

YOSHINORI OHSUMI, LAS LEVADURAS Y LA AUTOFAGIA: EL REDESCUBRIMIENTO DE UN PROCESO CONOCIDO



Yoshinori Ohsumi, yeasts and autophagy: the rediscovery of a known process.

CRISTINA GUERRA GIRÁLDEZ ¹

RESUMEN

El Premio Nobel de Fisiología o Medicina de 2016 se otorgó por el descubrimiento de la cascada de elementos que participan en la autofagia y cómo el proceso se regula. El trabajo de Yoshinori Ohsumi ha permitido conocer una función celular conservada en todos los eucariotas, esencial para renovar materiales y enfrentar situaciones de estrés. La autofagia es central en el funcionamiento celular; de ella dependen su salud y enfermedad.

Palabras claves: Autofagia, célula, eucariota, fisiología.

ABSTRACT

The Nobel Prize for Physiology or Medicine of 2016 was awarded for the discovery of the cascade of elements involved in autophagy and how the process is regulated. Yoshinori Ohsumi's work has revealed a cellular function that is conserved among eukaryotes and is essential for the renovation of material and to cope with stress situations. Autophagy is central for the cell; cellular health and disease depend on it.

Keywords: Autophagy, cell, eukaryote, physiology.



En los cursos de la Facultad de Ciencias y Filosofía se habla de autofagia cuando se presenta a los lisosomas, en el primer año. Antes de esto, para muchos estudiantes estas organelas de interior ácido y cargadas de enzimas líticas son los “basureros de la célula”, a los que llega todo lo que debe destruirse, los desechos, sean ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos o lípidos. Más adelante, en el curso de biología celular, el proceso se revisa en su propio capítulo, compartido con el tema de degradación de proteínas por el proteasoma (descrito entre los años 1970 y 1980 y motivo

¹ Ph.D. Profesora asociada, Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri,

LID 115: Laboratorio de Neurocisticercosis, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

del Premio Nobel de Química del 2004). Así, se aprende que mediante ambos mecanismos, las células economizan y renuevan materiales para favorecer su desarrollo o soportar condiciones de estrés o inanición; y, además evitan problemas al eliminar elementos peligrosos o inútiles. El proteasoma actúa a nivel de moléculas (proteínas) y los autofagosomas se encargan de reducir organelas y complejos subcelulares enteros a sus unidades básicas, aprovechables nuevamente por la célula.

Yoshinori Ohsumi, biólogo celular de la Universidad de Tokyo, recibió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina del 2016 “por descubrir los mecanismos de la autofagia”.

Este proceso no es una novedad, se conoce desde hace más de medio siglo. El nombre de autofagia apareció en 1963 en un emocionante artículo de divulgación que Christian de Duve escribió para *Scientific American*.¹ Para ponernos en contexto, y entender la emoción, recordemos que la biología celular vivió un impulso notable al iniciarse los años 1940 gracias a la microscopía electrónica y al desarrollo de la centrifugación diferencial con la cual se separa a la célula en fracciones. Antes de eso, el interior de la célula era borroso e inalcanzable. Es fácil imaginar a los científicos de la época fascinados con estas posibilidades y dedicándose, literalmente como niños con juguetes nuevos, a explorar, por primera vez con gran detalle, la morfología y la bioquímica de las células.

En efecto, el siguiente par de décadas trajo “una avalancha de descubrimientos, redescubrimientos y redefiniciones sobre componentes subcelulares”.² De Duve descubrió los lisosomas en 1955 y en 1974 recibió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina, junto a Albert Claude y George Palade, por sus trabajos sobre la estructura y organización celular.³

En cuanto a la autofagia, de Duve, en una revisión de 1966 sobre las funciones que cumplen los lisosomas, cita varios reportes “recientes” que demuestran (“... *segregación en masa y digestión de porciones del propio citoplasma...*”; es decir, eventos en los cuales elementos celulares eran acorralados, aislados en vesículas o “vacuolas autofágicas” para ser lisados al ponerse en contacto con los lisosomas y su contenido).⁴ Los ejemplos citados eran observaciones en diferentes tejidos mamíferos, como el tradicional hígado de rata, pero también en anfibios, insectos e incluso organismos unicelulares como *Amoeba*, *Euglena* y *Tetrahymena*. Ya entonces, hace 50 años, la conservación de la autofagia en los eucariotes indicaba que era importante en la fisiología celular. En poco tiempo se determinó que el contenido de los lisosomas era transferido a vesículas recién ensambladas, bautizadas autofagosomas.⁵ Sin embargo, se mantuvo como misterio su mecanismo de formación y si el proceso sufría alguna regulación. Estos detalles no se conocieron hasta los trabajos de Ohsumi en levaduras.

Como profesor asociado de la Universidad de Tokyo, en 1988, Ohsumi eligió trabajar con el conocidísimo modelo de *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura más utilizada para estudiar procesos eucarióticos fundamentales. Primero, buscó los autofagosomas mediante el principio de la pérdida de función: utilizó mutantes sin varias proteinasas y peptidasas e indujo autofagia someténdolos a inanición, como ya era sabido. Las vacuolas de las levaduras se llenaron rápidamente de vesículas que contenían ribosomas, trozos de membrana, mitocondrias y gránulos lipídicos: igual que los autofagosomas descritos en los 1960s, las vesículas inducidas en los mutantes habían secuestrado material citosólico.

Pero, ya se contaba con herramientas de biología molecular y la deducción lógica era que si se conseguía inhibir la autofagia mediante mutaciones los genes responsables del proceso serían descubiertos. A través de cruces sistemáticos de cepas con genes interrumpidos, fueron surgiendo las respuestas para la “disección genética” de la autofagia. Los primeros reportes aparecieron tan pronto como 1992⁶ y 1993⁷; con ellos se empezó a describir, a nivel genético y bioquímico, un mecanismo en cascada, ordenado y controlado por genes que posteriormente se conocieron como genes *Atg* y que al momento son casi 40. A grandes rasgos, la autofagia consiste en la captura de material citosólico por el autofagosoma, la fusión del autofagosoma con un endosoma (precursor lisosomal) o lisosoma y la degradación por las enzimas lisosomales.

En el año 2009, el grupo de Ohsumi publicó una revisión sobre los trabajos en levaduras⁸, pero ya antes el mismo laboratorio había identificado varios genes homólogos en mamíferos⁹⁻¹¹ y en colaboración con otro grupo hicieron lo mismo en plantas¹²; también en ellas la autofagia es un proceso conservado.¹³

El laboratorio de Ohsumi en el Instituto de Tecnología de Tokyo¹⁴ continúa muy productivo; ha generado ratones que expresan la proteína fluorescente verde¹⁵ y ratones knock-out para los genes *Atg*¹⁶ que se usan en todo el mundo para investigar la autofagia. La última década ha significado muchos desarrollos y crecimiento en la investigación de este nuevo campo, el cual tiene sus propias conferencias y una revista dedicada de alto impacto, *Autophagy*.

En todos los eucariotes, la autofagia es fundamental para degradar y reciclar material celular, actividades tan importantes como sintetizar y transportar estos mismos

materiales; los ejemplos en condiciones normales y de estrés son abundantes y variados, y no se trata simplemente de una manera de proveer de nutrientes a la célula. Solo en humanos, la autofagia es relevante en salud y enfermedad y se está considerando como blanco terapéutico, pues participa en desarrollo embrionario, inmunidad, envejecimiento, diabetes, miopatías, cáncer y neurodegeneración¹⁷⁻²¹ (la literatura de los últimos años es en verdad explosiva; solo se indican unas pocas revisiones recientes).

Casos particulares incluyen la mitofagia, o degradación selectiva de mitocondrias viejas o dañadas, potencialmente dañinas para las células²², y la pexofagia, que implica la renovación de peroxisomas.²³ Este último mecanismo se describió en levaduras, pero tiene un especial significado en parásitos unicelulares como *Trypanosoma* y *Leishmania*, cuyos peroxisomas modificados se conocen como glicosomas y, según su estadio de vida, se encargan de varias vías metabólicas fundamentales. La degradación selectiva de estas organelas, de acuerdo a las necesidades metabólicas, las convierte en una especie de “módulos de adaptación” estrechamente vinculados a la diferenciación.^{24,25}

Así, la autofagia es un mecanismo central que responde a señales muy finas sobre la situación de las células (por ejemplo, la disponibilidad de aminoácidos) y sus opciones de desarrollo y supervivencia; estas señales vinculan el funcionamiento de los lisosomas, aquellos mal llamados “basureros”, a eventos de proliferación, división y apoptosis.^{26,27}

Puede decirse que si la autofagia es efectiva, las células tendrán larga vida, mientras que si se desequilibra se aceleran el envejecimiento y deterioro celular. El descubrimiento premiado es inmenso; revela cómo funciona toda célula

eucariótica. Resulta increíble pensar en todo lo que el estudio de la archiconocida *Saccharomyces cerevisiae* nos sigue ofreciendo y lo que está por venir si se mantiene el entusiasmo por explorar, incluso “*mirando donde todos han mirado*”, como famosamente dijo otro Premio Nobel, Albert Szent-Györgyi.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Duve, C. The lysosome. *Sci Am.* 1963; 208, 64-72.
2. Palade, G. Intracellular aspects of the process of protein synthesis. *Science.* 1975;189, 867.
3. De Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R & Appelmans F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J.* 1955;60, 604-617.
4. De Duve C. & Wattiaux R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol.* 1966;28, 435-492.
5. Arstila AU & Trump BF. Studies on cellular autophagocytosis. The formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration. *Am J Pathol.* 1968;53, 687-733.
6. Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T & Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol.* 1992;119, 301-311.
7. Tsukada M & Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.* 1993;333,169-174.
8. Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y. & Ohsumi, Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10, 458-467.
9. Mizushima N et al. Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J Cell Biol.* 2001;152, 657-668.
10. Mizushima N, Sugita H, Yoshimori T & Ohsumi Y. A new protein conjugation system in human. The counterpart of the yeast Apg12p conjugation system essential for autophagy. *J Biol Chem.* 1998;273, 33889-92.
11. Kabeya Y et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosomal membranes after processing. *EMBO J.* 2000;19, 5720-28.
12. Hanaoka H et al. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiol.* 2002;129, 1181-93.
13. Yang X & Bassham DC. New Insight into the Mechanism and Function of Autophagy in Plant Cells. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2015;320, 1-40.
14. Ohsumi, Y. Ohsumi Lab. Tokyo Institute of Technology. Cell Biology Unit, Institute of Innovative Research (2016). URL disponible en: <http://www.ohsumilab.ari.titech.ac.jp/english.html>.
15. Mizushima, N., Yamamoto, A., Matsui, M., Yoshimori, T. & Ohsumi, Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell.* 2004; 15, 1101-11.
16. Kuma, A. & Mizushima, N. Physiological role of autophagy as an intracellular recycling system: with an emphasis on nutrient metabolism. *Semin Cell Dev Biol.* 2010; 21, 683-690.
17. Cordani, M., Butera, G., Pacchiana, R. & Donadelli, M. Molecular interplay between mutant p53 proteins and autophagy in cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2016; doi:10.1016/j.bbcan.2016.11.003
18. Arena, G. & Valente, E. M. PINK1 in the limelight: multiple functions of an eclectic protein in human health and disease. *J Pathol.* (2016). doi:10.1002/path.4815
19. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Demaria S, Formenti SC & Kroemer G. Activating autophagy to potentiate immunogenic chemotherapy and radiation therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* (2016). doi:10.1038/nrclinonc.2016.183
20. Wang B, Abraham N, Gao G & Yang Q. Dysregulation of autophagy and mitochondrial function in Parkinson's disease. *Transl Neurodegener.* 5, 19 (2016).
21. Yang J, Carra S, Zhu, WG & Kampinga HH. The regulation of the autophagic network and its implications for human disease. *Int J Biol Sci.* 2013; 9, 1121-1133.
22. Ding WX & Yin XM. Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol Chem.* 2012; 393, 547-564.
23. Bellu AR & Kiel JAKW. Selective degradation of peroxisomes in yeasts. *Microsc Res Tech.* 2003;61, 161-170.
24. Haanstra JR, Gonzalez-Marcano EB, Gualdron-Lopez M & Michels PAM. Biogenesis, maintenance and dynamics of glycosomes in trypanosomatid parasites. *Biochim. Biophys. Acta* 1863. 2016; 1038-1048.
25. Kiel JAKW. Autophagy in unicellular eukaryotes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2010; 365, 819-830.
26. Petiot A, Pattingre S, Arico S, Meley D & Codogno P. Diversity of signaling controls of macroautophagy in mammalian cells. *Cell Struct Funct.* 2002; 27, 431-441.
27. Pezze PD et al. A systems study reveals concurrent activation of AMPK and mTOR by amino acids. *Nat Commun.* 2016;7, 13254.

CORRESPONDENCIA:

Dra. Cristina Guerra Giráldez
e-mail: cristina.guerra@upch.pe