

La macroautofagia y la endocitosis son dos procesos catabólicos conservados evolutivamente en los que, mediante un tráfico vesicular, se degrada el material secuestrado, cuyo origen es intra- y extracelular, respectivamente. Ambos procesos comienzan de manera diferente: mediante la formación de un nuevo orgánulo, el autofagosoma, que secuestra material citoplásmico (macroautofagia), o mediante la internalización de material extracelular y de algunos componentes de la membrana plasmática a través de vesículas endocíticas (endocitosis). Sin embargo, los dos terminan en el mismo compartimiento: el lisosoma.

En un análisis proteómico de membranas lisosomales, purificadas a partir de fibroblastos de ratón, identificamos tres proteínas, que se unen a fosfolípidos de una manera dependiente de calcio, y cuyos niveles en la membrana lisosomal aumentaban en ausencia de aminoácidos, una condición que activa la macroautofagia. Basándonos en esos resultados iniciales, y teniendo en cuenta que el calcio es un segundo mensajero muy importante, decidimos: en primer lugar, abordar el papel del calcio en la activación de la autofagia producida por el ayuno de aminoácidos, y, en segundo lugar, investigar el papel de esas tres proteínas en el mecanismo autofágico.

Como resultado de estos estudios, describimos en primer lugar una nueva vía de señalización dependiente de calcio que activa la formación de autofagosomas por los aminoácidos. Concretamente, hemos encontrado que el ayuno de aminoácidos esenciales produce un aumento en el calcio citosólico, procedente tanto del medio extracelular como de almacenes intracelulares. Como consecuencia de esto, la calmodulina quinasa quinasa- β activa a AMPK y a mTORC1. En la última etapa de esta vía, ULK1, una quinasa responsable de la iniciación de la autofagia, se activa para contribuir a la formación de los autofagosomas.

Las tres proteínas identificadas en el estudio proteómico y cuyos niveles en las membranas lisosomales aumentan en ausencia de

ABSTRACT

aminoácidos son la anexina A1, la anexina A5 y la copina 1. Empleando métodos bioquímicos y de inmunofluorescencia observamos que el ayuno de aminoácidos causa la translocación de la anexina A5 desde el complejo de Golgi hasta las membranas lisosomales, donde también se acumulan la anexina A1 y la copina 1. Asimismo, demostramos por sobre-expresión y silenciamiento de esas tres proteínas, que las tres inducen la fusión de autofagosomas con lisosomas y que la copina 1, y en menor medida la anexina A1, aumentan el efecto individual de la anexina A5. Finalmente, la anexina A5 inhibe la endocitosis mientras que copina 1 la induce.

En resumen, nuestros resultados ponen de manifiesto que la activación de la formación de autofagosomas por el ayuno de aminoácidos es debida, al menos en parte, a una vía de señalización dependiente de Ca^{2+} y que esta condición también conlleva la aceleración de la maduración de los autofagosomas a autolisosomas a través de proteínas que unen el Ca^{2+} como las anexinas A1 y A5 y la copina 1.