



O papel da leucina na ativação do metabolismo celular: uma vasta revisão integrativa

Amir Salomão Gebrin^{1*}, Idirberto José Zotarelli-Filho²

¹ USP – Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

² FACERES – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.

Corresponding Author: Dr. Amir Salomão Gebrin,
USP - Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

Email address: amir.gebrin@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.54448/ijn22S201>

Received: 08-11-2022; Revised: 10-28-2022; Accepted: 11-11-2022; Published: 11-23-2022; IJN-id: e22S201

Resumo

Nesta revisão foi abordada a sinalização da ativação celular pela leucina, discutido os riscos da sinalização excessiva por proteínas na dieta ocidental e explorado o potencial da estimulação por leucina na regeneração de tecidos. Os aminoácidos são, além de blocos de construção de macromoléculas, sinalizadores de ativação celular. Os aminoácidos essenciais não são produzidos por animais e a leucina parece ser o principal aminoácido sinalizador. Os mamíferos aparentemente ajustaram a ativação celular e a velocidade do crescimento de seus filhotes pela concentração de leucina do leite produzido. Diversos estudos demonstram benefícios da suplementação de leucina na prevenção de sarcopenia, melhora de desempenho muscular e hepático, bem como possível papel neuroprotetor em traumatismo craniano e demência. Todavia seu excesso, tão comum na dieta ocidental, está relacionado a obesidade, diabetes tipo II, doenças neurodegenerativas e câncer. A quinase mTORC1 integra os estímulos de ativação celular desde a síntese de macroproteínas até regulação epigenética. O controle da atividade mTORC1 pelo consumo de leucina pode prevenir, tratar ou causar doenças. O maior entendimento sobre os efeitos regulatórios de leucina e da mTOR em tecidos instáveis como tumores ou frágeis como o SNC são áreas de grande relevância e com extensos campos a serem ainda explorados.

Palavras-chave: Leucina. Metabolismo celular. Sinalização. Regeneração tecidual.

Introdução

Aminoácidos são elementos essenciais usados como “blocos de construção”, substrato energético em determinadas situações metabólicas, sinalizadores de

ativação celular e agentes de tamponamento (glutamato no SNC, por exemplo) [1-6]. Insulina e fatores de crescimento são incapazes de ativação celular na ausência de aminoácidos como leucina [7-13].

Plantas e bactérias sintetizam seus próprios aminoácidos, porém animais são incapazes de sintetizar de metade dos vinte aminoácidos existentes, tornando-se assim necessária sua ingestão, por isso chamados aminoácidos essenciais, sendo os principais os de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), conhecidos como BCAA (*Branched Chain Amino Acids*) [13].

Portanto, nesta revisão foi abordada a sinalização da ativação celular pela leucina, discutido os riscos da sinalização excessiva por proteínas na dieta ocidental e explorado o potencial da estimulação por leucina na regeneração de tecidos.

Leite, leucina e complexo mTOR

O leite e seus derivados são a principal fonte natural de leucina. De acordo com Melnik (2012) [14] a ação do leite sobre a velocidade de crescimento do filhote possui uma relação direta entre crescimento e concentração da leucina no leite da espécie. O leite do rato possui 7,9 mg de leucina/mL e seus filhotes dobram de peso a cada 4 dias; bezerros dobram de peso após 40 dias (o leite de vaca possui 3,3 mg leucina/mL) e o leite humano apresenta a menor concentração dentre todos os mamíferos: 1,0 mg/mL de leucina, o que torna mais lento o crescimento para a maior aquisição de aprendizado. O bebê humano dobra de peso somente após seis meses de vida.

Ainda, Melnik descreve a amamentação não como simples de fonte de nutrição, mas como uma evolução da sinalização da ativação celular [1,14-16]. O complexo mTOR (*mammalian/mechanistic Target Of Rapamycin*), ativado por leucina, integra estímulos

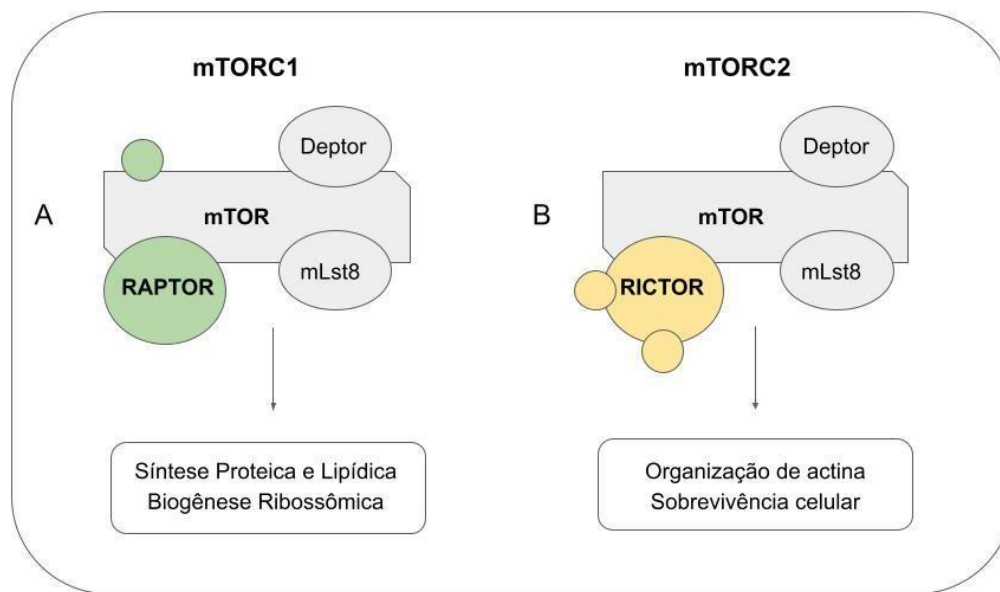
nutricionais, hormonais e ambientais no controle do metabolismo celular [17-19].

Nos anos 1970 Sabatini e col. [18] investigando a falta de fungos no solo da Ilha de Páscoa descobriram uma cepa bacteriana que produzia um potente antifúngico, batizado de rapamicina (em homenagem à ilha Rapa Nui, na língua local). A rapamicina um é potente inibidor celular por bloquear a proteína mTOR [20-22], sendo usada na prática clínica ainda hoje como imunossupressor, anti-estenótico e no tratamento

do câncer [23-25].

A descoberta do complexo mTOR começou pela descoberta do seu inibidor, a rapamicina em 1975, e pela clonagem de seus genes em 1993. Descobriu-se que a mTOR forma dois complexos distintos ao associar-se a outras proteínas: mTORC1 ao se ligar a RAPTOR (*Regulatory-Associated Protein of mTOR*) e mTORC2, quando associado a RICTOR (*Rapamycin-Insensitive Companion of mTOR*) (Figura 1) [26-28].

Figura 1. Estrutura mTORC1 (A) e mTORC2 (B) e suas principais funções na ativação celular.



Fonte: Própria autoria.

O complexo mTORC1 consiste da união mTOR, Raptor, mLST8 (mammalian Lethal with Sec13 protein T8), Deptor e proteína DAS40. Ativado inicia o anabolismo celular com síntese lipídica e protéica. Desativado, causa autofagia pela ativação da quinase glicogênio sintetase GSK3 β [29,30]. O complexo mTORC2 organiza o citoesqueleto de actina, migração e sobrevivência celular.

A mTORC1 integra estímulos de ativação celular desde fungos a mamíferos [31-35]. Diversos estudos indicam mTORC1 como central reguladora da transcrição gênica, translação ribossômica, transcrição de RNAm, supressor de autofagia e ativador de neogênese ribossômica e mitocondrial [36-41]. A estrutura humana mTORC1 é um dímero de mTOR, Raptor e mLST8 [30].

O complexo mTORC1 é extremamente sensível a exposição de aminoácidos e leucina parece ser um de seus principais ativadores [42-45]. A ausência de leucina impede a ativação mTORC1 mesmo na presença

de todos os demais aminoácidos, fatores de crescimento, glicose e insulina [46-48]. O complexo mTORC2 parece pouco sensível a aminoácidos respondendo basicamente à fatores tróficos [48-50].

Ações da leucina sobre músculo, fígado s e SNC

Alterações teciduais por trauma, doença ou envelhecimento corrompem a fisiologia celular e respostas regenerativas são necessárias para homeostasia. Mamíferos têm pouca capacidade regenerativa em órgãos vitais como coração e sistema nervoso central (SNC) porém fígado, pele, intestino e músculos têm grande capacidade de regeneração nos mamíferos adultos [51-53].

Compreender mecanismos da regeneração tecidual é essencial para intervenções terapêuticas e o sistema mTORC1 parece sua principal via. No SNC (mínima capacidade de regeneração), a via mTORC1 é estimulada na inativação das quinases PTEN (fosfatase e tensina homólogo) e TSC1 (complexo de esclerose

tuberosa 1), permitindo expansão regenerativa axonal [54-57].

A leucina é bem conhecida pela ação sobre a hipertrofia muscular, obesidade, distúrbios metabólicos, doença hepática, ativação imunológica e câncer [14]. A correlação entre obesidade e oferta excessiva de aminoácidos é claramente observada nos obesos pela hiperativação mTOR, a qual pode justificar maior replicação viral nestas pessoas e o pior prognóstico nos casos de COVID-19 [58]. Curiosamente, o coronavírus possui RNAm ponta 5' e utiliza a mesma maquinaria de tradução celular de proteínas, hiperativada nos obesos [59,60].

A sinalização por aminoácidos vem sendo muito estudada nas últimas décadas para uso terapêutico no politraumatismo, queimaduras graves e na sarcopenia senil, onde foi comprovado benefício clínico no aumento do aporte de BCAAs [61-65].

Músculo

A leucina aumenta o desempenho muscular durante o exercício e a sua ingestão reduz massa gorda e previne a obesidade tanto senil quanto por dieta inadequada, bem como também o diabetes tipo 2 [66-70]. A leucina é o aminoácido mais importante para a síntese de proteínas [71] e pode ser administrado como agente nutracêutico na prevenção da sarcopenia.

A leucina é conhecida por induzir anabolismo muscular desde os anos 1970. No músculo esquelético ocorre 20% de metabolização da leucina para a produção energia (redução a glutamato e cetoácidos). A leucina restante (80%) ativa a síntese proteica (via mTORC1) e a expansão das células satélites [72-75]. Maltais e col. (2016) [75] randomizaram 26 homens sarcopênicos com sobrepeso em treino de resistência por 4 meses, ofertando após o exercício laticínios ou leite de arroz como grupo controle. O treinamento de resistência aumentou a massa magra (DEXA) em ambos grupos, mas o grupo que recebeu laticínios diminuiu mais a taxa de gordura corporal e ganhou mais massa muscular.

Outro estudo semelhante randomizou 26 mulheres obesas sarcopênicas para receber proteína hidrolisada de soro de leite (whey protein) ou placebo por 3 meses sob treino de resistência, resultando em maior aumento de massa magra no grupo que recebeu a proteína de leite [76]. O HMB (hidroxi-metibutirato) é um metabólito da leucina usado na tentativa de prevenir colapso muscular ou aumento de massa magra, porém apresenta resultados controversos em estudos humanos e animais [77-79] realizaram uma metanálise de 11 estudos randomizados de HMB em treinos de resistência

e concluíram não haver efeito significativo no ganho de massa magra, nem na perda de massa gorda ou aumento de força com HMB, desaconselhando inclusive seu uso como suplementação nutracêutica.

Gran e Cameron-Smith (2011) [80] estudando culturas de músculo humano demonstraram ativação da mTORC1 por leucina em doses fisiológicas. A estimulação crônica resultou em aumento da atividade eIF4G (transcrição ribossômica) em dois picos: 3h e 24 h após introdução de leucina/insulina. A estimulação contínua por leucina e hormônios pode gerar um estado anabólico celular persistente [81].

Deldique e col (2008) [82] estudando culturas musculares observaram 50% de aumento na ativação mTORC1 logo após a adição de 5mM de leucina, caindo em 30 minutos. Atherton e col (2010) [83] relataram doses mais baixas (2 mM) também ativando mTORC1. Demonstraram que 5 mM de leucina aumentam 10 vezes a ativação p70-S6K e 2 mM aumentam em 5,9 vezes a atividade p70-S6K nas culturas musculares.

Modelos de perfusão tecidual in vivo também são empregados em estudos de estimulação anabólica, síntese proteica e /ou estudos de edema celular. Algumas pesquisas verificaram que aumento da concentração de aminoácidos em até dez vezes seu valor plasmático não resulta em edema tecidual [84,85].

Bolster e col (2004) [86] canularam e perfundiram as patas traseiras de ratos com concentrações 1x ou 10x da leucina sérica e monitoraram a ativação mTOR, p70-S6K, eIF4E e 4E-BP1. Observaram aumento de 66% na síntese proteica no músculo gastrocnêmio e de 70% no músculo solear das patas perfundidas com solução de 10 x de leucina. Os efeitos da suplementação por infusão tecidual com 10 x de leucina não causou edema no músculo dos ratos.

Diversos estudos de cultura muscular usam leucina em concentração cinco ou dez vezes a fisiológica, sendo capazes de aumentar síntese proteica. Omitir leucina da solução, mesmo aumentando dez vezes a concentração dos demais aminoácidos, não aumenta a síntese proteica no músculo [87-89]. Peyrollier e col (2000) [90] adicionando 2 mM de leucina (concentração normal) a culturas musculares livre de aminoácidos obtiveram rápida ativação anabólica, duplicando o marcador de síntese proteica p70-S6K e aumentando em cinco vezes a ativação da via PI3K. A adição da leucina também aumentou 50% a captação celular de aminoácidos.

A atividade MAP4K3 (Mitogen-Activating Protein Kinase-Kinase-Kinase-3) também é regulada por

aminoácidos, mas não por insulina. A quinase MAP4K3 ativa a miogênese de células satélite no músculo de ratos, contudo completa ativação mTORC1 ocorre somente na presença de leucina [91].

Suplementação com BCAAs melhora a respiração oxidativa e previne a disfunção mitocondrial. Estudos mostram biogênese mitocondrial no músculo cardíaco e esquelético de pacientes com miopatia de Barth [92] e no músculo esquelético de roedores idosos [93]. A suplementação com BCAAs aumentou a sobrevivência de mitocôndrias em cardiomiócitos de animais intoxicados por doxorriucina [94].

A sinalização por leucina aumenta em número e em tamanho as mitocôndrias na fibra muscular. É substrato energético, potencializa a oxidação de ácidos graxos e aumenta absorção de glicose [95-97]. Suplementação com leucina previne disfunção mitocondrial no tecido nervoso, músculo e fígado, sendo indicado no envelhecimento, nas doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, na obesidade e no diabetes [98-104].

A suplementação com aminoácidos aumenta a respiração celular ao induzir biogênese mitocondrial [105-108]. Mitocôndrias passam por ciclos de fusão e fissão que se unem entre si (respirossomo) ou se ligam a lisossomos e ao retículo endoplasmático [109-111]. Mitocôndrias apresentam simbiose ancestral com a célula hospedeira, pois apresentam DNA próprio (circular), mas dependem das proteínas transcritas do DNA da célula hospedeira [112,113].

Há evidências de que a leucina aumenta a biogênese mitocondrial via fatores PGC-1 α e SIRT1 [114-118]. Em animais, a suplementação com BCAAs resultou em biogênese mitocondrial com aumento do fator SIRT1 no músculo esquelético [93, 107].

Fígado

A literatura é rica em evidências dos benefícios da suplementação de BCAAs nas encefalopatias de insuficiência hepática [119]. Pavlov (1893) fez a primeira descrição de encefalopatia hepática com ataxia e convulsões após a anastomose porto-cava em cães alimentados com carne e reversão da encefalopatia na troca de dieta exclusivamente por leite nestes mesmos cães [120].

Muting e Wortmann em 1956 descreveram queda na concentração de BCAAs em pacientes cirróticos e aumento de aminoácidos aromáticos [120]. Essa condição ficou conhecida como razão de Fischer: quanto menor a concentração de BCAAs, maior a intoxicação

cerebral [121]. A suplementação com leucina/BCAAs é indicada nas hepatopatias de pacientes com cirrose [122-124].

A suplementação com BCAAs é fator nutracênico na hepatopatia crônica [123]. A diminuição dos níveis séricos de BCAAs são creditados a absorção muscular e síntese de glutamina pelo músculo do paciente cirrótico. Experimentos in vitro demonstraram que níveis elevados de amônia causam a oxidação da leucina no músculo, consumindo nitrato. Esse sequestro de amônia nas situações de azotemia produz glutamina no tecido muscular [125].

A suplementação com BCAAs estimula a biogênese mitocondrial no fígado, prevenindo a esteatose por álcool em modelos animais [126]. Demonstrou-se também o aumento da regeneração pós-hemihpatectomia na suplementação com leucina [127]. Jefferson & Korner (1967) [128] perfundindo o fígado de ratos com aminoácidos em dose fisiológica de hormônio de crescimento (GH) não obtiveram aumento na produção de proteínas, mas com três vezes a dose de aminoácidos (mesma dose de GH), obtiveram aumento de síntese proteica pelo fígado.

Krause e col (2002) [129] estudando os efeitos de leucina, glutamina e insulina sobre células hepáticas de ratos verificaram que insulina isolada não aumenta anabolismo no fígado, mas leucina isolada é capaz de ativar a p70-S6K e ACC (marcadores de síntese proteica e lipídica, respectivamente), concluindo que a ação da insulina sobre o hepatócito depende da presença conjunta de leucina. Dennis e col (2011) [130] perfundiram o fígado de ratos com aminoácidos com e sem insulina e verificaram que em concentrações normal ou duplicada de insulina obtinham estímulo máximo PI3K/Akt, mas sem aumento na síntese proteica. A perfusão sem insulina e com quatro vezes a concentração de aminoácidos produziu moderada síntese proteica mas combinação de insulina e quatro vezes mais aminoácidos causou máxima síntese proteica, sugerindo que a estimulação por aminoácidos conjuntamente com insulina é necessária para ativação mTORC1.

SNC

O SNC depende de oxigênio e glicose, mas respostas adaptativas permitem a utilização de corpos cetônicos em crises metabólicas, onde os aminoácidos são fonte energética que dispensa respiração mitocondrial [131-134]. Em condições de estresse ao SNC, BCAAs (leucina, isoleucina e valina) são metabolizados a glutamato e cetoácidos. O glutamato

pode originar glutamina ou alanina e, numa segunda redução, acetyl-CoA ao ciclo de Krebs [135,136].

BCAAs são reduzidos a glutamato e corpos cetônicos no SNC por aminotransferases mitocondriais gliais (astrócitos) e por aminotransferases citoplasmáticas nos neurônios. A presença de leucina estimula a redução de glutamato em glutamina e acetyl-CoA, fonte energética ao ciclo de Krebs [137,138].

Ação de BCAAs na Crise Metabólica Neuronal

Após o trauma crânio-encefálico (TCE) há paralisação no metabolismo mitocondrial de glicose no SNC, situação conhecida como "crise metabólica". Alguns estudos sugerem que a suplementação com BCAAs promove neuroproteção, minimizando danos neurais e melhorando a recuperação clínica [139-141]. Jeter e col (2013) [142] estudaram as alterações metabólicas do TCE humano, dosando o nível sérico de BCAAs nas primeiras 24h no TCE moderado (EG: escala de Glasgow > 12), TCE severo (EG < 8), lesões traumáticas ortopédicas e em indivíduos saudáveis. Observaram pouca redução dos BCAAs após TCE moderado e nas lesões ortopédicas, porém valores muito baixos no TCE grave. A baixa dosagem sérica de BCAAs no TCE é inclusive fator prognóstico de hipertensão intracraniana (PIC ≥ 25 mm Hg).

As mitocôndrias são o maquinário energético celular por excelência e usam glicose e oxigênio como seu substrato primário. Porém na falta de glicose ou de oxigênio - ou na presença de qualquer outra disfunção mitocondrial - corpos cetônicos e acetyl-coA são a fonte energética do SNC. A diferenciação entre isquemia e crise metabólica é fundamental nas condutas após TCE. Estudos sugerem que a suplementação com BCAAs endovenosos minimizam danos neurológicos ao SNC após a reversão de isquemia [143,144].

Corpos cetônicos podem chegar a 70% da matriz energética no SNC de mamíferos durante o jejum, trauma ou exercício prolongado. A permeabilidade na barreira hematoencefálica (BHE) para corpos cetônicos também aumenta durante a lactação e no jejum. Lembremos que o desenvolvimento neuronal do feto mamífero é ditado pelo leite, rico em BCAAs, glicose e gorduras [145-150].

Metabolismo de leucina, glutamato e glutamina no SNC

Os astrócitos são responsáveis pela estabilidade energética cerebral através da produção de corpos cetônicos a partir de aminoácidos e ácidos graxos nas

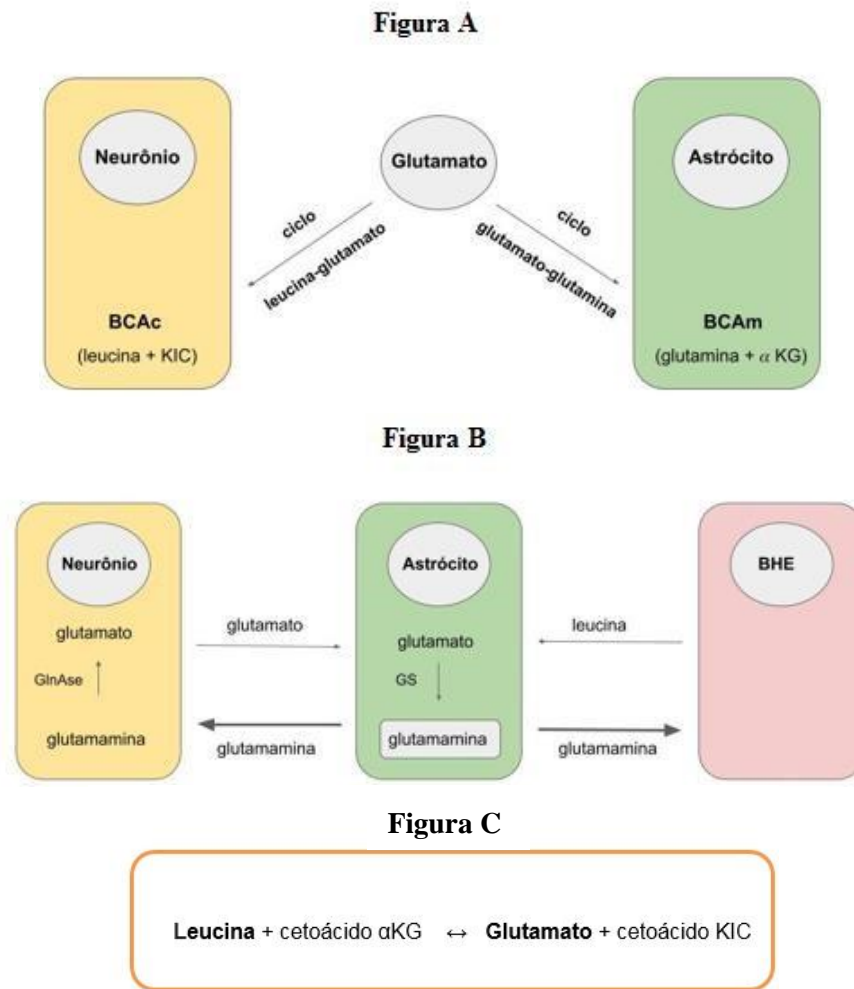
crises metabólicas pelas aminotransferases mitocondriais (BCTAm) [151,152]. A leucina (BCAA típico) é o aminoácido que mais rápido atravessa a BHE [151-154], sendo metabolizado nos astrócitos logo na entrada da BHE. Estima-se que 30% a 50% do glutamato e glutamina do SNC derivam de leucina absorvida na BHE [155-158].

Nissin e col (1987) [159] foram os primeiros a sugerir tamponamento no SNC por glutamato e cetoácidos na transaminação de leucina. Estes cetoácidos (KICs) são captados por neurônios e reaminados em leucina, com consumo de glutamato na fenda sináptica (Figura 1). O excesso de glutamato na fenda sináptica é responsável por lesão secundária no TCE/TRM, isquemia tecidual e morte neuronal sequencial após traumas ao SNC [160-163]. O glutamato precisa ser rapidamente removido da fenda sináptica, sendo captado por astrócitos e reduzido a cetoácidos (aminotransferases mitocondriais: BCTAm) - ciclo glutamato-glutamina - ou reduzido a cetoácidos por neurônios (aminotransferases citossólicas: BCTAc) - ciclo leucina-glutamato (fig 2a). O glutamato pode ser transformado em glutamina (glutamato sintetase - GS) nos astrócitos e trocado por leucina na BHE (fig 2b) ou captado pelo neurônio, retornando a glutamato via glutaminase (GlnAse) [164-166].

A leucina é o aminoácido que mais fácil atravessa a BHE, via transportadores contra-troca por glutamina. Esta leucina é captada pelo astrócito e a BCATm a metaboliza leucina em glutamato e cetoácido isocapróico (KIC). Este é reaminado no neurônio em leucina e o cetoácido α -cetoglutarato (α KG), com consumo de glutamato (Figura 2).

O SNC é o único tecido que possui ambas aminotransferases e BCAAs são fundamentais à regulação bioquímica no SNC, pois além de matéria-prima na síntese de glutamato, tamponam seu excesso no SNC evitando níveis tóxicos mediu na fenda sináptica o equilíbrio entre a formação de cetoácido/leucina e cetoácido/glutamato e observou três vezes mais formação de leucina que glutamato [165,166]. A participação dos astrócitos na sinapse resultou no conceito da sinapse tripartite [167] e a presença de matriz extracelular densa, "lacrando" algumas sinapses e impedindo o extravasamento de glutamato da fenda resultou no conceito de sinapse quadripartite [168,169]. Schafer e col (2013) [170] descrevem também a participação da micróglia na regulação da algumas sinapses (Figura 3).

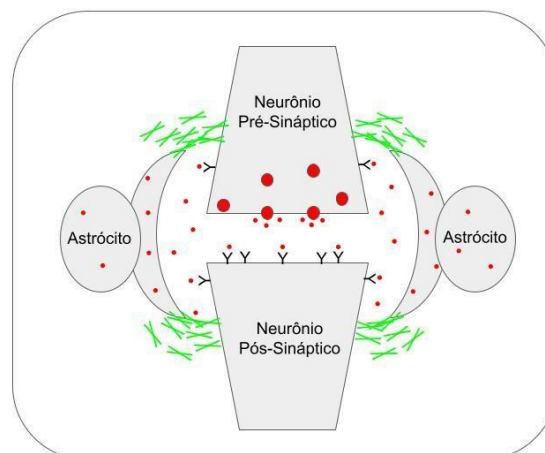
Figura 2. (A) O glutamato é removido da fenda sináptica pelo próprio neurônio e reduzido a cetoácido + leucina por aminotransferases citossólicas (ciclo leucina-glutamato) ou captado por astrócitos e reduzido a glutamina + cetoácido por aminotransferases mitocondriais (ciclo leucina-glutamato). **(B)** A glutamina é trocada na BHE por leucina em bombas de contra-fluxo ou captada pelo neurônio (retornando a glutamato via glutaminase). O astrócito também pode captar glutamato e transformá-lo em glutamina pela enzima glutamino sintetase. **(C)** Equilíbrio de reaminação de cetoácidos gerando glutamato (no neurônio) ou leucina (no astrócito).



(ASTRÓCITO) ↔ (NEURÔNIO)

Fonte: Própria autoria.

Figura 3. Neurônios e astrócitos modulam a presença de glutamato na fenda sináptica no modelo sinapse tripartite. Densa matriz extracelular “lacr” algumas sinapses impedindo a difusão de neurotransmissores no modelo quadripartite.



Fonte: Própria autoria.

Alterações metabólicas de BCAAs e seus efeitos no SNC

Aminoacidopatias são erros no metabolismo de aminoácidos. A doença da urina de xarope de bordo (DXB), ou leucinoase humana, é uma deficiência congênita da cetoácidos desidrogenase que metaboliza BCAAs resultando em seu acúmulo progressivo. É uma doença genética rara e grave com crises de encefalopatia, letargia, rebaixamento de consciência, convulsões e óbito pelo aumento excessivo da leucina sérica (normal: 100 \pm 60 μ mol/L; DXB até 60.000 μ mol/L). A eliminação completa de BCAAs na dieta ou a diálise na urgência durante as descompensações revertem o quadro neurológico [171-178].

Ainda, estudando o coeficiente de inteligência (QI) de crianças com DXB abaixo de 6 anos, Hoffman e col (2006) observaram QI 1,2 vezes maior nas crianças com nível sérico de leucina inferior a 200 μ mol/L (189 \pm 82 μ mol/L) comparado a crianças com níveis plasmáticos de leucina mais elevados (572 \pm 217 μ mol/L). Leucinemias de até 1.000 μ mol/L podem até ser assintomáticas, mas afetam negativamente escores de inteligência [174].

Diversos estudos indicam alterações no metabolismo de BCAAs em doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e Huntington [179,180]. Baixos níveis de valina se relacionam a acelerado declínio cognitivo. Por outro lado, altos níveis de valina reduzem o risco de Alzheimer. "Assinaturas metabólicas" relacionadas a BCAAs foram identificadas em outras doenças como obesidade senil, diabetes tipo II e aterosclerose [181,182].

Estudos recentes em epidemiologia têm demonstrado que a ingestão proteica é vital na função cerebral da população idosa. Shang e col (2021) [182] num estudo coorte ao longo de 9 anos relacionando consumo de proteínas e demência verificaram que a maior ingestão de proteínas foi associada a menor declínio cognitivo em idosos. Sato e col (2021) [183] observaram menor neuroinflamação em camundongos em carência de proteínas após suplementação com aminoácidos essenciais.

A ativação mTOR no tecido cerebral otimiza memória e aprendizado [184,185]. Durante o envelhecimento há diminuição da atividade mTOR neuronal [186-188]. Foi demonstrado que em neurônios da retina e do córtex cerebral a sinalização mTOR diminui com a idade e altera a capacidade de regeneração axonal e de remodelação dendrítica ressaltando a importância do consumo de aminoácidos essenciais [189,190].

Suzuki e col (2020) [191] conduziram um estudo

duplo-cego randomizado de avaliação cognitiva em adultos com 55 anos ou mais com aporte suplementar de aminoácidos essenciais. A ingestão diária de 3 g ou 6 g de aminoácidos por 12 semanas resultou em melhor atenção, cognição e funcionamento psicossocial em relação ao estado pré-suplementação e ao grupo placebo.

Idosos com demência têm menor ingestão de proteínas que idosos saudáveis. Tynkkynen e col (2018) [192], em estudo de coorte, demonstraram baixos níveis séricos de BCAAs associados ao desenvolvimento da doença de Alzheimer. Fernando e col (2018) [193], em outro estudo de coorte, observaram que quanto mais proteína era consumida, menor era a presença de β -amilóide no cérebro da população estudada. Estes resultados destacam o impacto protetor da ingestão de proteína ao cérebro de idosos.

A leucina é um BCAA conhecido por ativar a via mTOR. A quinase glicogênio sintetase 3 β (GSK-3 β) é contra-reguladora e potente inibidora mTORC1. A GSK-3 β encontra-se hiperativada nas doenças neurodegenerativas [194-198] e o acúmulo de β amiloides é responsável pela neurotoxicidade nas taupatias [198-201].

Captção celular de leucina

Apesar do reconhecimento da importância de aminoácidos na ativação celular desde os anos 1955 (Hosios e col, 2016) [202], somente nas últimas décadas houve melhor entendimento dos mecanismos de ativação celular por aminoácidos, seus transportadores, enzimas metabolizadoras e correlação com diagnóstico e tratamento de doenças e disfunções teciduais [203-206].

A captação de aminoácidos dependente de canais específicos, mas também de processos de endocitose não seletivos. Existem ao menos 17 canais transportadores de aminoácidos, sendo os principais o transportador L (leucina preferencial), A (alanina preferencial) e ASCT2 (alanina-serina-cisteína 2) [207-209].

Aminoácidos livres são rapidamente captados pelas células por canais de membrana e ativam mTORC1 em poucos minutos (Nicklin e col, 2009) [210] ao passo que albumina ou proteína maiores ativam mTOR somente após 2 horas, com pico em 4 horas. Portanto as proteínas captadas por endocitose ativam mTORC1 de modo muito mais lento que aminoácidos livres [211].

Captção Seletiva de Aminoácidos

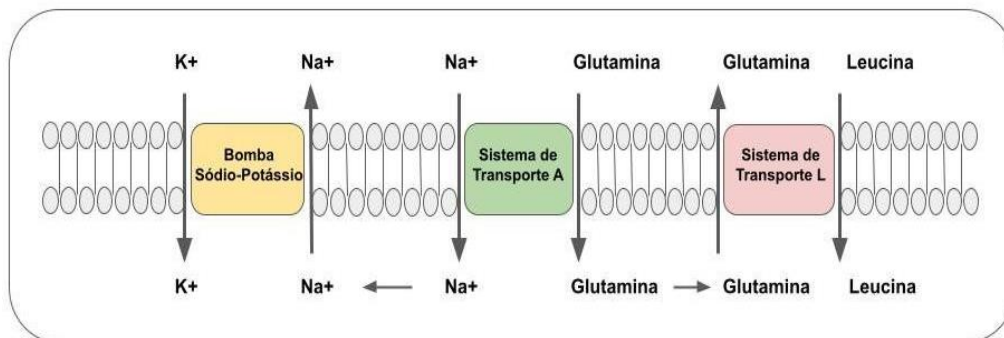
Aminoácidos como leucina e glutamina são essenciais ao metabolismo celular tanto quanto oxigênio

e glicose [212-215]. O canal L é o principal transportador de aminoácidos essenciais e é altamente expresso em cérebro, gônadas, ilhotas pancreáticas e placenta, mas também em tumores como pulmão, próstata e mama. O bloqueio de canais L, em particular LAT1, resulta em apoptose e é alvo terapêutico no tratamento de leucemia linfóide aguda, osteossarcoma e colangiocarcinoma [216-220].

O canal LAT1 é o principal transportador de aminoácidos essenciais ao SNC, linfócitos T e músculo

esquelético, com aumento LAT1 no músculo esquelético 1 e 3 horas após a ingestão de aminoácidos essenciais. O transportador LAT1 tem grande importância na captação de aminoácidos e sinalização celular [221-223]. O transporte de leucina por canais L (SLC1A5, SLC7A5 e SLC3A2) troca glutamina do intracelular por leucina extracelular. O glutamato, metabolizado em glutamina, também aumenta a absorção de leucina em canais L de troca [224,225] (Figura 4).

Figura 4. O sistema A (SNAT2) absorve glutamina e sódio. A bomba sódio-potássio expelle o sódio e o sistema transportador de leucina L (LAT1) absorve leucina expelindo glutamina.



Fonte: Própria autoria.

O transportador LAT1 é o principal controlador da entrada de aminoácidos livres e subsequente ativação mTORC1 em cérebro, músculo e sistema imunológico. No cérebro o canal LAT1 é essencial ao desenvolvimento do sistema nervoso e sua exclusão em camundongos KO (*Knock Out*) é letal. Em humanos, mutações LAT1 estão relacionadas a transtornos de espectro autista e distúrbios como microcefalia e convulsão [226]. Inibir a absorção de BCAAs pode ser benéfico em tumores neurológicos com alta expressão LAT1 como em gliomas [227].

Aminoácidos LAT1-dependentes têm influência no esqueleto ósseo, tecido de constante remodelação dependente da ativação de osteoclastos e osteoblastos [225]. Ozaki e col (2019) [226] identificaram o transportador LAT1 em osteoclastos e sua redução em camundongas pós-ovariectomia. A diminuição da captação de leucina inibe a ativação mTORC1 nos osteoclastos resultando em osteoporose. A ativação mTOR promoveu recuperação da perda óssea em camundongos *knock out* LAT1.

Há forte dependência dos níveis de leucina no crescimento de sarcomas ósseos. Biópsias mostram aumento de enzimas BCAAs nestes tumores e o uso de um análogo da leucina, a N-Acetil-Leucina Amida (NALA) bloqueia a captação de leucina, diminuindo drasticamente a atividade dos sarcomas ósseos [228].

A leucina é um aminoácido transportado por canais LAT1 e seu bloqueio é alvo no controle do câncer, canal

hiperexpresso em tumores malignos [227-231]. A alta expressão LAT1 em biópsias de câncer é, inclusive, fator de mau prognóstico. O sistema mTORC1 ativado aumenta a expressão de transportadores de aminoácidos [232-233].

A ativação linfocitária na resposta imune depende de reprogramação metabólica, com maior expressão de canais de glicose e de aminoácidos para rápida expansão proliferativa [234]. A leucina é um potente estimulador mTORC1 e esgotar leucina ou bloquear seu transportador impede a ativação de linfócitos T na mesma medida da privação total de aminoácidos. A inibição da entrada de leucina nas células T impede sua proliferação, permitindo controle sobre alergias e linfomas por exemplo [235-244].

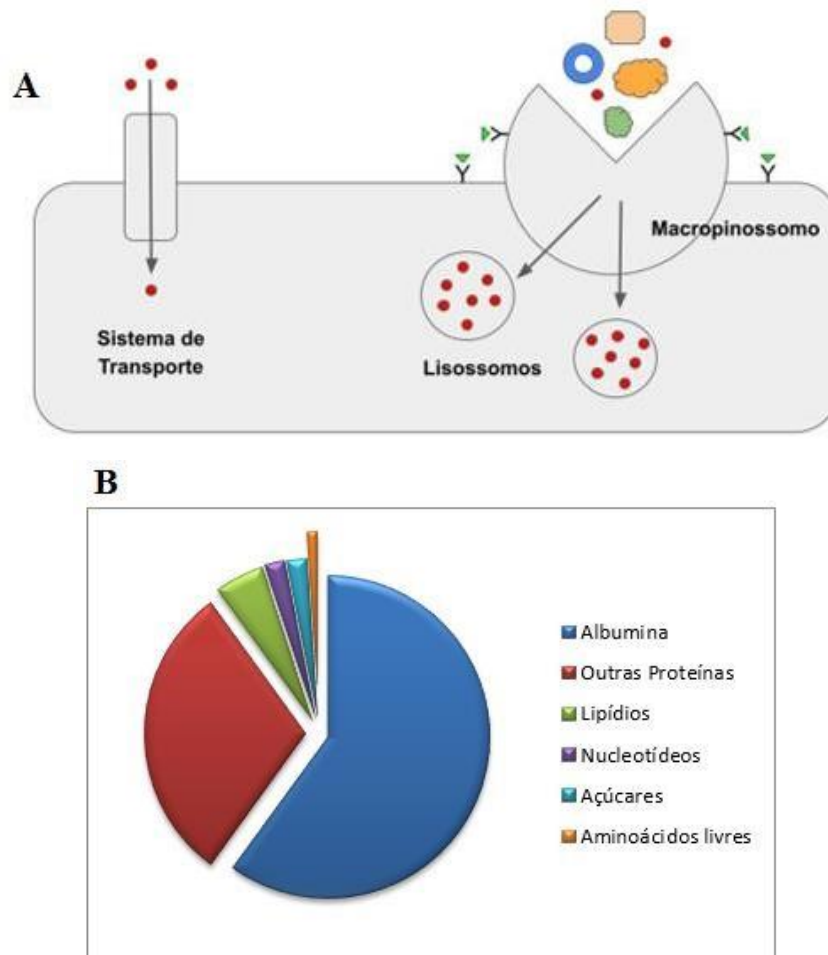
Captção Não-Seleativa de Aminoácidos

Células mamíferas utilizam glicose e aminoácidos livres como fonte energética, mesmo em ambientes ricos em proteínas ou albumina como o plasma [245-247]. Além dos transportadores específicos, as células desenvolveram a captação alternativa de aminoácidos na presença de fatores de crescimento ou de condições isquêmicas e carenciais. Apesar do mTORC1 ser ativado somente por aminoácidos livres como a leucina, estes são a menor fração no plasma circulante. Mesmo com aumento de transportadores seletivos, o sistema de macropinocitose é o principal mecanismo de captação durante ativação celular [248].

A primeira alteração celular que ocorre após a ativação do receptor de membrana pelo fator de crescimento é a remodelação do citoesqueleto de superfície [246-248], que forma pseudópodos que

“abraçam” grandes quantidades de soluto extracelular. Mesmo células tumorais, que independem de fatores de crescimento, a ativação mTORC1 depende pela captação de aminoácidos livres [249-255] (Figura 5).

Figura 5. A) Entrada de aminoácidos e glicose na célula ocorre por canais seletivos (esq) ou, de modo mais intenso e inespecífico, via macropinocitose ativada por fatores de crescimento (dir) - adaptado de Yoshida e col, 2009. **B)** Gráfico apresentando grande quantidade de albumina, outras proteínas etc e a mínima fração de aminoácidos livres no plasma sanguíneo (menor fatia) em destaque - adaptado de Palm e col, 2015.



Macropinosomos são transdutores do sinal do fator de crescimento [256]. Macrófagos exibem macropinocitose imediata após exposição ao fator de crescimento MCSF [257-259]. O marcador de síntese proteica S6K aumenta 5 minutos após a adição de MCSF ao meio de cultura, bem como aumentam os marcadores de ativação anabólica MAPK, ERK, PI3K e mTORC2. Culturas em meios ricos em aminoácidos tem maior atividade mTORC1 que meios pobres de aminoácidos com mesma concentração MCSF [260].

Fatores de crescimento ativam mTORC1 por macropinocitose com rápida captação de aminoácidos livres. A ativação mTORC1 parece ser proporcional à captação de leucina [261]. Com a mesma concentração de fator trófico PDGF, mas diferentes concentrações de leucina (0,4 mM e 4 mM), houve aumento da atividade

mTORC1 nas culturas com maior concentração de leucina.

A macropinocitose foi demonstrada pela primeira vez por Lewis em 1931, batizando sua descrição como “pinocitose” (“engolimento celular”) [255]. Macropinosomos formam vesículas de macroproteínas que se ligam ao Complexo de Golgi e aos lisossomos hidrolisando macroproteínas em os aminoácidos livres necessários à ativação mTORC1 [262-264].

Estudos de microscopia eletrônica demonstraram macropinocitose no SNC e sua diminuição parece estar relacionada ao acúmulo de amilóides e doenças neurodegenerativas como Alzheimer [265,266]. A macropinocitose também ocorre nas extremidades regeneradoras dos axônios; os cones de crescimento. Análises in vitro e in vivo demonstraram que essas

terminações formam extensões de membrana com vesículas de alto peso molecular (10 KDa), sugerindo macropinocitose no axônio e nas conexões sinápticas [267-270].

Verificando-se a quantidade de leucina captada por transportadores e por macropinocitose, a ativação PDGF-dependente mTORC1 foi medida pela presença do dipeptídeo Ala-Leu (não passa pelos transportadores) em meios de cultura. Houve aumento da S6K1 somente após 30 minutos da introdução do dipeptídeo Ala-Leu, indicando que a ativação mTORC1 ocorre somente após a hidrólise da Ala-Leu em leucina livre. A presença de leucina livre ativa mTORC1 entre 2 e 3 minutos [261].

Nas células tumorais ocorre macropinocitose sem necessidade de fatores de crescimento (células RAS-mutantes). Estas apresentam enorme demanda energética que é atendida por glutamina. A glutaminólise gera os NADPHs e ácidos graxos necessários ao crescimento sem necessidade da respiração mitocondrial. Isto é conhecido como Efeito Warburg e permite o crescimento celular mesmo em condições de isquemia [271-276].

O efeito Warburg é a dissociação do metabolismo mitocondrial gerando um fenótipo celular de crescimento mesmo na hipóxia, ressaltando a importância dos aminoácidos em situações de estresse metabólico [277,278]. BCAAs são reduzidos a cetoácidos, glutamato e glutamina, substratos ao ciclo de Krebs durante o efeito Warburg. A glutamina é o combustível usado pela maioria das células cancerosas através de macropinocitose (células Ras-mutantes) [279-283].

A presença de aminoácidos permite o anabolismo celular sem necessidade de respiração mitocondrial (mesmo na presença de oxigênio e glicose) em células tumorais e não tumorais, como na cicatrização de feridas isquêmicas [284-286]. Células T ativadas usam macropinocitose para rápida captação de aminoácidos e imediata resposta linfoproliferativa, tanto imunes quanto tumorais, sem necessidade de respiração mitocondrial [287-288].

Há forte dependência entre os níveis de BCAAs e o crescimento de osteo e condrosarcomas. Biópsias tumorais em pacientes revelam superexpressão de aminotransferases citossólicas, metabolizadoras de BCAAs [288]. Estas são marcadores de prognóstico, pois estão aumentadas nos tumores mais agressivos [284-287]. A BCAT1 (aminotransferase citossólica para BCAAs), encontra-se hiperativa na leucemia mielóide crônica (LMC) e superexpressa na leucemia mielóide crônica [282-284].

Sinalização fisiológica e patológica mTORC1

A mTORC1 controla a ativação celular na presença de nutrientes e de fatores tróficos. Vários estudos indicam a mTORC1 como centro de convergência das diversas sinalizações de ativação anabólica [289-298]. A mTORC1 regula a transcrição gênica, translação ribossômica, suprime a autofagia e ativa a maquinaria mitocondrial e a maquinaria de síntese proteica e lipídica [299-304].

A mTORC1 é ativada pelas GTPases Rag (Ras adenosina guanidina) e Rheb (Ras homolog enriched in brain), cada qual controlada por uma via. A Rag fixa a mTORC1 na superfície do lisossomo na presença de alguns aminoácidos (ligação Raptor) [305-309] e a Rheb, presente no lisossomo, ativa mTORC1 mediante fatores tróficos e glicose [310].

Ativação inicial: a via RAG

Sancak e col (2010) [305] demonstraram que, na presença de aminoácidos, a mTORC1 livre se liga à superfície do lisossomo (via RAG) e só depois é ativada (via Rheb) pelos fatores tróficos. Mamíferos possuem quatro Rags (A, B, C e D) que formam dímeros A/B e C/D. A ligação Raptor (da mTORC1) à RagD (presente no lisossomo) é ativada por leucina e arginina [311-315].

A ativação mTOR por leucina é consenso e os mecanismos estão detalhados em várias revisões [316-320]. Recentemente Meng e col (2020) [316] reavaliaram a capacidade de ativação mTORC1 de cada aminoácido e verificaram que 10 aminoácidos (alanina, arginina, asparagina, glutamina, histidina, leucina, metionina, serina, treonina e valina) são capazes de ligar a mTORC1 ao lisossomo, mas leucina, arginina e metionina são os mais potentes, aumentando a S6K1 (marcador de atividade ribossômica) em apenas 15 minutos, enquanto glutamina, asparagina e metionina levam, por exemplo, mais de uma hora [317,318]. A ativação mTORC1 por glutamina é mais lenta por ser RAGindependente [319]. Também ocorre troca de glutamina por leucina por canais antitransporte [320,321]. A descoberta das Rags melhorou a compreensão da regulação mTORC1 pelos aminoácidos [319,322].

Han e col identificaram o sensor LRS (leucil-tRNA sintetase), que liga leucina à RAG-D, fixando a mTORC1 citossólica livre ao lisossomo. Associações LRS/RagD – mTORC1 são observadas somente na presença de leucina. Camundongos LRS-deficientes são incapazes de fixar a mTORC1 a superfície lisossomal, mesmo na presença de leucina [323]. Outros estudos também confirmaram o papel do sensor LRS na préativação mTORC1 [324-329]. Além da LRS, Sestrina 2 é outro sensor de leucina, que inibe a quinase GATOR1,

inibidora mTORC1 [329]. A presença de leucina rompe a ligação Sestrina 2 - Gator2, liberando a quinase GATOR 2 que bloqueia GATOR1 e ativa mTORC1. Wolfson e col testaram o efeito de aminoácidos sobre a Sestrina 2 e descobriram que apenas a leucina (e não arginina), produz a dissociação Sestrina 2/GATOR 2 com bloqueio GATOR 1 e ativação mTORC1 [330-332].

Além da leucina, a arginina e a metionina são ativadores mTORC1. Arginina usa a via CASTOR1 e a metionina inibe as quinases SAMTOR e GATOR 1/2. Ambas ativam a mTORC1 pela inibição GATOR1 [333-338]. Estes sensores estão presentes em lisossomos, mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi, fixando mTORC1 nas suas superfícies na presença destes aminoácidos [339-341].

Em culturas celulares a remoção de leucina ou arginina impede a ativação S6K sugerindo que ambas, além de metionina, são os principais aminoácidos reguladores da atividade mTORC1. Wolfson e col (2016) [332] examinaram a ligação Sestrina-2/GATOR2 e observaram que a falta de leucina, mas não de arginina, bloqueia a ativação mTORC1. Assim a GATOR 2 age mais como sensor de aminoácidos que ativador mTORC1 [334].

Existem outros mecanismos indiretos de ativação mTORC1 por aminoácidos, como o aumento de cálcio intracelular, pela mobilização de estoques do retículo endoplasmático pela SHP-2, ativada por aminoácidos [342,343]. O metabólito acetil-Coa aumenta a interação RagD-Raptor, fixando mTORC1 ao lisossomo [340]. Estudos bem recentes identificaram disfunção das quinases GATOR 1 e 2 na origem de algumas epilepsias, doenças chamadas GATORpatias [344-350]. A disfunção GATOR altera a ativação mTORC1,

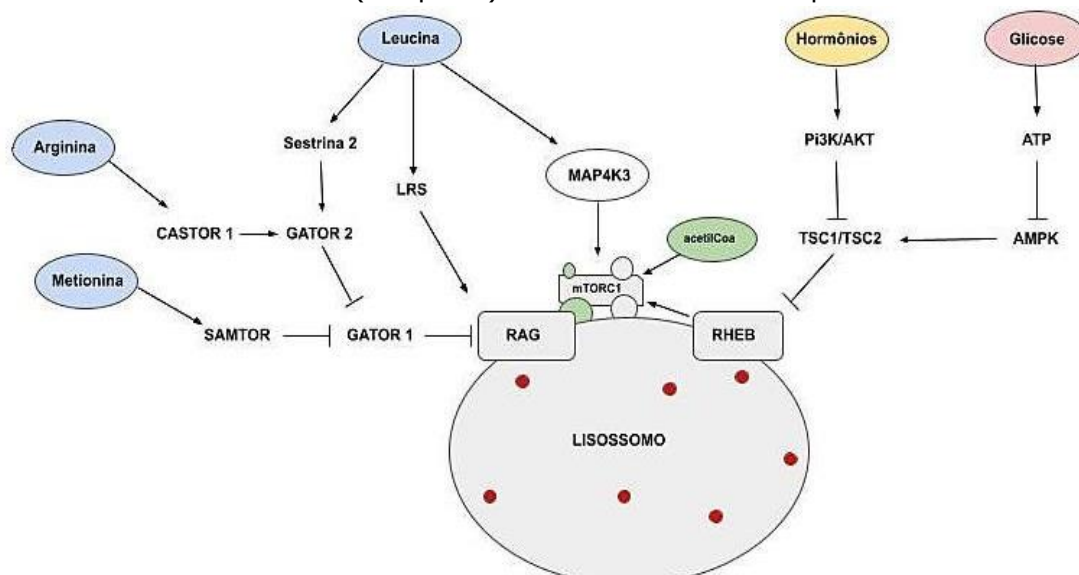
fazendo parte do grupo de doenças de hiperatividade mTORC1(mTORpatias) [351-354]. As mTORpatias ocorrem na obesidade, câncer, doenças neurodegenerativas e diabetes tipo II [355-363], que serão discutidas a seguir.

Ativação final: a via Rheb

Com a mTORC1 fixada à superfície do lisossomo na presença de aminoácidos, ela se liga à Rheb, ativada por fatores tróficos e glicose [364]. Lisossomos são o sítio ideal de ativação mTORC1 pela alta concentração de aminoácidos [365-366]. Outras organelas, como mitocôndrias e complexo de Golgi, também fixam mTORC1 em suas superfícies na presença de aminoácidos [360]. Recentemente foi descrita a fusão do complexo de Golgi a lisossomos na presença de aminoácidos para transferir Rheb do complexo de Golgi aos lisossomos, aumentando a Rheb na superfície lisossomal para maximizar a ativação mTORC1 nos lisossomos [362-365].

A Rheb é a via final de ativação mTORC1 que ocorre na presença de fatores tróficos e glicose. Fatores tróficos dissociam a TSC-1 da TSC- 2 (Complexo Esclero Tuberoso 1 e 2) [319,320]. Durante o jejum o TSC-2 citossólico é deslocado para o lisossomo inativando a Rheb e desligando a atividade mTORC1 [321-324]. A esclerose tuberosa é a doença prototípica da disfunção TSC1/2, com consequente hiperativação mTORC1 (Figura 6). É uma autossômica dominante rara com formação de tumores em rins, coração, pulmões, olhos, pele e cérebro. Em torno de 80 a 90% destas pessoas apresentam ocorre epilepsia, atraso no desenvolvimento ou retardo mental, distúrbios de comportamento e autismo [325-329].

Figura 6. Fatores de crescimento e aminoácidos ativam mTORC1 por vias diferentes: aminoácidos (a direita) fixam mTORC1 ao lisossomo via RAG e via RHEB (a esquerda) é o ativador final mTORC1 por fatores de crescimento e glicose.



Fonte: Própria autoria.

Intervenções Terapêuticas sobre a mTORC1

Doenças de hiperatividade congênita mTOR estão frequentemente associadas a epilepsias de difícil controle [367-370] e inibidores mTOR como rapamicina, everolimus e outros rapanálogos são estudadas no tratamento destas epilepsias. Assim como em esclerose tuberosa, autismo, demência, lesão cerebral traumática e acidente vascular cerebral e no câncer [371-379]. O complexo tuberoso escleroso TSC1/2 encontra-se inibido na maioria dos tumores, com hiperatividade mTORC1 e rápido crescimento tumoral [379,380]. O sarcoma de Kaposi, por exemplo, é um tumor com alta vascularização e ocorre bloqueio da angiogênese e de seu crescimento com o uso de rapamicina [381-386].

Linfomas de células em manto (MCL) apresentam resposta com rapamicina [387-390]. Rapanálogos são usados no tratamento de leucemias para bloquear a via PI3K/AKT/TSC1/2/mTORC1, que está hiperativada [387-392]. Inibidores mTORC1 também são usados como imunossuppressores em determinados transplantes renais [393], no tratamento de gliomas [394-399] e em outros tipos de câncer [400-405]. Dados recentes sugerem desequilíbrios da atividade mTOR em doenças como Parkinson, Huntington, Alzheimer, demência frontotemporal e esclerose lateral amiotrófica [406-409]. Rapanálogos e novos inibidores mTOR podem desacelerar estas alterações neurodegenerativas [410-413].

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência [414], caracterizada pelo acúmulo de proteínas (β amiloide e tau) no tecido cerebral resultando no declínio cognitivo. Estudos (post-mortem) de cérebros humanos com DA indicam hiperativação mTOR e superprodução das proteínas β amiloide e tau [415-421].

A síndrome de Down é a anormalia cromossômica mais frequente e cursa com déficit intelectual congênito. Também há acúmulo de proteínas tau e β amiloide no tecido cerebral pela hiperativação mTOR [422-426]. Diversos estudos de inibição mTORC com rapamicina e rapanálogos sugerem forte potencial clínico em diminuir a progressão do déficit cognitivo em doença de Alzheimer e na Síndrome de Down [427-430].

Não somente o bloqueio mTOR tem ação terapêutica, mas também sua ativação também é alvo clínico, conforme discutido no tópico 3. A ativação mTORC1 é necessária à regeneração de tecidos como músculo, fígado, osso, intestino etc e sua não ativação é o fator crucial da falta de regeneração do SNC [431-438].

Os neurônios são células particularmente distintas,

altamente polarizadas, com morfologia única e prolongamentos axônicos que podem distar milhares de vezes de comprimento em relação ao tamanho dos seus corpos celulares. O acúmulo de organelas citoplasmáticas ao longo do axônio forma pequenos centros regionais de síntese, com certa independência do núcleo distante, que permite síntese de proteínas necessárias ao brotamento axonal reparativo ou criação de novas sinapses no SNC [438-441].

A ativação mTOR resulta em regeneração axonal da lesão do nervo óptico em modelos animais estimulados por fatores de crescimento [442,443]. A ativação mTORC1 ocorre na ponta axonal, na superfície dos lisossomos ali presentes, produzindo as macromoléculas necessárias à formação do cone de crescimento e expansão do neoaxônio [443,444].

A ativação mTORC1 pode ser, contudo, contrária à recuperação da medula espinal lesada, pois astrócitos ativados formam extensas cicatrizes gliais e bloqueiam tentativas axonais locais de regeneração [444]. Modelos de TRM de hemisseção e hiperativação mTORC1 provocada com injeção de interleucina 6 (ativadora da via PIP3/AKT/mTOR) ou pelo bloqueio da quinase PTEN (inibidora da via PIP3/AKT/mTOR) provocaram crescimento regenerativo do trato corticospinal em camundongos [445-447].

Assim sendo, o entendimento atual dos mecanismos moleculares de ativação celular indica que organelas axonais são centros organizacionais fundamentais ao progresso do cone de crescimento e a estimulação mTORC1 de lisossomos axonais pode ser uma das chaves que faltam ao reparo do SNC.

Conclusão

Os aminoácidos são, além de blocos de construção de macromoléculas, sinalizadores de ativação celular. Os aminoácidos essenciais não são produzidos por animais e a leucina parece ser o principal aminoácido sinalizador. Os mamíferos aparentemente ajustaram a ativação celular e a velocidade do crescimento de seus filhotes pela concentração de leucina do leite produzido. Diversos estudos demonstram benefícios da suplementação de leucina na prevenção de sarcopenia, melhora de desempenho muscular e hepático, bem como possível papel neuroprotetor em traumatismo craniano e demência. Todavia seu excesso, tão comum na dieta ocidental, está relacionado a obesidade, diabetes tipo II, doenças neurodegenerativas e câncer. A quinase mTORC1 integra os estímulos de ativação celular desde a síntese de macroproteínas até regulação epigenética. O controle da atividade mTORC1 pelo consumo de leucina pode prevenir, tratar ou causar

doenças. O maior entendimento sobre os efeitos regulatórios de leucina e da mTOR em tecidos instáveis como tumores ou frágeis como o SNC são áreas de grande relevância e com extensos campos a serem ainda explorados.

Agradecimentos

Nada a declarar.

Aprovação ética

Não se aplica.

Financiamento

Não se aplica.

Consentimento informado

Não se aplica.

Declaração de compartilhamento de dados

Não há dados adicionais disponíveis.

Conflito de interesses

Nada a declarar.

Verificação de similaridade

Foi aplicado o Ithenticate@.

Sobre a licença©

O(s) autor(es) 2022. O texto deste artigo é de acesso aberto e licenciado sob uma Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.

Referências

1. Jewell JL, Russell RC, Guan KL. Amino acid signalling upstream of mTOR. *Nat Rev Mol Cell Biol* 133-139, 2013.
2. Zheng L, Zhang W, Zhou Y et al. (2016) Recent advances in understanding amino acid sensing mechanisms that regulate mTORC1. *Int J Mol Sci*. doi:10.3390/ijms17101636
3. Zhang S, Zeng X, Ren M et al. Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review. *J Animal Sci Biotechnol*, (2017) doi: 10.1186/s40104-016-0139-z
4. Siddik MAB, Shin AC. Recent progress on branched-chain amino acids in obesity, diabetes, and beyond. *Endocrinol Metab*:234-246, 2019.
5. Sivanand S, Vander Heiden MG. Emerging roles for branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Cancer Cell*. 2020:147-156.
6. Wei Z, Liu X, Cheng C, Yu W, Yi P. Metabolism of amino acids in cancer. *Front Cell Dev Biol*. (2021). doi: 10.3389/fcell.2020.603837
7. Peyrollier K, Hajduch E, Blair AS et al: L-leucine availability regulates phosphatidylinositol 3-kinase, p70 S6 kinase and glycogen synthase kinase-3 activity in L6 muscle cells: evidence for the involvement of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway in the L-leucine-induced up-regulation of system A amino acid transport. *Biochem J*. 2000, 361-368.
8. Krause U, Bertrand L, Maisin L et al: Signalling pathways and combinatory effects of insulin and amino acids in isolated rat hepatocytes. *Eur J Biochem*. 2002, 3742-3750.
9. Lynch CJ, Halle B, Fujii H et al. Potential role of leucine metabolism in the leucine-signaling pathway involving mTOR. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003, 854-863.
10. Bolster DR, Vary TC, Kimball SR, Jefferson LS: Leucine regulates translation initiation in rat skeletal muscle via enhanced eIF4G phosphorylation. *J Nutr*. 2004, 1704-1710.
11. Vianna D, Teodoro GFR, Torres-Leal, FL, Tirapegui J. Protein synthesis regulation by leucine. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 2010, 29-36.
12. Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 1329-342.
13. Bröer S, Bröer A. Amino acid homeostasis and signalling in mammalian cells and organisms. *Biochem*, 2017, J 1935–1963.
14. Melnik, BC. Excessive leucine-mtorc1-signalling of cow milk-based infant formula: the missing link to understand early childhood obesity. *Journ Obes*. (2012) doi: 197653. 10.1155/2012/197653
15. Melnik BC: Milk—A nutrient system of mammalian evolution promoting mtorc1-dependent translation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, 7048-17087.
16. Melick CH, Jewell JL. Regulation of mTORC1 by upstream stimuli. *Genes* (2020). doi:10.3390/genes11090989
17. Sengupta S, Peterson TR, Sabatini DM. Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress. *Mol Cell*. 2010, 310-322.
18. Sabatini DM. Twenty-five years obsessing over mTOR. *PNAS*, 2017, 1181811825.
19. Melnik BC. Lifetime impact of cow's milk on overactivation of mTORC1: from fetal to childhood overgrowth, acne, diabetes, cancers and neurodegeneration. *Biomolecules*. (2021). doi:10.3390/biom11030404.
20. Vezina C, Kudelski A, Sehgal S N. Rapamycin (AY-

- 22,989), a new antifungal antibiotic I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot.* 1975, 721–726.
21. Martel R R, Klicius J, Galet S. Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. *Can J. Physiol. Pharmacol.* 1977, 48–51.
22. Eng CP, Sehgal SN, Vezina C. Activity of rapamycin (AY-22,989) against transplanted tumors. *J. Antibiot.* 1984, 1231–1237.
23. Heitman J, Movva NR, Hall MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science.* 1991, 905-909.
24. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011, 21-35.
25. Qian J, Su S, Liu P. Experimental approaches in delineating mTOR signaling. *Genes.* (2020). doi: 10.3390/genes11070738.
26. Wullschlegel S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell,* 2006, 471-484.
27. Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD et al: The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 2008, 1496– 1501.
28. Tan VP, Miyamoto S. Nutrient-sensing mTORC1: integration of metabolic and autophagic signals. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2016, 31–41.
29. Dunlop EA; Tee AR. mTOR and autophagy: a dynamic relationship governed by nutrients and energy. *Semin Cell Dev.* 2014, 121–129.
30. Aylett CH, Sauer E, Imseng S et al: Architecture of human mTOR complex. *Science.* 2016, 48-52.
31. Efeyan A, Zoncu R, Sabatini DM. Amino acids and mTORC1: from lysosomes to disease. *Trends Mol Med.* 2012, 524-533.
32. Efeyan, A.; Sabatini, D.M. Nutrients and growth factors in mTORC1 activation. *Biochem. Soc. Trans.* 902–905, 2013.
33. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell.* 960-976, 2017.
34. Kim J, Guan KL. mTOR as a central hub of nutrient signalling and cell growth. *Nat Cell Biol.* 63-71, 2019.
35. Jhanwar-Uniyal M, Wainwright JV, Mohan AL et al: Diverse signaling mechanisms of mTOR complexes: mTORC1 and mTORC2 in forming a formidable relationship. *Adv Biol Regul.* 51-62, 2019.
36. Proud CG. A new link in the chain from amino acids to mTORC1 activation. *Molecular Cell.* 7–8, 2011.
37. Kim J, Guan KL: Amino acid signaling in TOR activation. *Annu Rev Biochem.*, 2011, 1001-32.
38. Dibble CC, Manning BD. Signal integration by mTORC1 coordinates nutrient input with biosynthetic output. *Nat Cell Biol* :555-556, 2013.
39. Chantranupong L, Wolfson RL, Sabatini DM: Nutrient-sensing mechanisms across evolution. *Cell.* 2015, 67-83.
40. Biswas D, Duffley L, Pulinilkunnil T. Role of branched chain amino acid– catabolizing enzymes in intertissue signaling, metabolic remodeling, and energy homeostasis. *FASEB J.* 2019, 8711–8731.
41. Takahara T, Amemiya Y, Sugiyama R et al. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: a variety of regulatory modes. *J Biomed Sci.* (2020); doi: 10.1186/s 12929-020-00679-2.
42. Han JM, Jeong SJ, Park MC et al. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell.* 410–424, 2012.
43. Bar-Peled L, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol.* 2014, 400–406.
44. Jewell JL, Kim YC, Russell RC et al: Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science.* 2015, 194–198.
45. Wolfson RL, Sabatini DM. The Dawn of the age of amino acid sensors for the mTORC1 pathway. *Cell Metab.* 2017, 301–309.
46. Son SM, Park SJ, Lee H et al. Leucine signals to mTORC1 via its metabolite acetyl-coenzyme A. *Cell Metab.* 2019, 192–201.
47. Son SM, Park SJ, Stamatakou E et al. Leucine regulates autophagy via acetylation of the mTORC1 component raptor. *Nat Commun.* (2020). doi: 10.1038/s41467020-16886.
48. Luo Y, Xu W, Li G, Cui W. Weighing in on mTOR complex 2 signaling: the expanding role in cell metabolism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (2018) doi.org/10.1155/2018/7838647.
49. Smith SF, Collins SE, Charest PG. Ras, PI3K and mTORC2 - three's a crowd? *J Cell Sci.* (2020). doi: 10.1242/jcs.234930.
50. Fu W, Hall MN. Regulation of mTORC2 signaling. *Genes* (Basel). 2020 doi: 10.3390/genes11091045.
51. Baddour JA, Sousounis K, Tsonis PA. Organ repair and regeneration: An overview. *Birth Defects Res. C Embryo Today,* 1–29, 2012.
52. Cruz, B., Oliveira, A., Ventrucchi, G et al. A leucine-rich diet modulates the mTOR cell signalling pathway in the gastrocnemius muscle under different Walker-256 tumour growth conditions.

- BMC Cancer. (2019).doi.org/10.1186/s12885-0195448-0
- 53.** Wei X, Luo L, Chen J. Roles of mTOR signaling in tissue regeneration. *Cells*. (2019). doi:10.3390/cells8091075
- 54.** Choi YJ, Di Nardo A, Kramvis I et al. Tuberous sclerosis complex proteins control axon formation. *Genes Dev*. 2008;22(18):2485-2495. doi:10.1101/gad.1685008.
- 55.** Han JM, Sahi M. TSC1/TSC2 signaling in the CNS. *FEBBS Letters*, 973-980, 2011.
- 56.** Ohtake Y, Hayat U, Li S. PTEN inhibition and axon regeneration and neural repair. *Neural Regen Res*. 1363-1368, 2015.
- 57.** Zhang J, Yang D, Huang H et al: Coordination of necessary and permissive signals by PTEN inhibition for CNS axon regeneration. *Front Neurosci* (2018). doi.org/10.3389/fnins.2018.00558.
- 58.** Philips AM, Khan N. Amino acid sensing pathway: A major check point in the pathogenesis of obesity and COVID-19. *Obes Rev*. (2021) doi:10.1111/obr.13221.
- 59.** Wang CH, Chung FT, Lin SM et al. Adjuvant treatment with a mammalian target of rapamycin inhibitor, sirolimus, and steroids improves outcomes in patients with severe H1N1 pneumonia and acute respiratory failure. *Crit Care Med*. 313 321, 2014.
- 60.** Siddik MAB, Shin AC. Recent progress on branched-chain amino acids in obesity, diabetes, and beyond. *Endocrinol Metab* 234-246, 2019.
- 61.** Leenders M, van Loon LJ. Leucine as a pharmaconutrient to prevent and treat sarcopenia and type 2 diabetes. *Nutrition Reviews*, 675-689, 2011.
- 62.** Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1329-1342, 2012.
- 63.** Martínez-Arnau FM, Fonfría-Vivas R, Cauli O. Beneficial effects of leucine supplementation on criteria for sarcopenia: A systematic review. *Nutrients*. (2019). doi: 10.3390/nu11102504.
- 64.** Yoshimura Y, Bise T, Shimazu S et al. Effects of a leucine-enriched amino acid supplement on muscle mass, muscle strength, and physical function in post-stroke patients with sarcopenia: A randomized controlled trial. *Nutrition*. 1-6, 2019.
- 65.** Akan B. Influence of sarcopenia focused on critically ill patients. *Acute Crit Care*.2021, 15-21.
- 66.** Zhang Y, Guo K, LeBlanc RE et al: Increasing dietary leucine intake reduces dietinduced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. *Diabetes*.1647-1654, 2007.
- 67.** Binder E, Bermúdez-Silva FJ, André C et al: Leucine supplementation protects from insulin resistance by regulating adiposity levels. (2013). doi.org/10.1371/journal.pone.0074705.
- 68.** Bloomgarden Z. Diabetes and branched-chain amino acids: What is the link? *J Diabetes*. (2018). doi: 10.1111/1753-0407.12645.
- 69.** Almeida AP, Fortes FS, Silveira BKS et al. (2020). Branched-Chain amino acids intake is negatively related to body adiposity in individuals at cardiometabolic risk. *Revista de Nutrição*,doi.org/10.1590/1678-9865202033e190208.
- 70.** Ye Z, Wang S, Zhang C, Zhao Y. Coordinated modulation of energy metabolism and inflammation by branched-chain amino acids and fatty acids. *Front Endocrinol*. 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.00617.
- 71.** Duan Y, Li F, Li Y et al: The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino Acids*. (2016). doi: 10.1007/s00726-015-2067-1
- 72.** Harris RA, Joshi M, Jeoung NH, Obayashi M. Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism. *The Journal of nutrition*. 2005:1527-30.
- 73.** Rogero MM, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Rev Bras Cienc Farm*. 563-575, 2008.
- 74.** Soares JD, Howell SL, Teixeira FJ, Pimentel GD. Dietary amino acids and immunonutrition supplementation in cancer-induced skeletal muscle mass depletion: A mini-review. *Curr Pharm Des*. 970-978, 2020.
- 75.** Maltais ML, Perreault K, Courchesne-Loyer A et al. Effect of resistance training and various sources of protein supplementation on body fat mass and metabolic profile in sarcopenic overweight older adult men: a pilot study. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 71-77, 2016.
- 76.** Nabuco HCG, Tomeleri CM, Fernandes RR et al. Effect of whey protein supplementation combined with resistance training on body composition, muscular strength, functional capacity, and plasma-metabolism biomarkers in older women with sarcopenic obesity: a randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Clin Nutr ESPEN*. 88-95, 2019.
- 77.** Mirzoev TM. Skeletal muscle recovery from disuse atrophy: protein turnover signaling and strategies

- for accelerating muscle regrowth. *Int J Mol Sci.* (2020). doi: 10.3390/ijms21217940.
- 78.** Bennett BT, Mohamed JS, Alway SE. The effects of calcium- β -hydroxy- β -methylbutyrate on aging-associated apoptotic signaling and muscle mass and function in unloaded but nonatrophied extensor digitorum longus muscles of aged rats. *Oxid Med Cell Longev.* (2020). doi: 10.1155/2020/3938672.
- 79.** Jakubowski JS, Nunes EA, Teixeira FJ et al: Supplementation with the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (hmb) does not improve resistance exercise-induced changes in body composition or strength in young subjects: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* (2020). doi: 10.3390/nu12051523.
- 80.** Gran P, Cameron-Smith D. The actions of exogenous leucine on mTOR signalling and amino acid transporters in human myotubes. *BMC physiology.*2011 – Published online 10.1186/1472-6793-11-10.
- 81.** Liu H, Liu R, Xiong Y et al. Leucine facilitates the insulin-stimulated glucose uptake and insulin signaling in skeletal muscle cells: involving mTORC1 and mTORC2. *Amino Acids.* 2014, 1971-1979.
- 82.** Deldique L, Sanchez-Canedo C, Horman S et al: Antagonistic effects of leucine and glutamine on the mTOR pathway in myogenic C2C12 cells. *Amino Acids.* 147-155, 2008.
- 83.** Atherton PJ, Smith K, Etheridge T et al: Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells. *Amino Acids.* 2010, 1533-1539.
- 84.** Meijer A, Baquet A, Gustafson L et al. Mechanism of activation of liver glycogen synthase by swelling. *J. Biol. Chem.* 5823–5828, 1992.
- 85.** Vary T C, Jefferson S, Kimball SR: Amino acid-induced stimulation of translation initiation in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 1077-1086, 1999.
- 86.** Bolster DR, Vary TC, Kimball SR, Jefferson LS. Leucine regulates translation initiation in rat skeletal muscle via enhanced eIF4G phosphorylation. *J Nutr.* 1704-1710, 2004.
- 87.** Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR et al: Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation. *J. Nutr.* 2000, 139-145.
- 88.** Proud C. mTOR-mediated regulation of translation factors by amino acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2004, 429–436.
- 89.** Stipanuk MH: Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. *Nutr. Rev.* 122129, 2007.
- 90.** Peyrollier K, Hajdich E, Blair AS et al: L-leucine availability regulates phosphatidylinositol 3-kinase, p70 S6 kinase and glycogen synthase kinase-3 activity in L6 muscle cells: evidence for the involvement of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway in the L-leucine-induced up-regulation of system A amino acid transport. *Biochem J.* 361-368, 2000.
- 91.** Guo CY, Yu MX, Dai JM et al: Roles of mitogen-activating protein kinase kinase kinase-3 (MAP4k3) in preterm skeletal muscle satellite cell myogenesis and mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) activation regulation. *Med Sci Monit.* 3562-3570. 2017.
- 92.** Antunes D, Chowdhury A, Aich A et al. Overexpression of branched-chain amino acid aminotransferases rescues the growth defects of cells lacking the Barth syndrome-related gene TAZ1. *J Mol Med* (2019). doi: 10.1007/s00109-018-1728-4.
- 93.** D'Antona G, Ragni M, Cardile A et al. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. *Cell Metab.* (2010). doi: 10.1016/j.cmet.2010.08.016.
- 94.** Tedesco L, Rossi F, Ragni M et al. A special amino-acid formula tailored to boosting cell respiration prevents mitochondrial dysfunction and oxidative stress caused by doxorubicin in mouse cardiomyocytes. *Nutrients.* (2020). doi: 10.3390/nu12020282.
- 95.** Duan Y, Li F, Liu H et al. Nutritional and regulatory roles of leucine in muscle growth and fat reduction. *Front Biosci* :796-813, 2015.
- 96.** Duan Y, Li F, Li Y et al. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino Acids.* 41-51, 2016.
- 97.** Kamei Y, Hatazawa Y, Uchitomi R et al: S. Regulation of skeletal muscle function by amino acids. *Nutrients.* (2020) doi: 10.3390/nu12010261.
- 98.** Zhang Y, Guo K, LeBlanc RE et al: Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. *Diabetes.*1647-1654, 2007.
- 99.** Valerio A, D'Antona G, Nisoli E. Branched-chain amino acids, mitochondrial biogenesis, and healthspan: an evolutionary perspective. *Aging.* 464-478, 2011.
- 100.** Binder E, Bermúdez-Silva FJ, André C et al:

- Leucine supplementation protects from insulin resistance by regulating adiposity levels. (2013). doi.org/10.1371/journal.pone.0074705
- 101.** Liu R, Li H, Fan W et al. Leucine supplementation differently modulates branched-chain amino acid catabolism, mitochondrial function and metabolic profiles at the different stage of insulin resistance in rats on high-fat diet. *Nutrients*. (2017). doi: 10.3390/nu9060565.
- 102.** Bloomgarden Z. Diabetes and branched-chain amino acids: What is the link? *J Diabetes*. (2018). doi: 10.1111/1753-0407.12645.
- 103.** Zhang L, Li F, Guo Q et al: Leucine supplementation: a novel strategy for modulating lipid metabolism and energy homeostasis. *Nutrients*. (2020). doi: 10.3390/nu1205129
- 104.** Ye Z, Wang S, Zhang C, Zhao Y. Coordinated modulation of energy metabolism and inflammation by branched-chain amino acids and fatty acids. *Front Endocrinol*. 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.00617.
- 105.** Valerio T. Mitochondrial biogenesis: pharmacological approaches. *Curr Pharm Des*. (2014). doi: 10.2174/13816128203514091114211.
- 106.** Stancliffe RA: Role of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (hmb) in leucine stimulation of mitochondrial biogenesis and fatty acid oxidation. Masters Theses University of Tennessee, 2012.
- 107.** Liang C, Curry BJ, Brown PL, Zemel MB. Leucine Modulates Mitochondrial Biogenesis and SIRT1-AMPK Signaling in C2C12 Myotubes. *J Nutr Metab*. (2014). doi: 10.1155/2014/239750.
- 108.** Sergi D, Naumovski N, Heilbronn LK et al. Mitochondrial (dys)function and insulin resistance: from pathophysiological molecular mechanisms to the impact of diet. *Front Physiol*. (2019).doi: 10.3389/fphys.2019.00532.
- 109.** Yu SB, Pekkurnaz G. Mechanisms orchestrating mitochondrial dynamics for energy homeostasis. *J Mol Biol*. 3922-3941, 2018.
- 110.** Tubbs E, Chanon S, Robert M et al. Disruption of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (mam) integrity contributes to muscle insulin resistance in mice and humans. *Diabetes*. 636-650, 2018.
- 111.** Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C. et al. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 204–224, 2020.
- 112.** Baker M J, Frazier A E, Gulbis J M, Ryan M T. Mitochondrial proteinimport machinery: Correlating structure with function. *Trends in Cell Biology* , 456-464, 2007.
- 113.** Wenz LS, Opaliński L, Wiedemann L, Becker T. Cooperation of protein machineries in mitochondrial protein sorting. *Molecular Cell Research* 11191129, 2015.
- 114.** Sun X, Zemel MB. Leucine modulation of mitochondrial mass and oxygen consumption in skeletal muscle cells and adipocytes. *Nutr Metab* (2009). doi.org/10.1186/1743-7075-6-26.
- 115.** Craig DM, Ashcroft SP, Belew MY et al. Utilizing small nutrient compounds as enhancers of exercise-induced mitochondrial biogenesis. *Front Physiol*. 2015 doi: 10.3389/fphys.2015.00296.
- 116.** Skinner DM. The effect of leucine supplementation on mitochondrial biogenesis and mitochondrial protein synthesis in rats fed a high-fat diet. Honors Theses. University of Arkansas, 2015.
- 117.** Almeida AP, Fortes FS, Silveira BKS et al. (2020). Branched-Chain amino acids intake is negatively related to body adiposity in individuals at cardiometabolic risk. *Revista de Nutrição*,doi.org/10.1590/16789865202033e190208.
- 118.** Myers MJ, Shepherd DL, Durr AJ et al. The role of SIRT1 in skeletal muscle function and repair of older mice. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*.929-949, 2019.
- 119.** Dam G, Aamann L, Vistруп H, Gluud LL. The role of Branched Chain Amino Acids in the treatment of hepatic Encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*:448-451, 2018.
- 120.** Muting D, Wortmann V. Amino acid metabolism in liver diseases. *Dtsch Med Wochenschr*. 1853–1856,1956;
- 121.** Fischer J.E., Rosen H.M., Ebeid A.M. The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man. *Surgery*. 77–91,1976.
- 122.** Román E, Torrades MT, Nadal MJ et al. Randomized pilot study: effects of an exercise programme and leucine supplementation in patients with cirrhosis. *Digestive Diseases and Sciences*. 1966-1975, 2014.
- 123.** Gluud L, Dam G, Les I et al: Branched-chain amino acids for people with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 18;5:CD001939
- 124.** Yang YJ, Kim DJ. An overview of the molecular mechanisms contributing to musculoskeletal disorders in chronic liver disease: osteoporosis, sarcopenia, and osteoporotic sarcopenia. *International Journal of Molecular Sciences*. (2021). DOI: 10.3390/ijms22052604
- 125.** Holecek M, Kandar R, Sispera L, Kovarik M. Acute

- hyperammonemia activates branched-chain amino acid catabolism and decreases their extracellular concentrations: different sensitivity of red and white muscle. *Amino Acids*. 575–584, 2011.
- 126.** Tedesco L, Corsetti G, Ruocco C et al. A specific amino acid formula prevents alcoholic liver disease in rodents. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. (2018). doi: 10.1152/ajpgi.00231.2017.
- 127.** Wei X, Luo L, Chen J. Roles of mTOR signaling in tissue regeneration. *Cells*. (2019). doi:10.3390/cells8091075
- 128.** Jefferson LS, Korner A: A direct effect of growth hormone on the incorporation of precursors into proteins and nucleic acids of perfused rat liver. *Biochem. J.* 1967, 826-832.
- 129.** Krause U, Bertrand L, Maisin L et al: Signalling pathways and combinatory effects of insulin and amino acids in isolated rat hepatocytes. *Eur J Biochem*. 2002, 3742-3750.
- 130.** Dennis MD, Baum JI, Kimball SR, Jefferson LS: Mechanisms involved in the coordinate regulation of mTORC1 by insulin and amino acids. *J Biol Chem*. 2011, 8287-8296.
- 131.** Prins ML. Glucose metabolism in pediatric traumatic brain injury. *Childs Nerv Syst*. 2017, 1711-1718.
- 132.** Bowman CE, Scafidi J, Scafidi S. Metabolic perturbations after pediatric TBI: It's not just about glucose. *Exp Neurol*, 2019, 74-84.
- 133.** Bernini A, Masoodi M, Solari D et al. Modulation of cerebral ketone metabolism following traumatic brain injury in humans. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2020, 177-186.
- 134.** Hewton KG, Johal AS, Parker SJ. Transporters at the Interface between cytosolic and mitochondrial amino acid metabolism. *Metabolites*. (2021) doi:10.3390/metabo11020112.
- 135.** Rogero MM, Tirapegui J. Current aspects of branched chain amino acid and exercise. *Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas*, 563-575, 2008.
- 136.** Sperringer JE, Addington A, Hutson SM. Branched-chain amino acids and brain metabolism. *Neurochem*. 2017, 1697–1709.
- 137.** Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol*. 2018, 745-754.
- 138.** Niklison-Chirou MV, Agostini M, Amelio I, Melino G. Regulation of adult neurogenesis in mammalian brain. *Int J Mol Sci*. (2020). doi: 10.3390/ijms21144869.
- 139.** Aquilani R, Iadarola P, Contardi A et al. Branched-chain amino acids enhance the cognitive recovery of patients with severe traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1729-1735, 2005.
- 140.** Sharma B, Lawrence DW, Hutchison MG. Branched chain amino acids (bcaas) and traumatic brain injury: a systematic review. *J Head Trauma Rehabil*. 33-45, 2018.
- 141.** Bowman CE, Scafidi J, Scafidi S. Metabolic perturbations after pediatric TBI: It's not just about glucose. *Experimental Neurology*, 74-84, 2019.
- 142.** Jeter CB, Hergenroeder GW, Ward NH et al. Human mild traumatic brain injury decreases circulating branched-chain amino acids and their metabolite levels. *J Neurotrauma*. 671-629, 2013.
- 143.** Vespa P, Bergneider M, Hattori N et al. Metabolic crisis without brain ischemia is common after traumatic brain injury: a combined microdialysis and positron emission tomography study. *J Cereb Blood Flow Metab*. 763–774, 2005.
- 144.** Carre E, Ogier M, Boret H et al. Metabolic crisis in severely head-injured patients: is ischemia just the tip of the iceberg? *Front Neurol*. (2013). doi: 10.3389/fneur.2013.00146.
- 145.** Agostini M, Romeo F, Inoue S et al. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation. *Cell Death Differ*, 1502–1514, 2016.
- 146.** Koppel SJ, Swerdlow RH. Neuroketotherapeutics: A modern review of a century-old therapy. *Neurochem Int*. 114-125, 2018.
- 147.** Maffezzini C, Calvo-Garrido J, Wredenberg A, Freyer C. Metabolic regulation of neurodifferentiation in the adult brain. *Cell Mol Life Sci*. 2020, 2483-2496.
- 148.** Guzmán M, Blázquez C. Ketone body synthesis in the brain: possible neuroprotective effects. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 287-92, 2004.
- 149.** White H, Venkatesh B. Clinical review: Ketones and brain injury. *Crit Care* (2011). doi.org/10.1186/cc10020.
- 150.** Barber CN, Raben DM. Lipid metabolism crosstalk in the brain: glia and neurons. *Front Cell Neurosci*. (2019). doi:10.3389/fncel.2019.00212.
- 151.** Smith QR, Takasato Y, Sweeney DJ, Rapoport SI: Regional cerebrovascular transport of leucine as measured by the in situ brain perfusion technique, *J Cereb Blood Flow Metab*. 1985, 300-311.
- 152.** Smith QR, Momma S, Aoyagi M, Rapoport SI. Kinetics of neutral amino acid transport across the blood-brain barrier. *J. Neurochem*. 1987, 1651–165.

- 153.** Smith QR (1991). The blood-brain barrier and the regulation of amino acid uptake and availability to brain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 414–416, 1991
- 154.** Zaragoza R. Transport of amino acids across the blood-brain barrier. *Front Physiol.* (2020). doi:10.3389/fphys.2020.00973
- 155.** Martinez-Hernandez A, Bell KP, Norenberg MD. Glutamine synthetase: glial localization in brain. *Science.* 1977, 1356-1358.
- 156.** Yudkoff M. Brain metabolism of branched-chain amino acids. *Glia.* 1997, 92–98.
- 157.** Hutson SM, Lieth E, LaNoue KF. Function of leucine in excitatory neurotransmitter metabolism in the central nervous system. *J Nutr.* 2001, 846-850.
- 158.** Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I et al. Brain amino acid requirements and toxicity: the example of leucine. *J Nutr.* 1531-1538, 2005.
- 159.** Nissim I, States B, Yudkoff M, Segal S. Characterization of amino acid metabolism by cultured rat kidney cells: study with ¹⁵N. *Am J Physiol.* 1987, 1243-1252.
- 160.** Hausmann ON. Post-traumatic inflammation following spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2003, 369–378.
- 161.** Park E, Alexander A, Velumian AA, Fehlings MG: The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *Journal of Neurotrauma.* 754-774, 2004.
- 162.** Lewerenz J, Maher P. Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases—what is the evidence? *Front Cell Neurosci.* (2015). Doi 10.3389/fnins.2015.00469
- 163.** Kirdajova DB, Kriska J, Tureckova J, Anderova Ischemia-triggered glutamate excitotoxicity from the perspective of glial cells. *Front Cell Neurosci* (2020). doi.org/10.3389/fncel.2020.00051.
- 164.** Shambaugh GE 3rd, Koehler RA. Fetal fuels VI. Metabolism of alphaketoisocaproic acid in fetal rat brain. *Metabolism.* 421-427, 1983.
- 165.** Yudkoff M. Interactions in the metabolism of glutamate and the branched-chain amino acids and ketoacids in the CNS. *Neurochem Res.* 10-18, 2017.
- 166.** Yudkoff M, Daikhin Y, Nelson D et al: Neuronal metabolism of branched-chain amino acids: flux through the aminotransferase pathway in synaptosomes. *J Neurochem.* 2136–2145, 1996.
- 167.** Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci.* 208-215, 1999.
- 168.** Syková E. Extrasynaptic volume transmission and diffusion parameters of the extracellular space. *Neurosci* 861–876, 2004.
- 169.** Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci* , 626–640, 2005.
- 170.** Schafer DP, Lehrman EK, Stevens B. The "quad-partite" synapse: microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS. *Glia.* 24-36, 2013.
- 171.** Cabral A, Portela R, Tasso T e col: Doenças dos aminoácidos de cadeia ramificada. *Acta Med Port.* 659-665, 1998.
- 172.** Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Intervals. 5^a ed. Washington. AACC Press, 2005.
- 173.** Chuang DT, Chuang JL, Wynn RM. Lessons from genetic disorders of branched-chain amino acid metabolism. *J Nutr.* 243-249, 2006.
- 174.** Hoffmann B, Helbling C, Schadewaldt P et al. Impact of longitudinal plasma leucine levels on the intellectual outcome in patients with classic MSUD. *Pediatr Res* 17–20, 2006.
- 175.** Valadares ER. Leucinose: Doença do xarope de bordo. In: Martins AM, organizador. *Protocolo brasileiro de dietas: erros inatos do metabolismo.* São Paulo: Segmento Farma, 53-58, 2007.
- 176.** Zinnanti WJ, Lazovic J: Interrupting the mechanisms of brain injury in a model of maple syrup urine disease encephalopathy. *J Inherit Metab Dis.* 71-79, 2012.
- 177.** Manoli I, Venditti CP. Disorders of branched chain amino acid metabolism. *Transl Sci Rare Dis.* 91-110, 2016.
- 178.** Camandola S, Mattson MP. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J.* 1474-1492, 2017.
- 179.** Jensen NJ, Wodschow HZ, Nilsson M, Rungby J. Effects of ketone bodies on brain metabolism and function in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci.* (2020). doi: 10.3390/ijms21228767.
- 180.** Polis B, Samson AO. Role of the metabolism of branched-chain amino acids in the development of Alzheimer's disease and other metabolic disorders. *Neural Regen Res.* 1460-1470, 2020.
- 181.** Socha E, Kośliński P, Koba M et al. Serum amino acid profiles in patients with mild cognitive impairment and in patients with mild dementia or moderate dementia. *Amino Acids.* 97-109, 2021.
- 182.** Shang X, Hill E, Li Y, He M. Energy and macronutrient intakes at breakfast and cognitive declines in community-dwelling older adults: a 9-year follow-up cohort study. *Am J Clin Nutr.*

- (2021). doi: 10.1093/ajcn/nqaa403.
- 183.** Sato H, Takado Y, Toyoda S et al: Neurodegenerative processes accelerated by protein malnutrition and decelerated by essential amino acids in a tauopathy mouse model. (2021). Science Advances. doi/abs/10.1126/sciadv.abd5046
- 184.** Oddo S. The role of mTOR signaling in Alzheimer disease. *Front Biosci.* 941-952, 2012.
- 185.** Tramutola A, Triplett JC, Di Domenico F, Alteration of mTOR signaling occurs early in the progression of Alzheimer disease (AD): analysis of brain from subjects with pre-clinical AD, amnesic mild cognitive impairment and late-stage AD. *J Neurochem.* 739-749, 2015.
- 186.** Crino PB. The mTOR signalling cascade: paving new roads to cure neurological disease. *Nat Rev Neurol.* 379-392, 2016.
- 187.** Li H, Ye D, Xie W et al: Defect of branched-chain amino acid metabolism promotes the development of Alzheimer's disease by targeting the mTOR signaling. *Biosci Rep.* (2018). doi: 10.1042/BSR20180127.
- 188.** Norwitz NG, Querfurth H. mTOR mysteries: nuances and questions about the mechanistic target of rapamycin in neurodegeneration. *Front Neurosci.* (2020). doi: 10.3389/fnins.2020.00775
- 189.** Park KK, Liu K, Hu Y, et al. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *Science.* 963-966, 2008
- 190.** Liu K, Lu Y, Lee JK et al: PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons. *Nat Neurosci.* 1075-1081, 2010.
- 191.** Suzuki H, Yamashiro D, Ogawa S et al: Intake of seven essential amino acids improves cognitive function and psychological and social function in middle-aged and older adults: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Front Nutr.* (2020). doi: 10.3389/fnut.2020.586166.
- 192.** Tynkkynen J, Chouraki V, van der Lee SJ et al: Association of branched-chain amino acids and other circulating metabolites with risk of incident dementia and Alzheimer's disease: A prospective study in eight cohorts. *Alzheimers Dement.* (2018). doi: 10.1016/j.jalz.2018.01.003
- 193.** Fernando WMADB, Rainey-Smith SR, Gardener SL et al: Associations of dietary protein and fiber intake with brain and blood amyloid- β . *J Alzheimers Dis.* (2018) doi: 10.3233/JAD-170742.
- 194.** Hanger DP, Byers HL, Wray S, et al. Novel phosphorylation sites in tau from Alzheimer brain support a role for casein kinase 1 in disease pathogenesis. *J Biol Chem.* (2007). doi: 10.1074/jbc.M703269200.
- 195.** Croft CL, Kurbatskaya K, Hanger DP, Noble W. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by BTA-EG4 reduces tau abnormalities in an organotypic brain slice culture model of Alzheimer's disease. *Sci Rep.* (2017). doi: 10.1038/s41598017-07906-
- 196.** Yang L, Wang H, Liu L, Xie A. The role of insulin/IGF-1/PI3K/Akt/GSK3 β signaling in Parkinson's disease dementia. *Front Neurosci.* (2018). DOI=10.3389/fnins.2018.00073
- 197.** Xu F, NaL, Li Y. et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci* (2020). doi.org/10.1186/s13578-020-00416-0.
- 198.** Caccamo A, Magrì A, Medina DX et al. mTOR regulates tau phosphorylation and degradation: implications for Alzheimer's disease and other tauopathies. *Aging Cell.* 370-80, 2013.
- 199.** Kitagishi Y, Nakanishi A, Ogura Y, Matsuda S. Dietary regulation of PI3K/AKT/GSK-3 β pathway in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* (2014) doi: 10.1186/alzrt265
- 200.** Episcopo F, Drouin-Ouellet J, Tirolo C et al: GSK-3 β -induced Tau pathology drives hippocampal neuronal cell death in Huntington's disease: involvement of astrocyte-neuron interactions. *Cell Death Dis.* (2016). doi: 10.1038/cddis.2016.104.
- 201.** Duda P, Wiśniewski J, Wójtowicz T e col. Targeting GSK3 signaling as a potential therapy of neurodegenerative diseases and aging. *Expert Opin Ther Targets.* 833-848, 2018.
- 202.** Hosios AM, Hecht VC, Danai LV et al. Amino acids rather than glucose account for the majority of cell mass in proliferating mammalian cells. *Dev Cell.* 540-549, 2016.
- 203.** Brandhorst S, Longo VD. Fasting and caloric restriction in cancer prevention and treatment. *Recent Results Cancer Res.* 241-266, 2016.
- 204.** Ananieva EA, Wilkinson AC. Branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 64-70, 2018.
- 205.** Brandhorst S, Longo VD. Protein quantity and source, fasting-mimicking diets, and longevity. *Adv Nutr.* 340-350, 2019.
- 206.** Martin SB, Reiche WS, Fifelski NA et al: Leucine and branched-chain amino acid metabolism contribute to the growth of bone sarcomas by regulating AMPK and mTORC1 signaling. *Biochem J.* 1579-1599, 2020.
- 207.** Bröer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol Rev.* 249-

- 286, 2008.
- 208.** Taylor PM. Role of amino acid transporters in amino acid sensing. *Am J Clin Nutr.* 223-230, 2014.
- 209.** Bröer S, Fairweather SJ. Amino Acid Transport Across the Mammalian Intestine. *Compr Physiol,* 343-373, 2018.
- 210.** Nicklin P, Bergman P, Zhang B. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell.* 2009 521-534, 2009.
- 211.** Palm W, Park Y, Wright K et al. The utilization of extracellular proteins as nutrients is suppressed by mTORC1. *Cell.* 259-270, 2015.
- 212.** 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.* 173-182, 2014.
- 213.** Bhutia YD, Babu E, Ramachandran S, Ganapathy V. Amino acid transporters in cancer and their relevance to "glutamine addiction": novel targets for the design of a new class of anticancer drugs. *Cancer Res.* 1782-1788, 2015.
- 214.** Cormerais Y, Vučetić M, Parks SK, Pouyssegur J. Amino acid transporters are a vital focal point in the control of mTORC1 signaling and cancer. *Int J Mol Sci.* (2020). doi:10.3390/ijms22010023.
- 215.** Errasti-Murugarren E, Palacín M. Heteromeric Amino Acid Transporters in Brain: from Physiology to Pathology. *Neurochem Res* (2021) doi: 10.1007/s11064-021-03261-w.
- 216.** Wang Q, Holst J. The L-type amino acid transporter family serves as an important route for EAA entry into cells and consists of four members (LAT1-4). L-type amino acid transport and cancer: targeting the mTORC1 pathway to inhibit neoplasia. *J Cancer Res.* 1281-94, 2015.
- 217.** Bhutia YD, Ganapathy V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2531-2539, 2016.
- 218.** Lukey MJ, Katt WP, Cerione RA. Targeting amino acid metabolism for cancer therapy. *Drug Discov Today.* 796-804, 2017.
- 219.** Zhang J, Xu Y, Li D et al. Review of the correlation of LAT1 with diseases: mechanism and treatment. *Front Chem.* (2020) doi:10.3389/fchem.2020.564809.
- 220.** Jewell JL, Kim YC, Russell RC et al. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science.* 194-198, 2015.
- 221.** Drummond MJ, Glynn EL, Fry CS et al: An increase in essential amino acid availability upregulates amino acid transporter expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1011-1018, 2010.
- 222.** Hayashi K, Jutabha P, Endou H et al. LAT1 is a critical transporter of essential amino acids for immune reactions in activated human T cells. *J Immunol.* (2013). doi: 10.4049/jimmunol.1300923
- 223.** Salisbury TB, Arthur S. The regulation and function of the L-type amino acid transporter 1 (LAT1) in cancer. *Int J Mol Sci.* (2018). doi: 10.3390/ijms19082373
- 224.** Tărlungeanu DC, Deliu E, Dotter CP et al. Impaired amino acid transport at the blood brain barrier is a cause of autism spectrum disorder. *Cell.* 1481-1494, 2016.
- 225.** Suzuki A, Iwata J. Amino acid metabolism and autophagy in skeletal development and homeostasis. *Bone.* (2021). doi: 10.1016/j.bone.2021.
- 226.** Ozaki K, Yamada T, Horie T et al. The L-type amino acid transporter LAT1 inhibits osteoclastogenesis and maintains bone homeostasis through the mTORC1 pathway. *Sci Signal.* (2019). doi:10.1126/scisignal.aaw3921.
- 227.** Wang Q, Tiffen J, Bailey CG et al: Targeting amino acid transport in metastatic castration-resistant prostate cancer: effects on cell cycle, cell growth, and tumor development. *Journal of the National Cancer Institute.* 9-21, 2013.
- 228.** Marshall AD, van Geldermalsen M, Otte N J et al: LAT1 is a putative therapeutic target in endometrioid endometrial carcinoma. *Int. J. Cancer,* 2529- 2539, 2016.
- 229.** Cormerais Y, Pagnuzzi-Boncompagni M, Schrötter S et al: Inhibition of the amino-acid transporter LAT1 demonstrates anti-neoplastic activity in medulloblastoma. *J Cell Mol Med.* 2711-2718, 2019.
- 230.** Häfliger P, Charles RP. The L-Type Amino Acid Transporter LAT1-An emerging target in cancer. *Int J Mol Sci.* (2019). doi:10.3390/ijms20102428.
- 231.** Sato K, Miyamoto M, Takano M et al: Significant relationship between the LAT1 expression pattern and chemoresistance in ovarian clear cell carcinoma. *Virchows Arch* 701-710, 2019.
- 232.** Kaira K, Kawashima O, Endoh H et al. Expression of amino acid transporter (LAT1 and 4F2hc) in pulmonary pleomorphic carcinoma. *Hum. Pathol.* 2142-149, 2019.
- 233.** Lu JJ, Li P, Yang Y et al: Prognostic value of LAT-1 status in solid cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* (2020). doi: 10.1371/journal.pone.0233629.

234. Sinclair LV, Rolf J, Emslie E et al: Control of amino-acid transport by antigen receptors coordinates the metabolic reprogramming essential for T cell differentiation. *Nat Immunol.* 2013, 500-508.
235. Ananieva EA, Patel CH, Drake CH et al. Cytosolic branched chain aminotransferase (BCATc) regulates mTORC1 signaling and glycolytic metabolism in CD4+ T cells. *J Biol Chem.* 18793-18804, 2014.
236. Wang Q, Holst J. L-type amino acid transport and cancer: targeting the mTORC1 pathway to inhibit neoplasia. *J Cancer Res.* 1281-1294, 2015.
237. Ananieva EA, Powell JD, Hutson SM. Leucine metabolism in T cell activation: mTOR signaling and beyond. *Adv Nutr.* 798-805, 2016.
238. Häfliger P, Charles RP. The L-type amino acid transporter LAT1: An emerging target in cancer. (2019). *Int J Mol Sci.* doi: 10.3390/ijms20102428.
239. Danay Cibrian D, Castillo-Gonzalez R, Fernandez-Gallego N et al: Targeting L-type amino acid transporter 1 in innate and adaptive T cells efficiently controls skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* (2020) doi.org/10.1016/j.jaci.2019.09.025
240. Puris E, Gynther M, Auriola S. et al. L-Type amino acid transporter 1 as a target for drug delivery. *Pharm Res* (2020). <https://doi.org/10.1007/s11095-02002826-8>.
241. Hayashi K, Kaminuma O, Nishimura T et al: LAT1-specific inhibitor is effective against T cell-mediated allergic skin inflammation. *Allergy.* 463–467, 2020.
242. Kaminuma O, Nishimura T, Saeki M et al: (2020). L-type amino acid transporter 1 (LAT1) specific inhibitor is effective against T cell-mediated nasal hyperresponsiveness. *Allergology International.* DOI: 69. 10.1016/j.alit.2019.12.006.
243. Ito D, Miura K, Saeki M et al: L-type amino acid transporter 1 inhibitor suppresses murine Th2 cell-mediated bronchial hyperresponsiveness independently of eosinophil accumulation. *Asia Pac Allergy.* (2021). doi: 10.5415/apallergy.2021.11.e33
244. Hayashi K, Anza N: L-type amino acid transporter 1 as a target for inflammatory disease and cancer immunotherapy, *Journal of Pharmacological Sciences*, 2021,1347-8613.
245. Yoshida S, Pacitto R, Inoki K, Swanson J. Macropinocytosis, mTORC1 and cellular growth control. *Cell Mol Life Sci.* 1227-1239, 2018.
246. Hoeller O, Bolourani P, Clark J, et al. Two distinct functions for PI3kinases in macropinocytosis. *J Cell Sci.* 4296-4307, 2013.
247. Kay RR, Williams TD, Paschke P. Amplification of PIP3 signalling by macropinocytic cups. *Biochem J.* 643-648. 2018.
248. Salloum G, Jakubik CT, Erami Z et al: PI3K β is selectively required for growth factor-stimulated macropinocytosis. *Journal of Cell Science* (2019). doi: 10.1242/jcs.231639
249. Swanson JA, Watts C Macropinocytosis. *Trends Cell Biol.* 424-428,1995.
250. Swanson JA. Shaping cups into phagosomes and macropinosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 639-649, 2008.
251. Yoshida S, Hoppe AD, Araki N, Swanson JA. Sequential signaling in plasma-membrane domains during macropinosome formation in macrophages. *J Cell Sci.* 3250-3561, 2009.
252. Comisso C, Davidson SM, Soydaner-Azeloglu RG et al. Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells. (2013) *Nature.* doi: 10.1038/nature12138.
253. Palm W, Park Y, Wright K et al: The utilization of extracellular proteins as nutrients is suppressed by mTORC1. *Cell* , 259–270, 2015.
254. Palm W. Metabolic functions of macropinocytosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* (2019). doi: 10.1098/rstb.2018.0285.
255. Shaojuan S, Yanan Z, Tingting D et al: The dual role of macropinocytosis in cancers: promoting growth and inducing methuosis to participate in anticancer therapies as targets (2021). *Frontiers in Oncology.* doi. 10.3389/fonc.2020.570108.
256. Shibutani S, Okazaki H, Iwata H. Dynamin-dependent amino acid endocytosis activates mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1). *J Biol Chem.* 18052-18061, 2017.
257. Swanson JA, Yirinec B, Burke E et al. Effect of alterations in the size of the vacuolar compartment on pinocytosis in J774.2 macrophages. *J. Cell. Physiol.* 195–201, 1986.
258. Swanson JA, Burke E, Silverstein SC. Tubular lysosomes accompany stimulated pinocytosis in macrophages. *J. Cell Biol.* 1217–1222, 1987.
259. Swanson JA, Yoshida S. Macropinosomes as units of signal transduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* (2019). doi:10.1098/rstb.2018.015.
260. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI3K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature.* 424–430, 2006.
261. Yoshida S, Pacitto R, Yao Y et al: Growth factor signaling to mTORC1 by amino acid-laden macropinosomes. *J Cell Biol.* 159-172, 2015.
262. Lewis WH. Pinocytosis. *Johns Hopkins Hosp Bull,*

- 17–26, 1931.
- 263.** Bridges D, Fisher K, Zolov SN et al: Rab5 proteins regulate activation and localization of target of rapamycin complex 1. *J. Biol. Chem.* 20913–20921, 2012.
- 264.** Nagano M, Toshima JY, Siekhaus DE et al. Rab5-mediated endosome formation is regulated at the trans-Golgi network. *Commun Biol* (2019). Doi. 10.1038/s42003-019-0670-5.
- 265.** Tang W, Tam JH, Seah C et al: Arf6 controls beta-amyloid production by regulating macropinocytosis of the amyloid precursor protein to lysosomes. (2015). *Mol Brain*. doi: 10.1186/s13041-015-0129-7.
- 266.** Zeineddine R, Yerbury JJ. The role of macropinocytosis in the propagation of protein aggregation associated with neurodegenerative diseases. (2015). *Front Physiol*. doi: 10.3389/fphys.2015.00277.
- 267.** Kabayama H, Nakamura T, Takeuchi M et al: Ca²⁺ induces macropinocytosis via F-actin depolymerization during growth cone collapse. (2009) *Mol. Cell Neurosci.* doi: 10.1016/j.mcn.2008.08.009.
- 268.** Fitzner D, Schnaars M, van Rossum D et al. Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *J Cell Sci.* 2011:447458, 2011.
- 269.** Lin XP, Mintern JD, Gleeson PA. Macropinocytosis in different cell types: similarities and differences. *Membranes* (Basel). (2020) doi:10.3390/membranes10080177.
- 270.** Petrova V, Nieuwenhuis B, Fawcett JW, Eva R. Axonal organelles as molecular platforms for axon growth and regeneration after injury. *Int J Mol Sci.* (2021). doi: 10.3390/ijms22041798.
- 271.** DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E et al. Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 19345-19350, 2007.
- 272.** Filipp FV, Ratnikov B, De Ingeniis J, et al: Glutamine-fueled mitochondrial metabolism is decoupled from glycolysis in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 732-739, 2012.
- 273.** Sun H, Chen L, Cao S et al: Warburg effects in cancer and normal proliferating cells: two tales of the same name. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 273-286, 2019.
- 274.** Birkeland ES, Koch LM, Dechant R. Another consequence of the warburg effect? metabolic regulation of Na⁺/H⁺ exchangers may link aerobic glycolysis to cell growth. *Front Oncol.* (2020). doi: 10.3389/fonc.2020.01561.
- 275.** DeBerardinis RJ, Chandel NS. We need to talk about the Warburg effect. *Nat Metab.* 127–129, 2020.
- 276.** Lieu EL, Nguyen T, Rhyne S, Kim J. Amino acids in cancer. *Exp Mol Med.* 15-30, 2020.
- 277.** Keenan MM, Chi JT. Alternative fuels for cancer cells. *Cancer J.* 49-55, 2015.
- 278.** Sivanand S, Vander Heiden MG. Emerging roles for branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Cancer Cell.* 147-156, 2020.
- 279.** Ananieva EA, Wilkinson AC. Branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 64-70, 2018.
- 280.** Peng H, Wang Y, Luo W. Multifaceted role of branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Oncogene.* 6747-6756, 2020.
- 281.** Wei Z, Liu X, Cheng C, Yu W, Yi P. Metabolism of amino acids in cancer. *Front Cell Dev Biol.* (2021) doi: 10.3389/fcell.2020.603837.
- 282.** Hattori A, Tsunoda M, Konuma T et al: Cancer progression by reprogrammed BCAA metabolism in myeloid leukaemia. *Nature.* 500-504, 2017.
- 283.** Charpentier JC, Chen D, Lapinski PE et al: Macropinocytosis drives T cell growth by sustaining the activation of mTORC1. *Nat Commun.* (2020). doi: 10.1038/s41467-019-13997-3.
- 284.** Zheng YH, Hu WJ, Chen BC et al: BCAT1, a key prognostic predictor of hepatocellular carcinoma, promotes cell proliferation and induces chemoresistance to cisplatin. *Liver Int,* 1836-1847, 2016.
- 285.** Song Y, Zhao B, Xu Y et al: Prognostic significance of branched-chain amino acid transferase 1 and CD133 in triple-negative breast cancer. *BMC Cancer.* (2020). doi: 10.1186/s12885-020-07070-2
- 286.** Luo L, Sun W, Zhu W et al: BCAT1 decreases the sensitivity of cancer cells to cisplatin by regulating mTOR-mediated autophagy via branched-chain amino acid metabolism. *Cell Death Dis.* (2021) doi: 10.1038/s41419-021-03456-7.
- 287.** Zhang L, Han J. Branched-chain amino acid transaminase 1 (BCAT1) promotes the growth of breast cancer cells through improving mTOR-mediated mitochondrial biogenesis and function. *Biochem Biophys Res Commun.* 224-231, 2017.
- 288.** Tabe Y, Lorenzi PL, Konopleva M. Amino acid metabolism in hematologic malignancies and the era of targeted therapy. *Blood.* 1014-1023, 2019.
- 289.** Manning BD, Cantley LC. Rheb fills a gap between TSC and TOR. *Trends Biochem Sci.* 573–576,

- 2003.
- 290.** Wullschleger S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, 471-484, 2006.
- 291.** Avruch J, Long X, Ortiz-Vega S et al: Amino acid regulation of TOR complex 1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2009). doi: 10.1152/ajpendo.90645.2008.
- 292.** Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1329-1342, 2012.
- 293.** Dibble CC, Manning BD: Signal integration by mTORC1 coordinates nutrient input with biosynthetic output. *Nat Cell Biol*, 555-564, 2013.
- 294.** Dunlop EA, Tee AR. mTOR and autophagy: a dynamic relationship governed by nutrients and energy. *Semin. Cell Dev. Biol.* 121-129, 2014.
- 295.** Ben-Sahra I, Manning BD. mTORC1 signaling and the metabolic control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol.* 72-82, 2017.
- 296.** Blenis J. TOR, the gateway to cellular metabolism, cell growth, and disease. *Cell.* 10-13, 2017.
- 297.** Kim J, Guan KL. mTOR as a central hub of nutrient signalling and cell growth. *Nat Cell Biol.* 63-71, 2019.
- 298.** Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 183-203, 2020.
- 299.** Thoreen CC, Chantranupong L, Keys HR et al: A unifying model for mTORC1-mediated regulation of mRNA translation. *Nature.* 109-113, 2012.
- 300.** Jewell JL, Russell RC, Guan KL. Amino acid signalling upstream of mTOR. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 133-139, 2013.
- 301.** Chantranupong L, Wolfson RL, Sabatini DM. Nutrient-sensing mechanisms across evolution. *Cell.* 67-83, 2015.
- 302.** Tan VP, Miyamoto, S. Nutrient-sensing mTORC1: integration of metabolic and autophagic signals. *J. Mol. Cell Cardiol.* 31-41, 2016.
- 303.** Li XZ, Yan XH. Sensors for the mTORC1 pathway regulated by amino acids. *J Zhejiang Univ Sci B.* 699-712, 2019.
- 304.** Szwed A, Kim E, Jacinto E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol Rev.* 1371-1426, 2021.
- 305.** Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD et al. Rag GTPases bind RAPTOR and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science.* 1496-1501, 2008.
- 306.** Li SC, Kane PM. The yeast lysosome-like vacuole: endpoint and crossroads. *Biochim. Biophys. Acta.* 650-663, 2009.
- 307.** Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R et al: Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell.* 290-303, 2010.
- 308.** Efeyan A, Zoncu R, Sabatini DM. Amino acids and mTORC1: from lysosomes to disease. *Trends Mol Med.* 524-533, 2012.
- 309.** Groenewoud MJ, Zwartkruis FJ. Rheb and Rags come together at the lysosome to activate mTORC1. *Biochem Soc Trans.* 951-955, 2013.
- 310.** Zhu M, Wang X, Regulation of mTORC1 by small GTPases in response to nutrients, *J Nutr.* 1004-1011, 2020.
- 311.** Bar-Peled L, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends Cell Biol.* 400-406, 2014.
- 312.** Dibble CC, Cantley LC. Regulation of mTORC1 by PI3K signaling. *Trends Cell Biol.* 545-555, 2015.
- 313.** Abraham RT. Making sense of amino acid sensing. *Science.* 128-129, 2015.
- 314.** Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell.* 960-976, 2017.
- 315.** Zhuang Y, Wang XX, He J et al: Recent advances in understanding of amino acid signaling to mTORC1 activation. *Front Biosci.* 971-982, 2019.
- 316.** Meng D, Yang Q, Wang H, et al. Glutamine and asparagine activate mTORC1 independently of Rag GTPases. *J Biol Chem.* 2890-2899, 2020.
- 317.** Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 274-293, 2012.
- 318.** Zheng L, Zhang W, Zhou Y et al (2016). Recent advances in understanding amino acid sensing mechanisms that regulate mTORC1. *Int J Mol Sci.* doi:10.3390/ijms17101636.
- 319.** Takahara T, Amemiya Y, Sugiyama R. et al. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: a variety of regulatory modes. *J Biomed Sci* (2020). doi.org/10.1186/s12929-020-00679-2.
- 320.** Nicklin P, Bergman P, Zhang B et al: Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell.* 521-34, 2009.
- 321.** Jewell JL, Kim YC, Russell RC, Yu FX. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science.* 194-198, 2015.
- 322.** Li XZ, Yan XH. Sensors for the mTORC1 pathway regulated by amino acids. *J Zhejiang Univ Sci B.* 699-712, 2019.
- 323.** Han JM, Jeong SJ, Park MC, et al. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell.* 410-424, 2012.
- 324.** Durán RV, Hall MN. Leucyl-tRNA synthetase: double duty in amino acid sensing. *Cell Res.* 1207-1209, 2012.
- 325.** Segev N, Hay N. Hijacking leucyl-tRNA synthetase

- for amino acid-dependent regulation of TORC1. *Mol Cell*. 4-6, 2012.
- 326.** Yoon MS, Son K, Arauz E et al. Leucyl-tRNA synthetase activates vps34 in amino acid-sensing mtorc1 signaling. *Cell Rep*. 1510-1517, 2016.
- 327.** Yu YC, Han JM, Kim S. Aminoacyl-tRNA synthetases and amino acid signaling. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* (2021). doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118889.
- 328.** Melick C, Jewell JL. Regulation of mTORC1 by upstream stimuli. *Genes* (2020). doi:10.3390/genes11090989.
- 329.** Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA et al. Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science*. 43-48, 2016.
- 330.** Chantranupong L, Wolfson RL, Orozco JM et al: The sestrins interact with GATOR2 to negatively regulate the amino-acid-sensing pathway upstream of mTORC1. *Cell Rep*. 1-8, 2014.
- 331.** Kimball SR, Gordon BS, Moyer JE et al. Leucine induced dephosphorylation of Sestrin2 promotes mTORC1 activation. *Cell. Signal*. 896–906, 2016
- 332.** Wolfson RL, Sabatini DM. The dawn of the age of amino acid sensors for the mTORC1 pathway. *Cell Metab*. 301-309, 2017.
- 333.** Wang S, Tsun ZY, Wolfson RL et al. Lysosomal amino acid transporter SLC38A9 signals arginine sufficiency to mTORC1. *Science*. 188-194, 2015.
- 334.** Chantranupong L, Scaria SM, Saxton RA et al. The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell* 165, 153–164, 2016.
- 335.** Ho A, Cho CS, Namkoong S et al. Biochemical basis of sestrin physiological activities. *Trends Biochem Sci*. 41, 621–632, 2016.
- 336.** Lee JH, Cho US, Karin M. Sestrin regulation of TORC1: is sestrin a leucine sensor? *Sci. Signal*. (2016). doi:10.1126/scisignal.aaf2885
- 337.** Gu X, Orozco JM, Saxton RA et al: SAMTOR is a S-adenosylmethionine sensor for the mTORC1 pathway. *Science*. 813–818, 2017.
- 338.** Gulati P, Gaspers LD, Dann SG et al: Amino acids activate mTOR complex 1 via Ca²⁺/CaM signaling to hVps34. *Cell Metab*. 456-65, 2008.
- 339.** Mercan F, Lee H, Kolli S, Bennett AM. Novel role for SHP-2 in nutrient-responsive control of S6 kinase 1 signaling. *Mol Cell Biol*. 293-306, 2013.
- 340.** Son SM, Park SJ, Lee H et al. Leucine signals to mTORC1 via its metabolite acetyl-coenzyme A. *Cell Metab*. 192-201, 2019.
- 341.** Weckhuysen S, Marsan E, Lambrecq V et al; Involvement of GATOR complex genes in familial focal epilepsies and focal cortical dysplasia. *Epilepsia*. 994-1003, 2006.
- 342.** Baldassari S, Licchetta L, Tinuper P, Bisulli F, Pippucci T. GATOR1 complex: the common genetic actor in focal epilepsies. *J Med Genet*. 503-510, 2016.
- 343.** Baldassari S, Picard F, Verbeek NE et al: The landscape of epilepsy-related GATOR1 variants. *Genet Med*.:398-408, 2019.
- 344.** Dawson RE, Nieto Guil AF, Robertson LJ et al. Functional screening of GATOR1 complex variants reveals a role for mTORC1 deregulation in FCD and focal epilepsy. *Neurobiol Dis*. (2020). doi: 10.1016/j.nbd.2019.104640.
- 345.** Iffland PH 2nd, Carson V, Bordey A, Crino PB. GATORopathies: The role of amino acid regulatory gene mutations in epilepsy and cortical malformations. *Epilepsia*. 2163-2173, 2019.
- 346.** Specchio N, Pepi C, De Palma L et al: Neuroimaging and genetic characteristics of malformation of cortical development due to mTOR pathway dysregulation: clues for the epileptogenic lesions and indications for epilepsy surgery. *Expert Rev Neurother*. 1333-1345, 2021.
- 347.** Lee WS, Baldassari S, Stephenson SEM et al: Cortical Dysplasia and the mTOR pathway: How the study of human brain tissue has led to insights into epileptogenesis. *Int J Mol Sci*. (2022) doi: 10.3390/ijms23031344.
- 348.** Griffith JL, Wong M. The mTOR pathway in treatment of epilepsy: a clinical update. *Future Neurol*. 49-58, 2018.
- 349.** Karalis V, Bateup HS. Current approaches and future directions for the treatment of mTORopathies. *Dev Neurosci*. 143-158, 2021.
- 350.** Moloney PB, Cavalleri GL, Delanty N. Epilepsy in the mTORopathies: opportunities for precision medicine. *Brain Commun*. (2021). doi: 10.1093/braincomms/fcab222.
- 351.** Nguyen LH, Bordey A. Convergent and divergent mechanisms of epileptogenesis in mTORopathies. *Front Neuroanat*. (2021) doi: 10.3389/fnana.2021.664695.
- 352.** Buerger C, DeVries B, Stambolic V. Localization of Rheb to the endomembrane is critical for its signaling function. *Biochem Biophys Res Commun*. 869-880, 2006.
- 353.** Dennis MD, Baum JI, Kimball SR, Jefferson LS. Mechanisms involved in the coordinate regulation of mTORC1 by insulin and amino acids. *J Biol Chem*. 8287-8296, 2011.
- 354.** Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 21-35, 2011.
- 355.** Hao F, Kondo K, Itoh T et al; Rheb localized on

- the Golgi membrane activates lysosome-localized mTORC1 at the Golgi-lysosome contact site. *J Cell Sci.* (2018). doi: 10.1242/jcs.208017.
- 356.** Angarola B, Ferguson SM. Coordination of Rheb lysosomal membrane interactions with mTORC1 activation. (2020) *Faculty Rev.* doi:10.12688/f1000research.22367.1
- 357.** Makhoul C, Gleeson PA. Regulation of mTORC1 activity by the Golgi apparatus. *Faculty Rev* (2021) DOI: 10.12703/r/10-50. PMID: 34195689; PMCID: PMC8204759.
- 358.** Demetriades C, Doumpas N, Teleman AA. Regulation of TORC1 in response to amino acid starvation via lysosomal recruitment of TSC2. *Cell*, 786799, 2014.
- 359.** Menon S, Dibble CC, Talbott G et al: Spatial control of the TSC complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. *Cell*. 771– 785, 2014.
- 360.** Demetriades C, Plescher M, Teleman AA. Lysosomal recruitment of TSC2 is a universal response to cellular stress. *Nat Commun.* (2016) doi:10.1038/ncomms10662.
- 361.** Carroll B, Maetzel D, Maddocks OD et al. Control of TSC2-Rheb signaling axis by arginine regulates mTORC1 activity. *Elife* (2016). doi:10.7554/eLife.11058
- 362.** Orlova KA, Crino PB. The tuberous sclerosis complex. *Ann NY Acad Sci.* 87-105, 2010.
- 363.** Wong M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition as a potential antiepileptogenic therapy: From tuberous sclerosis to common acquired epilepsies. *Epilepsia.* 27-36, 2010.
- 364.** Curatolo P, Moavero R, de Vries PJ. Neurological and neuropsychiatric aspects of tuberous sclerosis complex. *The Lancet. Neurology.* 2733-745, 2015.
- 365.** Leclézio L, de Vries PJ. Advances in the treatment of tuberous sclerosis complex. *Curr Opin Psychiatry.* 113-120, 2015.
- 366.** Specchio N, Pietrafusa N, Trivisano M et al. Autism and epilepsy in patients with tuberous sclerosis complex. *Frontiers in Neurology.* (2020). DOI: 10.3389/fneur.2020.00639.
- 367.** Wong M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) pathways in neurological diseases. *Biomed J.* 40-50, 2013.
- 368.** Liu J, Reeves C, Michalak Z et al. Evidence for mTOR pathway activation in a spectrum of epilepsy-associated pathologies. *Acta Neuropathol Commun.* (2014). doi: 10.1186/2051-5960-2-71.
- 369.** Zhong S, Zhao Z, Xie W et al: GABAergic interneuron and neurotransmission are mTOR-dependently disturbed in experimental focal cortical dysplasia. *Mol Neurobiol.* 156-169, 2021.
- 370.** Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell*, 9-22, 2007.
- 371.** Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 274–293, 2012.
- 372.** Krueger DA, Wilfong AA, Holland-Bouley K et al: Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol.* 679-687, 2013.
- 373.** Benjamin D, Hall MN. mTORC1: turning off is just as important as turning on. *Cell.* 627-628, 2014.
- 374.** Liu J, Reeves C, Michalak Z et al. Evidence for mTOR pathway activation in a spectrum of epilepsy-associated pathologies. *Acta Neuropathol Commun* (2014). doi: 10.1186/2051-5960-2-71.
- 375.** Crino PB. The mTOR signalling cascade: paving new roads to cure neurological disease. *Nat Rev Neurol.* 379-92, 2016.
- 376.** Blenis J. TOR, the gateway to cellular metabolism, cell growth, and disease. *Cell.* 10-13, 2017.
- 377.** Wang F, Chen F, Wang G et al. Rapamycin provides anti-epileptogenic effect in a rat model of post-traumatic epilepsy via deactivation of mTOR signaling pathway. *Exp Ther Med.* 4763-4770, 2018.
- 378.** Hillmann P, Fabbro D. PI3K/mTOR pathway inhibition: opportunities in oncology and rare genetic diseases. *Int J Mol Sci.* (2019) doi:10.3390/ijms20225792.
- 379.** Pópulo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR signalling pathway in human cancer. *Int J Mol Sci.* 1886-918, 2012.
- 380.** Hosios AM, Hecht VC, Danai LV et al: Amino acids rather than glucose account for the majority of cell mass in proliferating mammalian cells. *Dev Cell.* 540-549, 2016.
- 381.** Gao X, Zhang Y, Arrazola P et al. TSC tumour suppressor proteins antagonize amino-acid-TOR signalling. *Nat Cell Biol.* 699-704, 2002.
- 382.** Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med.* 128-35, 2002.
- 383.** Rupertus K, Dahlem C, Menger MD et al. Rapamycin inhibits hepatectomy-induced stimulation of metastatic tumor growth by reduction of angiogenesis, microvascular blood perfusion, and tumor cell proliferation. *Ann Surg Oncol.* 2629-2637, 2009.

- 384.** Álvarez-García O, García-Lopez E, Loredó V et al. Rapamycin induces growth retardation by disrupting angiogenesis in the growth plate. *Kidney International*, 561 – 568, 2010.
- 385.** Roy D, Sin SH, Lucas A et al. mTOR inhibitors block Kaposi sarcoma growth by inhibiting essential autocrine growth factors and tumor angiogenesis. *Cancer Res.* 2235-2246, 2013.
- 386.** Faes S, Demartines N, Dormond O. Mechanistic target of rapamycin inhibitors in renal cell carcinoma: potential, limitations, and perspectives. *Front Cell Dev Biol.* (2021) doi: 10.3389/fcell.2021.636037
- 387.** Witzig TE, Geyer SM, Ghobrial I et al. Phase II trial of single-agent temsirolimus (CCI-779) for relapsed mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 53475356, 2005.
- 388.** Hess G. Temsirolimus for the treatment of mantle cell lymphoma. *Expert Rev Hematol.* 631-40, 2009.
- 389.** Lee JS, Vo TT, Fruman DA. Targeting mTOR for the treatment of B cell malignancies. *Br J Clin Pharmacol.* 1213-1228, 2016.
- 390.** Hess G, Wagner K, Keller U, et al. Final results of a phase II/III trial of the combination bendamustine and rituximab with temsirolimus (bert) in relapsed mantle cell lymphoma and follicular lymphoma. *Hemasphere.* (2020) doi:10.1097/HS9.0000000000000398.
- 391.** Martelli AM, Evangelisti C, Chiarini F, McCubrey JA. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mTOR signaling network as a therapeutic target in acute myelogenous leukemia patients. *Oncotarget*, 89-103, 2010.
- 392.** Barrett D, Brown VI, Grupp SA, Teachey DT. Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling axis in children with hematologic malignancies. *Paediatr Drugs.* 299-316, 2012.
- 393.** Renner C, Zinzani P L, Gressin R et al: Swiss SAKK and French GOELAMS group from European Mantle Cell Lymphoma Network (2012). A multicenter phase II trial (SAKK 36/06) of single-agent everolimus (RAD001) in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *Haematologica* /doi.org/10.3324/haematol.2011.053173
- 394.** Ghosh J, Kapur R: Role of mTORC1–S6K1 signaling pathway in regulation of hematopoietic stem cell and acute myeloid leukemia. *Experimental Hematology* 13–21, 2017.
- 395.** Tabe Y, Tafuri A, Sekihara K et al. Inhibition of mTOR kinase as a therapeutic target for acute myeloid leukemia. *Expert Opin Ther Targets.* 705714, 2017.
- 396.** Feng Y, Chen X, Cassady K et al. The role of mTOR inhibitors in hematologic disease: from bench to bedside. *Front Oncol.* (2021) doi:10.3389/fonc.2020.611690.
- 397.** Mekki M, Bridson JM, Sharma A, Halawa A. mTOR inhibitors in kidney transplantation: A comprehensive review *J Kidney*, (2017) doi: 10.4172/24721220.1000146.
- 398.** Franz DN, Leonard J, Tudor C et al. Rapamycin causes regression of astrocytomas in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol.* 490–498, 2006.
- 399.** Li XY, Zhang LQ, Zhang XG et al. Association between AKT/mTOR signalling pathway and malignancy grade of human gliomas. *J Neurooncol.* 453458, 2011.
- 400.** Duzgun Z, Eroglu Z, Biray C. Role of mTOR in glioblastoma. *Gene.* 187190, 2016.
- 401.** Ryskalin L, Lazzeri G, Flaibani M et al: mTOR-Dependent cell proliferation in the brain. *Biomed Res Int.* (2017). doi: 10.1155/2017/7082696.
- 402.** Waetzig R, Matthes M, Leister J et al. Comparing mTOR inhibitor rapamycin with Torin-2 within the RIST molecular-targeted regimen in neuroblastoma cells. *Int J Med Sci.* 137-149, 2021.
- 403.** Lenzi P, Ferese R, Biagioni F et al: Rapamycin ameliorates defects in mitochondrial fission and mitophagy in glioblastoma cells. *Int J Mol Sci.* (2021) doi: 10.3390/ijms22105379.
- 404.** Mukhopadhyay S, Frias MA, Chatterjee A et al: the enigma of rapamycin dosage. *Mol Cancer Ther* 347–353, 2016.
- 405.** Xie J, Wang X, Proud CG. mTOR inhibitors in cancer therapy. (2016). doi:10.12688/f1000research.9207.1
- 406.** Alzahrani AS. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in cancer: At the bench and bedside. *Semin Cancer Biol.* 125-132, 2019.
- 407.** Hua H, Kong Q, Zhang H et al. Targeting mTOR for cancer therapy. *J Hematol Oncol* (2019). doi.org/10.1186/s13045-019-0754-1.
- 408.** Harsha C, Banik K, Ang HL et al: Targeting AKT/mTOR in oral cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Int J Mol Sci.* (2020) doi: 10.3390/ijms21093285
- 409.** Wang H, Liu Y, Ding J et al. Targeting mTOR suppressed colon cancer growth through 4EBP1/eIF4E/PUMA pathway. *Cancer Gene Ther.* 448–460, 2020.
- 410.** Bockaert J, Marin P. mTOR in brain physiology and pathologies. *Physiol Rev.* 1157-1187, 2015.
- 411.** Norwitz NG, Querfurth H. mTOR Mysteries:

- Nuances and questions about the mechanistic target of rapamycin in neurodegeneration. *Front Neurosci.* (2020). doi: 10.3389/fnins.2020.00775.
- 412.** Heras-Sandoval D, Pérez-Rojas JM, Pedraza-Chaverri J. Novel compounds for the modulation of mTOR and autophagy to treat neurodegenerative diseases. *Cell Signal.* (2020) doi: 10.1016/j.cellsig.2019.109442.
- 413.** Querfurth H, Lee HK. Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration. *Mol Neurodegener.* (2021) doi: 10.1186/s13024-021-00428-5.
- 414.** Ferri CP, Prince M, Brayne C et al: Alzheimer's disease international global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*, 2112-2117, 2005.
- 415.** Pei JJ, Hugon J. mTOR-dependent signalling in Alzheimer's disease. *J Cell Mol Med.* 2525-2532, 2008.
- 416.** Oddo S. The role of mTOR signaling in Alzheimer disease. *Front Biosci* , 941-952, 2012.
- 417.** Caccamo A, Magri A, Medina DX et al: mTOR regulates tau phosphorylation and degradation: implications for Alzheimer's disease and other tauopathies. *Aging Cell.* 370-380, 2013.
- 418.** Tramutola A, Triplett JC, Di Domenico F, Alteration of mTOR signaling occurs early in the progression of Alzheimer disease (AD): analysis of brain from subjects with pre-clinical AD, amnesic mild cognitive impairment and late-stage AD. *J Neurochem.* 739-49, 2015.
- 419.** Perluigi M, Di Domenico F, Butterfield DA. mTOR signaling in aging and neurodegeneration: At the crossroad between metabolism dysfunction and impairment of autophagy. *Neurobiol Dis.* 39-44, 2015.
- 420.** Perluigi M, Di Domenico F, Barone E, Butterfield DA. mTOR in Alzheimer disease and its earlier stages: Links to oxidative damage in the progression of this dementing disorder. *Free Radic Biol Med.* 169:382-396, 2021.
- 421.** Iyer AM, van Scheppingen J, Milenkovic I et al: mTOR Hyperactivation in Down syndrome hippocampus appears early during development. *J Neuropathol Exp Neurol.* 671-683, 2014.
- 422.** Perluigi M, Pupo G, Tramutola A et al: Neuropathological role of PI3K/Akt/mTOR axis in Down syndrome brain. *Biochim Biophys Acta.* 11441153, 2014.
- 423.** Di Domenico F, Tramutola A, Foppoli C et al: mTOR in Down syndrome: Role in A β and tau neuropathology and transition to Alzheimer disease-like dementia. *Free Radic Biol Med.* 94-101, 2018.
- 424.** Bordi M, Darji S, Sato Y et al. mTOR hyperactivation in Down syndrome underlies deficits in autophagy induction, autophagosome formation, and mitophagy. *Cell Death Dis* (2019). doi.org/10.1038/s41419-019-1752-5
- 425.** Martínez-Cué C, Rueda N. Signalling pathways implicated in Alzheimer's disease neurodegeneration in individuals with and without Down syndrome. *Int J Mol Sci.* (2020). doi: 10.3390/ijms21186906.
- 426.** Troca-Marín JA, Casañas JJ, Benito I, Montesinos ML. The Akt-mTOR pathway in Down's syndrome: the potential use of rapamycin/rapalogs for treating cognitive deficits. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 34-40, 2014.
- 427.** Urbano-Gómez JD, Casañas JJ, Benito I, Montesinos ML. Prenatal treatment with rapamycin restores enhanced hippocampal mGluR-LTD and mushroom spine size in a Down's syndrome mouse model. *Mol Brain.* (2021). doi: 10.1186/s13041-021-00795-6.
- 428.** Di Domenico F, Tramutola A, Barone E et al: Restoration of aberrant mTOR signaling by intranasal rapamycin reduces oxidative damage: Focus on HNE-modified proteins in a mouse model of Down syndrome. *Redox Biol.* (2019) doi: 10.1016/j.redox.2019.101162.
- 429.** Tramutola, A., Lanzillotta, C., Barone, E. et al. Intranasal rapamycin ameliorates Alzheimer-like cognitive decline in a mouse model of Down syndrome. *Transl Neurodegener* 7, 28 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40035018-0133-9>.
- 430.** Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, Wang S. mTOR: On target for novel therapeutic strategies in the nervous system. *Trends Mol. Med.* 51-60, 2013.
- 431.** Nagahama Y, Shimoda M, Mao G et al: Regnase-1 controls colon epithelial regeneration via regulation of mTOR and purine metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 11036-11041, 2018.
- 432.** Zhou JY, Huang DG, Qin YC et al: mTORC1 signaling activation increases intestinal stem cell activity and promotes epithelial cell proliferation. *J. Cell. Physiol.* 19028-19038, 2019.
- 433.** Wei X, Luo L, Chen J. Roles of mTOR signaling in tissue regeneration. *Cells* (2019). doi.org/10.3390/cells8091075.
- 434.** Lund-Ricard Y, Cormier P, Morales J, Boutet A. mTOR signaling at the crossroad between metazoan regeneration and human diseases. *Int J Mol Sci.* (2020). doi: 10.3390/ijms21082718.
- 435.** Qian J, Su S, Liu P. Experimental approaches in delineating mTOR signaling. *Genes* (2020). doi:

- 10.3390/genes11070738.
- 436.** Maiese K. Targeting the core of neurodegeneration: FoxO, mTOR and SIRT1. *Neural Regen Res.* 448-455, 2021.
- 437.** Lu F, Leach LL, Gross JM. mTOR activity is essential for retinal pigment epithelium regeneration in zebrafish. *PLoS Genet.* (2022). doi: 10.1371/journal.pgen.1009628.
- 438.** Hilton, BJ, Bradke, F. Can injured adult CNS axons regenerate by recapitulating development? *Development,* 3417–3429, 2017.
- 439.** Schelski M, Bradke F. Neuronal polarization: From spatiotemporal signaling to cytoskeletal dynamics. *Mol. Cell. Neurosci.* 11–28, 2017.
- 440.** Wang F, Chen F, Wang G et al. Rapamycin provides anti-epileptogenic effect in a rat model of post-traumatic epilepsy via deactivation of mTOR signaling pathway. *Exp Ther Med.* 2018;15(6):4763-4770. doi:10.3892/etm.2018.6004
- 441.** Petrova V, Nieuwenhuis B, Fawcett JW, Eva R. Axonal organelles as molecular platforms for axon growth and regeneration after Injury. *Int J Mol Sci.* (2021) doi.org/10.3390/ijms22041798.
- 442.** Leibinger M, Andreadaki A, Fischer D. Role of mTOR in neuroprotection and axon regeneration after inflammatory stimulation. *Neurobiol Dis.* 314–324, 2012.
- 443.** Pouloupoulos A, Murphy AJ, Ozkan A. et al: Subcellular transcriptomes and proteomes of developing axon projections in the cerebral cortex. *Nature.* 356– 360, 2019.
- 444.** Chen CH, Sung CS, Huang SY et al: The role of the PI3K/Akt/mTOR pathway in glial scar formation following spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 27–41, 2016.
- 445.** Yang P, Wen H, Ou S et al: IL-6 promotes regeneration and functional recovery after cortical spinal tract injury by reactivating intrinsic growth program of neurons and enhancing synapse formation. *Exp. Neurol.* 19–27, 2012.
- 446.** Sivanand S, Heiden MG: Emerging roles for branched-chain amino acid metabolism in câncer. *Cancer Cell,* 147-156, 2020.
- 447.** Villa-González M, Martín-López G, Pérez-Álvarez MJ. Dysregulation of mTOR signaling after brain ischemia. *Int J Mol Sci.* (2022). doi: 10.3390/ijms23052814.