

Pontificia Universidad
JAVERIANA
Colombia

“Análisis del efecto de los niveles de aminoácidos sobre la autofagia en la fisiopatología de las aminoacidopatías”

Juliana Ríos Mora

Trabajo de grado

Microbiología Industrial

Pontificia Universidad Javeriana

Facultad de Ciencias – Departamento de Microbiología

Carrera de Microbiología Industrial

Bogotá D.C, Colombia

2022

Análisis del efecto de los niveles de aminoácidos sobre la autofagia en la fisiopatología de las aminoacidopatías

Juliana Ríos Mora

Director:

Johana María Guevara Morales, Bact., Ph.D

Codirector:

Olga Yaneth Echeverri Peña, Bact., Ph.D

Par Evaluador:

Edwin Alexander Rodríguez López, LQ, Ph.D, DSc.

Instituto de Errores Innatos del Metabolismo

NOTA DE ADVERTENCIA

ARTÍCULO 23 DE LA RESOLUCIÓN No. 13 DE JULIO DE 1946.

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y la moral católica y porque la tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo por buscar verdad y justicia”

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por ser mi guía, mi apoyo y por la oportunidad que me ha dado de crecer como persona y profesionalmente en este camino universitario. A mi familia por ser mi apoyo y compañía incondicional, a mi madre que me ha apoyado y me ha ayudado a convertirme en la persona que soy hoy en día, a mi hermana Tatiana, por apoyarme en mis sueños y alentarme en cada momento, a mi padre, por su cariño y apoyo y especialmente a mi abuelita Julia, por ser mi inspiración para cumplir mis sueños.

A la profesora Johana, Olga y al profesor Javier, que me dieron la oportunidad de hacer parte del Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, acompañándome en el camino de la investigación, enseñándome y guiándome por el mejor camino profesional y sobre todo por alentarme a seguir con constancia, esfuerzo y disciplina a cumplir todas las metas y sueños. Por otra parte, quiero agradecer a cada uno de los integrantes de IEIM, que me acompañaron, me guiaron durante este proceso y me dieron apoyo siempre que lo necesite.

A todas las personas que han creído en mí y me han apoyado a lo largo de este camino. A mis amigos, que hacen mi vida más alegre y me han animado a seguir mis sueños. A David, Valen, Jesús, Mafé, Vale, y Andrea, por todo su amor, su apoyo, sus palabras de ánimo y sobre todo por recorrer junto a mí este camino profesional, gracias por su amistad y creer en mí siempre. A Laura, por su amistad, todo su amor y apoyo en este camino profesional y por compartir junto a mí, muchos sueños científicos y siempre creer en mí.

Por último, quiero agradecerle a la vida, por permitirme vivir esta experiencia y crecer profesionalmente.

Contenido

1. Introducción, Justificación -planteamiento del problema	7
2. Marco teórico.....	8
2.1 Errores Innatos del Metabolismo	8
2.2 Aminoácidos:	8
2.3 Aminoacidopatías:.....	8
2.4 Hiperfenilalaninemias:.....	9
2.5 Enfermedad de orina con olor a jarabe de arce:	9
2.6 Tirosinemia tipo 1:	10
2.7 Autofagia.....	10
2.8 Estrés autofágico:	11
2.9 mTOR:	11
3. Objetivos	12
3.1 Objetivo general	12
3.2 Objetivos específicos	12
4. Metodología:	12
4.1 Búsqueda inicial de material bibliográfico	12
4.2 Construcción tabla resumen.....	14
5. Resultados:.....	14
6. Discusión	19
7. Conclusión.....	21
8. Recomendaciones	22
9. Referencias.....	23
10. Anexos	28

Resumen

Los aminoácidos son los principales bloques de construcción para la vida y son importantes componentes para la señalización celular. La homeostasis celular se ve regulada tanto por los aminoácidos esenciales como no esenciales y estos tienen una interacción importante con el regulador maestro que es mTOR. Múltiples estudios han demostrado que la desactivación de éste generará la inducción de la autofagia, que cuando hay una sobreexpresión de esta afecta las células internamente y genera una reducción de la proliferación celular. Sin embargo, el estudio del efecto de la regulación de la autofagia en algunas enfermedades como los errores innatos del metabolismo especialmente las aminoacidopatías no ha sido muy estudiada y no se tiene claridad sobre el rol de la autofagia en la fisiopatología de estas enfermedades. El presente estudio exploró, mediante una revisión de literatura, el rol de los aminoácidos en la regulación de mTOR y la autofagia y cómo ésta se relaciona con la fisiopatología de las aminoacidopatías. Los resultados mostraron que la inanición de los aminoácidos induce la autofagia, afectando la homeostasis y la señalización celular, sin embargo, aún se evidencia la ausencia de estudios con respecto de cómo la autofagia se asocia con la fisiopatología de las aminoacidopatías.

Palabras claves: Autofagia, mTORC1, Aminoácidos, Fisiopatología, Aminoacidopatías, Errores innatos del metabolismo.

Abstract

Amino acids are the main building blocks for life and are important components for the cell signaling. Cellular homeostasis is regulated by essential and non-essential amino acids, and these have an important interaction with the master regulator mTOR. Multiple studies have shown that deactivation of mTOR will lead to the induction of autophagy, when it is overexpressed, affects cells internally and leads to a reduction in cell proliferation. However, the study of the effect of autophagy regulation in some diseases such as Inborn Errors of Metabolism, especially aminoacidopathies, have not been well studied and the role of autophagy in the physiopathology of these diseases is not clear. The present study explored, the role of amino acids in the regulation of mTOR and autophagy and how it relates to the physiopathology, through a literature review. The results showed that amino acid starvation induces autophagy, affecting homeostasis and cell signaling, in the same way, there is a lack of studies regarding how autophagy is associated with physiopathology of aminoacidopathies.

Key words: Autophagy, mTORC1, Amino acids, Physiopathology, Aminoacidopathies, Inborn Error of Metabolism.

1. Introducción, Justificación -planteamiento del problema

Las aminoacidopatías son errores innatos del metabolismo, causados por alteraciones en las vías proteínicas involucradas en las vías metabólicas asociadas con aminoácidos ¹. Los trastornos de los aminoácidos se caracterizan bioquímicamente por niveles anormales de uno o varios aminoácidos y sus metabolitos en fluidos biológicos ². Entre los trastornos más comunes causados por la alteración del metabolismo de los aminoácidos encontramos enfermedades como la fenilcetonuria (PKU), enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD), homocistinuria clásica y la tirosinemina tipo I ¹.

La fenilcetonuria (PKU), es un error innato del metabolismo (EIM) ³, la cual se hereda de forma autosómica recesiva, es ocasionado por la mutación en el gen PAH, que resulta en la alteración de la actividad de la enzima fenilalanina hidroxilasa (FAH) (E.C 1.14.16.1). Esta enzima cataliza la conversión de fenilalanina (phe) en tirosina (tyr), mediante una reacción que requiere de un cofactor conocido como tetrahidrobiopterina (BH₄) ⁴.

Algunos autores han reportado que los bajos niveles de tirosina en el plasma ⁵, provocan la inactivación de la vía mTOR (Mammalian Target of Rapamycin, por sus siglas en inglés), regulador maestro del crecimiento celular, de la homeostasis celular y la autofagia ⁶. La quinasa mTOR, está constituida por dos complejos, mTORC1 y mTORC2, los cuales están asociados con la proliferación celular, la movilidad celular y el metabolismo ⁶. Por otro lado, la activación de la autofagia es un proceso catabólico que permite mantener la homeostasis celular y es necesario para mantener la fisiología celular normal en condiciones de estrés ⁷. Este proceso se da con la intermediación del lisosoma, con el objetivo de reciclar algunos sustratos como organelos defectuosos, proteínas citosólicas y degradar algunos patógenos invasivos ⁸.

En algunas aminoacidopatías, se han reportado pocos estudios entorno a la relación de deficiencia de aminoácidos y la inducción de la autofagia, y los estudios se han enfocado principalmente en los perfiles bioquímicos, dejando de lado aspectos como el comportamiento celular ^{9,10}. De hecho, hay algunas evidencias relacionadas con la deficiencia de aminoácidos como la tirosina, que inducen la autofagia mediante la inactivación de mTOR, generando en algunas ocasiones una autofagia excesiva que ocasiona un desequilibrio de las reservas celulares, lo que altera la homeostasis celular, el citoesqueleto celular y genera una reducción del tamaño celular ^{10,11}.

En este sentido, se propone explorar el estado del arte de la autofagia y cómo se relaciona con la fisiopatología de algunas aminoacidopatías. Para esto se exploró el rol de los aminoácidos en la regulación de mTOR y la autofagia y cómo se asocian estos con la señalización celular. Estos resultados contribuirán al conocimiento del comportamiento celular basado en la regulación de la autofagia en las aminoacidopatías y su relación con la patología, lo cual permitirá una mejor comprensión en futuros estudios asociados con EIM.

2. Marco teórico

2.1 Errores Innatos del Metabolismo

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM), son un grupo heterogéneo de trastornos causados por mutaciones en un gen que codifica para una proteína que participa en alguna vía metabólica^{12,13}. La mayoría se heredan de forma autosómica recesiva¹⁴.

Se pueden clasificar desde la fisiopatología del paciente en tres grupos: el primero incluye aquellos EIM, que causan una intoxicación por defectos en la vía metabólica intermedia, lo cual genera la acumulación de metabolitos tóxicos; el segundo grupo donde se evidencia la deficiencia de energía e incluye defectos de la cadena respiratoria mitocondrial; y por último, el tercer grupo, son aquellos EIM que provocan defectos en la síntesis o el catabolismo de moléculas complejas¹⁴, y se manifiestan clínicamente a través de síntomas neurológicos que frecuentemente conducen a un deterioro de por vida o a la muerte¹⁵. Actualmente se conocen más de 1500 EIM y se tiene una prevalencia mundial de 43,4 a 58,4 por 100.000 recién nacidos^{12,16}. Alrededor del 25% de los EIM, se manifiesta en el período neonatal, es por esto que el diagnóstico temprano y la implementación de programas de detección de recién nacidos, son importantes para iniciar un tratamiento oportuno, para mejorar las condiciones de vida y evitar la muerte¹⁴.

2.2 Aminoácidos:

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen un grupo funcional amino (-NH₂) y ácido carboxílico (-COOH), son los componentes básicos de las proteínas y son importantes para múltiples funciones celulares¹⁷.

Según las necesidades dietéticas para las especies de mamíferos, los aminoácidos se clasifican en dos grupos, los aminoácidos nutricionalmente esenciales o los no esenciales¹⁷. Los aminoácidos esenciales, son aquellos, que no pueden ser sintetizados por el organismo y por tanto deben adquirirse de la dieta para cumplir con los requisitos nutricionales, dentro de este grupo encontramos a la fenilalanina, valina, triptófano, treonina, isoleucina, metionina, histidina, leucina y lisina y los aminoácidos no esenciales, son aquellos que pueden ser sintetizados de *novo* en cantidades adecuadas a partir de esqueletos de carbono, derivados de lípidos e hidratos de carbono, dentro de este grupo encontramos alanina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, ornitina, citrulina, cisteína, glicina, prolina, serina y tirosina¹⁷. En determinadas condiciones, algunos aminoácidos no esenciales pueden llegar a ser esenciales o condicionalmente esenciales, esto significa que el organismo no es capaz, de producirlos en cantidades suficientes durante una condición fisiológica o patológica específica¹⁷.

La inhibición de alguno de los aminoácidos esenciales provoca un daño a nivel celular afectando la síntesis de proteínas, el catabolismo de los aminoácidos y una reducción del crecimiento¹⁸.

2.3 Aminoacidopatías:

Son un grupo de enfermedades, causadas por la deficiencia de una enzima o un transportador involucrado en el metabolismo de los aminoácidos¹⁹. Dentro de este grupo se encuentran alrededor de 27 errores innatos del metabolismo, dentro de ellos las que mayor prevalencia presentan son las hiperfenilalaninemias especialmente fenilcetonuria, desordenes asociados con el metabolismo de la

tirosina, enfermedad de orina de jarabe de arce (MSUD), desordenes del ciclo de la urea, homocistinuria, hiperglucemia no cetósica y tisorinemia ²⁰.

La mayoría de estos trastornos son autosómicos recesivos y presentan elevados niveles de aminoácidos, que pueden volverse tóxicos y están presentes en fluidos corporales ²¹. Estas enfermedades, presentan algunos síntomas, tales como: la hiperactividad, la discapacidad intelectual, el retraso en el desarrollo, vómitos y convulsiones ²².

2.4 Hiperfenilalaninemias:

Son un grupo de EIM, que se presentan de forma autosómica recesiva y que son causados, en la mayoría de los casos, por la alteración en la actividad de la enzima fenilalanina hidroxilasa (FAH) (EC 1.14.16.1), que cataliza la hidroxilación de fenilalanina (Phe) a tirosina (Tyr) ¹³. Adicionalmente, también puede presentarse un defecto en la síntesis o el reciclaje del cofactor de la FAH, el cual es la tetrahidrobiopterina (BH₄) ¹.

Este grupo de enfermedades, se caracterizan por la acumulación de fenilalanina (Phe), en la sangre y en los tejidos, produciendo a través de vías alternas metabolitos tóxicos como el fenilpiruvato, fenilactato y fenilacetato ¹³.

La clasificación de este grupo de enfermedades se da con base en las concentraciones plasmáticas de fenilalanina, en fenilcetonuria (Phe > 20 mg/dL), constituyendo el fenotipo más severo, debido a sus elevados niveles plasmáticos de fenilalanina, el segundo grupo que corresponde a la fenilcetonuria moderada (Phe: 10-20 mg/dL) y finalmente la hiperfenilalaninemia (Phe: 2-10 mg/dL), asociada con los defectos en el procesamiento del cofactor de la FAH ¹³. Los altos niveles de fenilalanina conducen a síntomas neurológicos y neuropsicológicos graves si no se diagnostican y tratan a tiempo ²³.

Dentro de este grupo, la fenilcetonuria (PKU), es el trastorno más común del metabolismo de la fenilalanina (OMIM: 612349), de hecho, es uno de los EIM con mayor incidencia a nivel mundial y su prevalencia varía, con un promedio de alrededor de 1:10.000 recién nacidos ¹. El gen *PAH*, está ubicado en el cromosoma 12q23.2 ⁸. La PKU no tratada, se asocia con un fenotipo anormal que incluye el retraso del crecimiento, microcefalia, convulsiones y deterioro intelectual causado por la acumulación de metabolitos tóxicos ⁸. Como mecanismos fisiopatológicos asociados a esto, se han propuesto la reducción de neurotransmisores tipo catecolaminas²⁴; la acumulación de subproductos tóxicos de la fenilalanina ⁸; y la excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), causando un daño oxidativo en los lípidos, proteínas y el ADN de estos pacientes ⁵.

Adicionalmente se ha evidenciado, que una elevada concentración de fenilalanina en la sangre reduce la absorción de aminoácidos neutros grandes (LNAA), mediante el transportador LAT1, ya que la fenilalanina, es el aminoácido con mayor afinidad a este y de esta manera habrá una reducción de la síntesis de proteínas cerebrales, afectando así algunos neurotransmisores y la función cerebral de estos pacientes ²².

2.5 Enfermedad de orina con olor a jarabe de arce:

La Enfermedad de orina con olor a jarabe de arce (MSUD, por sus siglas en inglés), es un trastorno autosómico recesivo caracterizado por la interrupción de la actividad del complejo α -cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada (BCKAD), lo cual genera un aumento en las concentraciones de aminoácidos de cadena ramificada (BCAA), en todos los fluidos corporales ¹³. La acumulación de estos aminoácidos y los α -cetoácidos correspondientes, causan una afectación neurodegenerativa de inicio neonatal, generando un deterioro progresivo y un desenlace letal en los primeros meses de vida,

una de sus principales características es el olor semejante al jarabe de arce, especialmente de la orina, sudor y cerumen corporal ¹³. Por otro lado, algunos de los síntomas que se presentan, son la hipoglucemia grave, debido a la relación que tienen los BCAA con el ciclo de Krebs y el metabolismo glucogénico ¹³.

2.6 Tirosinemia tipo 1:

La tirosinemia tipo 1 (HT1), es una enfermedad autosómica recesiva, causada por una deficiencia de fumarilacetoacetato hidrolasa (FAH), la última enzima de la vía catabólica de la tirosina. Esta enfermedad produce insuficiencia hepática y la forma aguda de esta, se caracteriza por un inicio temprano de una insuficiencia hepática severa, mientras que la forma crónica aparece más tarde e implica además disfunción renal ²⁵.

La mayoría de los síntomas clínicos generalmente comienzan antes de los 2 años de edad y se presentan evidencias de insuficiencia hepática aguda y disfunción renal antes de los 6 meses, por otro lado, se manifiestan síntomas neurológicos, asociados con episodios dolorosos que afectan la función abdominal y/o las extremidades, acompañadas de hipertensión e hiponatremia, que pueden provocar insuficiencia respiratoria y la muerte. La mayoría de los niños con HT1, tienen un alto riesgo de carcinoma hepatocelular (HCC) ²⁶.

2.7 Autofagia

La autofagia es un mecanismo fisiológico, que permite la degradación de componentes intracelulares para generar una homeostasis celular ^{27,28}. Este proceso comienza con la formación de una membrana de aislamiento, derivada de una membrana de bicapa lipídica denominada autofagosoma, que según Glick et al. son originadas a partir del retículo endoplásmico (ER), el aparato de Golgi y/o endosomas ²⁸.

La autofagia se divide en tres tipos definidos: la microautofagia, es un proceso de degradación lisosomal, donde los componentes citosólicos son absorbidos directamente mediante una invaginación de la membrana lisosomal ²⁸, la autofagia mediada por chaperonas (CMA), es una forma selectiva de autofagia, exclusivamente para proteínas citosólicas, mediante degradación lisosomal ²⁷. Por último, la macroautofagia, permite la descomposición y el reciclaje de las macromoléculas, mediante la fusión de un autofagosoma con el lisosoma y la vacuola, degradando el contenido de la molécula para reconstruir nuevos componentes celulares ²⁸. Todos estos mecanismos, se complementan entre sí para degradar sustancias intracelulares y reintegrar productos de la degradación permitiendo mantener un equilibrio celular *in vivo* ²⁷. Algunos autores han demostrado que la autofagia funciona de manera selectiva, bajo ciertas condiciones mediadas por algunas proteínas como p62 y determinado por las proteínas adaptadoras en el autofagosoma, mientras que la autofagia no selectiva, degrada aleatoriamente componentes citoplasmáticos ^{27,28}.

Encontramos algunos reguladores de la vía lisosomal de la autofagia, como lo es el factor de transcripción EB (TFEB), el cual está regulado por mTORC1, debido a que dirige este factor a los lisosomas, actuando como un efector de la función lisosomal cuando se encuentra en el núcleo celular y como un sensor mediante la formación de autofagosomas y la fusión de estos con los lisosomas, cuando está se encuentra en la superficie de estos ²⁹. La interrupción de la autofagia celular provoca la inhibición de la acumulación de ROS, la reducción de la función mitocondrial y el aumento de la inestabilidad genómica, lo que resulta en una disminución general de la calidad de los componentes intracelulares; alterando de esta manera el equilibrio celular y contribuyendo a la progresión de algunas enfermedades ²⁷.

2.8 Estrés autofágico:

El estrés autofágico, se define como un desequilibrio celular, debido a la desregulación de las respuestas autofágicas o cuando hay una demanda autofágica excesiva y no puede equilibrarse con las reservas celulares³⁰. Este es inducido por diversos factores celulares como lo son la inanición de aminoácidos, la disminución de los niveles de insulina, disminución de los niveles de ATP, el estrés oxidativo y la hipoxia²⁷, generando así una alteración de la homeostasis celular, especialmente afectando la sobreactivación y la estructura alterada de las mitocondrias y los lisosomas³¹. Desencadenando, una alteración en el citoesqueleto celular, debido a la ausencia de actina, lo cual causa un cambio en la morfología celular y el núcleo, evidenciándose a través de la reducción del tamaño celular³¹.

2.9 mTOR:

mTOR, es una proteína quinasa de serina/treonina de 289 kDa, perteneciente a la familia de proteínas quinasas relacionadas con PI3K (PIKK). En los mamíferos, constituye la subunidad catalítica de dos complejos distintos conocidos como complejo mTOR1 (mTORC1) y mTORC2. Ambos complejos, se distinguen por sus proteínas complementarias y su sensibilidad diferencial a la rapamicina, por sus sustratos y sus funciones que ejercen a nivel celular³².

mTORC1, está constituida por mTOR, la proteína reguladora asociada de mTOR (Raptor), el complejo homólogo de LST8; contiene la proteína que interactúa con mTOR (DEPTOR) y el sustrato Akt rico en prolina, los cuales ayudan a la regulación positiva de mTORC1. Por otra parte, mTORC2, está constituido igualmente por mTOR, la proteína que le genera una insensibilidad a la rapamicina conocida (Rictor), mLST8 y la proteína quinasa 1, que interactúa con el estrés celular (SIN1), en este complejo, la proteína Deptor y Rictor (Protor 1/2), actúan como componentes adicionales, en procesos de adaptación o potenciador de la actividad de mTORC2 (Figura 1)³³.

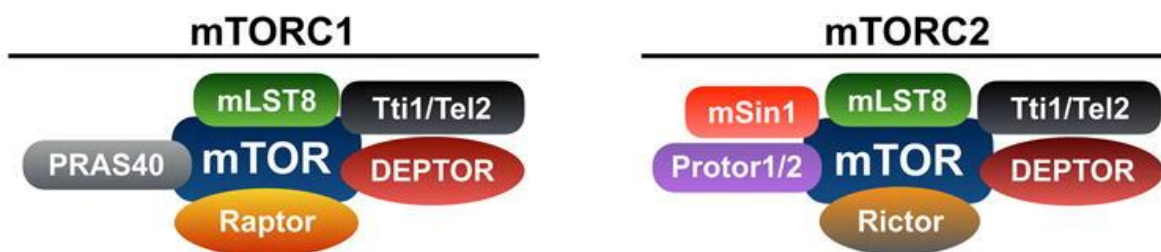


Figura 1: Representación esquemática de la estructura de los complejos de mTOR. Tomado de Ghosh, 2017³⁴.

La actividad de mTORC1, está influenciada por una variedad de señales como aminoácidos, glucosa, factores de crecimiento, niveles de energía y estrés oxidativo. Este complejo, regula el crecimiento y el metabolismo celular mediante la modulación de la síntesis de proteínas, lípidos y purinas, así como la biogénesis y la autofagia mediante los lisosomas. mTORC1, está implicado en la fosforilación directa de proteínas relacionadas con la traducción, como la proteína ribosomal S6 quinasa 1 (S6K1) y la proteína de unión 1 del factor de iniciación eucariota 4E (4E-BP1). Adicionalmente, fosforila directamente la quinasa 1 activadora de la autofagia (ULK1), un regulador inicial de la autofagia y TFEB, un regulador de la expresión de genes lisosomales y de esta manera suprime la autofagia y la degradación de macromoléculas dependiente del lisosoma³⁵.

Por otro lado, mTORC2, fosforila proteínas como Akt, la proteína cinasa C (PKC) y la cinasa reguladora (SGK1), esto permite la regulación de la proliferación, la supervivencia y la organización

del citoesqueleto celular a partir de actina, en respuesta a factores de crecimiento. Una de las funciones más estudiadas de mTORC2, es la fosforilación de Akt en Ser473 ³⁵.

Por último, mTORC1, a diferencia de mTORC2, es sensible a la rapamicina. mTORC2, es resistente al tratamiento agudo con rapamicina, sin embargo, puede ser sensible a este tratamiento a largo plazo (>24 h), independientemente del tipo de célula ³⁵, provocando una inactivación de los complejos mTOR, lo cual genera una activación de la vía autofágica ³².

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Identificar la relación de la autofagia en algunas aminoacidopatías mediante una revisión bibliográfica.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Identificar el rol de los aminoácidos como moduladores de la autofagia.

3.2.2 Analizar el estado del arte en las alteraciones de la vía autofágica en la fisiopatología de algunas aminoacidopatías.

4. Metodología:

4.1 Búsqueda inicial de material bibliográfico

Se utilizaron dos motores de búsqueda: Google Scholar y PubMed. Se llevó a cabo una búsqueda utilizando palabras claves, como “Aminoacidopathies and Autophagy”, “Deficiency aminoacids and PKU and Autophagy” y otros (**Anexo 1**) y sin filtro de búsqueda en años. Inicialmente se seleccionaron 25 referencias bibliográficas, con base en el título, estos incluían artículos primarios, artículos de revisión, libros, cartas al autor y tesis doctorales (**Anexo 2**).

Con base en el título, el resumen y las palabras claves, se seleccionaron 16 artículos, con temas asociados a “Autofagia, Aminoácidos y mTOR”; dentro de estos se seleccionó, un capítulo de un libro cuyo tema principal es “Aminoacidopatías, Autofagia y mTOR” (**Figura 2**). A partir de estos artículos, se realizó una búsqueda siguiendo la estrategia de bola de nieve, en búsqueda de otros artículos primarios que brindaran más información al estudio. Con base en lo obtenido, se seleccionaron de acuerdo con el resumen, los resultados y la metodología, descartando de esta manera material bibliográfico como libros, artículos de revisión y tesis doctorales. Finalmente, se utilizaron un total de 11 artículos primarios para el análisis de los resultados.

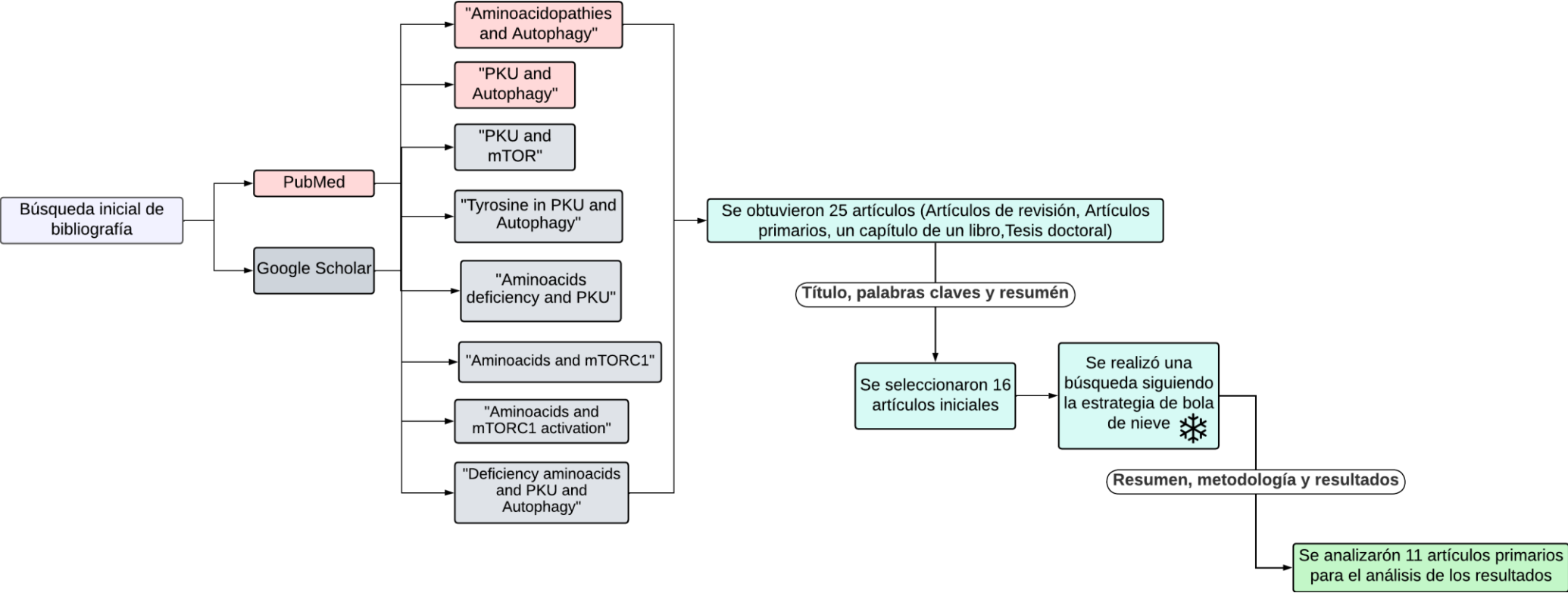


Figura 2. Selección de artículos primarios para el estudio. Diagrama de flujo que representa la búsqueda inicial de artículos de investigación para el estudio. Cada cuadro corresponde a una referencia del material bibliográfico, presente en la **Anexo 1 y Anexo 2**. El color gris y rosado representan los términos de búsqueda en los buscadores PubMed y Google Scholar, sin embargo, el color gris representa los términos con los cuales se encontró información en Google Scholar y el color rosado aquellos términos donde se encontró información en PubMed.

4.2 Construcción tabla resumen

Se realizó la construcción de una tabla resumen, con el objetivo de tener la información clave de cada uno de los artículos primarios encontrados. Esta tabla se organizó con las siguientes categorías: Título, Autores, Fecha de publicación, Tipo de bibliografía (Artículo primario), Objetivo, Tema principal, Aminoácido, Variables interés (Con cambios, Sin cambios, Otros), Modelos estudiados, Grupos de estudio, Tipo de estudio, Enfermedad, Conclusiones, Hallazgos puntuales (**Anexo 3**).

5. Resultados:

El eje principal de estudio de cada artículo primario pone en evidencia que el 90.9% de los artículos encontrados, realizan ensayos con la suplementación de aminoácidos esenciales y no esenciales (**Tabla 1**). De esta manera, permite ver el efecto de los aminoácidos sobre algunas aminoacidopatías.

Título (referencia)	Autores	Fecha de publicación	Revista	Eje de estudio				Enfermedad
				Evidencia directa			Evidencia indirecta	
				AA	-AA	+AA		
Hepatic stress in hereditary tyrosinemia type 1 (HT1) activates the AKT survival pathway in the fah ^{-/-} knockout mice model ³⁶	Orejuela et al.	Feb, 2008	<i>Journal of hepatology</i>	-	-	-	NTBC	Deficiencia de (FAH)
Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR and Autophagy ³⁷	Nicklin et al.	Feb, 2009	<i>Cell</i>	D-Phe	-	X	-	No aplica
				Tyr	X	-	-	
				L-Leu	-	X	-	
				L-Glu	-	X	-	
Autophagy induction by tetrahydrobiopterin deficiency ³⁸	Kwak et al.	Nov, 2011	<i>Autophagy</i>	Phe	-	X	-	HFA
				Leu	-	X	-	
				Tyr	-	X	-	
Cellular signaling of amino acids towards mTORC1 activation in impaired human leucine catabolism ³⁹	Schriever et al.	May, 2013	<i>The Journal of nutritional biochemistry</i>	Leu	-	-	X	Deficiencia en el catabolismo de Leu
The general amino acid control pathway regulates mTOR and autophagy during serum/glutamine starvation ⁴⁰	Chen et al.	Jul, 2014	<i>Journal of Cell Biology</i>	Glu	-	X	-	No aplica
Requirement for lysosomal localization of mTOR for its activation differs between leucine and other amino acids ⁴¹	Averous et al.	Sep, 2014	<i>Cell</i>	Leu	-	X	-	No aplica
				Glu	-	X	-	
Phenylalanine sensitive K562-D cells for the analysis of the biochemical impact of excess amino acid ⁴²	Sanayama et al.	Nov, 2014	<i>Scientific reports</i>	Met	-	X	-	No aplica
				Phe	-	X	-	
				Val	-	X	-	
				Leu	-	X	-	
Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine ⁴³	Jewell et al.	Ene, 2015	<i>Science</i>	Leu	-	X	-	No aplica
				Glu	-	X	-	
High concentration of branched-chain amino acids promotes oxidative stress, inflammation and migration of human peripheral blood mononuclear cells via mTORC1 activation ⁴⁴	Zhenyukh et al.	Mar, 2017	<i>Free Radical Biology and Medicine</i>	Leu	-	X	-	No aplica
				Ile	-	X	-	
				Val	-	X	-	
Glutamine metabolism regulates autophagy-dependent mTORC1 reactivation during amino acid starvation ⁴⁵	Siong Tan et al.	Ago,2017	<i>Nature communications</i>	Glu	-	X	-	No aplica

Loss of tyrosine catabolic enzyme HPD promotes glutamine anaplerosis through mTOR signaling in liver cancer ⁴⁶	Tong et al.	Ago, 2021	Cell reports	Glu	-	X	-	Metabolismo de la Tirosina
---	-------------	-----------	--------------	-----	---	---	---	----------------------------

La clasificación a continuación presentada se realizó entorno a los aminoácidos estudiados. Se ordeno una categoría con respecto a la enfermedad asociada al estudio, o si no presentaba algún estudio entorno a enfermedades (No aplica). Se coloco la información principal de cada artículo (Autores, Fecha de publicación, Revista). Léase: **AA**: Aminoácido; **-AA**: Inanición de aminoácidos; **+AA**: Suplementación de aminoácidos; **Phe**: Fenilalanina; **Tyr**: Tirosina; **Leu**: Leucina; **Glu**: Glutamina; **Met**: Metionina; **Val**: Valina; **Ile**: Isoleucina; **HFA**: Hiperfenilalaninemias; **FAH**: Fumarilacetato hidrolasa

La búsqueda bibliográfica abarca un periodo de 13 años, entre el año 2008 y el 2021 (**Figura 3**). Hasta el año 2013, se encontró una publicación por año, mientras que, en el 2014, se encontraron tres publicaciones correspondientes a los meses de julio, septiembre y noviembre y el año 2017, donde se publicaron 2 artículos en los meses de marzo y agosto (**Tabla 1**).

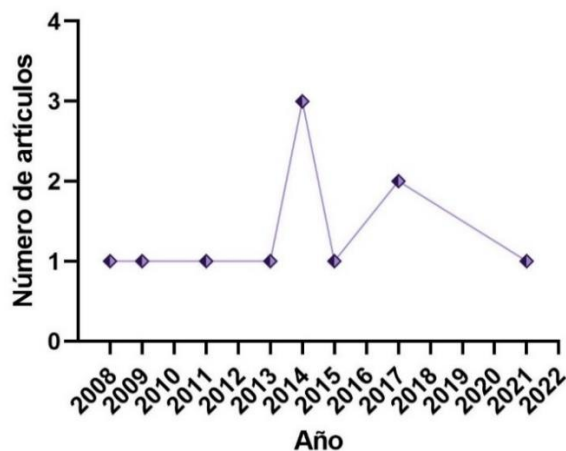


Figura 3. Número de artículos por cada año: Cantidad de artículos presentados en revistas de investigación durante un rango de 13 años, abarcando desde el año 2008 al año 2021.

En general, los artículos revisados se centran en el análisis de siete aminoácidos (**Figura 4**). El 71.43% de los aminoácidos estudiados, son aminoácidos esenciales y el 28.57% corresponde a aminoácidos no esenciales. De los artículos encontrados el 54.5% realizaron estudios con leucina y glutamina; el 27.3% de los artículos analizaron el efecto de la fenilalanina en la activación de mTOR y la regulación de la autofagia; el 18.2% de los artículos utilizaron tirosina y valina en sus estudios y por último aproximadamente el ~10% de los artículos, estudiaron los efectos de la metionina y la isoleucina a nivel celular.

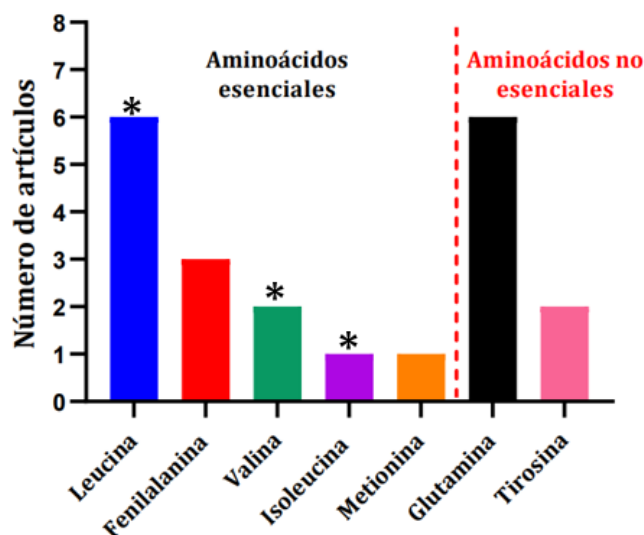


Figura 4. Aminoácidos estudiados en los artículos revisados. Se presenta la relación entre el número de artículos con los aminoácidos estudiados.

(*) Aminoácidos de cadena ramificada (BCAA)

Si bien, diez artículos se centran en la evaluación de la vía de mTOR y las proteínas asociadas con la regulación de este, en condiciones de suplementación/inanición de algunos aminoácidos. El ~37% de los artículos primarios encontrados, estudian modelos de enfermedades asociadas con el acumulo o la ausencia de algún aminoácido, mientras que el ~63% de los artículos primarios no están asociados a alguna enfermedad (**Figura 5**).

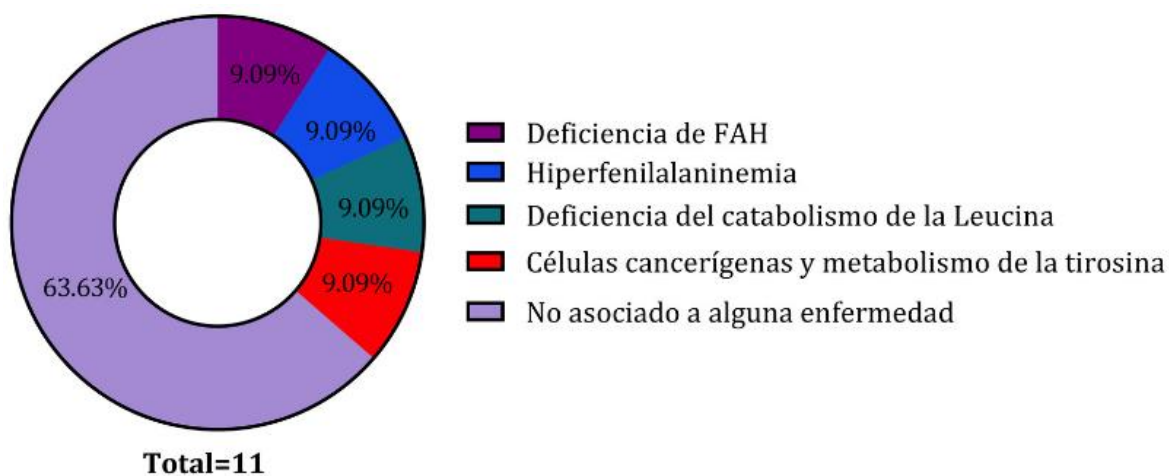


Figura 5. Enfermedades presentadas en artículos primarios: Se realizaron estudios en modelos *in vitro* e *in vivo*, de enfermedades como la deficiencia de FAH, Hiperfenilalaninemia, deficiencia del catabolismo de la Leucina y células cancerígenas y metabolismo de la tirosina. Y siete artículos primarios, no se asociaron con alguna enfermedad. Léase: **FAH:** Fumarilacetato hidrolasa.

Se observaron diferentes aproximaciones para evaluar la regulación de mTOR, una de estas fue mediante el uso de biomarcadores celulares (**Figura 6**), como las proteínas p70S6K/S6K1 y un factor independiente de mTOR como el caso de AKT, que fosforila mTOR. De igual manera, se analizó la presencia de proteínas como LC3-II y el factor AMPK, que inactiva el regulador maestro mTOR y está asociada con la vía autofágica en las células (**Figura 6**). De igual forma, se evidenció la presencia de otros biomarcadores como 4EBP1, el cual aumento la expresión cuando había la inanición de aminoácidos y cuando había una inhibición de BCAT2, aumentaba la fosforilación de S6K1.

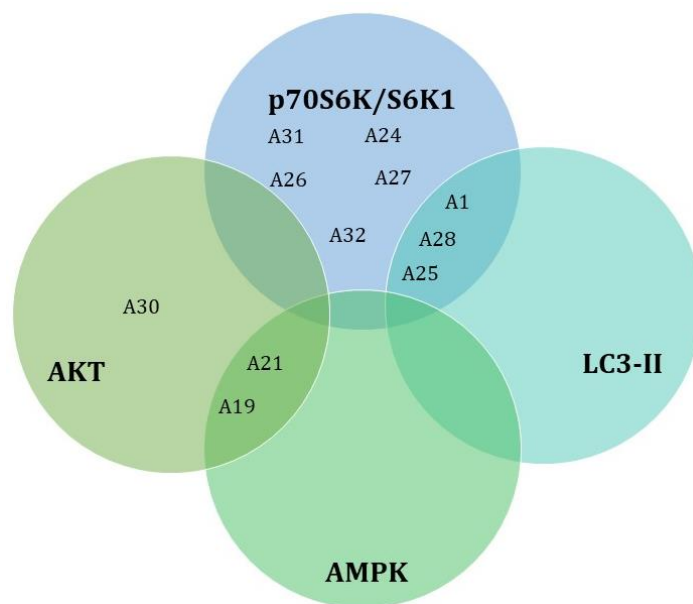


Figura 6. Biomarcadores asociados con mTOR: Clasificación realizada mediante biomarcadores celulares, como factores de regulación de mTOR (AKT y AMPK) y proteínas como p70S6K/S6K1, asociada con la fosforilación y proteínas asociadas con la autofagia, como LC3-II.

*La nomenclatura presentada en la figura corresponde a la presente en el **Anexo 3**.

De forma global los artículos asignan a los aminoácidos, un papel fundamental en la regulación de mTOR, tal es el caso de la ñeucina y la glutamina, que activaron la fosforilación de mTOR y de proteínas como S6K, mientras que la metionina y la fenilalanina, desactivaron mTOR e indujeron la vía autofágica evidenciando el aumento de proteínas como LC3-II. De igual manera los artículos consultados referencian que mTOR, está regulado positivamente por la presencia de aminoácidos y que algunos de estos como la leucina y la glutamina, son capaces de reactivar su fosforilación cuando hay una inhibición de nutrientes. También se reporta que, algunas fisiopatologías de las enfermedades de los aminoácidos parecen estar relacionadas con la regulación de mTOR y la autofagia (**Figura 7**).

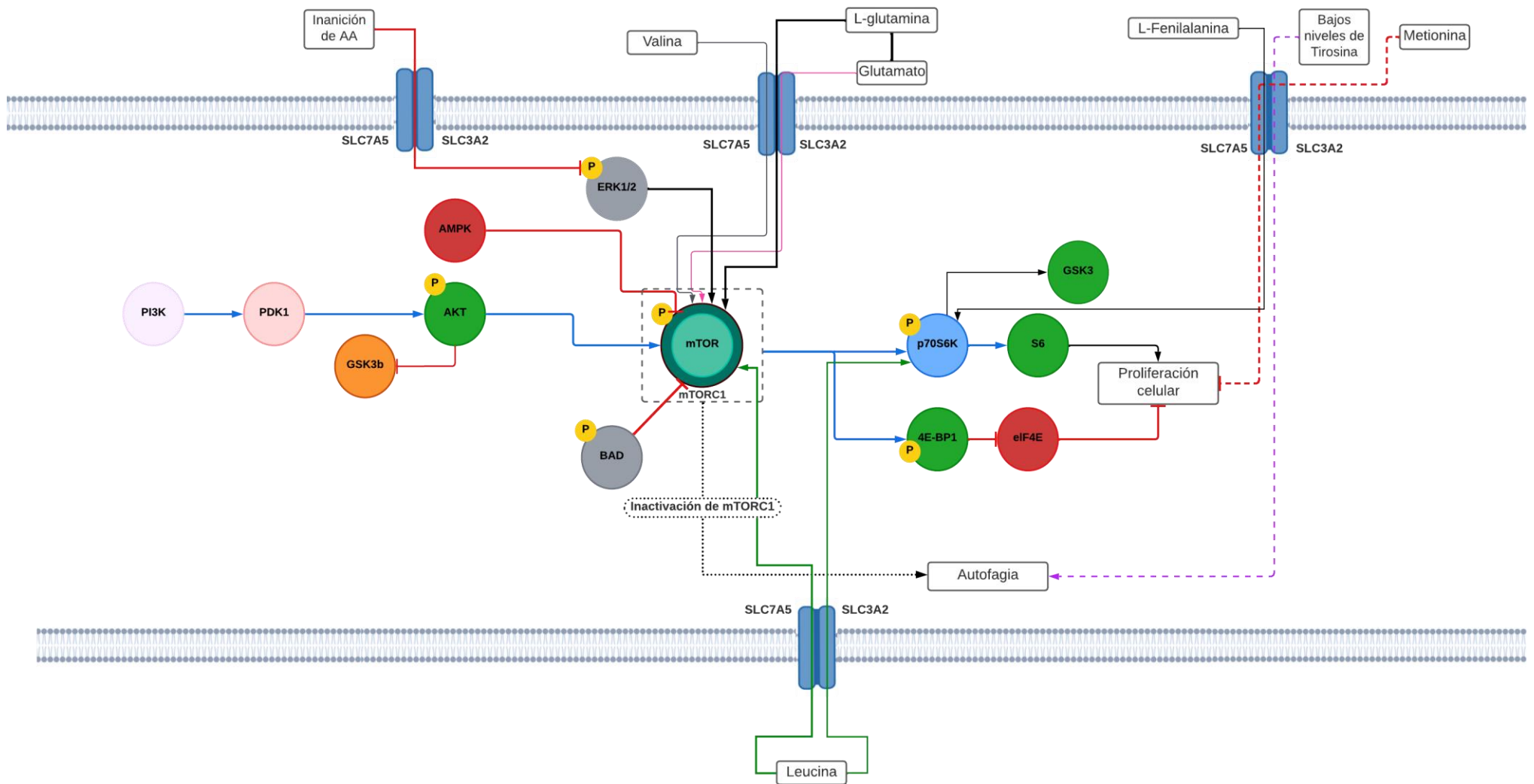


Figura 7. Condiciones de aminoácidos a nivel celular: La ruta principal de activación de mTORC1, está indicada por la flecha azul. La membrana celular, se representa mediante un color azul. El transportador SLC7A5/SLC3A2, se encuentra en la membrana celular. Al interior de la célula, cada círculo representa una proteína asociada a la vía de mTOR. La línea roja, al interior de la célula representa la inhibición de la fosforilación de la proteína. Las líneas negras, se asocian con la fosforilación de cada proteína (mTOR, GSK3, S6). La línea rosada está asociada con el glutamato, intermediario de la glutamina, el cual activa mTOR. La línea gris, se asocia con la activación de mTOR a partir de valina. La línea morada punteada representa los bajos niveles de tirosina y su asociación con la inhibición de la proliferación celular. La línea roja punteada representa, la inhibición de la proliferación celular cuando hay metionina. La línea punteada negra representa, la inactivación de mTORC1, lo cual induce la autofagia. Se presentó una gráfica de las condiciones de aminoácidos a nivel celular, construida en el programa Lucidchart®.

6. Discusión

Los aminoácidos son importantes intermediarios metabólicos, que contribuyen a múltiples funciones celulares y la disponibilidad de estos intracelularmente, es esencial para promover procesos anabólicos en la célula, como la producción de energía, la traducción de ARNm y la proliferación celular⁴⁷. Adicionalmente cuando hay una inanición de aminoácidos a nivel celular, se activará la vía autofágica, lo que promueve la degradación de componentes celulares vía lisosomal y el reciclaje de componentes intracelulares⁴⁸. Los trastornos en el metabolismo de los aminoácidos alteran las concentraciones de estos dentro y fuera de la célula, lo que podría variar la regulación de la vía autofágica, sin embargo, aún se evidencian muy pocos estudios entorno al rol de la autofagia en la fisiopatología de estas enfermedades. Es por esto que, el objetivo principal de este estudio se centró en la identificación del rol de los aminoácidos en modelos *in vivo* e *in vitro* y como estos alteran la vía autofágica. Para esto se realizó una revisión bibliográfica de artículos primarios de investigación, abarcando un periodo de 13 años.

Todos los artículos encontrados en la revisión bibliográfica hablan acerca de la regulación de la vía de mTOR, debido a que es el principal regulador de la proliferación celular y controla la mayoría de los procesos anabólicos y catabólicos, en respuesta a la disponibilidad de nutrientes intracelulares y extracelulares, modulando así la autofagia, la apoptosis y múltiples vías de señalización celular⁴⁹.

La presencia del complejo mTORC1, en las células de mamíferos, es muy importante ya que regula procesos de proliferación, metabolismo y homeostasis celular, pero cuando hay una inhibición de este complejo, se generará la activación de la vía autofágica, la cual ayudará a proporcionar energía al reciclar macromoléculas en respuesta al estrés ambiental³¹. En las publicaciones revisadas la evaluación de esta vía de señalización se realizó principalmente mediante la fosforilación de S6K1, un sustrato directamente fosforilado por mTORC1 cuando está en estado activo, el cual está asociado con un funcionamiento normal de la célula, y adicionalmente es importante para la estructura, la organización y la regulación del envejecimiento celular⁵⁰. Se evidenció en los artículos primarios, que cuando ocurría una inanición de aminoácidos, se generaba una desactivación de mTOR lo cual disminuía la fosforilación de S6K, generando un desequilibrio de la homeostasis celular, activando la autofagia.

Algunos estudios han demostrado que la activación de mTORC1 se puede dar mediante diferentes factores, uno de ellos es mediante las proteínas Rag, GTPsas, el cual recluta mTOR en la superficie lisosomal, y genera una activación de mTORC1 dependiente de Rheb, en respuesta a la disponibilidad de los nutrientes^{48,51}, por otro lado, algunos autores, estudiaron la relación existente entre la activación de la vía mTOR y factores corrientes arriba de éste como lo es AKT, que regula múltiples procesos celulares como la apoptosis, la proliferación, la diferenciación y el metabolismo celular³⁶, además es un inhibidor de la autofagia a través de mecanismos independientes de mTOR³⁶. Otro factor evaluado fue, AMPK, asociado con la inhibición de procesos anabólicos y la inducción de la autofagia, fosforilando proteínas como ULK1⁵². En un estudio, se realizó el análisis de la presencia de la proteína ULK1, sin embargo, se evidencio que, al suministrar algunos aminoácidos, se inhibía la fosforilación de esta proteína asociada con la autofagia, mientras que en otro estudio se identificó la fosforilación de AMPK y AKT, mediante la presencia de altas concentraciones de BCAA⁴⁴. Las evidencias encontradas son contradictorias con respecto a la intervención de los aminoácidos en la vía AKT/AMPK/mTOR, lo cual pone de manifiesto la falta de investigación y la profundización del rol de los aminoácidos sobre factores corriente arriba de mTOR.

Adicionalmente se evidenciaron muy pocos artículos primarios que abordaron, directamente la autofagia. Alrededor del 36.4% de los artículos, miden esta mediante algunos marcadores como proteínas LC3-II, la cual fue analizada debido a que está asociada con la formación exitosa de

autofagosomas, indicando una casi totalidad de la vía autofágica, sin embargo cuando hay una fusión del autofagosoma con el lisosoma, habrá una interacción entre las proteínas LC3-II y p62, presente al interior del lisosoma, indicando de esta manera un flujo complejo de la autofagia y el inicio de la degradación y reciclaje de la carga ⁵³. En los artículos primarios, aunque se determinó la presencia de la proteína LC3-II, no hay información relacionada con la integridad del flujo, de la vía autofágica, ya que no se profundizaron análisis de la proteína p62 en estos estudios.

Como se ha mencionado anteriormente, los aminoácidos regulan positivamente la activación de mTOR, inactivando de esta manera la autofagia. No todos los aminoácidos que se encontraron en la revisión bibliográfica tienen una misma acción sobre la fosforilación de mTOR: la leucina y la glutamina, generan una mayor activación de este regulador en comparación con los otros cinco aminoácidos identificados de los artículos. Este hallazgo, fue interesante inicialmente en el sentido de que la leucina es un aminoácido esencial y la glutamina, por el contrario, es uno no esencial, lo cual nos permite identificar, la importancia de los aminoácidos esenciales y no esenciales en la señalización y la homeostasis celular ⁵⁴.

La leucina, al ser un aminoácido esencial, específicamente perteneciente a los BCAA, induce respuestas anabólicas musculares como la activación y señalización de mTORC1, de manera más efectiva en comparación con los otros aminoácidos esenciales⁵⁵, adicionalmente actúa como un activador alostérico de la glutamato deshidrogenasa (GDH), lo cual promueve el metabolismo energético mediante la generación de NAD(P)H, para reducir especies reactivas de oxígeno, biogénesis mitocondrial y la oxidación de ácidos grasos⁵⁶. Por otro lado, la glutamina, al ser un aminoácido no esencial, ha presentado estudios donde demuestran que es uno de los aminoácidos más relacionados con la proliferación, la supervivencia celular y el suministro de energía, asociado de esta manera con la regulación de la autofagia⁵⁷. Por esta razón fueron los aminoácidos más estudiados en los artículos primarios, ya que tienen una mayor importancia a nivel celular en nuestro organismo y de igual forma están involucrados en procesos del metabolismo energético como es el caso de la leucina, que ayudan a regular múltiples procesos de señalización, proliferación y supervivencia celular, los cuales permiten determinar que la célula no está sufriendo algún tipo de afectación por factores externos como la inanición de nutrientes.

Por otro lado, aunque la mayoría de los estudios realizan aproximaciones *in vitro*, basadas en la adición o remoción de aminoácidos del medio, algunos realizaron ensayos con los transportadores SLC7A5/SLC3A2 que son importantes ya que permiten satisfacer demandas anabólicas para mantener una mayor proliferación celular tanto *in vitro* como *in vivo*³⁷ y algunos estudios han demostrado que la sobreexpresión de este transportador depende de los altos niveles de aminoácidos³⁷. En general la revisión muestra que la leucina, fue uno de los aminoácidos más estudiados, adicionalmente a su capacidad de oxidación en el músculo esquelético, su importancia en el metabolismo energético, en la síntesis de proteínas y la mayor captación de este a través de transportadores como SLC7A5/SLC3A2, generando un aumento en la señalización de mTOR, mientras que otros aminoácidos como la valina y la isoleucina, no parecen compartir esta potencia anabólica a pesar de su estrecha relación estructural con la leucina ⁵⁴. Otros aminoácidos como la glutamina son importantes ya que funcionan como efluente del transportador SLC7A5/SLC3A2 y tiene una relación con el intercambio de la leucina al interior de la célula ⁴⁵, esto permite observar la importancia a nivel celular que tiene la leucina y la glutamina, ya que ayudan a la regulación positiva de mTORC1 y permiten mantener una homeostasis celular adecuada.

Adicionalmente los aminoácidos parecen tener una relación con las condiciones patológicas y fisiológicas de algunas enfermedades ⁴⁵, por lo tanto, se ha identificado, que la glutamina al ser uno de los aminoácidos más presentes en el plasma sanguíneo⁵⁸, permitirá un intercambio de aminoácidos a nivel celular regulando así la homeostasis celular⁴³. Sin embargo cuando hay elevados niveles de

algunos aminoácidos como la fenilalanina, se genera un desbalance de los aminoácidos intracelularmente, debido a que la forma D-aminoácido de la fenilalanina, está asociado con una inhibición del transportador SLC7A5/SLC3A2, lo cual aumenta la autofagia y podría generar un daño a nivel celular, causado por la ausencia de la disponibilidad de otros nutrientes y de esta manera disminuirá la actividad de mTOR y la proliferación celular en modelos *in vitro*⁴², como se evidencio en estudios realizados con la metionina, la cual redujo 1.5 veces el tamaño celular, demostrando también ser un aminoácido toxico⁴². Con esto en mente, el presente estudio se centró en analizar como las aminoacidopatías, se asocian con la activación de la autofagia, ya que estas involucran el metabolismo de los aminoácidos, tras una deficiencia enzimática o de un transportador, causada por un desorden genético¹⁹. Las patologías asociadas con estas enfermedades, pueden presentarse debido a un aumento de algunos aminoácidos como la fenilalanina, que generan la producción de metabolitos tóxicos o una ausencia de algunos otros aminoácidos como la tirosina, lo cual genera una alteración en la homeostasis celular, alterando la regulación de mTOR e induciendo la vía autofágica y afectando así la señalización celular, lo cual se podría asociar a la neurodegeneración observada en algunos casos ⁵⁹. Sin embargo, aún hay muchos vacíos entorno a la autofagia en los EIM, especialmente las aminoacidopatías, lo cual en futuros estudios puede ser un tema importante de estudio para contribuir a un análisis celular de los diferentes mecanismos que afectan estas enfermedades.

La información encontrada permitió comprender la acción de los aminoácidos a nivel celular y como estos regulan la actividad de mTOR, sin embargo, aún existen muchos vacíos entorno a la regulación de la autofagia, mediante la suplementación/inanición de aminoácidos en los EIM, especialmente las aminoacidopatías, ya que su fisiopatología, esta causada por la alteración de las rutas metabólicas asociadas con los aminoácidos, por algún defecto enzimático o algún transportador. Basado en esto, la investigación a futuro, del rol de los aminoácidos a nivel celular y como estos estan involucrados en la señalización celular, permitirá comprender mejor los síntomas de estas enfermedades y se podrá contribuir con un mejor tratamiento a futuro.

7. Conclusión

Mediante el presente estudio se logró la identificación del rol de los aminoácidos en la regulación de la vía mTOR y la autofagia. Los resultados de los artículos primarios permitieron analizar el efecto que genera la inanición de los aminoácidos en la activación de la vía mTOR, lo cual conduce al inicio de la autofagia a nivel celular afectando múltiples vías de señalización y generando una disminución de la proliferación celular. Por otro lado, la evidencia encontrada con respecto a la autofagia y las aminoacidopatías, nos permite observar que aún hay ausencia de muchos estudios entorno a estas enfermedades y como la fisiopatología se ve alterada cuando hay una regulación negativa de mTORC1.

Este acercamiento mediante una revisión bibliográfica permitió identificar la importancia de la regulación de la autofagia a nivel celular en los EIM especialmente las aminoacidopatías y como esta vía celular, puede estar asociada con la fisiopatología de estas condiciones. Esta información es importante para abordar futuros estudios en torno a la autofagia y cómo esta puede llegar a ser un blanco de posibles tratamientos enfocados en el comportamiento celular y no solo en las alteraciones bioquímicas.

8. Recomendaciones

- Implementar en futuros estudios el análisis de la proteína p62 en modelos *in vivo* e *in vitro* de aminoacidopatías, permitirá analizar el flujo completo de la vía autofágica.
- Identificar la relación que tiene la autofagia con el estrés oxidativo y cómo estos afectan la señalización celular en las aminoacidopatías.
- Determinar cómo las alteraciones en la vía autofágica contribuyen al daño en tejidos específicos en las aminoacidopatías.

9. Referencias

1. van Spronsen FJ, Blau N, Harding C, Burlina A, Longo N, Bosch AM. Phenylketonuria. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1). doi:10.1038/S41572-021-00267-0
2. Richards DY, Winn SR, Dudley S, et al. AAV-Mediated CRISPR/Cas9 Gene Editing in Murine Phenylketonuria. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;17:234-245. doi:10.1016/J.OMTM.2019.12.004
3. Lizbeth LM, Mónica VV, Sara GL, Sara Guillén López M. ¿Qué aspectos considerar al iniciar el tratamiento nutricional para Fenilcetonuria? Which aspects should be considered when starting with the Phenylketonuria diet? Correspondencia. *Suplemento I*. 2018;(39):66-74.
4. Stepien KM, Heaton R, Rankin S, et al. Evidence of Oxidative Stress and Secondary Mitochondrial Dysfunction in Metabolic and Non-Metabolic Disorders. *Journal of Clinical Medicine 2017, Vol 6, Page 71*. 2017;6(7):71. doi:10.3390/JCM6070071
5. Kumru B, Davut ·, Kaplan S, Burcu ·, Hismi O, Celik H. Effect of Blood Phenylalanine Levels on Oxidative Stress in Classical Phenylketonuric Patients. 2018;38:1033-1038. doi:10.1007/s10571-017-0573-2
6. Ornatowski W, Lu Q, Yegambaram M, et al. Complex interplay between autophagy and oxidative stress in the development of pulmonary disease. *Redox Biol*. 2020;36:101679. doi:10.1016/J.REDOX.2020.101679
7. Wajner M, Vargas CR, Amaral AU. Disruption of mitochondrial functions and oxidative stress contribute to neurologic dysfunction in organic acidurias. *Arch Biochem Biophys*. 2020;696:108646. doi:10.1016/J.ABB.2020.108646
8. Williams RA, Mamotte CDS, Burnett JR. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin Biochem Rev*. 2008;29(1):31-41.
9. Kaiser RA, Weber ND, Trigueros-Motos L, et al. Use of an adeno-associated virus serotype Anc80 to provide durable cure of phenylketonuria in a mouse model. *J Inherit Metab Dis*. 2021;44(6):1369-1381. doi:10.1002/JIMD.12392
10. Sumaily KM, Mujamammi AH. Phenylketonuria: A new look at an old topic, advances in laboratory diagnosis, and therapeutic strategies. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017;11(5):63.
11. Rutten MGS, Rots MG, Oosterveer MH. Exploiting epigenetics for the treatment of inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis*. 2020;43(1):63-70. doi:10.1002/JIMD.12093
12. Ramoser G, Caferra F, Radlinger B, et al. 100 years of inherited metabolic disorders in Austria—A national registry of minimal birth prevalence, diagnosis, and clinical outcome of inborn errors of metabolism in Austria between 1921 and 2021. *J Inherit Metab Dis*. 2022;45(2):144-156. doi:10.1002/JIMD.12442

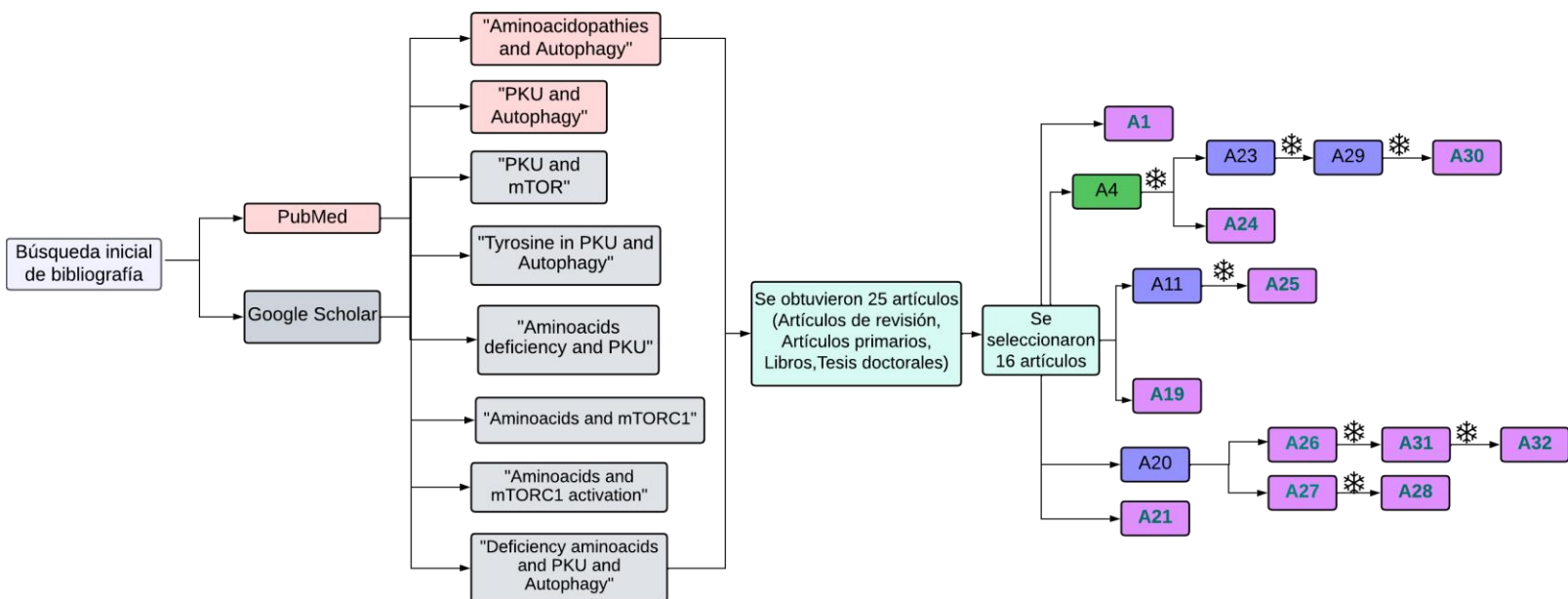
13. Barrera Avellaneda LA, Espejo Mojica AJ, Espinosa García E, Echeverri Peña OY. Errores Innatos Del Metabolismo: Un Abordaje Integral Del Diagnostico al Tratamiento. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana, 2014
14. El-Hattab AW. Inborn Errors of Metabolism. *Clin Perinatol.* 2015;42(2):413-439. doi:10.1016/J.CLP.2015.02.010
15. Jeanmonod R, Asuka E, Jeanmonod D. Inborn Errors Of Metabolism. *StatPearls.* Published online July 18, 2022. Accessed November 27, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459183/>
16. Ferreira CR, Rahman S, Keller M, Zschocke J. An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(1):164-177. doi:10.1002/jimd.12348
17. Lopez MJ, Mohiuddin SS. Biochemistry, Essential Amino Acids. Europe PMC. 2022.
18. Manta-Vogli PD, Schulpis KH, Loukas YL, Dotsikas Y. Birth weight related essential, non-essential and conditionally essential amino acid blood concentrations in 12,000 breastfed full-term infants perinatally. *Scand J Clin Lab Invest.* 2020;80(7):571-579. doi:10.1080/00365513.2020.1818280
19. van Vliet D, Derks TG, van Rijn M, et al. Single amino acid supplementation in aminoacidopathies: A systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9(1):1-14. doi:10.1186/1750-1172-9-7/TABLES/1
20. Britannica. Metabolic disease – Disorders of amino acid. 2022
21. Sandler Y, Sandler Y. Amino Acids Profiling for the Diagnosis of Metabolic Disorders. *Biochemical Testing - Clinical Correlation and Diagnosis.* Published online March 8, 2019. doi:10.5772/INTECHOPEN.84672
22. Wasim M, Awan FR, Khan HN, Tawab A, Iqbal M, Ayesha H. Aminoacidopathies: Prevalence, Etiology, Screening, and Treatment Options. *Biochem Genet.* 2018;56(1-2):7-21. doi:10.1007/S10528-017-9825-6/TABLES/2
23. Pan Y, Shen N, Jung-Klawitter S, et al. CRISPR RNA-guided FokI nucleases repair a PAH variant in a phenylketonuria model. *Scientific Reports 2016 6:1.* 2016;6(1):1-7. doi:10.1038/srep35794
24. de Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ, et al. Phenylketonuria: reduced tyrosine brain influx relates to reduced cerebral protein synthesis. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:1. doi:10.1186/1750-1172-8-133
25. Morrow G, Tanguay RM. Biochemical and clinical aspects of hereditary tyrosinemia type 1. *Adv Exp Med Biol.* 2017;959:9-21. doi:10.1007/978-3-319-55780-9_2/TABLES/3

26. Chinsky JM, Singh R, Ficicioglu C, et al. Diagnosis and treatment of tyrosinemia type I: a US and Canadian consensus group review and recommendations. *Genetics in Medicine* 2017 19:12. 2017;19(12):1380-1380. doi:10.1038/gim.2017.101
27. Ichimiya T, Yamakawa T, Hirano T, et al. Molecular Sciences Autophagy and Autophagy-Related Diseases: A Review. doi:10.3390/ijms21238974
28. Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. Published online 2010. doi:10.1002/path.2697
29. Napolitano G, Ballabio A. TFEB at a glance. *J Cell Sci.* 2016;129(13):2475-2481. doi:10.1242/JCS.146365/259795/AM/TFEB-AT-A-GLANCE
30. Chu CT. Autophagic Stress in Neuronal Injury and Disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006;65(5):423-432. doi:10.1097/01.JNEN.0000229233.75253.BE
31. Pilapong C, Phatruengdet T, Krungchanuchat S. Autophagic stress; a new cellular response to nanoparticles. Could it be a new strategy for inhibition of liver cancer cell invasion and metastasis? *Nanoscale.* 2020;12(11):6556-6561. doi:10.1039/C9NR10131D
32. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020 21:4. 2020;21(4):183-203. doi:10.1038/s41580-019-0199-y
33. Oh WJ, Jacinto E. mTOR complex 2 signaling and functions. *Cell Cycle.* 2011;10(14):2305. doi:10.4161/CC.10.14.16586
34. Ghosh J, Kapur R. Role of mTORC1-S6K1 signaling pathway in regulation of hematopoietic stem cell and acute myeloid leukemia. *Exp Hematol.* 2017;50:13. doi:10.1016/J.EXPHEM.2017.02.004
35. Takahara T, Amemiya Y, Sugiyama R, Maki M, Shibata H. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: A variety of regulatory modes. *J Biomed Sci.* 2020;27(1):1-16. doi:10.1186/S12929-020-00679-2/FIGURES/4
36. Orejuela D, Jorquera R, Bergeron A, Finegold MJ, Tanguay RM. Hepatic stress in hereditary tyrosinemia type 1 (HT1) activates the AKT survival pathway in the *fah*^{-/-} knockout mice model. *J Hepatol.* 2008;48(2):308-317. doi:10.1016/J.JHEP.2007.09.014
37. Nicklin P, Bergman P, Zhang B, et al. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell.* 2009;136(3):521-534. doi:10.1016/J.CELL.2008.11.044
38. Kwak SS, Suk J, Choi JH, et al. Autophagy induction by tetrahydrobiopterin deficiency. *Autophagy.* 2011;7(11):1323-1334. doi:10.4161/AUTO.7.11.16627

39. Schriever SC, Deutsch MJ, Adamski J, Roscher AA, Ensenaer R. Cellular signaling of amino acids towards mTORC1 activation in impaired human leucine catabolism. *J Nutr Biochem.* 2013;24(5):824-831. doi:10.1016/J.JNUTBIO.2012.04.018
40. Chen R, Zou Y, Mao D, et al. The general amino acid control pathway regulates mTOR and autophagy during serum/glutamine starvation. *J Cell Biol.* 2014;206(2):173. doi:10.1083/JCB.201403009
41. Averous J, Lambert-Langlais S, Carraro V, et al. Requirement for lysosomal localization of mTOR for its activation differs between leucine and other amino acids. *Cell Signal.* 2014;26(9):1918-1927. doi:10.1016/J.CELLSIG.2014.04.019
42. Sanayama Y, Matsumoto A, Shimojo N, Kohno Y, Nakaya H. Phenylalanine sensitive K562-D cells for the analysis of the biochemical impact of excess amino acid. *Scientific Reports 2014 4:1.* 2014;4(1):1-8. doi:10.1038/srep06941
43. Jewell JL, Kim YC, Russell RC, et al. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science (1979).* 2015;347(6218):194-198. doi:10.1126/SCIENCE.
44. Zhenyukh O, Civantos E, Ruiz-Ortega M, et al. High concentration of branched-chain amino acids promotes oxidative stress, inflammation and migration of human peripheral blood mononuclear cells via mTORC1 activation. *Free Radic Biol Med.* 2017;104:165-177. doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2017.01.009
45. Tan HWS, Sim AYL, Long YC. Glutamine metabolism regulates autophagy-dependent mTORC1 reactivation during amino acid starvation. *Nature Communications 2017 8:1.* 2017;8(1):1-10. doi:10.1038/s41467-017-00369-y
46. Tong M, Wong TL, Zhao H, et al. Loss of tyrosine catabolic enzyme HPD promotes glutamine anaplerosis through mTOR signaling in liver cancer. *Cell Rep.* 2021;36(8). doi:10.1016/J.CELREP.2021.109617
47. Lane JD, Korolchuk VI, Murray JT, Rabanal-Ruiz Y, Otten EG, Korolchuk VI. mTORC1 as the main gateway to autophagy. *Essays Biochem.* 2017;61(6):565-584. doi:10.1042/EBC20170027
48. Shen JZ, Wu G, Guo S. Amino Acids in Autophagy: Regulation and Function. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1332:51-66. doi:10.1007/978-3-030-74180-8_4/FIGURES/3
49. Zou Z, Tao T, Li H, Zhu X. MTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer: Progress and challenges. *Cell Biosci.* 2020;10(1):1-11. doi:10.1186/S13578-020-00396-1/TABLES/2
50. Ahmed AR, Owens RJ, Stubbs CD, et al. Direct imaging of the recruitment and phosphorylation of S6K1 in the mTORC1 pathway in living cells. *Scientific Reports 2019 9:1.* 2019;9(1):1-14. doi:10.1038/s41598-019-39410-z

51. Martin TD, Chen XW, Kaplan REW, et al. Ral and Rheb GTPase Activating Proteins Integrate mTOR and GTPase Signaling in Aging, Autophagy, and Tumor Cell Invasion. *Mol Cell*. 2014;53(2):209-220. doi:10.1016/j.molcel.2013.12.004
52. Garza-Lombó C, Schroder A, Reyes-Reyes EM, Franco R. mTOR/AMPK signaling in the brain: Cell metabolism, proteostasis and survival. *Curr Opin Toxicol*. 2018;8:102. doi:10.1016/J.COTOX.2018.05.002
53. Bortolami M, Comparato A, Benna C, et al. Gene and protein expression of mTOR and LC3 in hepatocellular carcinoma, colorectal liver metastasis and “normal” liver tissues. *PLoS One*. 2020;15(12). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0244356
54. Dillon EL. Nutritionally essential amino acids and metabolic signaling in aging. *Amino Acids*. 2013;45(3):431. doi:10.1007/S00726-012-1438-0
55. Takegaki J, Sase K, Yasuda J, et al. The Effect of Leucine-Enriched Essential Amino Acid Supplementation on Anabolic and Catabolic Signaling in Human Skeletal Muscle after Acute Resistance Exercise: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group Comparison Trial. *Nutrients*. 2020;12(8):1-15. doi:10.3390/NU12082421
56. Duan Y, Li F, Li Y, et al. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino Acids* 2015 48:1. 2015;48(1):41-51. doi:10.1007/S00726-015-2067-1
57. Zhou J, Chen H, Du J, et al. Glutamine Availability Regulates the Development of Aging Mediated by mTOR Signaling and Autophagy. *Front Pharmacol*. 2022;13:2637. doi:10.3389/FPHAR.2022.924081/BIBTEX
58. Bodineau C, Tomé M, Courtois S, et al. Two parallel pathways connect glutamine metabolism and mTORC1 activity to regulate glutamoptosis. *Nature Communications* 2021 12:1. 2021;12(1):1-13. doi:10.1038/s41467-021-25079-4
59. Uchiyama Y, Shibata M, Koike M, Yoshimura K, Sasaki M. Autophagy—physiology and pathophysiology. *Histochem Cell Biol*. 2008;129(4):407. doi:10.1007/S00418-008-0406-Y

10. Anexos



Anexo 1. Sección de artículos primarios para el estudio. Diagrama de flujo que representa la búsqueda inicial de investigación para el estudio. El color gris representa los términos de búsqueda en los buscadores PubMed y Google Scholar. El color azul, representa los artículos de revisión. El color verde, representa el libro. El color rosado representa, los artículos primarios. El color de fuente verde de los recuadros representa los artículos primarios seleccionados para el estudio. El símbolo de copo de nieve representa los momentos en los que se utilizó la estrategia de búsqueda por “bola de nieve”.

*La nomenclatura presentada en la figura corresponde a la presente en el **Anexo 2**.

Anexo 2

El **Anexo 2**, pone en evidencia el número total de artículos encontrados a lo largo de la búsqueda bibliográfica. Los artículos primarios en negrilla fueron los utilizados a lo largo del estudio. La tabla se clasifico, según el autor y el año de publicación.

Tabla Anexo 2. Número total de artículos encontrado en el estudio.

Nomenclatura	Título	Autor	Año
A1	Autophagy induction by tetrahydrobiopterin deficiency	<i>Kwak et al.</i>	2011
A2	The <i>Pah-R261Q</i> mouse reveals oxidative stress associated with amyloid-like hepatic aggregation of mutant phenylalanine hydroxylase	<i>Aubi et al.</i>	2021
A3	Understanding proteostasis dysregulation in phenylketonuria – a paradigm disease for inborn error of metabolism	Skjervheim K	2022
A4	Chapter 9 - mTOR, Autophagy, Aminoacidopathies, and Human Genetic Disorders	<i>Ainslie et al.</i>	2016
A5	Phenylketonuria-related cognitive dysfunction and its mechanism in a BTBR-Pahenu2 mouse model	<i>Liang et al.</i>	2017
A6	An overview of inborn errors of metabolism affecting the brain: from neurodevelopment to neurodegenerative disorders	<i>Saudubray et al.</i>	2018
A7	Altered Redox Homeostasis in Branched-Chain Amino Acid Disorders, Organic Acidurias, and Homocystinuria	<i>Richard et al.</i>	2018
A8	Amino acid transporters revisited: New views in health and disease	<i>Kandasamhy et al.</i>	2018
A9	In Vivo Metabolic Responses to Different Formulations of Amino Acid Mixtures for the Treatment of Phenylketonuria (PKU)	<i>Giarratana et al.</i>	2022
A10	Amino acids, glucose metabolism and clinical relevance for phenylketonuria management	<i>Peña et al.</i>	2015
A11	Amino acid metabolism and autophagy in skeletal development and homeostasis	<i>Suzuki et al.</i>	2021
A12	Tetrahydrobiopterin in energy metabolism and metabolic diseases	<i>Kyu Kim et al.</i>	2020
A13	Protein Degradation and the Pathologic Basis of Phenylketonuria and Hereditary Tyrosinemia	<i>Sarodaya et al.</i>	2020

A14	Phenylketonuria oxidative stress and energy dysregulation: Emerging pathophysiological elements provide interventional opportunity	<i>Dobrowolski et al.</i>	2022
A15	Model phenylketonuria (PKU) in the albino rat: Behavioral, biochemical, and neuroanatomical effects.	<i>Robert et al.</i>	1975
A16	Phenylketonuria as a protein misfolding disease: The mutation pG46S in phenylalanine hydroxylase promotes self-association and fibril formation	<i>Leandro et al.</i>	2010
A17	Oxidative stress in Phenylketonuria: future directions	<i>Rocha et al.</i>	2012
A18	KLHL22 activates amino-acid-dependent mTORC1 signalling to promote tumorigenesis and ageing	<i>Chen et al.</i>	2018
A19	Loss of tyrosine catabolic enzyme HPD promotes glutamine anaplerosis through mTOR signaling in liver cancer	<i>Tong et al.</i>	2021
A20	Multiple amino acid sensing inputs to mTORC1	<i>Shimobayashi et al.</i>	2015
A21	High concentration of branched-chain amino acids promotes oxidative stress, inflammation, and migration of human peripheral blood mononuclear cells via mTORC1 activation	<i>Zhenyukh et al.</i>	2017
A22	Regulation of mTORC1 by aminoacids: A general picture of recent advances	<i>Zhang et al.</i>	2021
A23	Tyrosinemia: a review	<i>Russo et al.</i>	2001
A24	Phenylalanine sensitive K562-D cells for the analysis of the biochemical impact of excess amino acid	<i>Sanayama et al.</i>	2014
A25	Glutamine metabolism regulates autophagy-dependent mTORC1 reactivation during amino acid starvation	<i>Siong Tan et al.</i>	2017
A26	Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine	<i>Jewell et al.</i>	2015
A27	Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR and Autophagy	<i>Nicklin et al.</i>	2009
A28	The general amino acid control pathway regulates mTOR and autophagy during serum/glutamine starvation	<i>Chen et al.</i>	2014
A29	Molecular pathogenesis of liver Injury in Hereditary Tyrosinemia 1	<i>Tanguay et al.</i>	2017
A30	Hepatic stress in hereditary tyrosinemia type 1 (HT1) activates the AKT survival pathway in the fah^{-/-} knockout mice model	<i>Orejuela et al.</i>	2008
A31	Cellular signaling of amino acids towards mTORC1 activation in impaired human leucine catabolism	<i>Schriever et al.</i>	2013
A32	Requirement for lysosomal localization of mTOR for its activation differs between leucine and other amino acids	<i>Averous et al.</i>	2014

Se presenta a continuación la tabla donde se encuentra todo el material bibliográfico encontrado en las búsquedas de Google Scholar y PubMed.

Anexo 3

El **Anexo 3**, muestra los artículos primarios utilizados para el presente estudio. Esta se organizó según el año de publicación y se colocaron los siguientes datos de cada artículo: objetivo, tema principal, aminoácido, variables Interés (con cambios, sin cambios, Otros), modelos estudiados, grupos de estudio, tipo de estudio, enfermedad, conclusiones, hallazgos importantes.

Para una vista detallada de la tabla ver el siguiente enlace: [Tabla Anexo Trabajo de grado.xlsx](#)