstein.br

Data de submissão: 30/4/2017 – Data de aceite: 20/9/2017

DOI: 10.1590/S1679-45082017RB4106



nômeno foi associado a um maior “transbordamento” de lipídios, à lipotoxicidade e ao processo inflamatório, relacionado à obesidade visceral, e não à subcutânea.

Tipos de adipócitos e fatores causadores de aumento de tecido adiposo

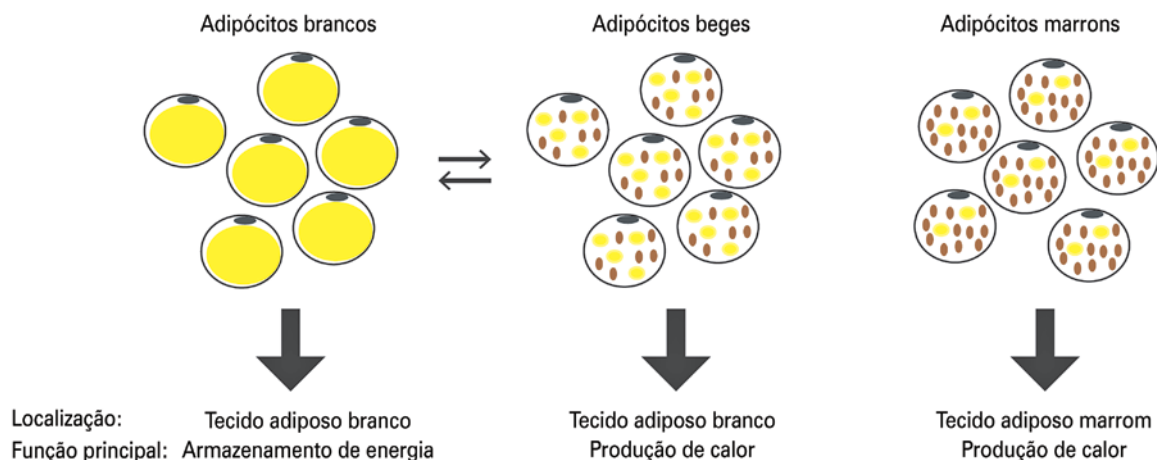
Três tipos distintos de adipócitos podem ser encontrados em humanos: adipócitos brancos, principais células que compõem o tecido adiposo branco (TAB), responsável por armazenamento de lipídios e funções endócrinas; adipócitos marrons, principais células que compõem o tecido adiposo marrom (TAM), cuja função primária é produzir calor por meio da termogênese sem tremor dependente da proteína desacopladora 1 (UCP-1) mitocondrial; e adipócitos beges, localizados em depósitos do TAB e que, dependendo das condições, podem agir como adipócitos brancos (armazenamento de lipídios) ou marrons (produção de calor induzida por UCP-1) (Figura 1).⁽⁷⁾

O acúmulo excessivo de gordura e o aumento do tecido adiposo são geralmente causados por uma combinação de aumento no número (hiperplasia) e no diâmetro (hipertrofia) de adipócitos brancos. O maior diâmetro é determinado pelo maior conteúdo celular de triacilglicerol (TAG), que reflete o equilíbrio entre a lipólise (hidrólise de triacilglicerol) e a lipogênese (síntese de triacilglicerol). Já o aumento do número de adipócitos brancos reflete o equilíbrio entre a apoptose e a formação de novas células, que envolve proliferação, comprometimento e diferenciação de células mesenquimais localizadas no tecido adiposo em adipócitos maduros.

Ao longo dos anos, alguns estudos mostraram forte evidência de que o complexo 1 da proteína alvo mecânico da rapamicina mTORC1 (*mechanistic target of rapamycin complex 1*) é um importante regulador da formação do tecido adiposo e da função de armazenamento de lipídios. De fato, já foi demonstrado que o mTORC1 está envolvido na regulação do comprometimento de precursores iniciais de adipócitos e da diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros (adipogênese), assim como da síntese e da mobilização de TAG nos adipócitos.⁽⁸⁾ Ademais, a atividade do mTORC1 mostra-se consistentemente elevada no tecido adiposo de camundongos obesos geneticamente ou por meio de dieta rica em gordura,⁽⁹⁾ o que indica provável envolvimento deste complexo no aumento do tecido adiposo. Além de seu papel no TAB, estudos recentes também mostraram que o mTORC1 está envolvido na regulação da termogênese do TAM e no recrutamento e ativação de células beges (*browning*). No presente estudo, revisamos os principais achados destes estudos e propomos um modelo de regulação de adiposidade pelo mTORC1.

Biologia do mTORC1

O mTORC1 é composto por diversas proteínas além da serina/treonina quinase mTOR: proteína regulatória de mTOR (Raptor), *mammalian lethal with SEC13 protein 8* (mLST8), *proline-rich AKT substrate of 40kDa* (PRAS40) e *DEP domain-containing mTOR-interacting protein* (DEPTOR). O mTORC1 desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo e na homeostase celular. Quando ativado, o mTORC1 promove processos anabólicos, como síntese de proteínas, nucleotídeos e lipídios, e inibe processos catabólicos, como



Região em amarelo: gotas de lipídios; região em marrom: mitocôndrias; região em preto: núcleos.

Figura 1. Diferenças entre adipócitos brancos, beges e marrons em relação à localização e principal função

autofagia, por meio da fosforilação de diversas proteínas, incluindo as S6 quinases (S6Ks), 4E-BPs (proteínas de ligação associadas ao eIF4E) e *unc-51 like autophagy activating kinase 1* (ULK1), entre outras. O mTORC1 é ativado principalmente por aminoácidos em um processo mediado por proteínas denominadas *Rags*, que envolve complexa translocação do citosol para os lisossomos.⁽¹⁰⁾ O mTORC1 também é ativado por fatores de crescimento, como insulina, pela via de sinalização canônica IRS-PI3K-AKT. Uma vez ativada esta via, a AKT fosforila e inibe o complexo esclerose tuberosa TSC (*tuberous sclerosis complex*), uma proteína ativadora da GTPase (GAP) que atua em RHEB (*Ras homologue enriched in brain*). Quando o TSC é inibido e, consequentemente, RHEB está ligada ao GTP, o recrutamento de mTORC1 para a membrana do lisossomo é estimulado, e o mTORC1 é ativado na presença de aminoácidos (Figura 2).⁽¹¹⁾

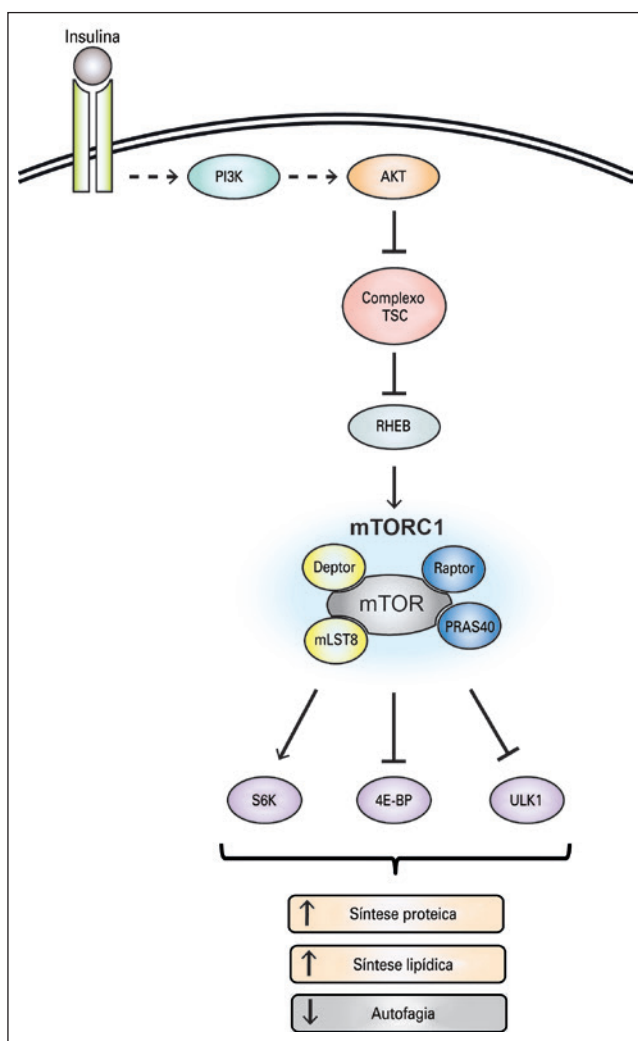


Figura 2. Visão geral da via de sinalização e função do complexo 1 da proteína alvo mecânico da rapamicina (mTOR)

Perda de função do mTORC1 e adiposidade

A primeira evidência de que o mTORC desempenha um importante papel na regulação da adiposidade veio de estudos *in vitro*, que mostraram que a inibição farmacológica do mTORC1 com rapamicina bloqueia completamente a capacidade das células 3T3-L1 de se diferenciarem em adipócitos maduros. Tais efeitos foram atribuídos à expressão reduzida dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR) γ e da proteína α estimuladora de ligação a CCAAT (C/EBP) α , importantes fatores de transcrição necessários para a adipogênese.⁽¹²⁻¹⁵⁾ Além destes achados *in vitro*, a administração de rapamicina em roedores *in vivo* foi relacionada a uma redução na adiposidade, devido à menor expressão de PPAR γ e de genes alvo, envolvidos na captação e armazenamento de lipídios,⁽¹⁶⁾ e na proteção contra a expansão da massa de gordura e obesidade induzidas pelo consumo de uma dieta hiperlipídica.⁽¹⁷⁾

Camundongos geneticamente modificados apresentando deleção do componente essencial do mTORC1, *Raptor*, ou de seu alvo *S6k* no organismo todo ou especificamente em algum tecido (Cre-lox) também foram utilizados para a investigação do envolvimento do mTORC1 na regulação de adiposidade. Corroborando estudos com rapamicina, camundongos com deficiência total de *S6k1* apresentam menor massa de gordura e são protegidos contra a obesidade induzida pela dieta;⁽⁹⁾ tais fenótipos foram atribuídos à adipogênese prejudicada.⁽¹⁸⁾ Apesar da redução na adiposidade e da proteção contra a obesidade também ter sido vista em camundongos com deleção de *Raptor* em adipócitos,^(19,20) diferentes mecanismos moleculares foram usados para explicar estes fenótipos: o aumento de gasto energético como resultado do *browning* dos adipócitos,⁽¹⁹⁾ ou um defeito na expansão do tecido adiposo, devido a um comprometimento na expressão do C/EBP α .⁽²⁰⁾ No entanto, as diferenças citadas provavelmente refletem o uso de promotores do *Fabp4* (*ap2*) ou da adiponectina para induzir a expressão da Cre recombinase, com o primeiro apresentando especificidade de adipócitos significativamente mais baixa do que o segundo.⁽²¹⁾ Finalmente, camundongos com deficiência de ambos mTORC1 e 2 em adipócitos, devido à deleção de *mTOR* induzida pela adiponectina-cre, também apresentaram adiposidade reduzida, que foi associada ao *browning* dos adipócitos e à adipogênese prejudicada, como resultado da expressão reduzida de PPAR γ e de C/EBP α .⁽²²⁾ Assim, a deficiência de mTORC1 ou sua inibição completa em adipócitos podem resultar em deficiência de adipogênese e deposição lipídica, aumento do *browning* dos adipócitos e redução da adiposidade.

Inibição parcial do mTORC1 e adiposidade

Contrastando com a redução da adipogênese e da adiposidade induzida por deleção em adipócitos ou inibição farmacológica de mTORC1, demonstrou-se que a inibição parcial deste complexo aumentou tanto a adipogênese como a adiposidade. O *knockdown* parcial do mTOR por shRNA potencializou a diferenciação de pré-adipócitos 3T3-L1 em adipócitos maduros *in vitro*, conforme evidenciado pela maior acumulação de TAG.⁽²³⁾ Além disto, a inibição parcial da atividade do mTORC1 *in vitro* e *in vivo* por meio da superexpressão de *Deptor*, inibidor endógeno do mTORC1, aumentou a adipogênese e exacerbou o aumento do peso corporal e da massa do TAB induzido por uma dieta hiperlipídica.⁽²⁴⁾ Em relação ao mecanismo, os aumentos de adipogênese e adiposidade induzida pela inibição parcial do mTORC1 foram atribuído à diminuição do *feedback* negativo na função do IRS e na sinalização intracelular de insulina realizada pelo mTORC1/S6K1, que estimulou a via de PI3K-AKT-PPAR γ e, consequentemente, aumentou a adipogênese e a lipogênese.⁽²⁴⁾ Deste modo, a inibição parcial do mTORC1 promove a adipogênese e a expansão do tecido adiposo.

Ganho de função do mTORC1 e adiposidade

Nosso grupo foi o primeiro a caracterizar o efeito da ativação constitutiva do mTORC1 no tecido adiposo no peso corporal e na adiposidade *in vivo*. De fato, camundongos com ativação constitutiva do mTORC1 nos adipócitos apresentaram redução especificamente na massa do tecido adiposo visceral (depósito retroperitoneal), em associação a aumento de *browning* (conteúdo de UCP-1), lipólise, massa mitocondrial e atividade oxidativa.⁽²⁵⁾ No entanto, em contraste com tais achados, a ativação constitutiva do mTORC1 em adipócitos utilizando-se animais com a Cre recombinase sob controle do promotor da proteína ligante de ácido graxo 4 (*Fabp4*), que não é específica dos adipócitos, não resultou em alteração na massa do TAB em camundongos de 2 dias de idade.⁽²⁶⁾ É importante notar que camundongos mais velhos não foram avaliados neste estudo, pois os animais morreram 48 horas após o nascimento, provavelmente devido à deleção do *Tsc1* em células que não são adipócitos, mediada pela expressão não específica de Cre.⁽²⁶⁾ Com base nestes achados, podemos concluir que a ativação constitutiva do mTORC1 nos adipócitos reduz a adiposidade visceral.

Modelo proposto para regulação de adiposidade por meio do mTORC1

Com base nos estudos citados, que descrevem alterações na adiposidade associadas à perda de função, ini-

bição parcial e ativação constitutiva de mTORC1, nós, junto de outros grupos de estudo,⁽²⁷⁾ propusemos que a regulação da adiposidade pelo mTORC1 siga uma curva em U invertida, em que são necessários níveis ótimos da atividade do mTORC1 – nem tão baixa como aquela induzida pela deleção do *Raptor* e tratamento com rapamicina, nem tão alta quanto aquela induzida pela deleção de *Tsc1* – para que o complexo promova suas ações pró-adipogênicas e lipogênicas (Figura 3). Tais níveis ótimos da atividade do mTORC1 poderiam explicar o aumento da deposição lipídica e da adiposidade exacerbada encontradas na obesidade e em animais com superexpressão de *Deptor*, por exemplo. Porém, estudos avaliando os efeitos de diferentes níveis da atividade do mTORC1 na adiposidade em um mesmo protocolo de experimentação ainda são necessários para a confirmação deste modelo proposto.

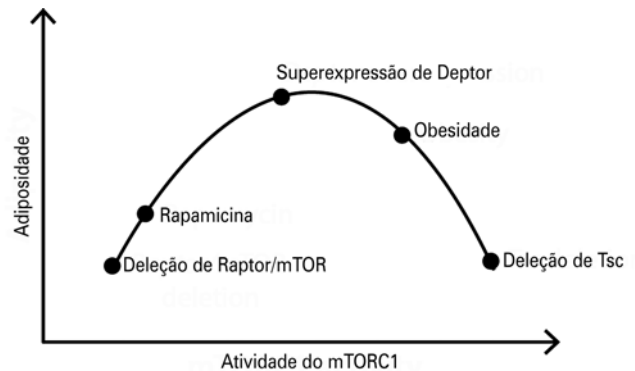


Figura 3. Associação entre a atividade do complexo 1 da proteína alvo mecanístico da rapamicina (mTORC1) e adiposidade em diferentes modelos animais

mTORC1 e termogênese sem tremor

Além de seu papel na regulação da adiposidade, o mTORC1 também provou-se necessário para a função termogênica do TAM e *browning* do TAB induzidos pela estimulação β 3-adrenérgica ou exposição ao frio.⁽²⁸⁻³⁰⁾ Mais especificamente, o mTORC1 é ativado no TAM e TAB em resposta ao frio e à estimulação β -adrenérgica, por meio de um mecanismo que parece envolver aumento no AMPc e ativação da proteína quinase A (PKA), mediados pelo receptor β -adrenérgico, que então fosforila o Raptor e o mTOR, aumentando a atividade do complexo. Além disto, tanto no TAM quanto no TAB visceral, foi demonstrado que o mTORC1 regula a biogênese mitocondrial, o metabolismo oxidativo e a expressão da UCP-1.^(25,28) Conjuntamente, estes achados estabelecem o mTORC1 como importante regulador da termogênese sem tremor no TAM e nas células beges.

CONCLUSÃO

A obesidade é uma preocupação atual ao redor do mundo por sua crescente prevalência e forte associação a diversas doenças metabólicas. Infelizmente, até o momento, não há tratamento eficaz estabelecido para evitar o desenvolvimento destas doenças. A sinalização do mTORC1 é ativada no tecido adiposo na obesidade, e participa do aumento da deposição lipídica e da expansão do tecido adiposo, encontrados nesta doença. O entendimento dos mecanismos pelos quais diferentes níveis da atividade do mTORC1 regulam a adiposidade pode permitir o desenvolvimento de estratégias para evitar, de forma eficaz, o aumento do tecido adiposo e a obesidade.

REFERÊNCIAS

1. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. 2011;378(9793):804-14.
2. Niswender K. Diabetes and obesity: therapeutic targeting and risk reduction - a complex interplay. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(4):267-87. Review.
3. Zalesin KC, Franklin BA, Miller WM, Peterson ED, McCullough PA. Impact of obesity on cardiovascular disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37(3):663-84, ix. Review.
4. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11 Suppl 1):S74-80. Review.
5. Roberts DL, Dive C, Renehan AG. Biological mechanisms linking obesity and cancer risk: new perspectives. *Annu Rev Med*. 2010;61:301-16. Review.
6. Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7. Review.
7. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1-2):20-44. Review.
8. Ricoult SJ, Manning BD. The multifaceted role of mTORC1 in the control of lipid metabolism. *EMBO Rep*. 2013;14(3):242-51. Review.
9. Um SH, Frigerio F, Watanabe M, Picard F, Joaquin M, Sticker M, et al. Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature*. 2004;431(7005):200-5. Erratum in: *Nature*. 2004;431(7007):485.
10. Bar-Peled L, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol*. 2014;24(7):400-6. Review.
11. Menon S, Dibble CC, Talbott G, Hoxhaj G, Valvezan AJ, Takahashi H, et al. Spatial control of the TSC complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. *Cell*. 2014;156(4):771-85.
12. Yeh WC, Bierer BE, McKnight SL. Rapamycin inhibits clonal expansion and adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(24):11086-90.
13. Gagnon A, Lau S, Sorisky A. Rapamycin-sensitive phase of 3T3-L1 preadipocyte differentiation after clonal expansion. *J Cell Physiol*. 2001;189(1):14-22.
14. Cho HJ, Park J, Lee HW, Lee YS, Kim JB. Regulation of adipocyte differentiation and insulin action with rapamycin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;321(4):942-8.
15. Kim JE, Chen J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity by mammalian target of rapamycin and amino acids in adipogenesis. *Diabetes*. 2004;53(11):2748-56.
16. Houde VP, Brûlé S, Festuccia WT, Blanchard PG, Bellmann K, Deshaies Y, et al. Chronic rapamycin treatment causes glucose intolerance and hyperlipidemia by upregulating hepatic gluconeogenesis and impairing lipid deposition in adipose tissue. *Diabetes*. 2010;59(6):1338-48.
17. Chang GR, Chiu YS, Wu YY, Chen WY, Liao JW, Chao TH, et al. Rapamycin protects against high fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *J Pharmacol Sci*. 2009;109(4):496-503.
18. Carnevalli LS, Masuda K, Frigerio F, Le Bacquer O, Um SH, Gandin V, et al. S6K1 plays a critical role in early adipocyte differentiation. *Dev Cell*. 2010;18(5):763-74.
19. Polak P, Cybulski N, Feige JN, Auwerx J, Rüegg MA, Hall MN. Adipose-specific knockout of raptor results in lean mice with enhanced mitochondrial respiration. *Cell Metab*. 2008;8(5):399-410.
20. Lee PL, Tang Y, Li H, Guertin DA. Raptor/mTORC1 loss in adipocytes causes progressive lipodystrophy and fatty liver disease. *Mol Metab*. 2016;5(6):422-32.
21. Lee KY, Russell SJ, Ussar S, Boucher J, Vernochet C, Mori MA, et al. Lessons on conditional gene targeting in mouse adipose tissue. *Diabetes*. 2013;62(3):864-74.
22. Shan T, Zhang P, Jiang Q, Xiong Y, Wang Y, Kuang S. Adipocyte-specific deletion of mTOR inhibits adipose tissue development and causes insulin resistance in mice. *Diabetologia*. 2016;59(9):1995-2004.
23. Yoon MS, Zhang C, Sun Y, Schoenherr CJ, Chen J. Mechanistic target of rapamycin controls homeostasis of adipogenesis. *J Lipid Res*. 2013;54(8):2166-73.
24. Laplante M, Horvat S, Festuccia WT, Birsoy K, Prevorsek Z, Efeyan A, et al. DEPTOR cell-autonomously promotes adipogenesis, and its expression is associated with obesity. *Cell Metab*. 2012;16(2):202-12.
25. Magdalon J, Chimin P, Belchior T, Neves RX, Vieira-Lara MA, Andrade ML, et al. Constitutive adipocyte mTORC1 activation enhances mitochondrial activity and reduces visceral adiposity in mice. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(5):430-8.
26. Xiang X, Lan H, Tang H, Yuan F, Xu Y, Zhao J, et al. Tuberous sclerosis complex 1-mechanistic target of rapamycin complex 1 signaling determines brown-to-white adipocyte phenotypic switch. *Diabetes*. 2015;64(2):519-28.
27. Caron A, Richard D, Laplante M. The roles of mTOR complexes in lipid metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2015;35:321-48.
28. Labbé SM, Mouchiroud M, Caron A, Secco B, Freinkman E, Lamoureux G, et al. mTORC1 is required for brown adipose tissue recruitment and metabolic adaptation to cold. *Sci Rep*. 2016;6:37223.
29. Liu D, Bordicchia M, Zhang C, Fang H, Wei W, Li JL, et al. Activation of mTORC1 is essential for β -adrenergic stimulation of adipose browning. *J Clin Invest*. 2016;126(5):1704-16.
30. Tran CM, Mukherjee S, Ye L, Frederick DW, Kissig M, Davis JG, et al. Rapamycin blocks induction of the thermogenic program in white adipose tissue. *Diabetes*. 2016;65(4):927-41.