MAYNARA LUCCA ANDRADE

mTORC1 é um importante mediador do aumento de adiponectina sérica e do metabolismo de BCAA no tecido adiposo induzido pela rosiglitazona

São Paulo

2019

MAYNARA LUCCA ANDRADE

mTORC1 é um importante mediador do aumento de adiponectina sérica e do metabolismo de BCAA no tecido adiposo induzido pela rosiglitazona

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr William Tadeu Lara Festuccia

Versão Corrigida

São Paulo

2019

Às duas mulheres da minha vida,

Vó Zalina (*in memoriam*) e Rosária

AGRADECIMENTOS

A jornada percorrida durante um Doutorado só se torna possível porque existem pessoas nos dando suporte (orientador, família e amigos), e sem os quais qualquer jornada se tornaria ineficiente e vazia de propósito. Acredito que o mais importante não é o término da jornada, mas a maneira de que ela foi conduzida e o quanto isso contribui ao nosso redor. Minha jornada foi repleta de pessoas especiais com quem aprendi e ensinei que o que mais importa são as pessoas e o bem-estar de cada um. Logo, o sentimento de gratidão ao fim desse ciclo é verdadeiro!!

Em primeiro lugar, e mais importante, deixo aqui meu eterno e imensurável agradecimento aos meus pais (Rosária e Talmor) por contribuírem com o meu desenvolvimento desde meus primeiros passos até hoje, e por serem compreensivos nos meus inúmeros momentos ausentes da família em virtude do meu objetivo. Em especial minha mãe, que sempre incentivou e acreditou na minha jornada rumo aos meus sonhos, mesmo que isso significasse a minha distância cada vez maior, além de ser meu maior exemplo de amor que tive na vida!!! Aos meus irmãos, Tharyan e Thayane, que sempre se fazem presentes e conectados independente da distância que nos separa. Amo todos vocês!

Agradeço imensamente ao professor William Festuccia, por quem tenho uma enorme admiração quanto ao seu trabalho desenvolvido junto à Ciência. Obrigada por permitir juntar-me à sua equipe de maneira tão receptiva, por me ensinar a fazer uma pesquisa séria e comprometida, por me dar suporte ao longo dessa trajetória e contribuir com meu crescimento científico. Por ter paciência comigo também!!! Muito obrigada!!!

Aos meus colegas de laboratório: Alex Shimura, Fernanda Janku, Vivian Paschoal, Patrícia Chimin, Rafael Junges, Érique Castro, Tiago Eugênio “Chico”, Milene Ortiz, Mayara Moreno, Gustavo Gilio, Albert Souza, Adriano Brito, Carol Tomazelli, Thayná Vieira. Em especial aos colegas que se tornaram amigos de coração pra vida: Thiago Belchior e Juliana Magdalon. Todos vocês contribuíram para momentos inesquecíveis e muito felizes, tornando-se uma família científica. Muito obrigada a todos vocês, por tornarem o caminho mais leve e rico de aprendizado! Vocês são pesquisadores brilhantes!

Aos membros do laboratório da professora Sayuri, bem como a própria professora Sayuri Myamoto, onde tive a felicidade e oportunidade única de aprender mais sobre o universo dos lipídeos. Obrigada Isa, Alex, Dri, Lucas... Em especial, ao Marcos Yoshinaga, por me ensinar mais do que análise de lipídeos, ser sempre tão solícito e por não me deixar desanimar perante as dificuldades do caminho. Muito Obrigada!!!!

Aos meus amigos da vida, que ajudam a nos manter firmes perante todas as dificuldades e quem nos faz lembrar de onde viemos e pra onde devemos ir. João Esteves, Ana Cláudia Pelissari, Débora Guariglia, Gi Bueno, Nayara Caruzzo, Solange Franzói e Sidney Peres. Em especial à Janayna Dias Lima, com quem vivi e aprendi lições que

transcendem qualquer Doutorado. Muito obrigada a todos, vocês são muito importantes pra mim!!!

Aos professores Evan Rosen e Linus Tsai (Harvard Medical School- Boston) que me deram a oportunidade ímpar de aprender e conviver com cientistas dedicados dos mais diferentes lugares do mundo. Aos membros do laboratório do Rosen/Tsailab: Deepti, Luhong, Anlu, Shuai, Suraj, Frankie, Margot, Hyun, Jin, Erwei, Tyler, Adam, Nufar, Chris e Rachel. Além dos membros do laboratório do professor Alex Banks: Deepti, Yuchen, Jessy e June. Obrigada a todos pela oportunidade de aprender muito!

Agradeço também aos funcionários do ICB-USP que nos dão suporte durante todo o processo na pós-graduação: Zé Maria, Paloma, Leila, Tarcísio, Bob, Seu Pena, Renata. Muito obrigada!

Por fim, gostaria de registrar um agradecimento póstumo, à minha vó Zalina, que sem dúvida foi grande responsável pela minha caminhada até aqui. Sua profissão de educadora me norteou ao caminho escolhido bem como a forma de trilhar esse caminho. Quem me ensinou a ler antes de todos, pacientemente treinando ditado de palavras e leitura. Além de me permitir ter um ensino de qualidade durante todo meu período escolar. Seu legado jamais será esquecido! Muito obrigada! Te amo.

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho teve apoio do CNPQ e FAPESP (processo 2015/13508-8).

“O essencial é invisível aos olhos.”

Antoine de Saint-Exupéry

ANDRADE, M.L. mTORC1 é um importante mediador do aumento de adiponectina sérica e do metabolismo de BCAA no tecido adiposo induzido pela rosiglitazona.[tese]São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas, 2019.

Resumo

As tiazolidinedionas (TZDs), ligantes sintéticos dos receptores nucleares PPARγ, têm sido amplamente utilizadas no tratamento da resistência à insulina, dislipidemias e síndrome metabólica. Estas drogas melhoram a homeostase da glicose promovendo redistribuição de gordura dos estoques viscerais para o subcutâneos, aumento da secreção de adiponectina, redução da lipemia, lipotoxicidade e da inflamação do tecido adiposo. Um estudo recente mostrou que o tratamento de ratos com a TZD rosiglitazona (RSG) induz um aumento na atividade dos complexos 1 e 2 da mTOR, que desempenham função importante no controle do metabolismo lipídico, adiposidade e função endócrina do tecido adiposo. Assim, o presente estudo teve como objetivo central elucidar o envolvimento especificamente do complexo 1 da mTOR de adipócitos nas alterações morfológicas, metabólicas e secretórias do tecido adiposo branco e marrom induzidas pela ativação farmacológica de PPARγ em camundongos. Para isto, camundongos com deleção de raptor (mTORC1) exclusivamente em adipócitos alimentados com dieta hiperlipídica foram tratados ou não com RSG (30 mg/kg/dia) por 8 semanas. Nossos dados mostraram que tanto o mTORC1 quanto o agonista de PPARγ são importantes reguladores da adiposidade. A deficiência de mTORC1 em adipócitos reduziu as massas de todos os tecidos adiposos investigados, enquanto o tratamento com RSG reduziu a massa somente dos depósitos de gordura viscerais retroperitoneal a epididimal. RSG aumentou significativamente a massa do tecido adiposo marrom, efeito esse que foi completamente abolido pela deficiência do complexo 1 da mTOR. Deficiência de mTORC1 em adipócitos promoveu aumento no conteúdo de UCP1 (expressão gênica e proteica), efeito este que não foi alterado pelo tratamento com RSG. Outros efeitos de RSG mostraram-se dependentes de mTORC1 como o aumento de porcentagem de adipócitos de menor área, aumento dos níveis de adiponectina e redução dos níveis de BCAA séricos, bem como o aumento da expressão gênica de CD36 e PEPCK e do conteúdo de cardiolipinas e ceramidas de cadeia longa,, lipídeos que constituem a membrana mitocondrial interna e atuam como mediadores inflamatórios, respectivamente. Por outro lado encontramos efeitos de RSG independentes de mTORC1, como a redução nos níveis séricos de TAG, redução de expressão gênica de fatores inflamatórios, tais como IL1β e TNFα, NLRP3, DUSP6, além de PGC1α e FAS, insulina plasmática, melhora na homeostase glicêmica. Concluímos assim que mTORC1

em adipócitos é importante mediador de algumas ações específicas induzidas pela ativação farmacológica de PPARγ com RSG como a secreção de adiponectina e o aumento do metabolismo oxidativo de BCAA no tecido adiposo.

Palavras-chave: mTOR; PPARγ; rosiglitazona; adiposidade; mitocôndria; lipídeos; inflamação

ANDRADE, M.L. mTORC1 is an important mediator of the increase in serum adiponectin and BCAA metabolism in adipose tissue induced by rosiglitazone.[thesis]São Paulo.Biomedical Sciences Institute -USP, 2019.

Abstract

Thiazolidinediones (TZDs), synthetic ligands of nuclear receptors PPARγ, have been widely used in the treatment of insulin resistance, dyslipidemia and metabolic syndrome. These drugs improve glucose homeostasis by promoting redistribution of fat from visceral to subcutaneous depots, by increasing adiponectin secretion and reducing lipemia, lipotoxicity, and adipose tissue inflammation. A recent study showed that the treatment of rats with TZD rosiglitazone (RSG) increases the activity of mTOR complexes 1 and 2, which play an important role in the control of lipid metabolism, adiposity and endocrine function of adipose tissue. Thus, we investigated herein the specific involvement of adipocyte mTOR complex 1 in the morphological, metabolic and secretory alterations of white and brown adipose tissue induced by pharmacological activation of PPARγ in mice. For this, mice with raptor deletion (mTORC1) exclusively in adipocytes and littermate controls were fed a hyperlipidic diet and treated or not with RSG (30 mg/ kg/ day) for 8 weeks. Our data showed that both mTORC1 and PPARγ agonist are important adiposity regulators. Indeed, mTORC1 deficiency in adipocytes reduced the mass of all adipose depots investigated, while RSG reduced the masses of visceral fat depots retroperitoneal and epididymal only. RSG induced a marked increase in brown adipose tissue mass, such, an effect that was blocked by mTOR 1 complex deficiency. mTORC1 deficiency in adipocytes increased UCP1 content (gene and protein expression). Interesting, RSG lost its ability to reduce the percentage of smaller adipocytes, to increase serum levels of adiponectin and reduce those of BCAA, as well as to increase mRNA levels of CD36 and PEPCK, mitochondrial lipids such as cardiolipin and lipid mediators as long chain ceramides in white adipose tissue in the absence of mTORC1 activity. Other effects of RSG such as reducing serum TAG and insulin levels, adipose tissue inflammation and IL1β and TNFα content, and improving glucose homeostasis were not affected by mTORC1 deficiency. We conclude that mTORC1 is important mediator of some specific actions of pharmacological PPARγ activation with RSG such as adiponectin secretion and BCAA oxidation at adipose tissue.

Key-words: mTOR, PPARγ, rosiglitazone, adiposity; mitochondria; lipids; inflammation

1. Introdução

O tecido adiposo é um órgão complexo envolvido no controle do metabolismo, sendo o principal reservatório energético do nosso organismo, responsável por estocar ou liberar substratos energéticos de acordo com o estado nutricional. Além de atuar como depósito, tem fundamental participação na homeostase corporal como um órgão endócrino, secretando adipocinas (proteínas) e lipocinas (lipídeos) que controlam diversos processos. Entre as principais adipocinas temos a adiponectina, que possui ações antiinflamatórias, a leptina, que está relacionada ao controle do apetite, além de citocinas proinflamatórias como TNFα e resistina. O tecido adiposo é um órgão heterogêneo constituído por fibras colágenas, tecido nervoso, células endoteliais e tronco-mesenquimais, neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos (SARANTOPOULOS, 2018). A célula principal que define o tecido adiposo é o adipócito. Esta possui a maquinaria enzimática necessária para sintetizar e armazenar lipídeos na forma de triacilglicerol em situações de equilibrio energético positivo (ingestão maior que gasto calórica), bem como, de hidrolisar estas moléculas liberando seus constituintes ácidos graxos e glicerol para a circulação em situações de equilíbrio energético negativo (gasto maior que ingestão calórica). Estes processos denominados de lipogênese e lipólise, respectivamente, são regulados finamente por mecanismos neurais, hormonais e nutricionais (FONSECA-ALANIZ,2006). A insulina, por exemplo, é um importante ativador do processo de lipogênese em adipócitos por mecanismo que envolve maior captação de glicose e ácidos graxos via proteínas transportadoras e ativação de diversas enzimas envolvidas na síntese de triacilglicerol. A insulina estimula a captação de glicose em adipócitos induzindo a translocação de vesículas contendo o transportador específico desta hexose GLUT4 para a membrana celular. Depois de captada, a glicose é convertida principalmente em glicerol 3-fosfato pela via glicolítica servindo então como substrato para a síntese de triacilglicerol. Já o transporte de ácidos graxos ocorre por ação predominante do transportador CD36, que também é estimulado pela insulina (Fig. 1) (HACZEYNI, 2018).

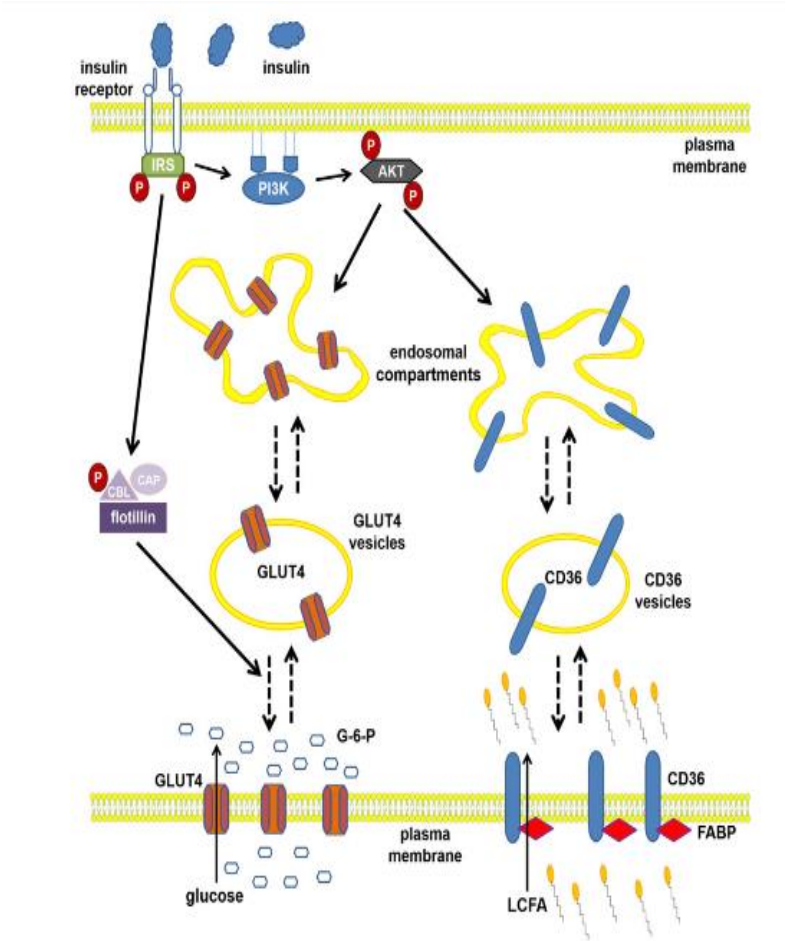

Figura 1 . Captação de glicose e ácidos graxos pelos adipócitos, mediada pela ação da insulina. Extraído de HACZEYNI, 2018.

Os adipócitos podem ser classificados em três tipos de acordo com suas características: branco, marrom e bege. O adipócito branco apresenta gota unilocular de lipídeos, possui poucas mitocôndrias, e tem como função principal o armazenamento de lipídeos e a secreção de adipocinas. O segundo tipo de adipócito encontrado é o marrom, multilocular, rico em mitocôndrias e tem como principal função a produção de calor. Esse processo é catalisado pela proteína desacopladora mitocondrial 1 (UCP-1), que após ativação alostérica por ácidos graxos provenientes da lipólise dos estoques intracelulares de triacilglicerol, promove desacoplamento mitocondrial, dissipando na forma de calor, o gradiente de prótons produzido pela cadeia transportadora de elétrons processo esse denominado de termogênese livre de tremor muscular (RICQUIER, 2011;WU, 2012). O terceiro tipo de adipócito é o bege, que apresenta características mistas e, dependendo do estímulo vigente pode se comportar funcionalmente como um adipócito branco clássico ou

adipócito marrom. O recrutamento desses adipócitos para fenótipo termogênico, processo este denominado *browning*, ocorre principalmente por estímulo β-adrenérgico como exposição ao frio, e tratamento com agonistas adrenérgicos β1 e 3, como também pela ativação farmacológica de PPARγ, e envolve a multilocularidade, o aumento da massa mitocondrial e do conteúdo de UCP-1 (SPONTON, 2018).

A formação de novos adipócitos envolve três processos distintos: 1- a proliferação de células-tronco mesenquimais presentes na fração estroma-vascular do tecido adiposo; 2- término da proliferação e conversão das células tronco mesenquimais em pré-adipócitos; e 3) diferenciação terminal de pré-adipócitos em adipócitos maduros, processo este denominado de adipogênese. Esses processos são caracterizados por alterações na expressão dos antígenos de superfície celular à medida que as células progridem de células-tronco mesenquimais à pré-adipócitos e posteriormente, à adipócitos maduro (SARANTOPOULOS, 2018). CD34 e Sca-1 são marcadores de pré-adipócitos, sendo o CD34 uma glicoproteína transmembrana que promove adesão celular, migração e diferenciação (ROSEN,2006; SARANTOPOULOS, 2018). Outro importate marcador de superfície de pré-adipócito é o Pref-1, cuja expressão se extingue durante o processo de diferenciação. A deleção de Pref-1 reduz significativamente a quantidade de tecido adiposo em camundongos (HUDAK, 2013).

Dentre os diversos fatores que controlam a adipogênese, os receptores nucleares PPARγ (receptor ativador da proliferação de peroxissomos) são componentes essenciais, já que sua deleção impede a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros (ROSEN,2006). Os PPARγ são encontrados em duas isoformas distintas (PPARγ1 e PPARγ2), sendo a isoforma 1 altamente expressa em adipócitos maduros e em menor proporção em macrófagos, neurônios e cardiomiócitos, enquanto a isoforma 2 é expressa exclusivamente em adipócitos maduros (GESTA,2006). Além da adipogênese, os PPARγ são também essenciais para a manutenção do fenótipo dos adipócitos maduros por meio do controle da expressão de várias proteínas envolvidas em diversos aspectos do metabolismo de lipídeos incluindo captação, esterificação, lipólise, reciclagem e oxidação dos ácidos graxos à triacilglicerol (FESTUCCIA,2006; FESTUCCIA,2009a; FESTUCCIA; 2009b), bem como, de aspectos do metabolismo de carboidratos incluindo a captação e conversão da glicose em glicerol 3-fosfato (FESTUCCIA,2009a). Além do metabolismo de lipídios, os PPARγ modulam também a função endócrina do tecido adiposo, inibindo a expressão e secreção de leptina, TNFα e IL-6 e outras moléculas pró-inflamatórias (DE VOS, 1996; SPIEGELMAN , 2008), e aumentando a secreção de adiponectina e CRTP1 (BERG, 2002; WONG,2008). A

deleção parcial ou sistêmica de PPARγ causa severos danos metabólicos (HE,2003; IMAI,2004; GRAY,2005). Estudo recente em camundongos com deficiência desse receptor nuclear encontraram severa lipodistrofia, hepatomegalia, hiperfagia, diabetes tipo 2 caracterizada por hiperinsulinemia, hiperglicemia, poliúria, além de um intrigante aumento na massa magra (GILARDI, 2019).

Os PPARγ podem ser ativados tanto por ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, atuando como um sensor intracelular de lipídios (EVANS,2004), quanto por uma família de ligantes sintéticos denominados de tiazolidinedionas (TZDs) que incluem a rosiglitazona e a pioglitazona. As TZDs possuem grande especificidade de interação e potência de ativação de PPARγ**,** sendo largamente utilizadas no tratamento da resistência à insulina, síndrome metabólica e dislipidemias (EVANS,2004). A administração de TZDs em humanos e roedores induz melhora na tolerância à glicose, na sensibilidade à insulina e no perfil plasmático de lipídios. Apesar destes efeitos benéficos, o uso clínico das TZDs, especialmente a rosiglitazona, têm sido limitado devido aos diversos efeitos colaterais associados a estas drogas que incluem o aumento na adiposidade, retenção de líquido e insuficiência cardíaca, que acometem aproximadamente 15% dos pacientes (LARSEN, 2003; SEMPLE, 2006). Entre os diversos mecanismos envolvidos na melhora da homeostase da glicose induzida pelo tratamento com TZDs, podemos citar a redistribuição de gordura dos estoques viscerais para o subcutâneos, o aumento da secreção e níveis circulantes de adiponectina e a redução da lipemia, lipotoxicidade e inflamação do tecido adiposo (MIYAZAKI, 2002; YANG,2007).

Estudos indicam a existência de relação direta entre variações regionais no acúmulo de gordura e desenvolvimento de doenças metabólicas (DESPRES, 2006). Mais especificamente, a deposição de gordura nos estoques intra-abdominais ou viscerais está diretamente relacionada com uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos, como a intolerância à glicose, hiperinsulinemia, dislipidemia e hipertensão. Assim, a redistribuição de gordura dos estoques viscerais para os subcutâneos induzida pelas TZDs atenua os efeitos maléficos da excessiva deposição de gordura visceral na homeostase metabólica. Os mecanismos pelos quais as TZDs promovem redistribuição de gordura ainda não foram completamente elucidados, mas parecem envolver um aumento nos depósitos subcutâneos da atividade da lipase lipoproteica (LPL), e assim do *clearance* e deposição dos lipídios circulantes, do conteúdo de DNA e número de adipócitos, indicando uma possível participação dos processos de proliferação e/ou apoptose (LAPLANTE,2003).

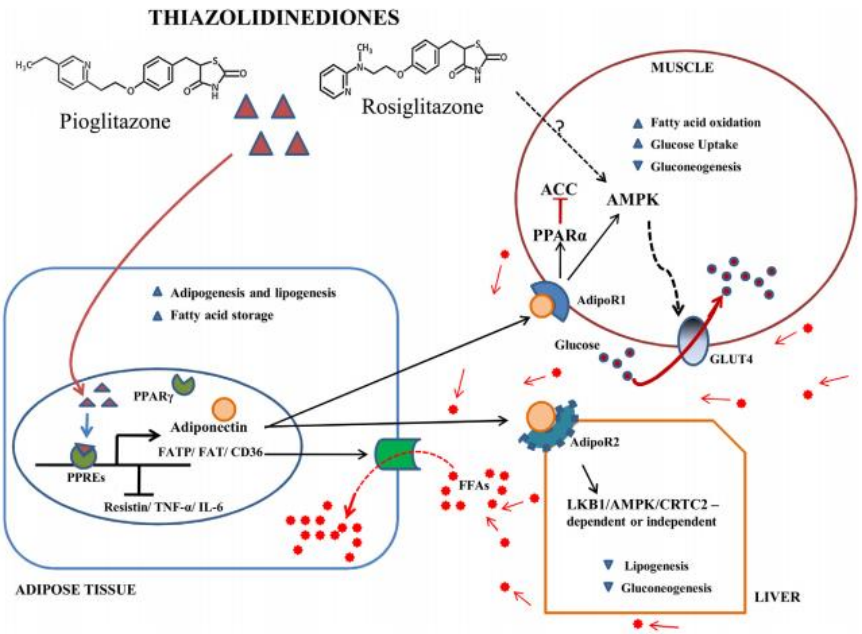

Figura 2. Representação esquemática das ações das TZDs em adipócitos, fígado e músculo esquelético. (GUPTA,2016)

Além dos efeitos citados acima, a ativação dos PPARγ com TZDs promove a biogênese mitocondrial, a expressão da proteína desacopladora UCP1 e o recrutamento de adipócitos bege no tecido adiposo branco (WILSON-FRITCH,2003; PETROVIC,2008; LAPLANTE,2006; OHNO,2012), aumentando a capacidade oxidativa e termogênica deste tecido. Este efeito, entretanto, não está associado ao aumento proporcional no gasto energético corporal (24). Importante, a indução de genes termogênicos pela rosiglitazona parece ser mais expressiva nos depósitos subcutâneos e depender do corregulador PRDM16 (OHNO,2012).

Similarmente ao tecido adiposo branco subcutâneo, a ativação farmacológica de PPARγ aumenta também a massa do tecido adiposo marrom, através do aumento do número de adipócitos marrons, bem como, da expressão de genes relacionados à captação e esterificação de ácidos graxos em triacilglicerol como a LPL, PEPCK (fosfoenolpiruvato carboxiquinase) e GyK (gliceroquinase), entre outros (FESTUCCIA,2009a). O tecido adiposo marrom é especializado na termogênese (produção de calor), devido a presença da UCP1 na membrana mitocondrial interna (CANNON, 2004; SPONTON, 2018). Interessantemente, o aumento da massa do tecido adiposo marrom pela rosiglitazona ocorre concomitantemente com um aumento do conteúdo de UCP1 e outras proteínas termogênicas, efeito este que não está associado a um aumento da termogênese e gasto calórico devido a inibição da atividade simpática e dos hormônios tireoideanos pelas TZDs (FESTUCCIA,2008).

Apesar destes estudos, os mecanismos moleculares pelos quais TZDs exercem suas ações no tecido adiposo branco e marrom ainda não foram completamente determinados. Neste sentido, estudo conduzido por Blanchard (BLANCHARD,2012) encontrou que o tratamento de ratos com rosiglitazona induz um aumento no tecido adiposo da atividade do complexo 1 da mTOR, um sensor de nutrientes que desempenha função importante no controle do metabolismo lipídico e adiposidade.

A mTOR (proteína alvo mecanístico da rapamicina) é uma serina-treonina quinase extremamente conservada, membro da família da fosfoinositol 3-quinase (PI3K) que controla a síntese protéica e lipídica, o crescimento e a proliferação celular de acordo com os níveis de fatores de crescimento e nutrientes e o estado energético da célula. mTOR é o centro catalítico de dois complexos multiprotéicos distintos, complexo 1 e 2 da mTOR (mTORC1 e mTORC2, respectivamente), que possuem funções biológicas e substratos distintos, além de diferente sensibilidade a inibição pela rapamicina.

O mTORC1 é o principal regulador do crescimento e proliferação celular. É ativado principalmente por aminoácidos, além de fatores de crescimento como a insulina e IGF1, e sua atividade visa regular os processos anabólicos e catabólicos nas células. (LEE, 2017). Além da quinase mTOR, o complexo 1 da mTOR é composto por quatro proteínas RAPTOR, mLST8, PRAS40 e DEPTOR. A proteína RAPTOR (proteína reguladora associada à mTOR), bem como a mLST8 (proteína letal em mamíferos com Sec13) são essenciais para o funcionamento de mTORC1, enquanto a PRAS40 (substrato rico em prolina de AKT de 40 kDa) e a DEPTOR (proteína de interação à mTOR contendo o domínio DEP) atuam inibindo a atividade do complexo.

Mecanisticamente, a ativação de mTORC1 por fatores de crescimento, como a insulina, envolve a interação e ativação de receptor localizado na membrana celular. A interação da insulina com seu receptor promove alteração em sua conformação, aumentando a atividade tirosina quinase intrínseca do mesmo, sua autofosforilação, bem como, a fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS1). O IRS1 por sua vez, ativa alostericamente a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e a produção de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3). Esse aumento do conteúdo de PIP3 promove o recrutamento e ativação da proteína quinase dependente de 3'-fosfatidilinositol 1 (PDK1) e do complexo 2 da mTOR, os quais recrutam e ativam a AKT através da fosforilação em resíduos de Thr308 e Ser473, respectivamente. A ativação da AKT fosforila e inibe TSC2, que em conjunto com TSC1 e TBC1D7 forma o complexo da esclerose tuberosa (TSC). Além dessa via, a insulina também pode estimular mTORC1 ativando a via da MAPK/ERK (quinase regulada por sinal extracelular), que também acaba por fosforilar e inibir o complexo TSC. (LAPLANTE,2009)

Ambas as vias ativam mTORC1 pela fosforilação e inibição do complexo TSC, que deixa de exercer sua atividade inibitória em mTORC1 (EFEYAN, 2013). Por outro lado, os mecanismos envolvidos na ativação de mTORC1 por aminoácidos são bastante complexos e não totalmente compreendidos. Estudos conduzidos pelo laboratório do professor David Sabatini (SHEN, 2019; SHEN, 2018; SHEN, 2017; EFEYAN, 2013; SANCAK 2010) tem buscado entender melhor a interação entre os aminoácidos e mTORC1. Um regulador importante da sinalização de mTORC1 na presença de aminoácidos é o complexo RAG GTPase, que se localiza na membrana dos lisossomos ancorado a outro complexo, o RAGULATOR, que ao ser ativado, recruta mTORC1, resultando em sua translocação do citoplasma para os lisossomos (SANCAK,2010). Esse complexo (RAG GTPase), é um heterodímero composto por RAGA/B ou RAGC/D que encontram-se ligados ao GDP, apresentando sua forma ativa quando o RAGA/B está ligado ao GTP enquanto que o RAGC/D está ligado ao GDP (BAR-PELED, 2014). O complexo RAGULATOR, na presença de aminoácidos, interage com a v-ATPase do lisossomo atuando como o catalisador da troca de RAGA/B-GDP para RAGA/B-GTP. O RAG GTPase também é regulado por outros complexos e proteínas importantes, como o GATOR1 e GATOR2. Na presença de aminoácidos, o GATOR2 está em sua forma ativa inibindo o GATOR1, inativando a ação do complexo RAG GTPase. Na ausência de aminoácidos, SESTRIN 1/2/3 (SESN) e CASTOR1 atuam na inibição de GATOR2, processo esse interrompido quando SESN se liga à leucina e CASTOR1 à arginina, conforme ilustrado na Figura 2 (LEE, 2017). Em estudo recente conduzido por Castellano (2017), descobriu-se que a mTORC1 detecta também o colesterol, através de mecanismo que também envolve a translocação para os lisossomos. Quando ativa, mTORC1 exerce suas ações principalmente pela fosforilação de diversas proteínas como a S6K, 4E-BP e a ULK-1.

Já o complexo 2 da mTOR é menos compreendido quando comparado ao 1 e está envolvido no controle do anabolismo e sobrevivência celular. Assim como o complexo 1, é também formado pela mTOR, mLST8 e DEPTOR, que associam-se a outras três proteínas, a RICTOR, mSIN1 (proteína não-sensível à rapamicina) e PROTOR-1. O mTORC2 é regulado por fatores de crescimento e mediado pela PI3K(SAXTON,2017). Além da Akt, mTORC2 fosforila e ativa a SGK1 (proteína quinase induzida por soro e glicocorticóides) e a PKC (proteína quinase C)(LAMMING,2014).

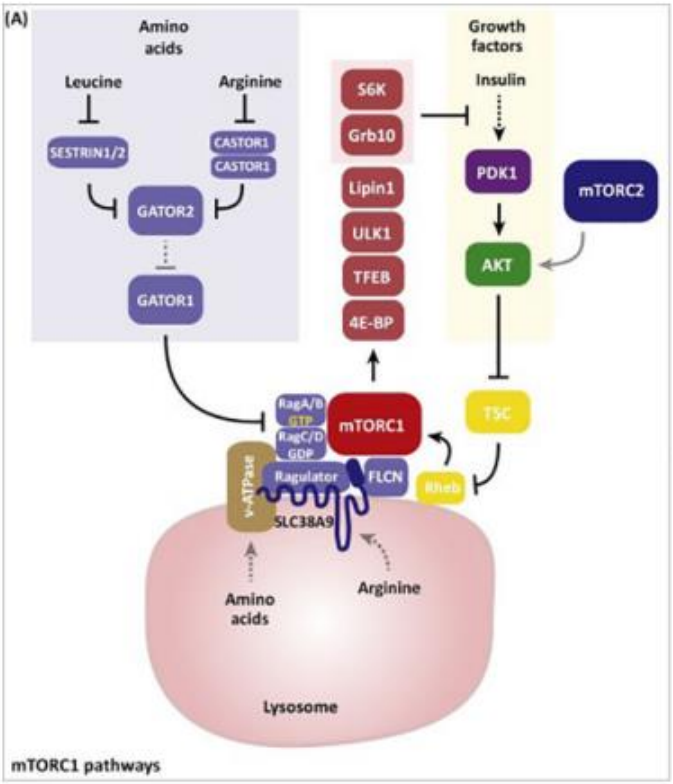

Figura 3.Vias de sinalização da mTOR. Extraído e adaptado do artigo *The Complex Roles of mTOR in Adipocytes and Beyond* (LEE et al., 2017)

Estudos tem mostrado a fundamental participação da mTOR no desenvolvimento e manutenção do tecido adiposo (SHAN,2016;CAI,2016). A inibição farmacológica de mTORC1 em pré-adipócitos com rapamicina bloqueou completamente a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros através da inibição de PPARγ (KIM, 2004). Corroborando com o envolvimento de mTORC1 no controle da adiposidade, tanto o tratamento com rapamicina, quanto a deleção de S6K1, uma proteína que é diretamente fosforilada e ativada por mTORC1, protegem contra o aumento de adiposidade e obesidade induzida por dieta rica em lipídios (HOUDE,2010; POLAK,2008; UM,2004). Neste sentido, camundongos com deleção de RAPTOR e assim deficiência de mTORC1 exclusivamente em adipócitos, apresentaram deficiência na captação e estoque de lipídeos nos adipócitos e reduzida adiposidade, que foi associada com esteatose hepática e resistência à insulina (LEE, 2017). Em conjunto estes estudos sugerem que a inibição de mTORC1 está associada com redução da adiposidade.

Diversos estudos também avaliaram os efeitos da ativação de mTORC1 em adipócitos. Em um estudo *in vitro*, ZHANG et al., 2009 demonstraram que a ativação constitutiva do mTORC1 (deleção de TSC2) potencializa o processo de adipogênese e a expressão de

PPARγ. In vivo, a deleção de 4E-BP que mimetiza a ativação de mTORC1 (4E-BP é fosforilada e inibida por mTORC1) também está associada com um aumento da deposição lipídica e adiposidade em camundongos (LE BACQUER,2007). Entretanto, em estudo publicado pelo nosso laboratório, encontramos que a ativação constitutiva de mTORC1, por meio da deleção de TSC1 em adipócitos, induziu *in vivo* em camundongos uma importante redução da adiposidade visceral que foi associada ao *browning* e aumento da atividade oxidativa mitocondrial deste tecido (MAGDALON 2016). Em um trabalho em colaboração com o Prof Sabatini encontramos também que a superexpressão de DEPTOR, uma proteína que compõem e inibe o complexo 1 da mTOR, exacerba a adipogênese e a adiposidade subcutânea, por um mecanismo que envolve redução do feedback negativo catalisado por S6K1 em IRS e ativação de Akt (LAPLANTE,2012). Em conjunto estes dados sugerem a hipótese que um nível ótimo de atividade de mTORC1 é necessário para que as ações lipogênicas deste complexo prevaleçam e resultem em aumento de adiposidade (MAGDALON,2017).

Um aspecto comum encontrado praticamente em todos os estudos de ganho e perda de função de mTORC1 acima mencionados, são as alterações do conteúdo e atividade transcricional de PPARγ. Enquanto a inibição de mTORC1 está associada com redução da expressão e atividade transcricional de PPARγ, a ativação constitutiva deste complexo promove aumento de conteúdo e atividade de PPARγ. Os mecanismos pelos quais mTORC1 regula o conteúdo e atividade de PPARγ são completamente desconhecidos. Um outro aspecto interessante a ser considerado na interação entre mTORC1 e PPARγ são os achados que a ativação farmacológica de PPARγ com rosiglitazona está associada com um aumento da atividade de mTORC1 no tecido adiposo (BLANCHARD,2012). Em conjunto estes dados sugerem a existência de um mecanismo de retroalimentação positiva na interação entre mTORC1 e PPARγ. Neste sentido, Blanchard e colaboradores (BLANCHARD,2012) realizaram um estudo para investigar a hipótese de que a mTOR é um importante mediador do aumento da adiposidade subcutânea e da atividade da LPL (lipase de lipoproteínas) induzida pela ativação de PPARγ in vivo. Para isto, ratos tratados com a TZD rosiglitazona em combinação ou não com o inibidor farmacológico de mTOR denominado de rapamicina, foram avaliados para o perfil plasmático de lipídio, secreção e *clearance* de triacilglicerol, atividade da LPL e a expressão de diversos genes envolvidos na captação e esterificação de ácidos graxos a TAG. Em resumo foi encontrado neste estudo que mTORC1 participa ativamente no controle das alterações de homeostase lipídica e adiposidade, no aumento da atividade de LPL e *clearance* de lipídios induzida pela rosiglitazona. Entretanto, devido a

inibição sistêmica de ambos os complexos da mTOR (mTORC1 e mTORC2) e diversos outros efeitos colaterais associados ao tratamento farmacológico com rapamicina, não foi possível neste estudo definir especificamente a participação especificamente da mTORC1 de adipócitos nos diversos efeitos da rosiglitazona no tecido adiposo branco e marrom. Assim, propusemos nesse estudo, utilizando a deleção genética tecido-específica do complexo 1 da mTOR em adipócitos, identificar quais ações induzidas pela ativação farmacológica de PPARγ por rosiglitazona são mediadas especificamente por esse complexo.

Conclusão

Em conjunto, nossos achados indicam que ações importantes da rosiglitazona são mediadas pelo complexo 1 da mTOR, como o aumento da massa do tecido adiposo marrom, aumento nos níveis circulantes de adiponectina, redução de BCAA circulante, aumento de lipídeos mitocondriais (CL e PE), bem como aumento de expressão gênica de importantes genes relacionados ao metabolismo lipídico (CD36, PEPCK).

Por outro lado, efeitos sob a homeostase da glicose são independentes da mTORC1.

A compreensão acerca das ações de rosiglitazona efeito-dependentes de mTORC1 poderão conduzir a novos alvos terapêuticos no tratamento de doenças metabólicas, como a obesidade.

Referências

ACHARI, Arunkumar; JAIN, Sushil. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 6, p. 1321, 2017.

ARNER, Erik et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. **Diabetes**, v. 59, n. 1, p. 105-109, 2010

BALLESTEROS, Iván et al. Rosiglitazone-induced CD36 up-regulation resolves inflammation by PPARγ and 5-LO-dependent pathways. **Journal of leukocyte biology**, v. 95, n. 4, p. 587-598, 2014.

BAR-PELED, Liron; SABATINI, David M. Regulation of mTORC1 by amino acids. **Trends in cell biology**, v. 24, n. 7, p. 400-406, 2014.

BEAUDOIN, Marie-Soleil et al. Rosiglitazone is superior to resveratrol in inducing the expression of glyceroneogenic genes in adipose tissue from obese participants. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 43, n. 3, p. 307-311, 2017.

BELCHIOR, Thiago et al. Omega-3 fatty acids protect from diet-induced obesity, glucose intolerance, and adipose tissue inflammation through PPARγ-dependent and PPARγ-independent actions. **Molecular nutrition & food research**, v. 59, n. 5, p. 957-967, 2015.

BERG, Anders H.; COMBS, Terry P.; SCHERER, Philipp E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 13, n. 2, p. 84-89, 2002.

BLANCHARD, Pierre-Gilles et al. Major involvement of mTOR in the PPARγ-induced stimulation of adipose tissue lipid uptake and fat accretion. **Journal of lipid research**,

v. 53, n. 6, p. 1117-1125, 2012.

BLANCHARD, Pierre-Gilles et al. PPARγ is a major regulator of branched-chain amino acid blood levels and catabolism in white and brown adipose tissues. **Metabolism**, v. 89, p. 27-38, 2018.

CANNON, Barbara; NEDERGAARD, J. A. N. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiological reviews**, v. 84, n. 1, p. 277-359, 2004.

CAI, Huan; DONG, Lily Q.; LIU, Feng. Recent advances in adipose mTOR signaling and function: therapeutic prospects. **Trends in pharmacological sciences**, v. 37, n. 4, p. 303-317, 2016.

CASTELLANO, Brian M. et al. Lysosomal cholesterol activates mTORC1 via an SLC38A9–Niemann-Pick C1 signaling complex. **Science**, v. 355, n. 6331, p. 1306-1311, 2017.

CHOI, Songhwa; SNIDER, Ashley J. Sphingolipids in high fat diet and obesity-related diseases. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015.

CHIMIN, Patricia et al. Adipocyte mTORC1 deficiency promotes adipose tissue inflammation and NLRP3 inflammasome activation via oxidative stress and de novo ceramide synthesis. **Journal of lipid research**, v. 58, n. 9, p. 1797-1807, 2017.

CONNELLY, Margery A.; WOLAK-DINSMORE, Justyna; DULLAART, Robin PF. Branched chain amino acids are associated with insulin resistance independent of leptin and adiponectin in subjects with varying degrees of glucose tolerance. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 15, n. 4, p. 183-186, 2017.

DE VOS, Piet et al. Thiazolidinediones repress ob gene expression in rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. **The Journal of clinical investigation**, v. 98, n. 4, p. 1004-1009, 1996.

DESPRÉS, Jean-Pierre; LEMIEUX, Isabelle. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 881-887, 2006.

EFEYAN, Alejo; SABATINI, David M. Nutrients and growth factors in mTORC1 activation. **Biochemical Society Transactions**, v. 41, n. 4, p. 902-905, 2013.

ENGIN, Ayse Basak. What is lipotoxicity?. In: **Obesity and Lipotoxicity**. Springer, Cham, 2017. p. 197-220.

EVANS, Ronald M.; BARISH, Grant D.; WANG, Yong-Xu. PPARs and the complex journey to obesity. **Nature medicine**, v. 10, n. 4, p. 355, 2004.

FAYYAD, Abeer Maher et al. Rosiglitazone Enhances Browning Adipocytes in Association with MAPK and PI3-K Pathways During the Differentiation of Telomerase-Transformed Mesenchymal Stromal Cells into Adipocytes. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 7, p. e1618, 2019.

FELIG, Philip et al. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 281, n. 15, p. 811-816, 1969.

FESTUCCIA, W. T. et al. PPARγ agonism increases rat adipose tissue lipolysis, expression of glyceride lipases, and the response of lipolysis to hormonal control. **Diabetologia**, v. 49, n. 10, p. 2427-2436, 2006.

FESTUCCIA, William T. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ-mediated positive energy balance in the rat is associated with reduced sympathetic drive to adipose tissues and thyroid status. **Endocrinology**, v. 149, n. 5, p. 2121-2130, 2008.

FESTUCCIA, William. T; DESHAIES, Yves. Depot specificities of PPARg ligand actions on lipid and glucose metabolism and their implication in PPARg-mediated body fat redistribution. **Clinical Lipidology**, v. 4, n. 5, p. 633-642, 2009a.

FESTUCCIA, William. T. et al. Depot-specific effects of the PPARγ agonist rosiglitazone on adipose tissue glucose uptake and metabolism. **Journal of lipid research**, v. 50, n. 6, p. 1185-1194, 2009b.

FESTUCCIA, William T. et al. Basal adrenergic tone is required for maximal stimulation of rat brown adipose tissue UCP1 expression by chronic PPAR-γ

activation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 1, p. R159-R167, 2010

FONSECA-ALANIZ, Miriam H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 50, n. 2, p. 216-229, 2006.

GESTA, Stephane et al. Evidence for a role of developmental genes in the origin of obesity and body fat distribution. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 17, p. 6676-6681, 2006.

GLATZ, Jan FC; LUIKEN, Joost JFP. From fat to FAT (CD36/SR-B2): understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. **Biochimie**, v. 136, p. 21-26, 2017.

GILARDI, Federica et al. Systemic PPARγ deletion in mice provokes lipoatrophy, organomegaly, severe type 2 diabetes and metabolic inflexibility. **Metabolism**, v. 95, p. 8-20, 2019.

GRAY, S. L.; DALLA NORA, E.; VIDAL-PUIG, A. J. Mouse models of PPAR-γ deficiency: dissecting PPAR-γ's role in metabolic homoeostasis. **Biochemical Society Transactions**,v 33, 2005.

GREGOR, Margaret F.; HOTAMISLIGIL, Gökhan S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**, v. 29, p. 415-445, 2011.

GROESCH, Sabine; SCHIFFMANN, Susanne; GEISSLINGER, Gerd. Chain length-specific properties of ceramides. **Progress in lipid research**, v. 51, n. 1, p. 50-62, 2012.

GUPTA, Prachi et al. Efficacy and risk profile of anti-diabetic therapies: Conventional vs traditional drugs—A mechanistic revisit to understand their mode of action. **Pharmacological research**, v. 113, p. 636-674, 2016.

HACZEYNI, F.; BELL-ANDERSON, K. S.; FARRELL, G. C. Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. **Obesity reviews**, v. 19, n. 3, p. 406-420, 2018.

HANDSCHIN, Christoph; SPIEGELMAN, Bruce M. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. **Endocrine reviews**, v. 27, n. 7, p. 728-735, 2006.

HANNUN, Yusuf A.; OBEID, Lina M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 19, n. 3, p. 175,

HE, Weimin et al. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor γ knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15712-15717, 2003.

HOUDE, Vanessa P. et al. Chronic rapamycin treatment causes glucose intolerance and hyperlipidemia by upregulating hepatic gluconeogenesis and impairing lipid deposition in adipose tissue. **Diabetes**, v. 59, n. 6, p. 1338-1348, 2010.

HUDAK, Carolyn S.; SUL, Hei Sook. Pref-1, a gatekeeper of adipogenesis. **Frontiers in endocrinology**, v. 4, p. 79, 2013.

IMAI, Takeshi et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ is required in mature white and brown adipocytes for their survival in the mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 13, p. 4543-4547, 2004

IWAKI, Masanori et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. **Diabetes**, v. 52, n. 7, p. 1655-1663, 2003.

JIN, Dan et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ enhances adiponectin secretion via up-regulating DsbA-L expression. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 411, p. 97-104, 2015

JOHNSON, Julia A. et al. Prolonged decrease of adipocyte size after rosiglitazone treatment in high-and low-fat-fed rats. **Obesity**, v. 15, n. 11, p. 2653-2663, 2007.

KANG, Se-Chan et al. Sphingolipid metabolism and obesity-induced inflammation. **Frontiers in endocrinology**, v. 4, p. 67, 2013.

KIM, Jae Eun; CHEN, Jie. Regulation of peroxisome proliferator–activated receptor-γ activity by mammalian target of rapamycin and amino acids in adipogenesis. **Diabetes**, v. 53, n. 11, p. 2748-2756, 2004.

KOH, Eun Hee et al. Essential role of mitochondrial function in adiponectin synthesis in adipocytes. **Diabetes**, v. 56, n. 12, p. 2973-2981, 2007.

LAMMING, Dudley W. et al. Depletion of Rictor, an essential protein component of m TORC 2, decreases male lifespan. **Aging cell**, v. 13, n. 5, p. 911-917, 2014.

LAPLANTE, Mathieu; SABATINI, David M. An emerging role of mTOR in lipid biosynthesis. **Current biology**, v. 19, n. 22, p. R1046-R1052, 2009.

LAPLANTE, Mathieu et al. PPAR-γ Activation Mediates Adipose Depot− Specific Effects on Gene Expression and Lipoprotein Lipase Activity: Mechanisms for Modulation of Postprandial Lipemia and Differential Adipose Accretion. **Diabetes**, v. 52, n. 2, p. 291-299, 2003.

LAPLANTE, Mathieu et al. Mechanisms of the depot specificity of peroxisome proliferator–activated receptor γ action on adipose tissue metabolism. **Diabetes**, v. 55, n. 10, p. 2771-2778, 2006.

LAPLANTE, Mathieu et al. DEPTOR cell-autonomously promotes adipogenesis, and its expression is associated with obesity. **Cell metabolism**, v. 16, n. 2, p. 202-212, 2012.

LARSEN, T. M.; TOUBRO, S.; ASTRUP, A. PPARgamma agonists in the treatment of type II diabetes: is increased fatness commensurate with long-term efficacy? **International journal of obesity**, v. 27, n. 2, p. 147, 2003.

LE BACQUER, Olivier et al. Elevated sensitivity to diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking 4E-BP1 and 4E-BP2. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 2, p. 387-396, 2007.

LEE, Peter L. et al. Raptor/mTORC1 loss in adipocytes causes progressive lipodystrophy and fatty liver disease. **Molecular metabolism**, v. 5, n. 6, p. 422-432, 2016.

LEE, Peter L.; JUNG, Su Myung; GUERTIN, David A. The complex roles of mechanistic target of rapamycin in adipocytes and beyond. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 5, p. 319-339, 2017.

LEE, Mi-Jeong et al. Rosiglitazone remodels the lipid droplets and britens human visceral and subcutaneous adipocytes ex vivo. **Journal of lipid research**, p. jlr. M091173, 2019.

LI, Qiuyue et al. Role of mTOR signaling in the regulation of high glucose-induced podocyte injury. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 17, n. 4, p. 2495-2502, 2019

LI, Jia et al. Cardiolipin remodeling by ALCAT1 links oxidative stress and mitochondrial dysfunction to obesity. **Cell metabolism**, v. 12, n. 2, p. 154-165, 2010.

LIAN, Kun et al. Impaired adiponectin signaling contributes to disturbed catabolism of branched-chain amino acids in diabetic mice. **Diabetes**, v. 64, n. 1, p. 49-59, 2015.

LIU, L.-F. et al. Regulation of adipose triglyceride lipase by rosiglitazone. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 11, n. 2, p. 131-142, 2009

LIU, Weiwei et al. OxLDL-induced IL-1beta secretion promoting foam cells formation was mainly via CD36 mediated ROS production leading to NLRP3 inflammasome activation. **Inflammation Research**, v. 63, n. 1, p. 33-43, 2014.

LONG, Qinqiang et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ increases adiponectin secretion via transcriptional repression of endoplasmic reticulum chaperone protein ERp44. **Endocrinology**, v. 151, n. 7, p. 3195-3203, 2010.

LUNDGREN, Magdalena et al. Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and 'hyperleptinaemia'. **Diabetologia**, v. 50, n. 3, p. 625-633, 2007.

MAGDALON, Juliana et al. Constitutive adipocyte mTORC1 activation enhances mitochondrial activity and reduces visceral adiposity in mice. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1861, n. 5, p. 430-438, 2016.

MAGDALON, Juliana; FESTUCCIA, William Tadeu. Regulation of adiposity by mTORC1. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 4, p. 507-511, 2017.

MATYASH, Vitali et al. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-through put lipidomics. **Journal of lipid research**, v. 49, n. 5, p. 1137-1146, 2008.

MERLIN, Jon et al. The PPARγ agonist rosiglitazone promotes the induction of brite adipocytes, increasing β-adrenoceptor-mediated mitochondrial function and glucose uptake. **Cellular signalling**, v. 42, p. 54-66, 2018.

MIYAZAKI, Yoshinori et al. Effect of pioglitazone on abdominal fat distribution and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 6, p. 2784-2791, 2002.

MORAD, Samy AF; CABOT, Myles C. Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 1, p. 51, 2013.

OHNO, Haruya et al. PPARγ agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein. **Cell metabolism**, v. 15, n. 3, p. 395-404, 2012.

PARADIES, Giuseppe et al. Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1837, n. 4, p. 408-417, 2014.

PASCHOAL, Vivian A. et al. mTORC1 inhibition with rapamycin exacerbates adipose tissue inflammation in obese mice and dissociates macrophage phenotype from function. **Immunobiology**, v. 222, n. 2, p. 261-271, 2017.

PASCHOAL, Vivian A. et al. Constitutive Activation of the Nutrient Sensor mTORC1 in Myeloid Cells Induced by Tsc1 Deletion Protects Mice from Diet-Induced Obesity. **Molecular nutrition & food research**, v. 62, n. 17, p. 1800283, 2018.

PETROVIC, Natasa et al. Thermogenically competent nonadrenergic recruitment in brown preadipocytes by a PPARγ agonist. **American journal of physiology-endocrinology and metabolism**, v. 295, n. 2, p. E287-E296, 2008.

POLAK, Pazit et al. Adipose-specific knockout of raptor results in lean mice with enhanced mitochondrial respiration. **Cell metabolism**, v. 8, n. 5, p. 399-410, 2008.

RAFECAS, I. et al. Plasma amino acids of lean and obese Zucker rats subjected to a cafeteria diet after weaning. **Biochemistry international**, v. 25, n. 5, p. 797-806, 1991.

RAICHUR, Suryaprakash et al. CerS2 haploinsufficiency inhibits β-oxidation and

confers susceptibility to diet-induced steatohepatitis and insulin resistance. **Cell metabolism**, v. 20, n. 4, p. 687-695, 2014.

RICQUIER, Daniel. Uncoupling protein 1 of brown adipocytes, the only uncoupler: a historical perspective. **Frontiers in endocrinology**, v. 2, p. 85, 2011.

ROSEN, Evan D.; MACDOUGALD, Ormond A. Adipocyte differentiation from the inside out. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 7, n. 12, p. 885, 2006.

SANCAK, Yasemin et al. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. **Cell**, v. 141, n. 2, p. 290-303, 2010.

SARANTOPOULOS, Christos N. et al. Elucidating the preadipocyte and its role in adipocyte formation: a comprehensive review. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 14, n. 1, p. 27-42, 2018.

SAXTON, Robert A.; SABATINI, David M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. **Cell**, v. 168, n. 6, p. 960-976, 2017.

SEMPLE, Robert K.; CHATTERJEE, V. Krishna K.; O'RAHILLY, Stephen. PPARγ and human metabolic disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 3, p. 581-589, 2006.

SCHIEKE, Stefan M. et al. The mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway regulates mitochondrial oxygen consumption and oxidative capacity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 37, p. 27643-27652, 2006.

SHAN, Tizhong et al. Adipocyte-specific deletion of mTOR inhibits adipose tissue development and causes insulin resistance in mice. **Diabetologia**, v. 59, n. 9, p. 1995-2004, 2016.

SHEN, Kuang; CHOE, Abigail; SABATINI, David M. Intersubunit crosstalk in the Rag GTPase heterodimer enables mTORC1 to respond rapidly to amino acid availability. **Molecular cell**, v. 68, n. 3, p. 552-565. e8, 2017.

SHEN, Kuang et al. Architecture of the human GATOR1 and GATOR1–Rag GTPases complexes. **Nature**, v. 556, n. 7699, p. 64, 2018.

SHEN, Kuang et al. Arg-78 of Nprl2 catalyzes GATOR1-stimulated GTP hydrolysis by the Rag GTPases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 8, p. 2970-2975, 2019.

SKURK, Thomas et al. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 3, p. 1023-1033, 2007.

SPIEGELMAN, Tontonoz P. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. **Annual Review of Biochemistry**, v. 77, p. 289-312, 2008.

SPONTON, Carlos Henrique; KAJIMURA, Shingo. Multifaceted roles of beige fat in energy homeostasis beyond UCP1. **Endocrinology**, v. 159, n. 7, p. 2545-2553, 2018.

SISKIND, Leah J. et al. The BCL-2 protein BAK is required for long-chain ceramide generation during apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 16, p. 11818-11826, 2010.

UM, Sung Hee et al. Absence of S6K1 protects against age-and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. **Nature**, v. 431, n. 7005, p. 200-205, 2004.

WIJEKOON, Enoka P. et al. Amino acid metabolism in the Zucker diabetic fatty rat: effects of insulin resistance and of type 2 diabetes. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 82, n. 7, p. 506-514, 2004.

WILSON-FRITCH, Leanne et al. Mitochondrial biogenesis and remodeling during adipogenesis and in response to the insulin sensitizer rosiglitazone. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 3, p. 1085-1094, 2003.

WONG, G. William et al. Molecular, biochemical and functional characterizations of C1q/TNF family members: adipose-tissue-selective expression patterns, regulation by PPAR-γ agonist, cysteine-mediated oligomerizations, combinatorial associations and metabolic functions. **Biochemical Journal**, v. 416, n. 2, p. 161-177, 2008.

World heatlhy Organization. **Obesity and overweight.** Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> acesso em: 24 de abril de 2019, 17:29:00.

WU, Jun et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. **Cell**, v. 150, n. 2, p. 366-376, 2012.

YANG, X.; SMITH, U. Adipose tissue distribution and risk of metabolic disease: does thiazolidinedione-induced adipose tissue redistribution provide a clue to the answer? **Diabetologia**, v. 50, n. 6, p. 1127-1139, 2007.

ZHANG, Hui H. et al. Insulin stimulates adipogenesis through the Akt-TSC2-mTORC1 pathway. **PloS one**, v. 4, n. 7, p. e6189, 2009.