

SEMBLANZAS DE LOS PREMIOS NOBEL 2016

EN FISIOLÓGIA O MEDICINA

Yoshinori Ohsumi ha ganado el premio Nobel de Medicina o Fisiología de 2016. Este biólogo japonés, de 71 años, ha sido galardonado por el Instituto Karolinska de Suecia por sus descubrimientos sobre la autofagia celular, un proceso fundamental para degradar y reciclar los componentes de las células.

AUTOFAGIA Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA ¿PUEDEN NUESTRAS CÉLULAS COMERSE A SÍ MISMAS?

El concepto de la autofagia (término derivado del griego que significa «auto-alimentación») surgió en la década de los sesenta, cuando se descubrió que la célula tenía la capacidad de destruir sus propios contenidos tras encerrarlos en unas vesículas con doble membrana. Literalmente, la autofagia significa “comerse a sí mismo” y se trata de un proceso de degradación intracelular que permite el reciclaje de componentes celulares para mantener el equilibrio celular (homeostasis). Se trata por lo tanto, de un proceso beneficioso para la célula, sin embargo, un mecanismo de autofagia deficiente puede ser también causante de distintas enfermedades.

La célula se encarga de destruir proteínas y otras sustancias mediante el proceso de autofagia en su citoplasma. Las vesículas autofágicas son transportadas a unos compartimientos de reciclaje, denominados lisosomas. Los lisosomas son vesículas membranosas con enzimas hidrolíticas que permiten la digestión intracelular de macromoléculas. Estos orgánulos se localizan en el citosol de células eucarióticas animales, se forman a partir del retículo endoplásmico rugoso (RER) y posteriormente, son empaquetados en el aparato de Golgi (AG). En un principio se pensó que los lisosomas serían iguales en todas las células, pero se descubrió que tanto sus dimensiones como su contenido son muy variables. La mayoría de los lisosomas contienen enzimas hidrolasas ácidas. Las enzimas son proteínas específicas que actúan como

biocatalizadores biológicos, es decir, catalizan reacciones químicas en los seres vivos, aumentando la velocidad de reacción y al mismo tiempo, disminuyendo la energía de activación necesaria para que tengan lugar las reacciones químicas en la célula. En concreto, las enzimas hidrolíticas de los lisosomas se encargan de degradar proteínas (proteasas), ésteres de sulfato (sulfatasas), lípidos (lipasas y fosfolipasas) o fosfatos de moléculas orgánicas (fosfatasas). Sin embargo, no todas estas enzimas están presentes en todos los lisosomas, la más común es la fosfatasa ácida. Además, en el interior del lisosoma se mantiene un pH ácido (pH 5) que es el pH óptimo para mantener la funcionalidad de las enzimas que contiene. Por otro lado, la membrana de los lisosomas es impermeable a las enzimas y resistente a la acción de éstas. Sin embargo, existen algunos procesos patológicos, como la artritis reumatoide, que causan la destrucción de las membranas lisosomales, con la consecuente liberación de las enzimas y la lisis celular. En otros casos, la liberación de las hidrolasas cumple un papel fisiológico, permitiendo la reabsorción de estructuras que ya no son útiles, por ejemplo la cola de los renacuajos durante la metamorfosis.

La digestión que tiene lugar en los lisosomas puede tratarse de una heterofagia (hidrólisis de sustancias de origen exógeno) o de una autofagia (degradación de componentes celulares), y da como resultado moléculas más sencillas que atraviesan la membrana lisosomal y son absorbidas por el citosol para su posterior asimilación.

Se pueden diferenciar dos tipos de lisosomas: **lisosomas primarios** y **secundarios**. Los lisosomas primarios se denominan así cuando aún no se ha encontrado con ninguna vesícula autofágica. Las enzimas hidrolíticas de los lisosomas primarios se ponen en contacto con sus sustratos cuando los lisosomas primarios se fusionan con otras vesículas. El producto de la fusión es un *lisosoma secundario* o *autofagosoma* (Figura 1). Realmente, la digestión de moléculas orgánicas se lleva a cabo en los lisosomas secundarios, ya que son éstos los que contienen a la vez los sustratos y las enzimas capaces de degradarlos.

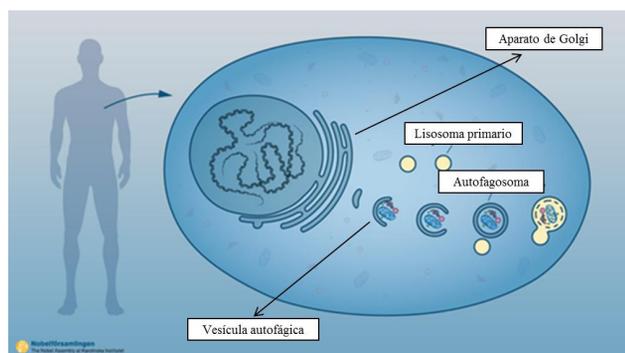


Figura 1. Esquema que representa el proceso de autofagia. Los lisosomas constituyen uno de los compartimentos especializados de nuestras células y contienen enzimas para la digestión intracelular. Las vesículas autofágicas, en cuyo interior pueden encontrarse diferentes contenidos de la propia célula, se fusionan con los lisosomas primarios dando lugar a un tipo de lisosoma secundario denominado autofagosoma que permite la degradación de su contenido en constituyentes más pequeños. Este proceso proporciona a la célula nutrientes y elementos básicos para su renovación. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

Las enzimas lisosomales son capaces de digerir partículas grandes como por ejemplo bacterias y también otras sustancias que entran en la célula. En ocasiones, los productos de la digestión son tan pequeños que pueden pasar la membrana del lisosoma volviendo al citosol donde son reciclados. Por otro lado, los lisosomas también utilizan sus enzimas para reciclar los diferentes orgánulos de la célula, englobándolos, digiriéndolos y liberando sus componentes en el citosol. De esta forma el interior celular se está reponiendo continuamente. Este el proceso denominado autofagia. Lo que queda del lisosoma secundario después de la absorción es un cuerpo residual. Los cuerpos residuales contienen desechos no digeribles que en algunos casos se exocitan y en otros no, acumulándose en el citosol a medida que la célula envejece.

El proceso de autofagia adquirió una gran importancia hace una década, en la investigación de los procesos de muerte celular y, debido a sus características, se la clasificó como Muerte Celular Programada tipo II, ya que las células entran en procesos de autofagia generalizada en puntos cruciales del desarrollo o deterioro del individuo. La célula dispara autofagia inicialmente como mecanismo de supervivencia, en un intento de luchar contra situaciones adversas, como por ejemplo, la falta de nutrientes o el exceso de radicales libres que pueden ocasionar *estrés oxidativo* (oxidación de diversas estructuras biológicas), importante causa del envejecimiento o el cáncer. Sin embargo, si a pesar de todo, la célula no

consigue disminuir los marcadores adversos, la autofagia se continúa hasta provocar la muerte y desaparición de la célula sin inducir inflamación, este es el proceso que realmente se define como Muerte Celular Programada tipo II. El estrés oxidativo y los procesos autofágicos coexisten en diversas situaciones patológicas que varían desde procesos infecciosos hasta el envejecimiento pero actualmente aún no se ha podido discriminar si el disparo de estos procesos de supervivencia/muerte celular programada son una causa o una consecuencia del estrés oxidativo que aparece en dichas situaciones.

Debido a las dificultades en su estudio, poco se sabía sobre todo este fenómeno hasta que a principios de 1990, Yoshinori Ohsumi consiguió identificar los genes esenciales implicados en el proceso de autofagia mediante el desarrollo de una serie de brillantes experimentos con un microorganismo: la levadura del pan. Posteriormente, resolvió los mecanismos responsables de la autofagia en la levadura y demostró que en nuestras células tenía lugar un proceso complejo muy similar.



Yoshinori Ohsumi (Fukuoka, Japón, 1945), doctor por la Universidad de Tokio en 1974. Después de pasar tres años en la Universidad Rockefeller de Nueva York, regresó a la Universidad de Tokio, donde estableció su grupo de investigación en 1988. Desde 2009 hasta la actualidad es profesor del Instituto Tecnológico de Tokio.

EXPERIMENTOS INNOVADORES DESARROLLADOS CON CÉLULAS DE LEVADURA

Yoshinori Ohsumi formó su propio grupo de investigación en 1988 y centró su trabajo en el estudio de la degradación de proteínas en las vacuolas de levaduras, orgánulos que se corresponden con los lisosomas en las células humanas. Las células de levadura son ampliamente utilizadas en laboratorio como modelo biológico de estudio de células humanas puesto que, son células fácilmente cultivables y con un rápido crecimiento. A pesar de que las bacterias constituyen un buen sistema para la expresión de genes heterólogos, las levaduras presentan algunas ventajas, entre ellas: las levaduras son capaces de llevar a cabo modificaciones post-traduccionales, como la acetilación de extremos amino terminales, y el procesamiento proteolítico, indispensables para que el producto posea actividad biológica, mientras que las bacterias carecen de estos procesos de modificación post-traduccionales, además, las proteínas heterólogas secretadas por cepas de levadura y por lo tanto son fácilmente recuperables del medio de cultivo. Por todo ello, las células de levadura resultan especialmente útiles en el laboratorio para la identificación de genes implicados en vías celulares complejas.

Sin embargo, cuando el actual ganador del premio Nobel de medicina comenzó a trabajar con estos microorganismos se encontró con la desventaja de que al ser muy pequeños, sus estructuras internas no eran fácilmente observables al microscopio y debía asegurarse que el proceso de autofagia existía en ellos. Ohsumi pensó que si podía interrumpir el proceso de degradación en la vacuola mientras el proceso de autofagia estaba acti-

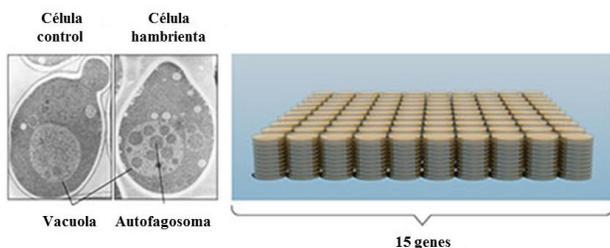


Figura 2. Imagen Izquierda: aspecto al microscopio de las células de levadura empleadas como control. La vacuola en las células de levadura se corresponde con el lisosoma en células de mamífero. Ohsumi generó levaduras mutadas carentes de enzimas de degradación vacuolar y al privarlas de alimento, los autofagosomas se acumularon rápidamente en la vacuola (imagen central: células de levadura hambrientas). Su experimento demostró que la autofagia existe en la levadura. A continuación, Ohsumi estudió miles de mutantes de levadura (imagen derecha) e identificó quince genes que son esenciales para la autofagia. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

vo, los autofagosomas debían acumularse dentro de la vacuola y hacerse visibles bajo el microscopio. Basándose en esta hipótesis, expuso las células de levadura a una sustancia química que introdujo aleatoriamente mutaciones en muchos de sus genes y comenzó a cultivar levaduras mutadas carentes de enzimas de degradación vacuolar, simultáneamente, empezó a estimular la autofagia de esas células manteniéndolas sin alimento y causándoles por lo tanto, un estrés por falta de nutrientes. Encontró unos resultados sorprendentes: en unas pocas horas, las vacuolas estaban llenas de pequeñas vesículas que no habían sido degradadas (Figura 2). Las vesículas resultaron ser autofagosomas y el experimento de Ohsumi sirvió para demostrar que la autofagia existe en las células de levadura. A partir de ese momento contaba con un método para identificar y caracterizar genes clave involucrados en el proceso de autofagia. Este fue un gran avance y Ohsumi publicó los resultados en 1992.

Una vez había caracterizado los genes implicados en la autofagia, el investigador japonés comenzó a caracterizar funcionalmente las proteínas codificadas por estos y sus resultados demostraron que la autofagia está controlada por una cascada de proteínas y complejos de proteínas, cada una de las cuales regula una etapa distinta de iniciación y formación de autofagosomas (Figura 3).

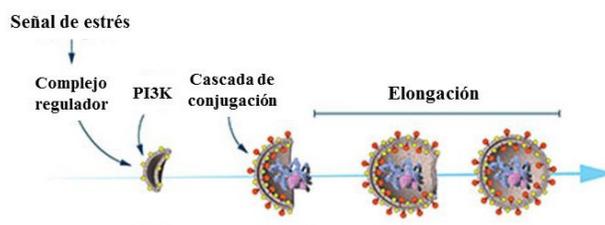


Figura 3. Yoshinori Ohsumi caracterizó las proteínas codificadas por los genes implicados en el proceso de autofagia y descubrió el mecanismo mediante el cual las proteínas y los complejos proteínicos promueven las distintas fases de la formación de los autofagosomas. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

Yoshinori Ohsumi, del Instituto de Tecnología de Tokio, ha revelado los mecanismos celulares de la autofagia, un proceso fundamental para degradar y reciclar los componentes de las células. Sus descubrimientos han sido indispensables para entender cómo las células renuevan su contenido. Además, han permitido comprender el papel fundamental que desempeña la autofagia en numerosos procesos fisiológicos, como la adaptación al hambre o la respuesta a las infecciones. Las mutaciones en los genes implicados en la autofagia pueden causar

enfermedades, realmente, el proceso en sí, está involucrado en enfermedades como el cáncer y las enfermedades neurológicas. Por otro lado, la autofagia puede proporcionar rápidamente energía y moléculas para la renovación de los componentes celulares, y por lo tanto es esencial para la respuesta celular a la inanición y otros tipos de estrés. Además, después de una infección, la autofagia puede eliminar las bacterias intracelulares y los virus invasores. Este proceso también contribuye al desarrollo embrionario y a la diferenciación celular. Las células emplean también la autofagia para eliminar las proteínas y orgánulos dañados, constituyendo de este modo un sistema de control de calidad crítico para contrarrestar las consecuencias negativas del envejecimiento.

Los innovadores resultados de la experimentación de Yoshinori Ohsumi, quien por sus descubrimientos ha sido merecedor del Premio Nobel de Fisiología o Medicina de 2016, han permitido poner de relevancia la gran importancia de la autofagia.

REFERENCIAS

- [1] Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y (1992). Autophagy in yeast demonstrated with protease-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol* 119, 301–311.
- [2] Tsukada M, Ohsumi Y (1993). Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 333, 169–174.
- [3] Funakoshi T, Matsuura A, Noda T, Ohsumi Y (1997). Analyses of *APG13* gene involved in autophagy in yeast, 6 *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 192, 207–213.
- [4] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T (2000). LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 19, 5720–5728.
- [5] Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA Jr., Emr SD, Sakia J, Sandoval IV, Sibirnya YA, Subramani S, Thumm M, Veenhuis M, Ohsumi Y (2003). A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 5, 539–545.
- [6] Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhiya T, Mizushima N (2004). The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 432, 1032–1036.
- [7] Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y (2004). *In vivo* analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell* 15, 1101–1111.
- [8] Ohsumi Y (2014). Historical landmarks of autophagy research. *Cell Res* 24, 9–23.
- [9] El Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2016 en Nobelprize.org: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2016/press.html.

Raquel Martín Folgar

Dpto. de Física Matemática y de Fluidos