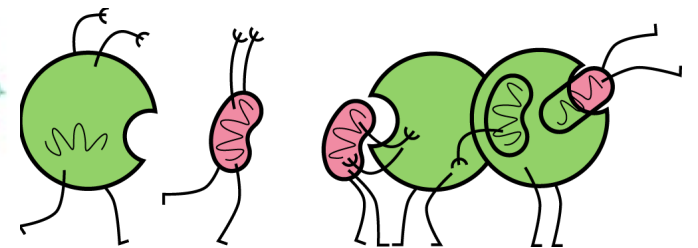
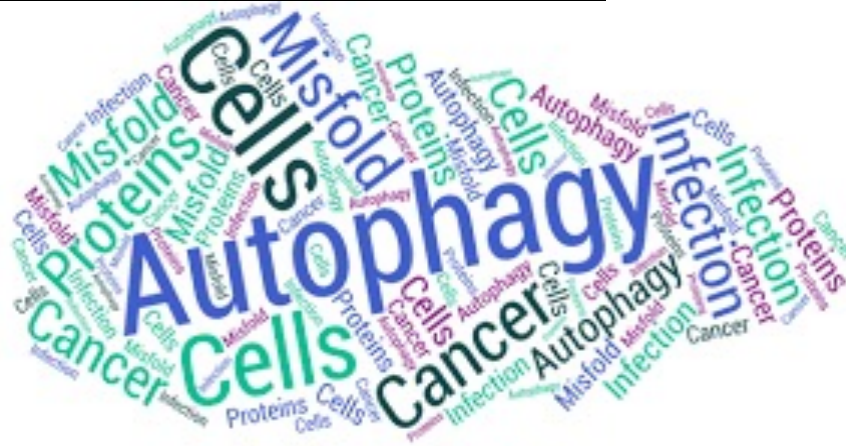
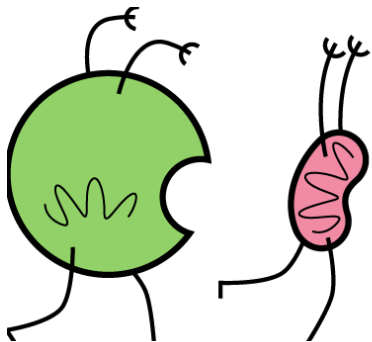


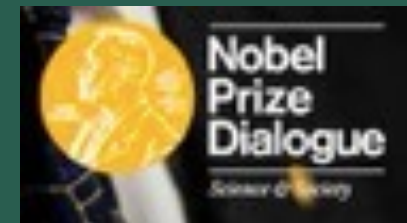
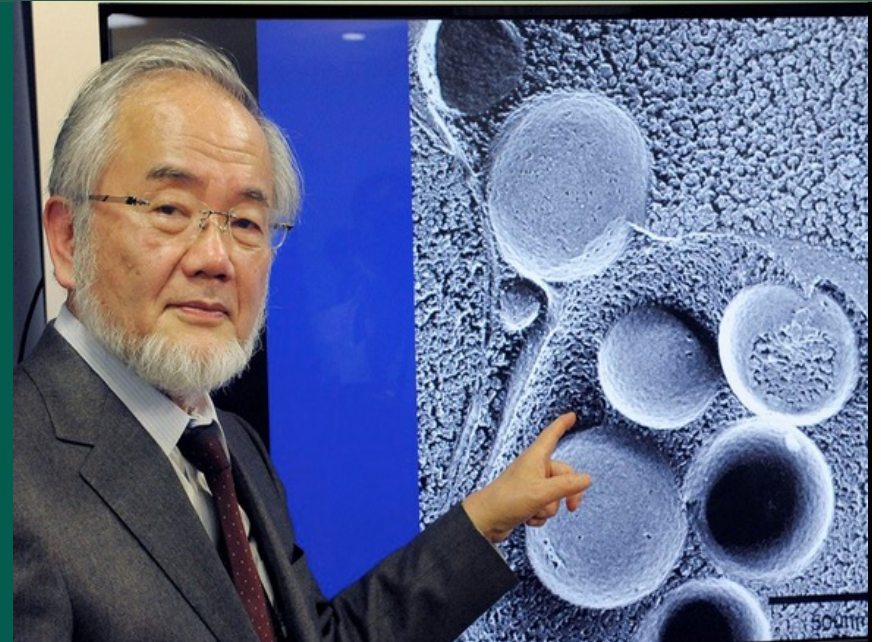
# Autofagia



Body's way to clean itself

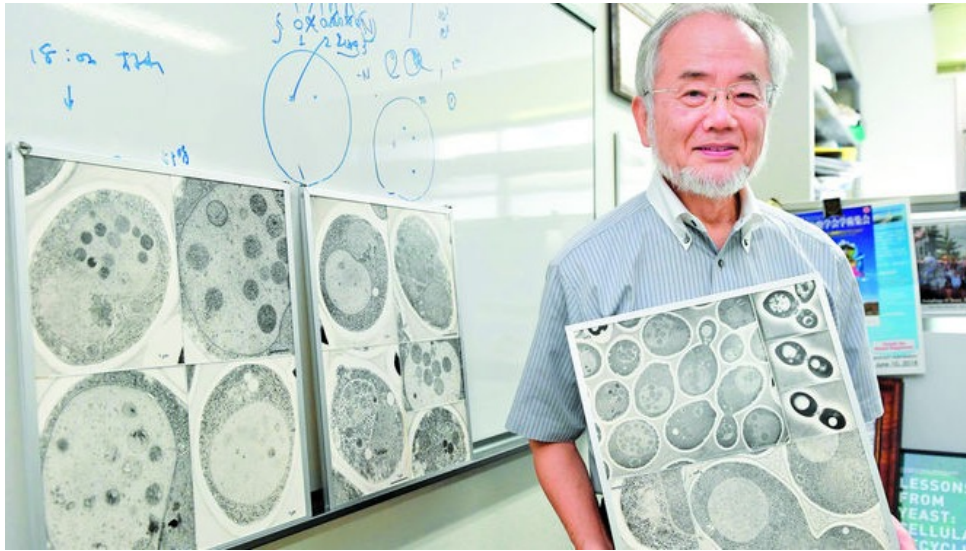
**“Life is an equilibrium state between synthesis and degradation of proteins.”**

Yoshinori Ohsumi, 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine



**” for his discoveries of mechanisms for autophagy”**

# Definizione di autofagia

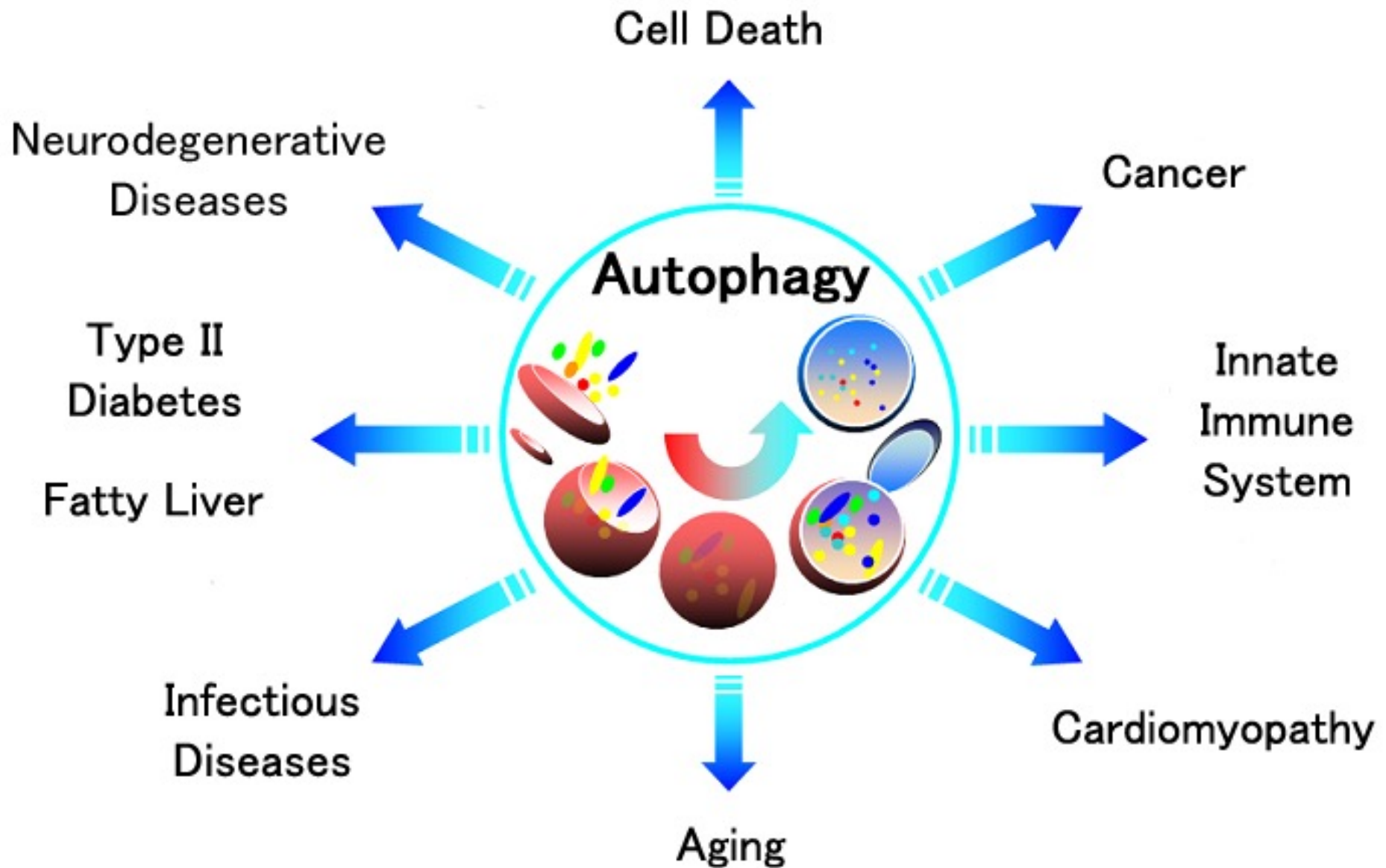


## Yoshinori Ohsumi Nobel 2016

(biologo giapponese che ha identificato in lievito i geni ed il meccanismo dell'autofagia)

- L'autofagia o autofagocitosi è un termine che deriva dal greco e significa **"mangiare sé stessi"**.
- E' un processo fisiologico che si presenta come una strategia di sopravvivenza della cellula che si trova in carenza di nutrienti o energia e quindi digerisce i propri componenti e ricicla i precursori biosintetici presenti nelle macromolecole.
- Questo processo che coinvolge i lisosomi, è richiesto per l'omeostasi cellulare oppure è il risultato di stress o danno cellulare.
- Quindi, l'autofagia risulta essenziale per la rimozione selettiva, attraverso degradazione, di organelli danneggiati/invecchiati e non più funzionali, di inclusioni citoplasmatiche dovute ad invecchiamento o ad accumulo di proteine malripiegate o anche per l'eliminazione dei patogeni.

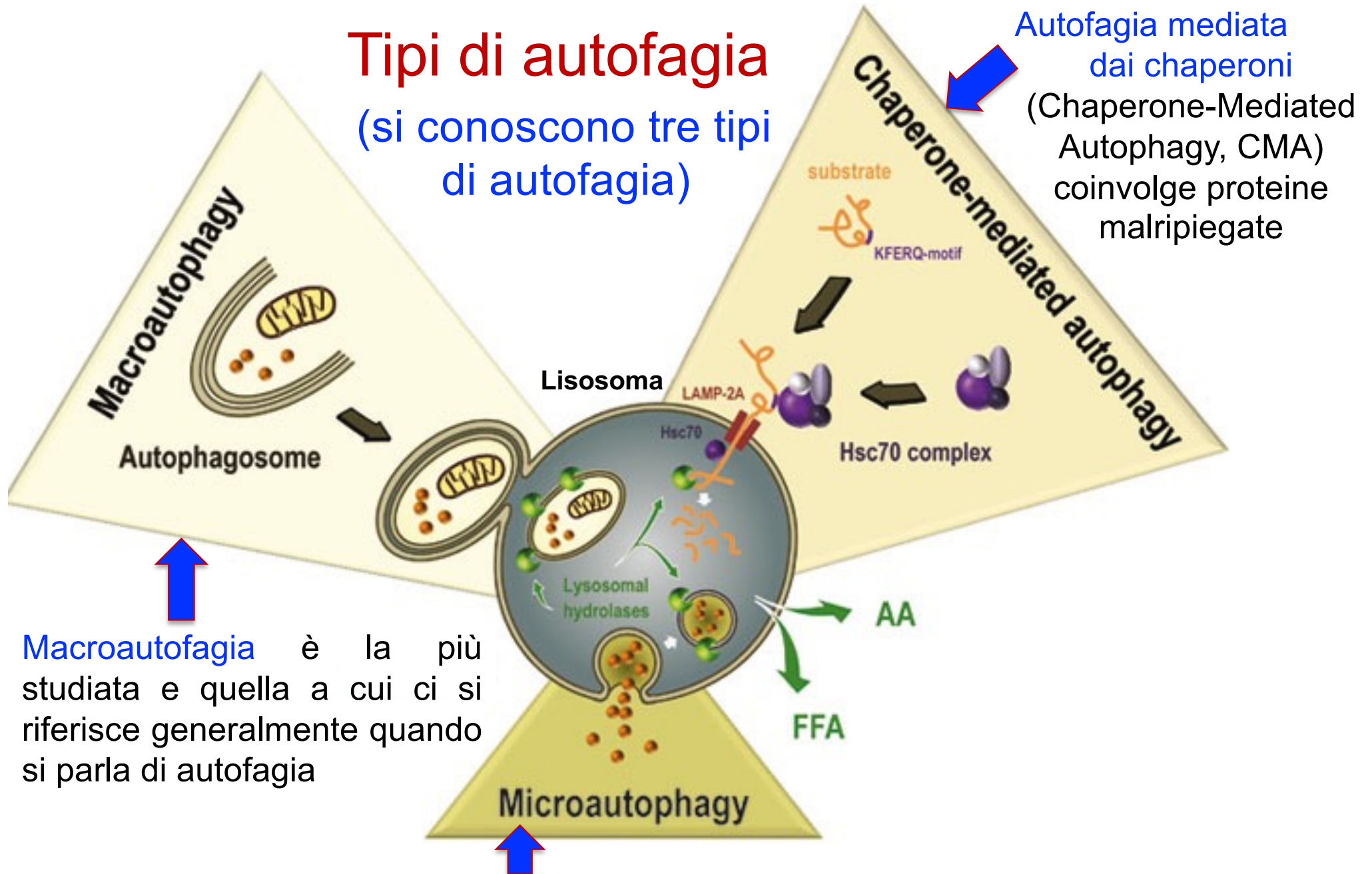
# L'autofagia è implicata in processi fisiologici e patologici



etc.

# Tipi di autofagia

(si conoscono tre tipi di autofagia)



Autofagia mediata dai chaperoni (Chaperone-Mediated Autophagy, CMA) coinvolge proteine malripiegate

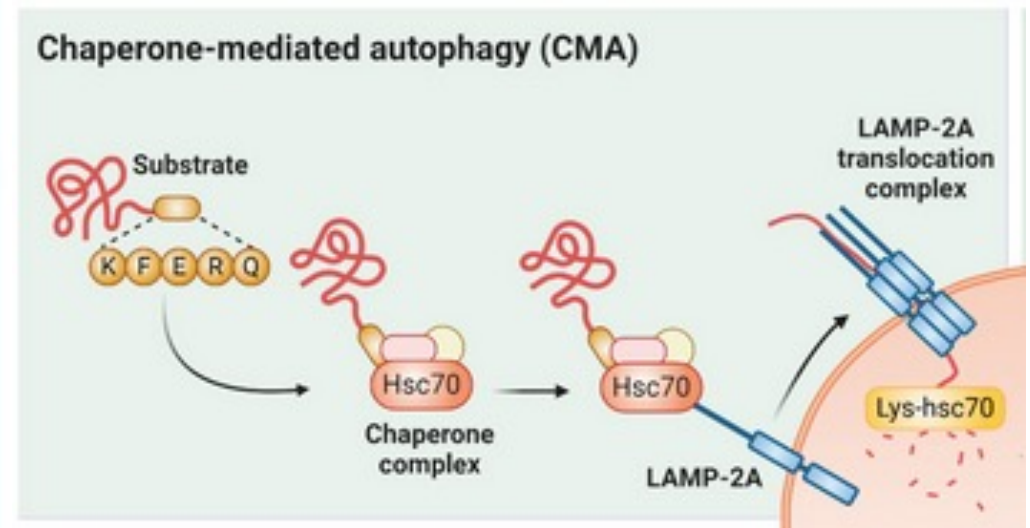
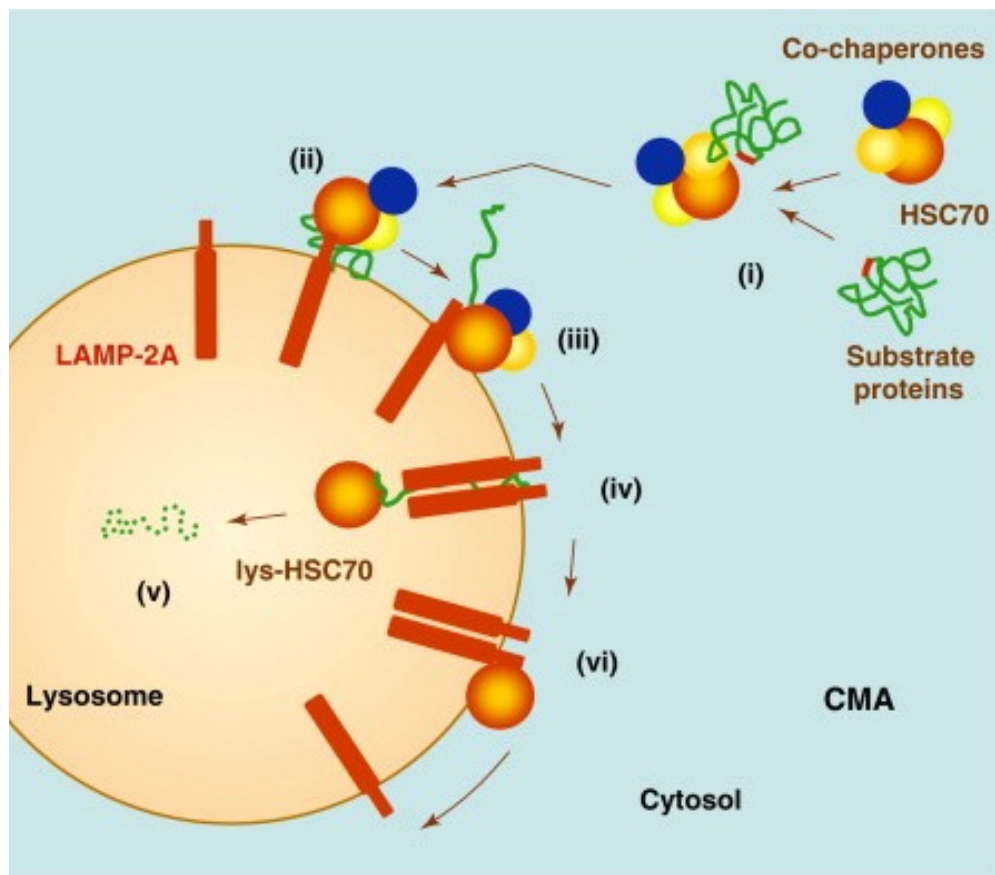
Macroautofagia è la più studiata e quella a cui ci si riferisce generalmente quando si parla di autofagia

Microautofagia il materiale da degradare è direttamente fagocitato dal lisosoma, attraverso invaginazioni o protrusioni della sua membrana

# Autofagia mediata dai chaperoni

Chaperone-Mediated Autophagy (**CMA**): le proteine non correttamente ripiegate possono esporre il motivo **KFERQ** (il 30% delle proteine cellulari possiede questa sequenza aminoacidica) che permette il riconoscimento da parte di un sistema di chaperoni e co-chaperoni come ad esempio HSC70 (HSPA8).

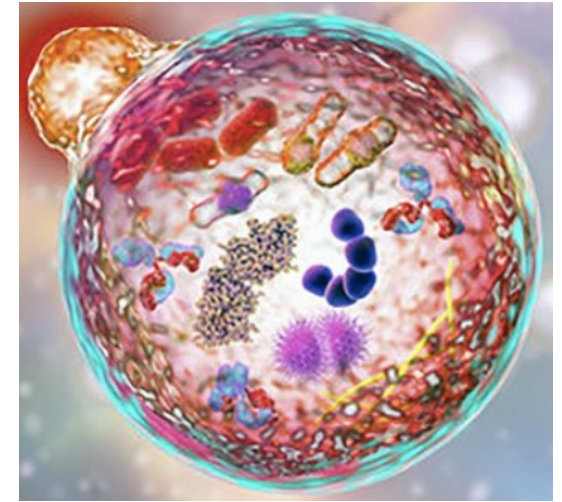
Il complesso si lega a LAMP2A sulla membrana del lisosoma che trasloca la proteina malripiegata nel lume lisosomiale dove sarà degradata.



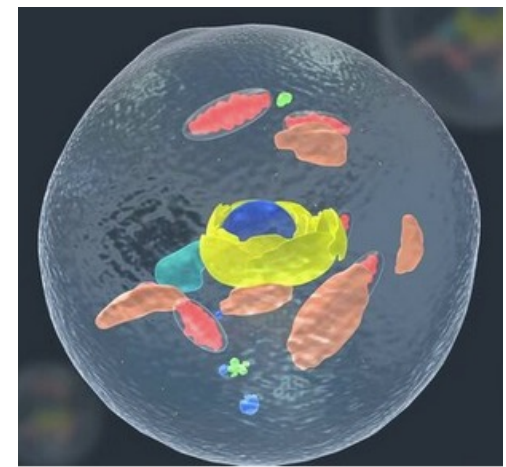
**Processo selettivo**

# Autofagia e morte cellulare

- In risposta allo stress e durante lo sviluppo, le cellule eucariotiche spesso attivano il processo autofagico, un meccanismo per cui gli organelli o porzioni del citoplasma vengono sequestrati in vescicole a doppia membrana (autofagosomi) che vengono portate ai lisosomi per la degradazione.
- L'autofagia indotta da stress **spesso esercita funzioni citoprotettive e favorisce il ripristino dell'omeostasi e la sopravvivenza.**
- In questo setting, l'inibizione farmacologica dell'autofagia accelera la morte.



# Caratteristiche dell'autofagia

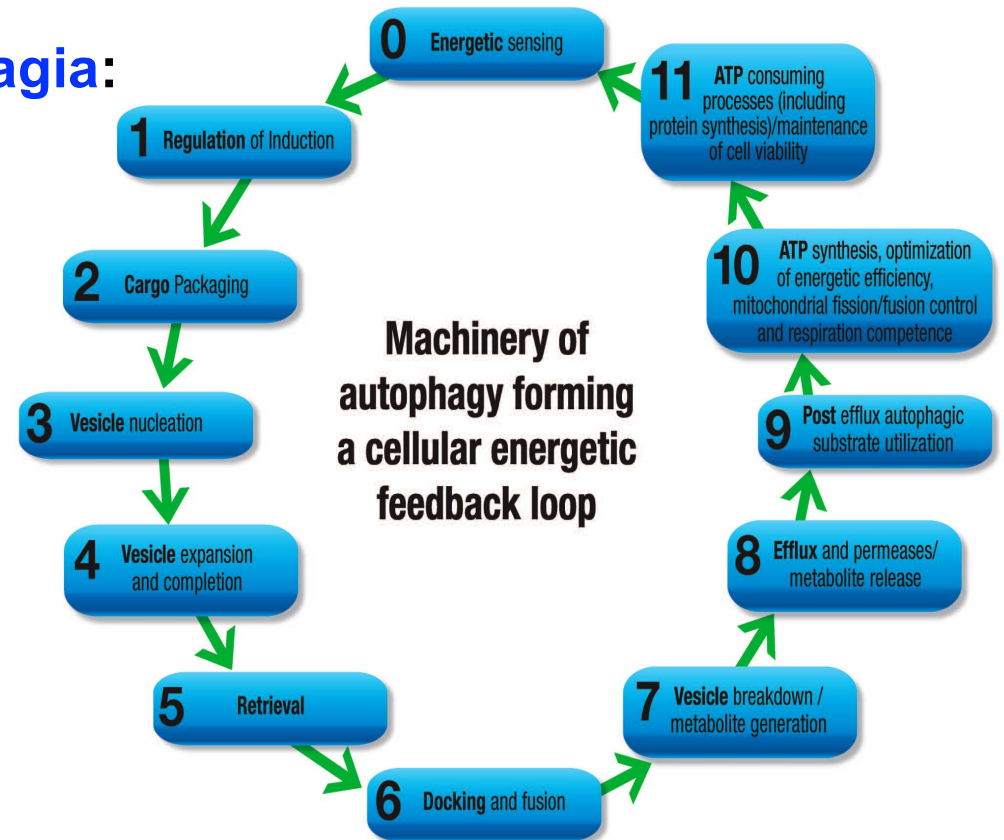


- L'autofagia è regolata da un gruppo di geni chiamati: **AuTophagy-related (ATG) genes** ed è eseguita a livello basale in tutte le cellule come meccanismo omeostatico per mantenere l'integrità cellulare.
- I livelli e i cargos dell'autofagia possono essere modulati in risposta ad una varietà di stimoli intra e extracellulari.
- Alterazioni nei pathways dell'autofagia sono spesso associati ai tumori, alle malattie neurodegenerative ed a molte altre patologie.

# Induzione della autofagia

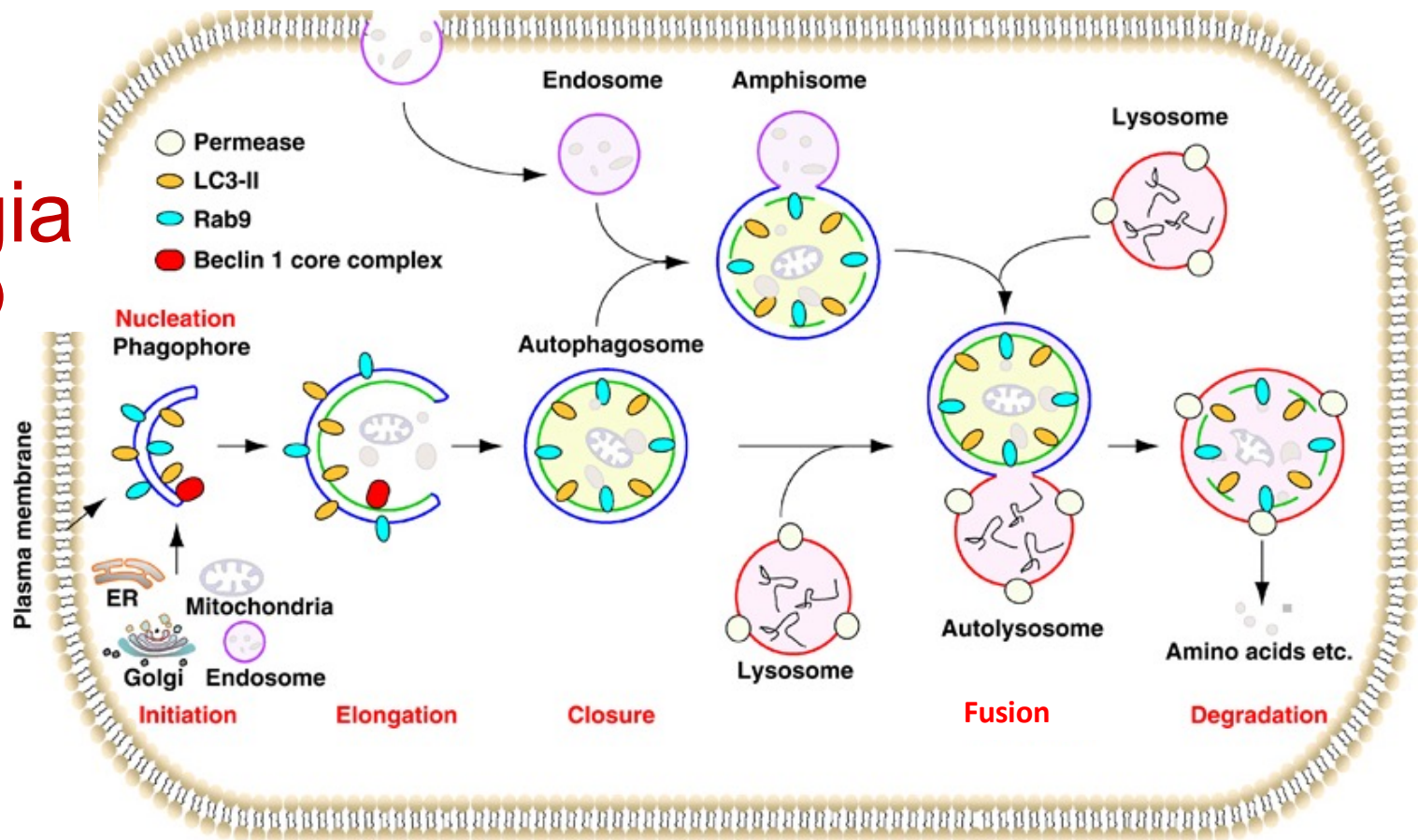
## Stimoli in grado di innescare l'autofagia:

- aminoacidi ↓
- nutrienti ↓
- fattori di crescita ↓
- ormoni ↓
- livelli intracellulari di calcio ↑
- livelli di adenosina trifosfato (ATP) ↓
- ipossia
- accumulo di proteine malripiegate ↑
- stress di varia natura (patogeni, composti chimici) ↑



**Aspetti funzionali:  
coinvolte 31 proteine  
denominate ATG**

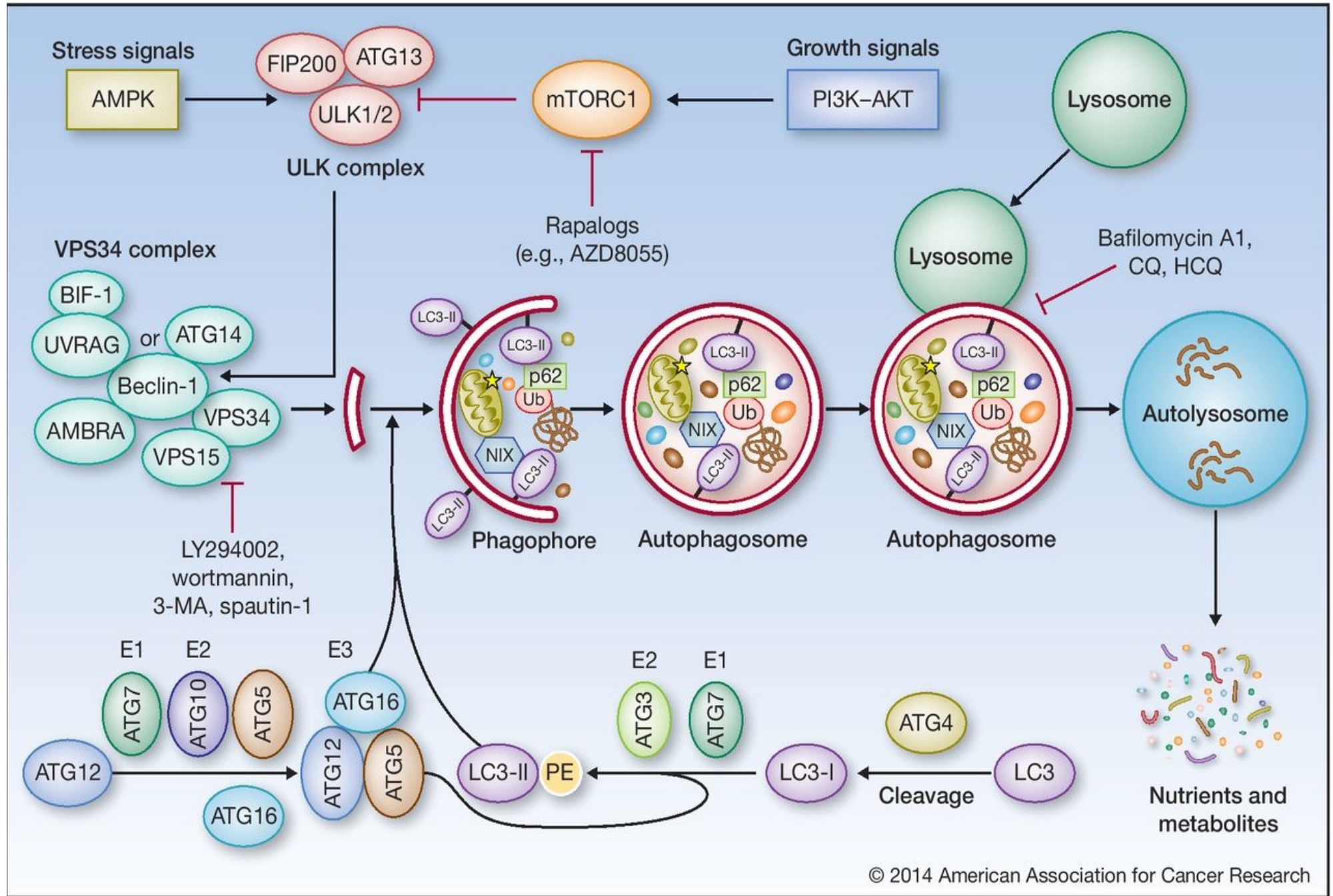
# Stadi dell'autofagia (macroautofagia)

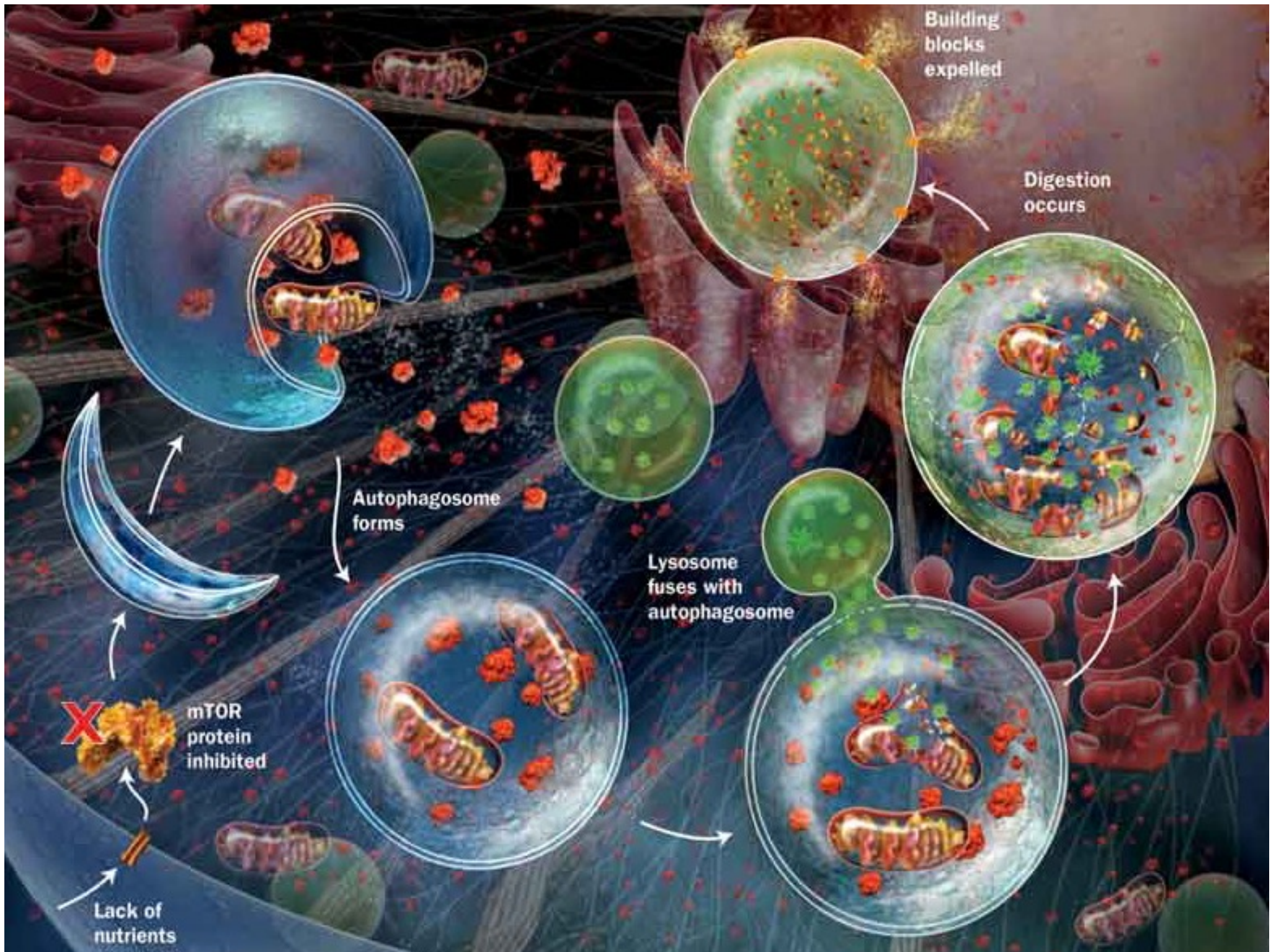


L'autofagia prevede la degradazione mediata dal lisosoma del materiale inglobato nell'autofagosoma e consta di varie fasi:

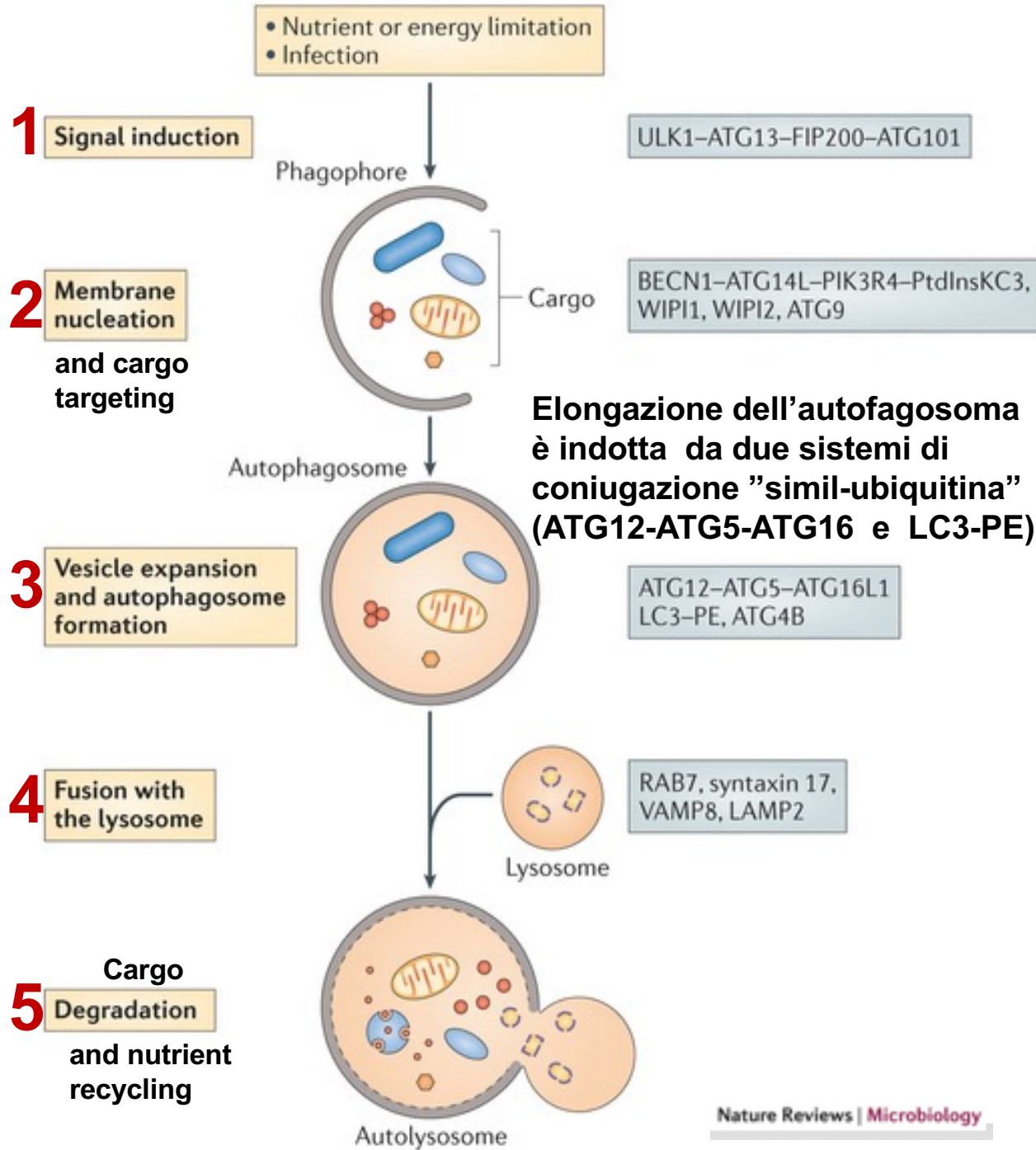
1. **Induzione/attivazione** che prevede la formazione della porzione iniziale della membrana (il fagoforo)
2. **nucleazione** di questa membrana;
3. **elongazione e maturazione dell'autofagosoma**, che quindi ingloba il materiale citoplasmatico;
4. **fusione con il lisosoma**;
5. **degradazione** del materiale inglobato e riciclo dei componenti base

# Pathway dell'autofagia





# Pathway dell'autofagia



In seguito allo stimolo autofagico, la porzione iniziale di membrana, ovvero il **fagoforo**, viene assemblato e inizia ad allungarsi per racchiudere i componenti citoplasmatici. Il fagoforo si espande e cresce in un compartimento a doppia membrana, noto come autofagosoma, che sequestra bersagli citoplasmatici, come proteine, organelli e microrganismi.

L'autofagosoma si fonde con il lisosoma per generare l'autolisosoma, in cui il carico viene degradato dagli enzimi idrolitici.

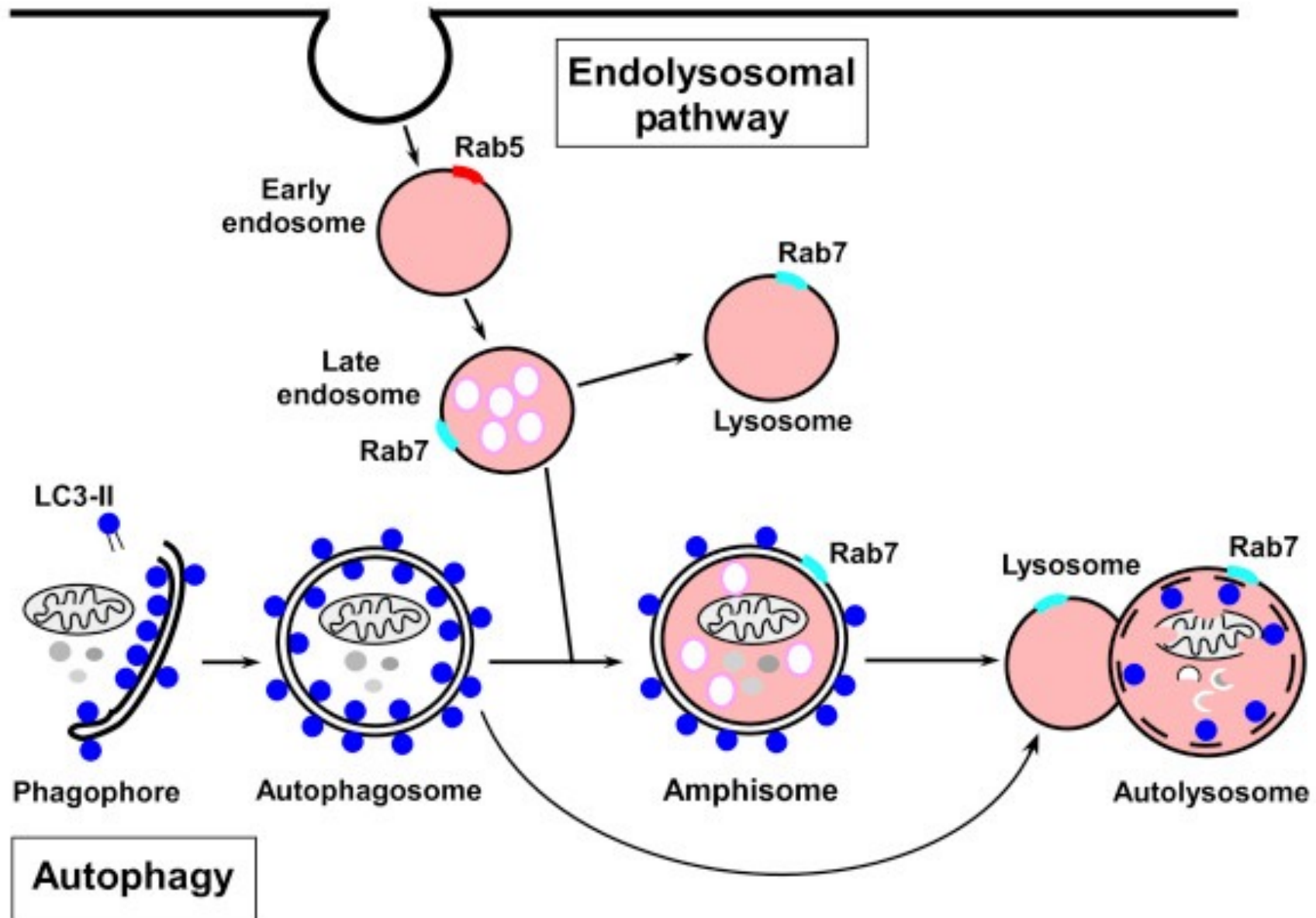
Le proteine chiave coinvolte nell'autofagia nei mammiferi sono mostrate a destra.

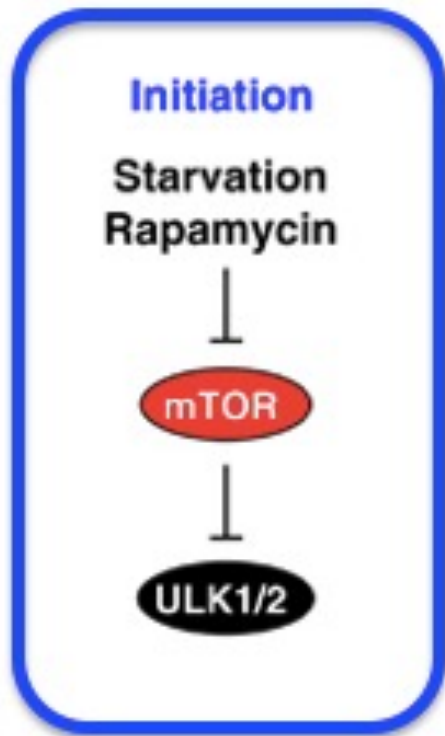
ULK1, chinasi simile a Unc-51; FIP200 (proteina che interagisce con la chinasi della famiglia FAK di 200 kDa); BECN1 (beclin 1); ATG14L; PIK3R4 (subunità regolatrice della fosfoinositide 3-chinasi 4); PtdIns3KC3, (fosfatidilinositolo-3 chinasi classe III); WIPI, interazione con fosfoinositide nel dominio di ripetizione WD.

ATG16L1; LC3, catena leggera 3 della proteina 1 associata ai microtubuli; PE, fosfatidiletanolamina;

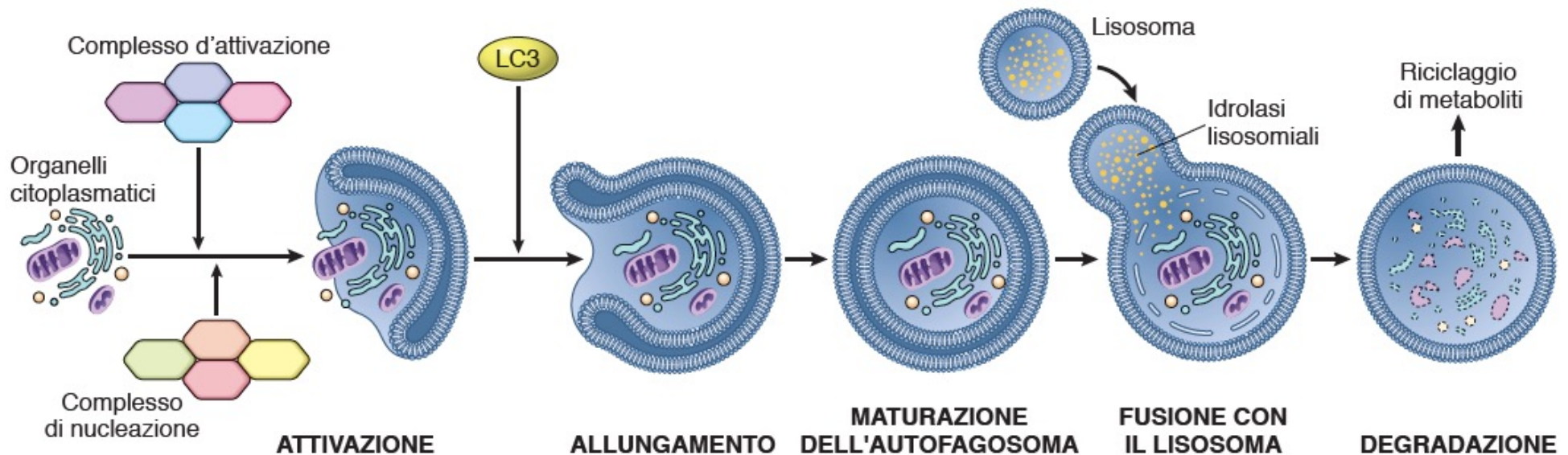
LAMP2, glicoproteina di membrana associata ai lisosomi 2; VAMP8, proteina di membrana associata alla vescicola 8;

# Il trafficking delle vescicole autofagiche e endolisosomiali

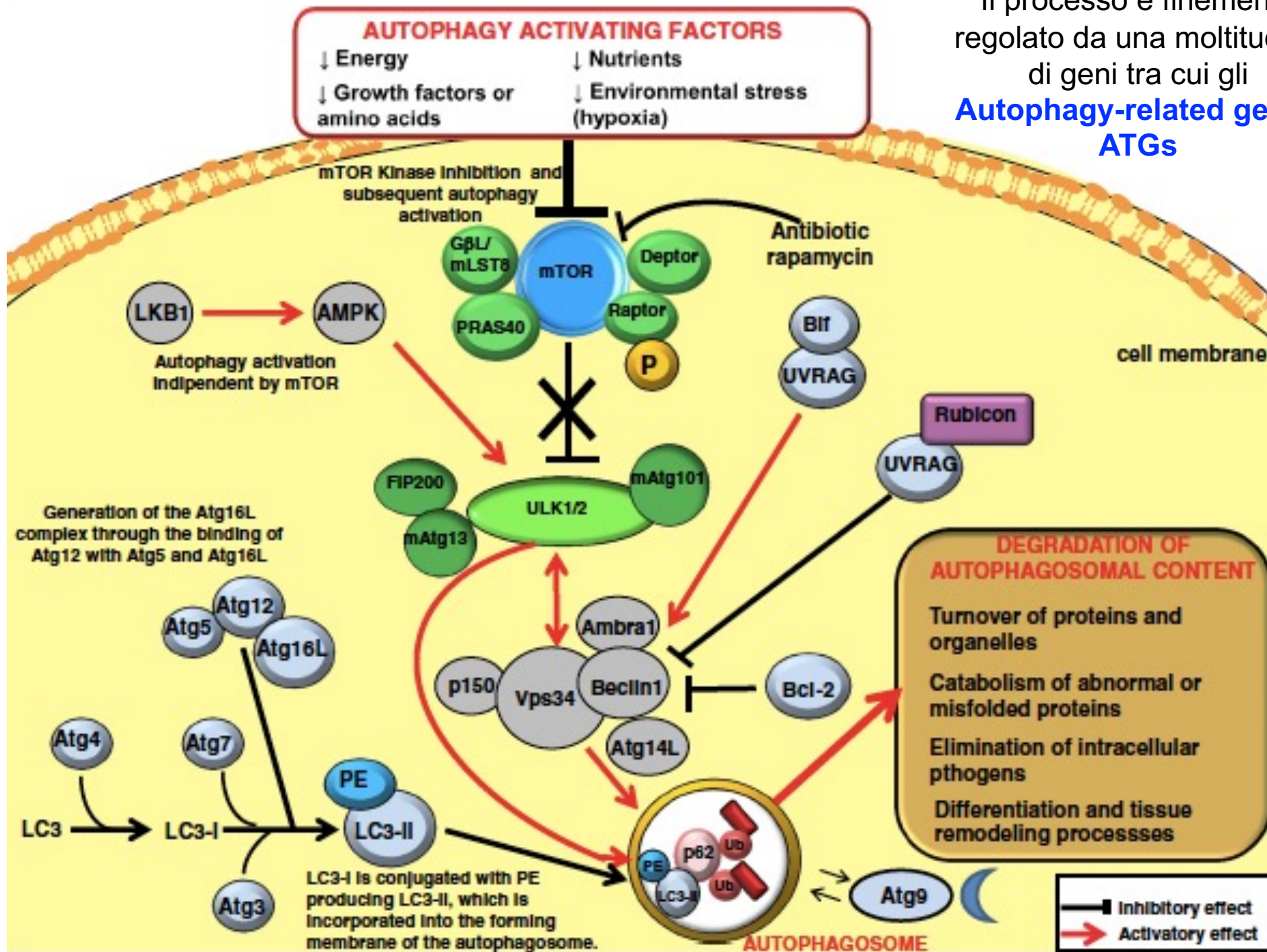




# Fattori che attivano il pathway dell'autofagia

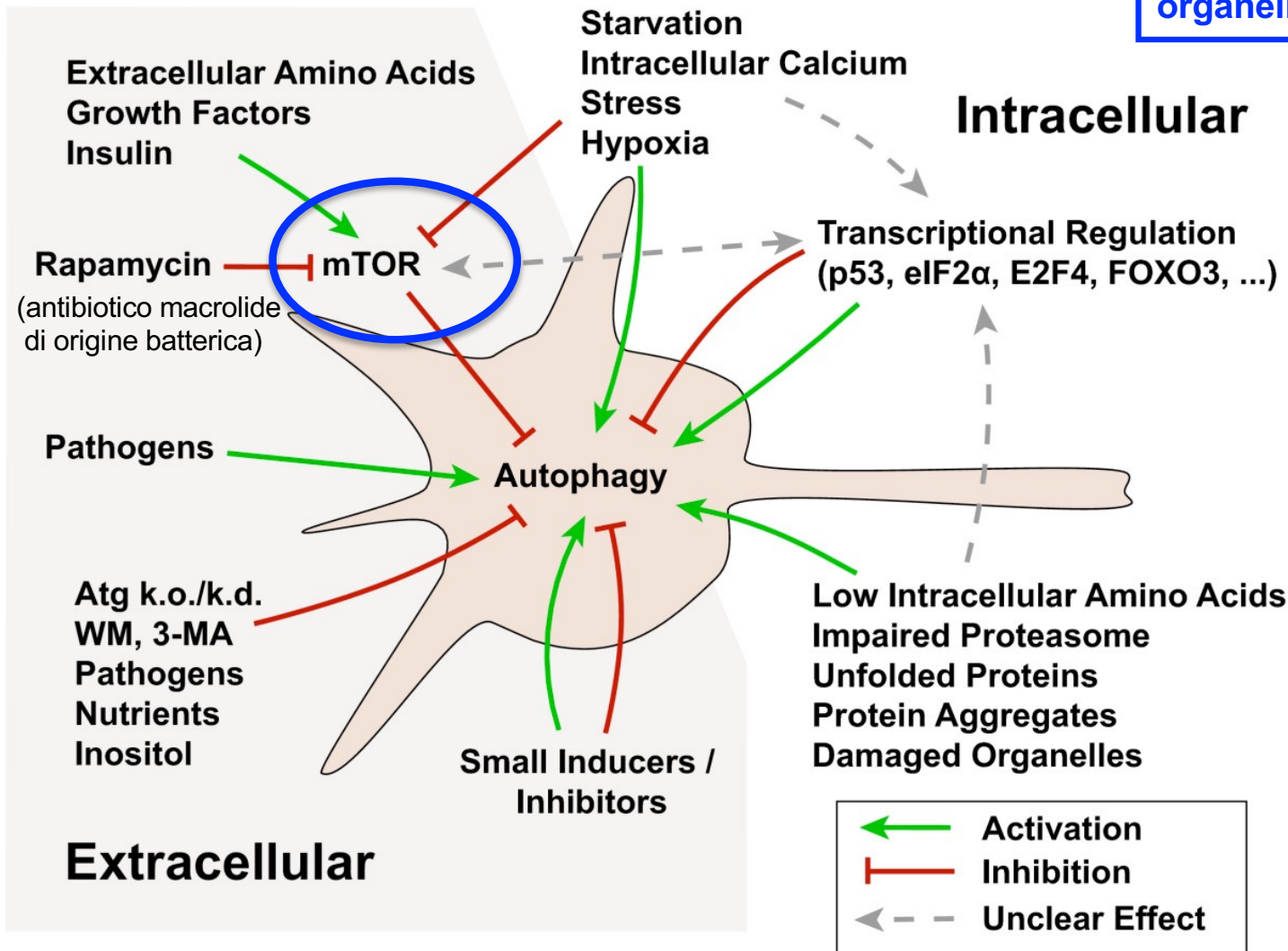


Il processo è finemente regolato da una moltitudine di geni tra cui gli **Autophagy-related genes ATGs**



# Controllo dell'autofagia

L'autofagia è un processo omeostatico essenziale mediante il quale la cellula degrada ("digerisce") i suoi stessi componenti (aggregati proteici, lipidi, organelli cellulari danneggiati).



La Xenofagia (degradazione di microrganismi) può essere vista come un meccanismo dell'immunità innata di difesa contro i batteri.

mTOR = regolatore negativo dell'autofagia

# Rapamicina: inibitore di mTOR e induttore di autofagia



Lo studio di **mTOR** (mammalian oppure mechanistic target of rapamycin) ha inizio negli anni '60 con una spedizione all'isola di Pasqua (conosciuta dagli abitanti come Rapa Nui), allo scopo di identificare prodotti derivati da piante e dal terreno con possibili effetti terapeutici. Nel 1972, Suren Sehgal identificò una piccola molecola dal batterio del terreno, *Streptomyces hygroscopicus*, che aveva un forte effetto antifungino e la chiamò rapamicina.

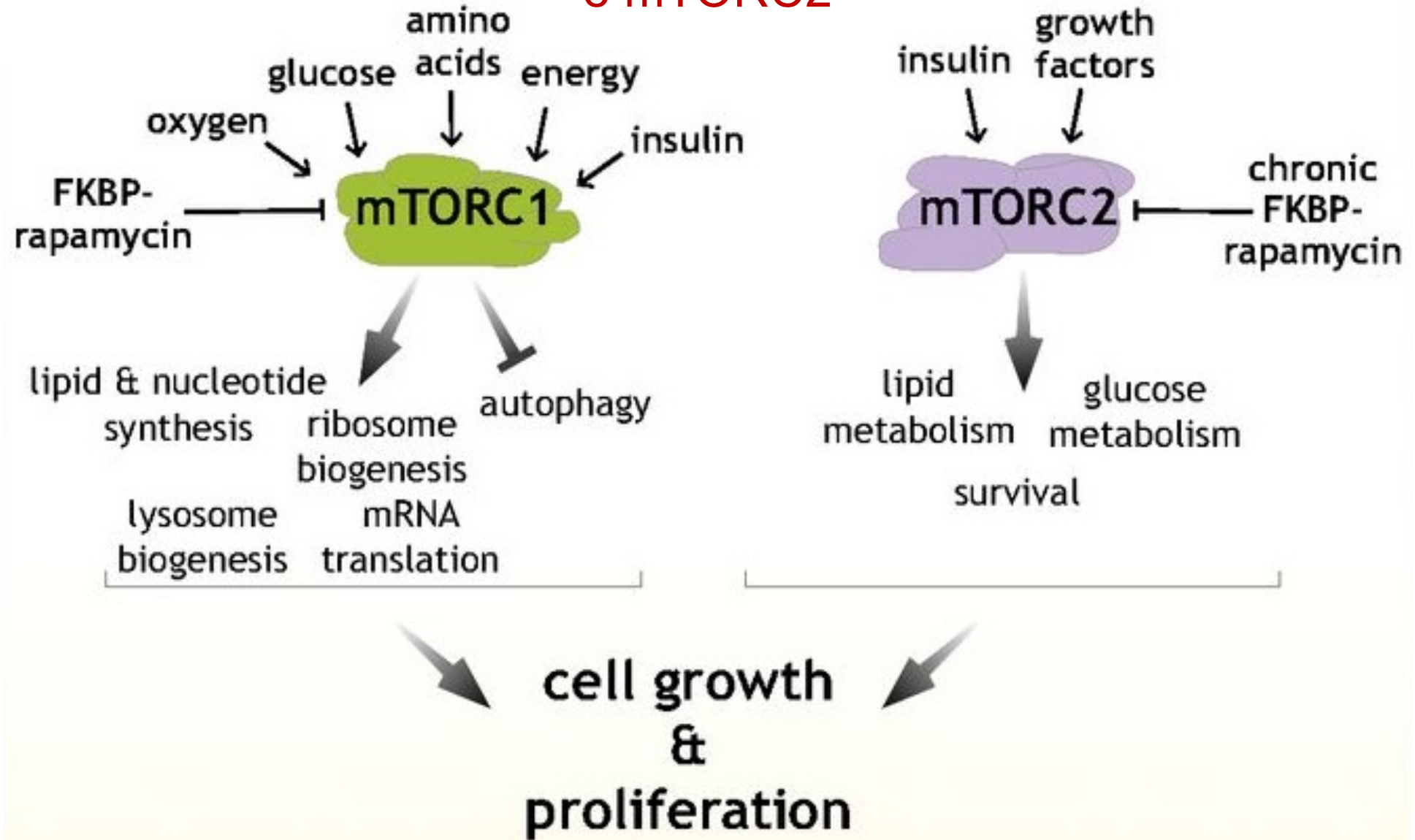
Blenis John (2017) *TOR, the Gateway to Cellular Metabolism, Cell Growth, and Disease* Cell 171: 10-13



**La rapamicina è usata come farmaco immunosoppressore (Sirolimus)**

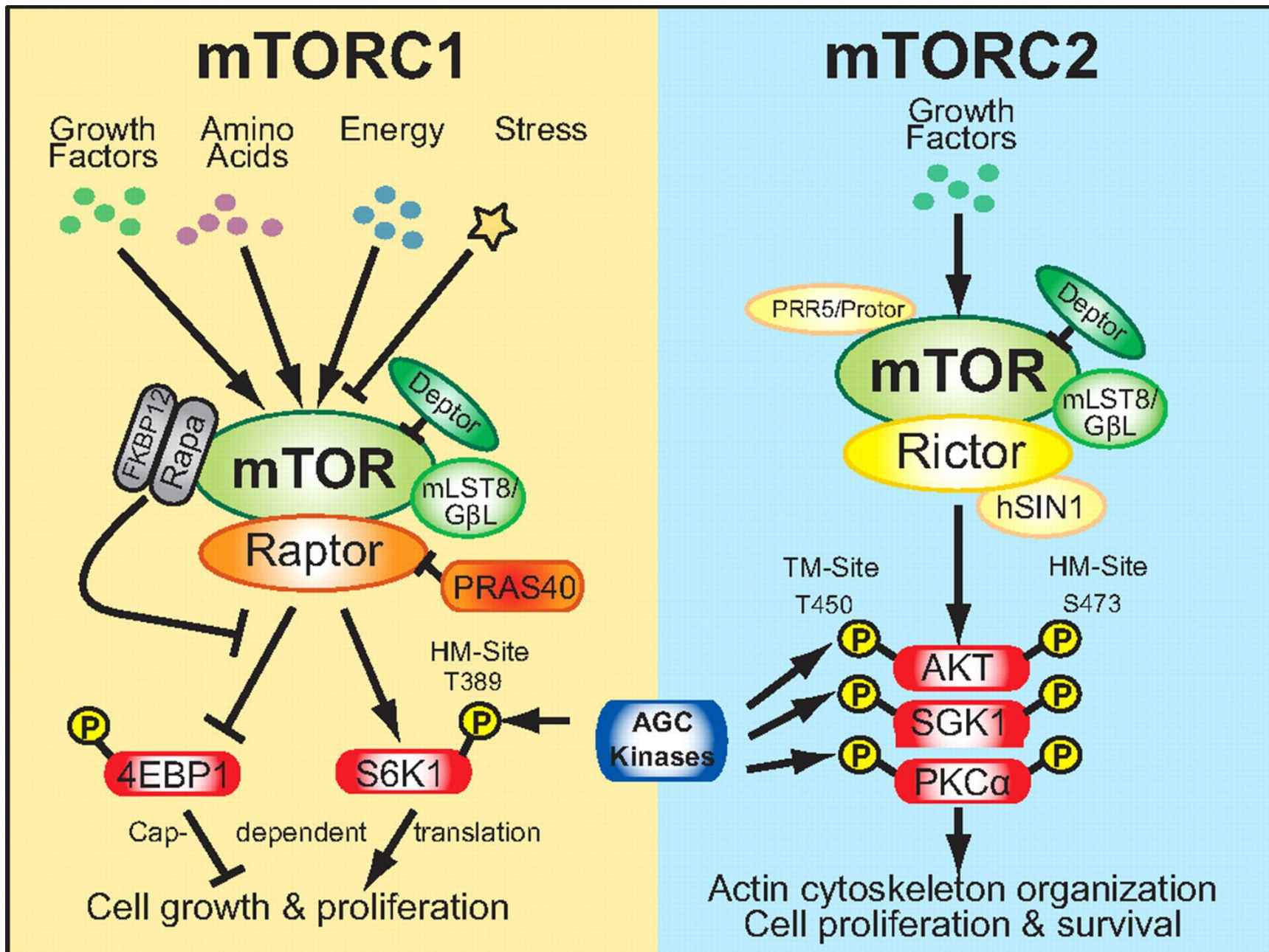


# mTOR: subunità catalitica dei complessi mTORC1 e mTORC2

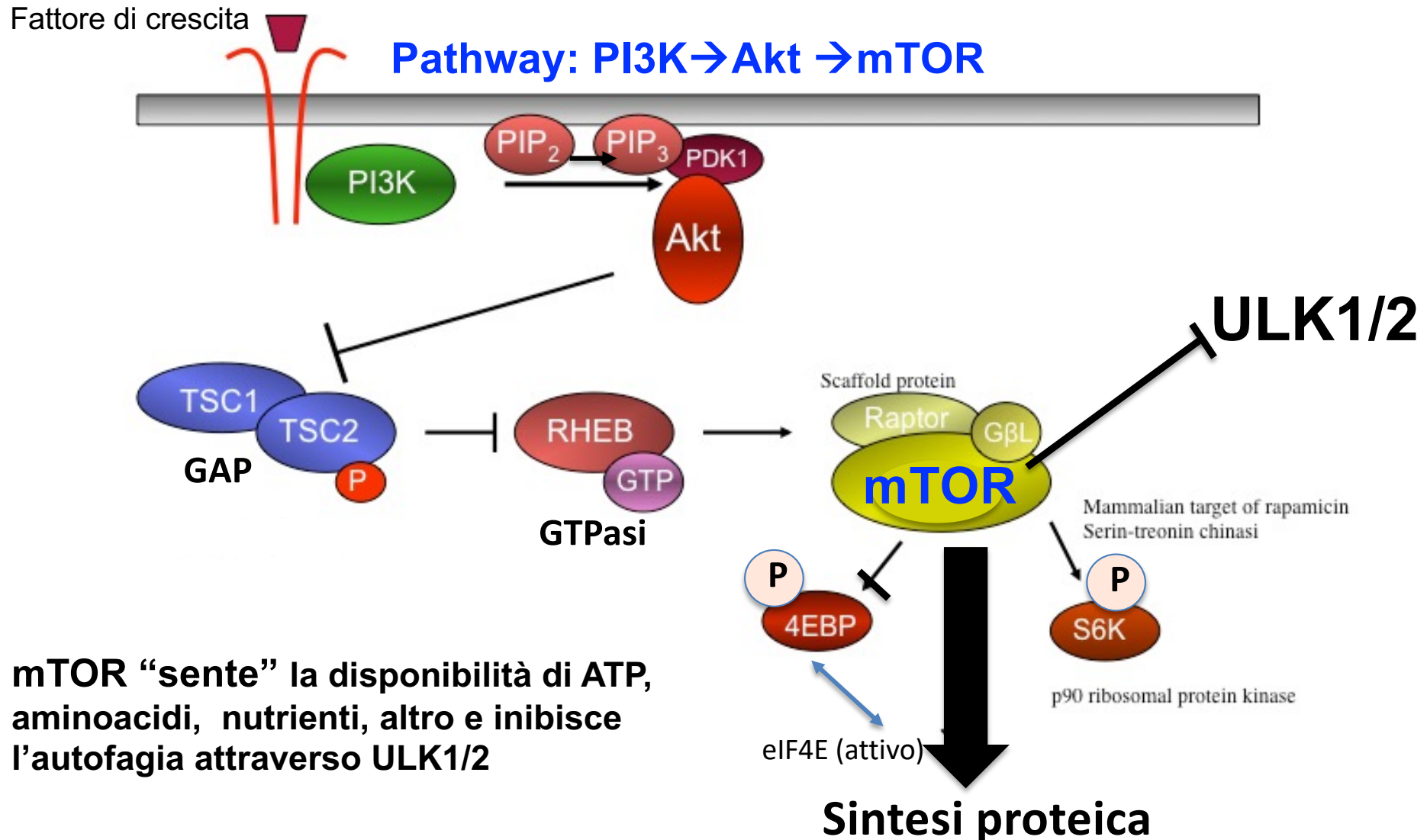


Questo schema mostra i segnali rilevati da mTORC1 e mTORC2 e i processi da essi regolati per controllare la crescita cellulare.

# I complessi mTORC1 e mTORC2



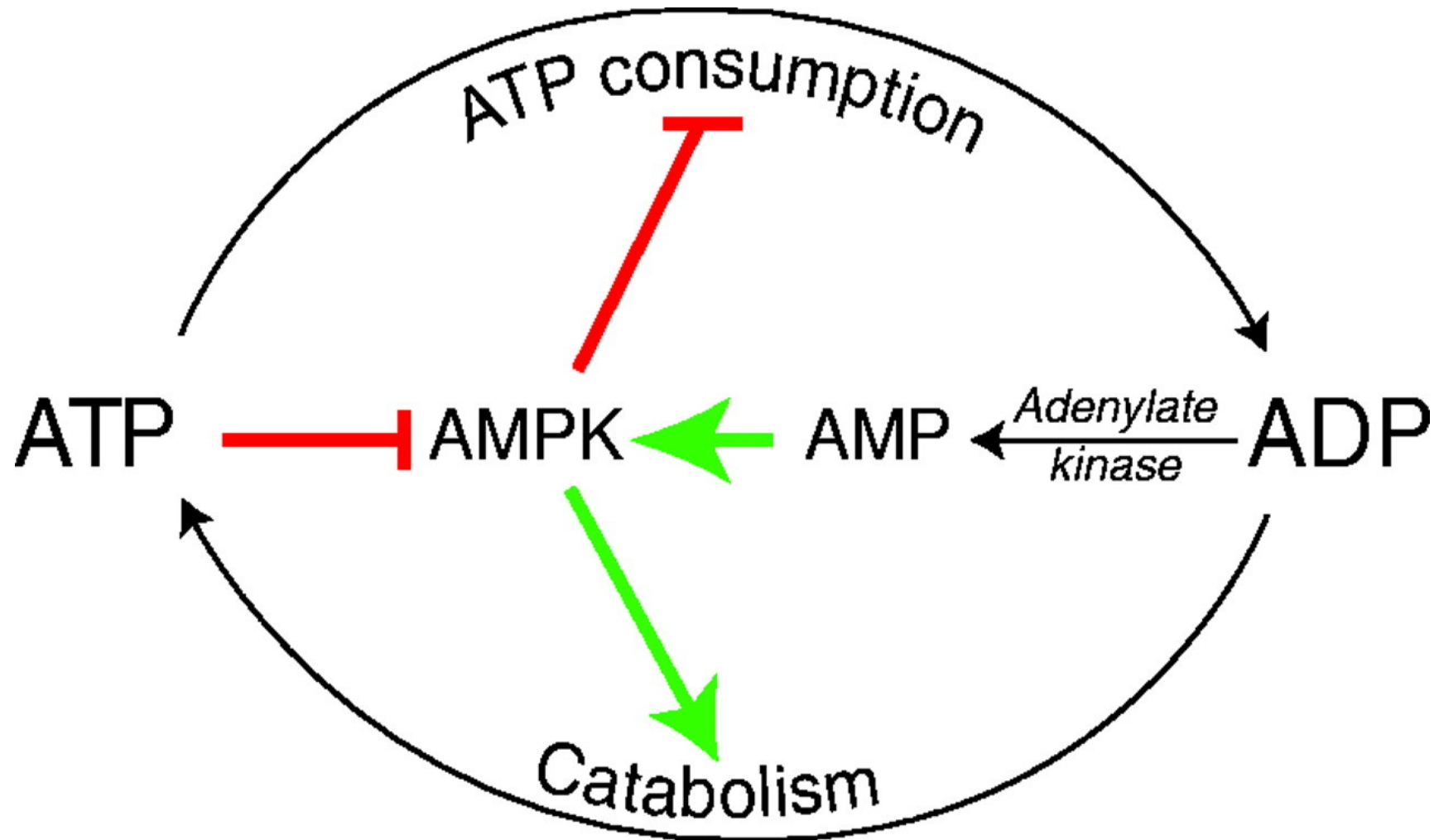
**mTOR:** serin-treonin chinasi che attiva la sintesi proteica e inibisce l'autofagia quando il livello di ATP e degli aminoacidi è elevato



mTOR “sente” la disponibilità di ATP, aminoacidi, nutrienti, altro e inibisce l'autofagia attraverso ULK1/2

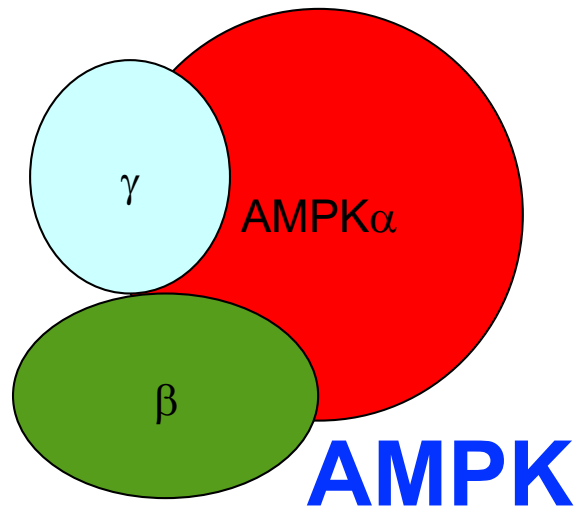
**mTOR = regolatore negativo dell'autofagia**

La protein-chinasi attivata da AMP (AMPK) è regolata dal livello di ATP e attiva l'autofagia quando il rapporto **ATP/AMP** si abbassa

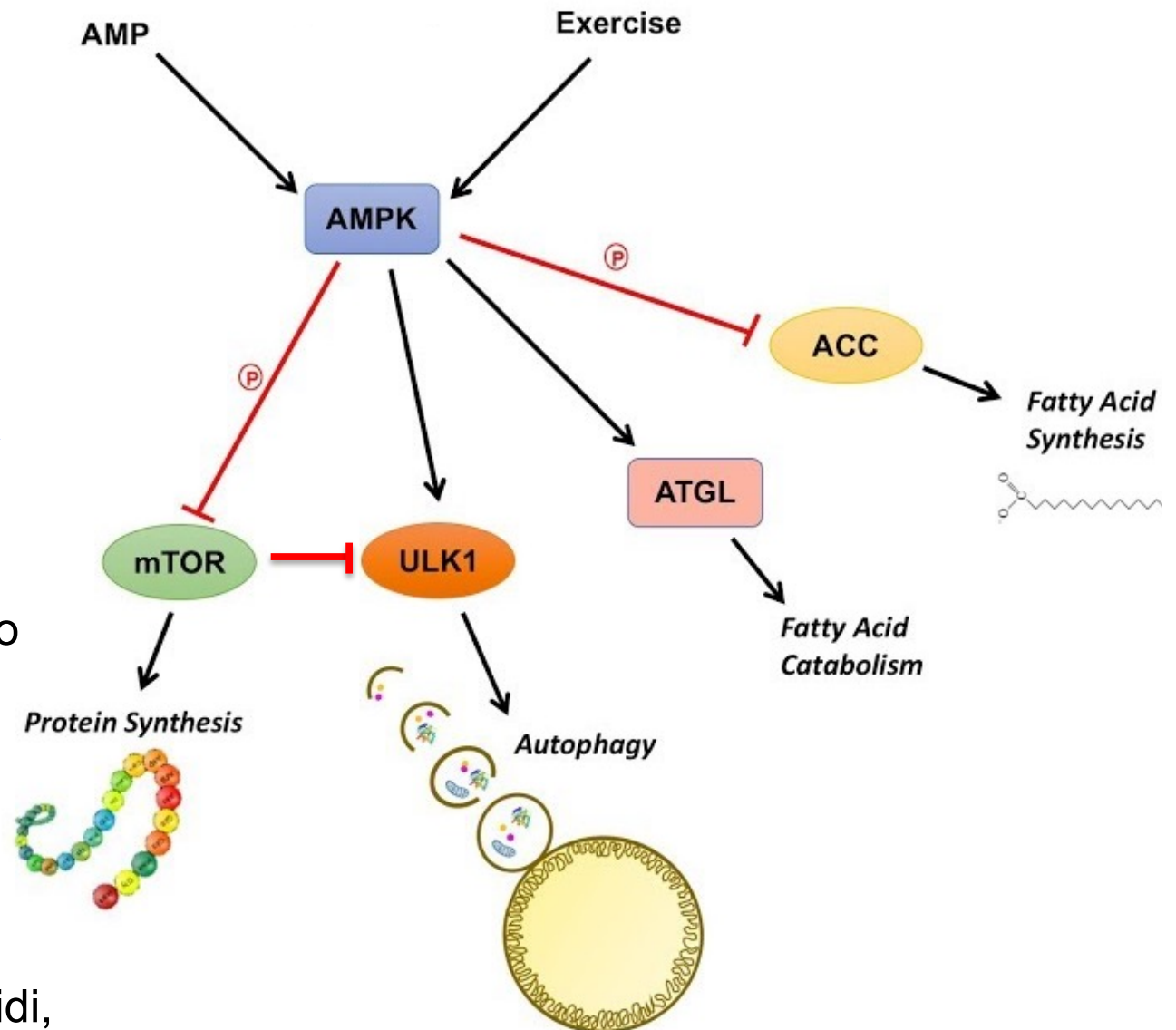


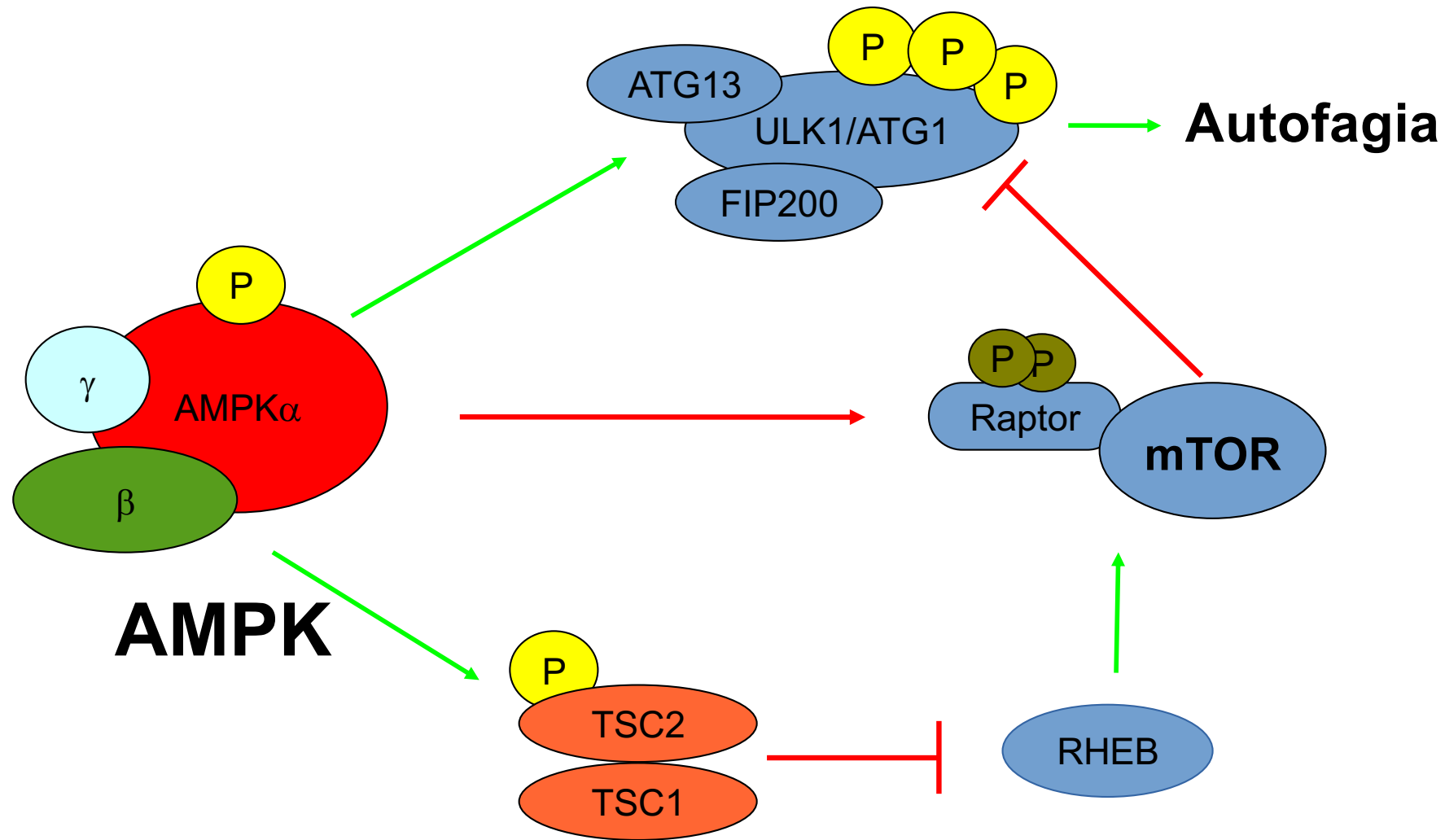
**AMPK = regolatore positivo dell'autofagia**

# AMPK (protein-chinasi attivata da AMP) attiva l'autofagia in modo diretto attraverso ULK1 o inibendo mTOR



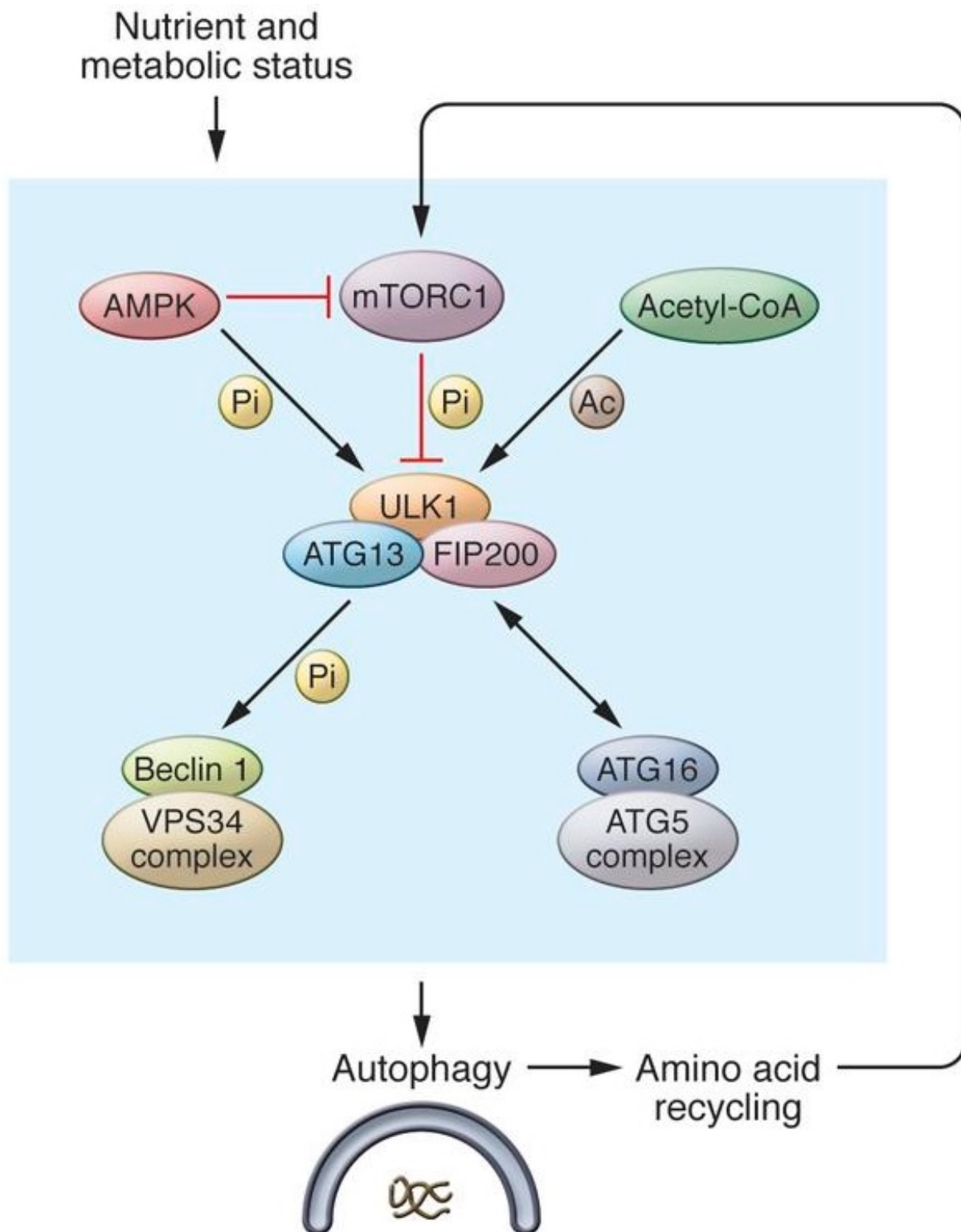
- Eterotrimerico
- Attivato da stress metabolico
- Controlla indirettamente la trascrizione di diversi geni
- Prende parte a diversi pathways metabolici: metabolismo di lipidi e glucidi, divisione cellulare e autofagia



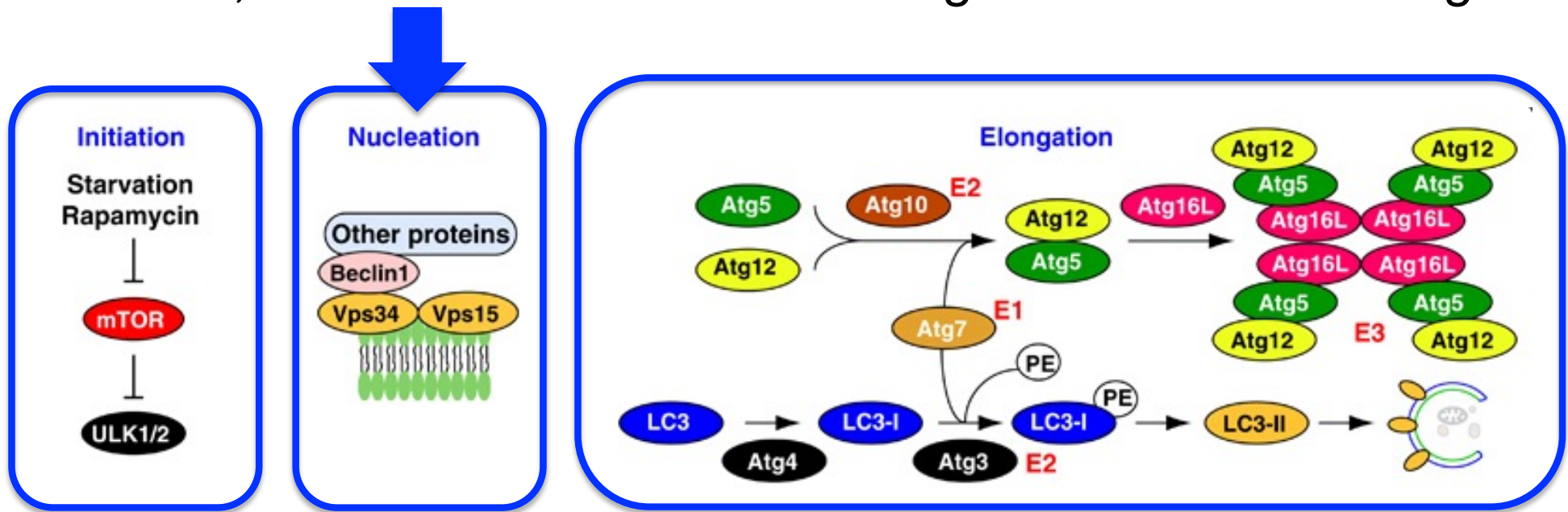


Adattata da Mihaylova et al., Nature Cell Biology, 2011

AMPK inibisce mTOR fosforilando elementi del complesso mTORC1 o anche inibendo a monte la sua attivazione.  
Può, poi, fosforilare ULK1 e promuovere l'autofagia.

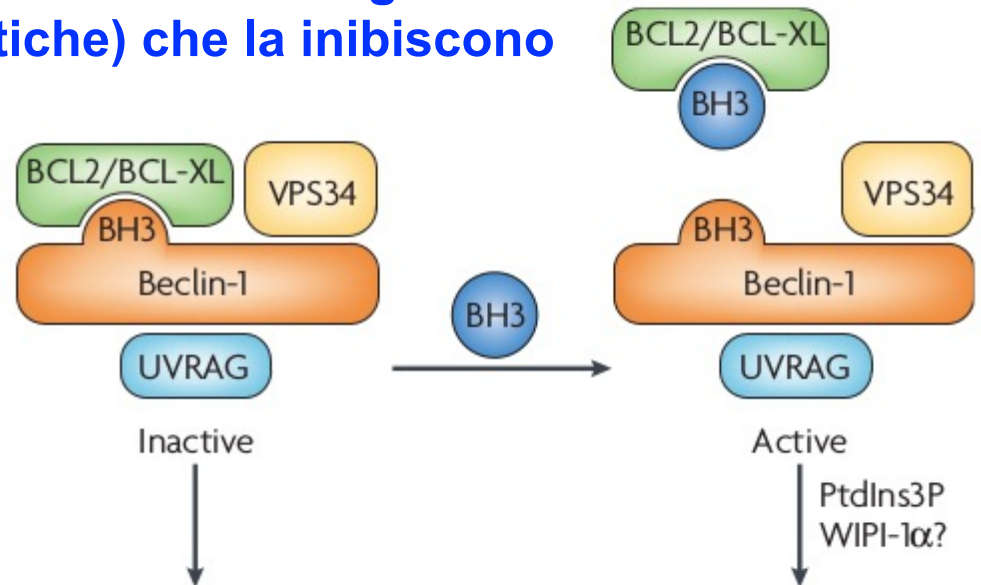


**Beclin-1** anche nota come autophagy-related gene (Atg6) in lievito, ha un ruolo centrale nella regolazione dell'autofagia

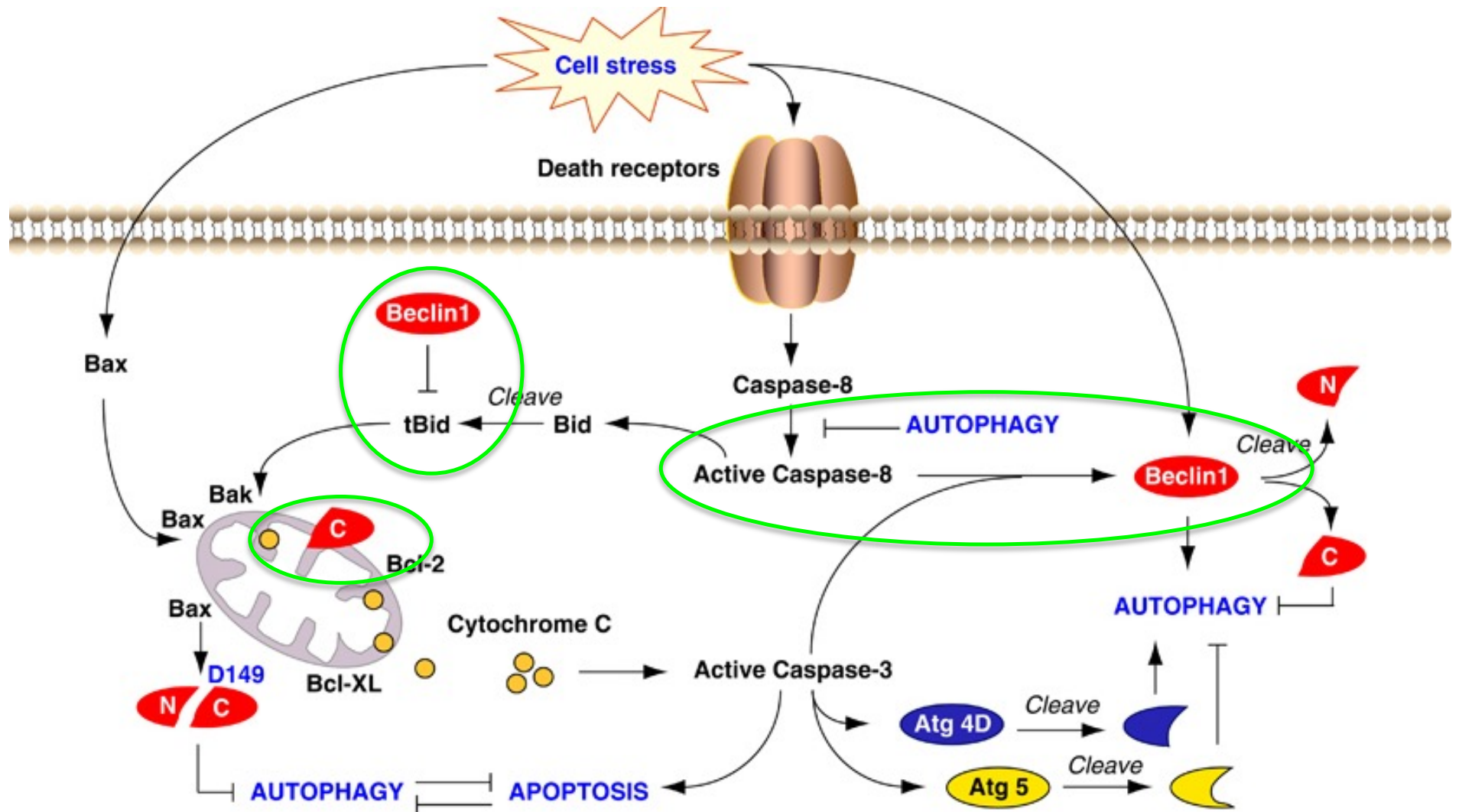


**Beclin1 ha un dominio BH3 ed interagisce con Bcl-2/Bcl-XL (proteine anti-apoptotiche) che la inibiscono**

**Beclin 1** insieme a VPS34, VPS15 e ATG14 costituisce il complesso della fosfatidil-inositolo 3-chinasi di classe III (PtdIns3KC3) cruciale per gli stadi iniziali di formazione dell'autofagosoma (**nucleazione** del fagoforo)



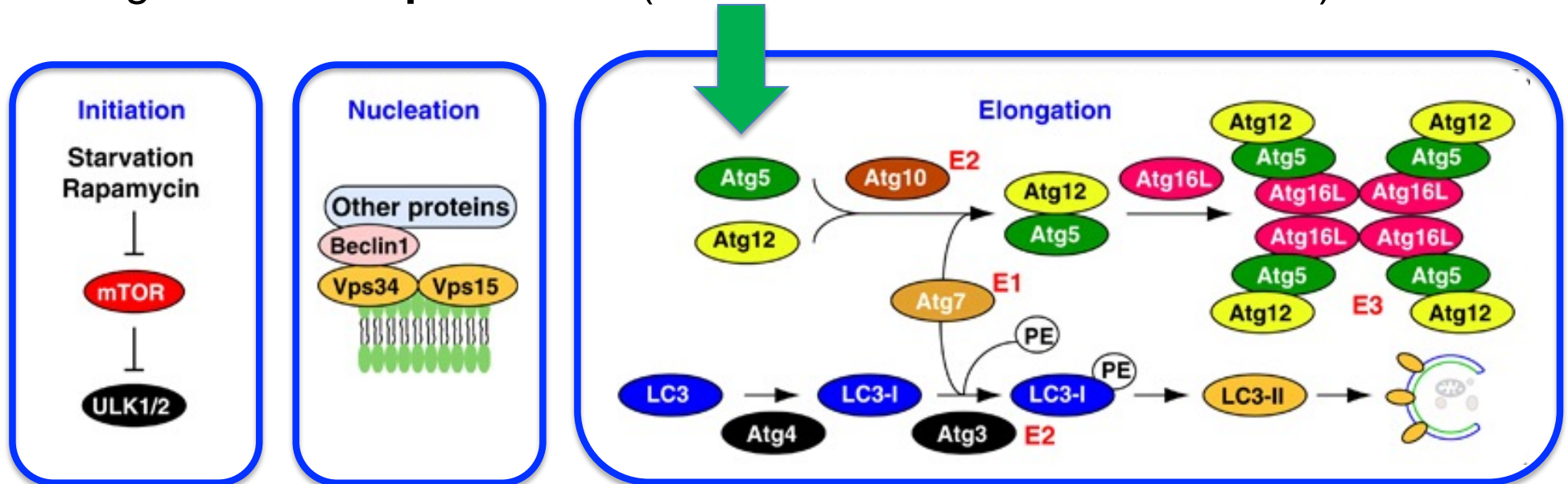
# Crosstalk tra apoptosi e autofagia



L'autofagia e l'apoptosi condividono stimoli e vie di segnalazione comuni e mostrano un certo grado di mutua inibizione.

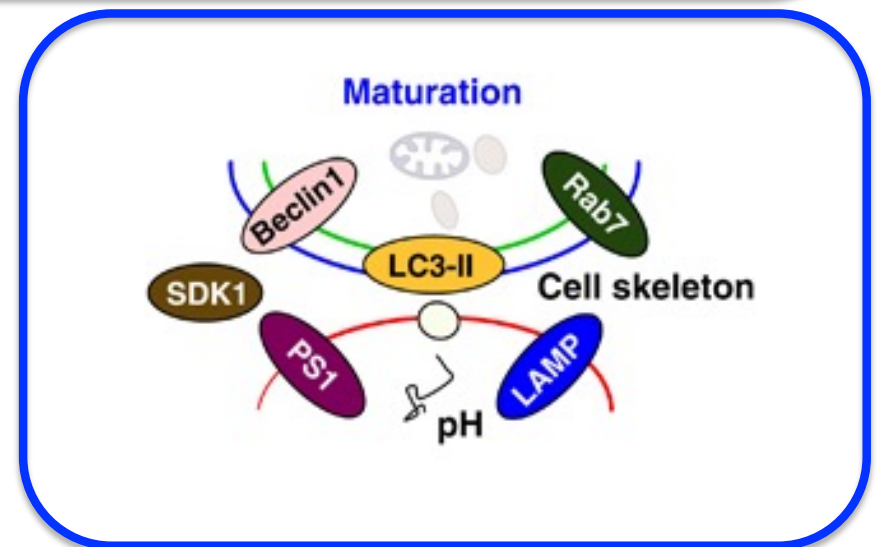
# Regolazione dell'autofagia

L'**elongazione** dell'autofagosoma è indotta da due sistemi di coniugazione "ubiquitin-like" (ATG5-ATG12-ATG16 e LC3-PE)

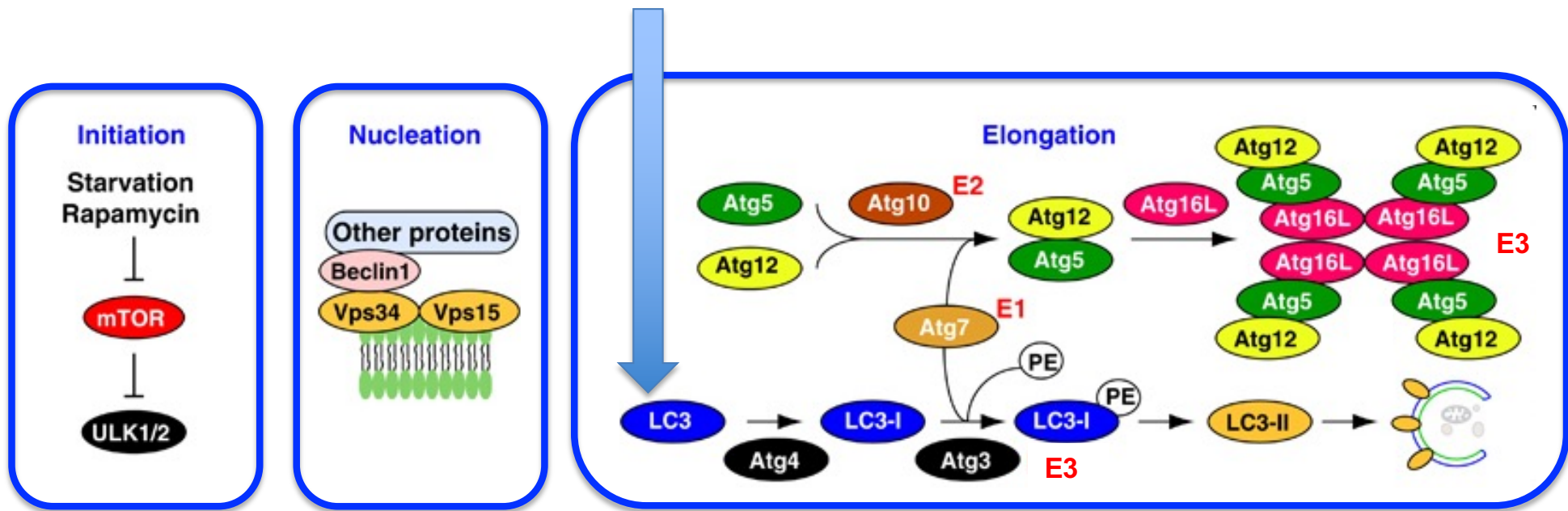


**Atg5** è un gene essenziale per l'autofagia. La proteina è legata ad ATG12 costituendo un complesso di coniugazione ubiquitina-simile.

Il complesso ATG5+ATG12+ATG16 si localizza sugli autofagosomi e funziona a monte della lipidazione di LC3.



# Lipidazione di LC3



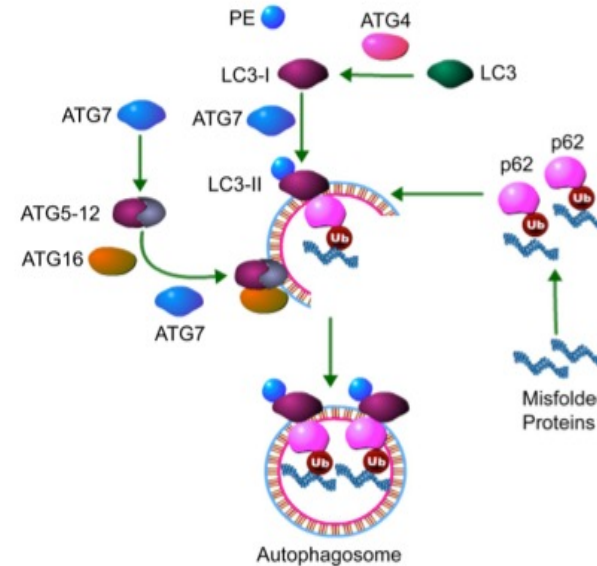
**LC3** (Atg8) esiste in forma citoplasmatica (LC3 e LC3-I) oppure associata alle membrane dell'autofagosoma (LC3-II).

La forma associata alla membrana si ottiene accoppiando LC3 (Microtubule-associated protein light chain 3) alla **fosfatidiletanolamina (PE)** che è un costituente lipidico delle membrane. Questa modificazione post-traduzionale, definita lipidazione avviene perchè **ATG4** taglia LC3 rilasciando LC3-I che espone un residuo di Glicina a cui la fosfatidiletanolamina (PE) può successivamente coniugarsi generando LC3-II che quindi si localizza sulla membrana dell'autofagosoma.

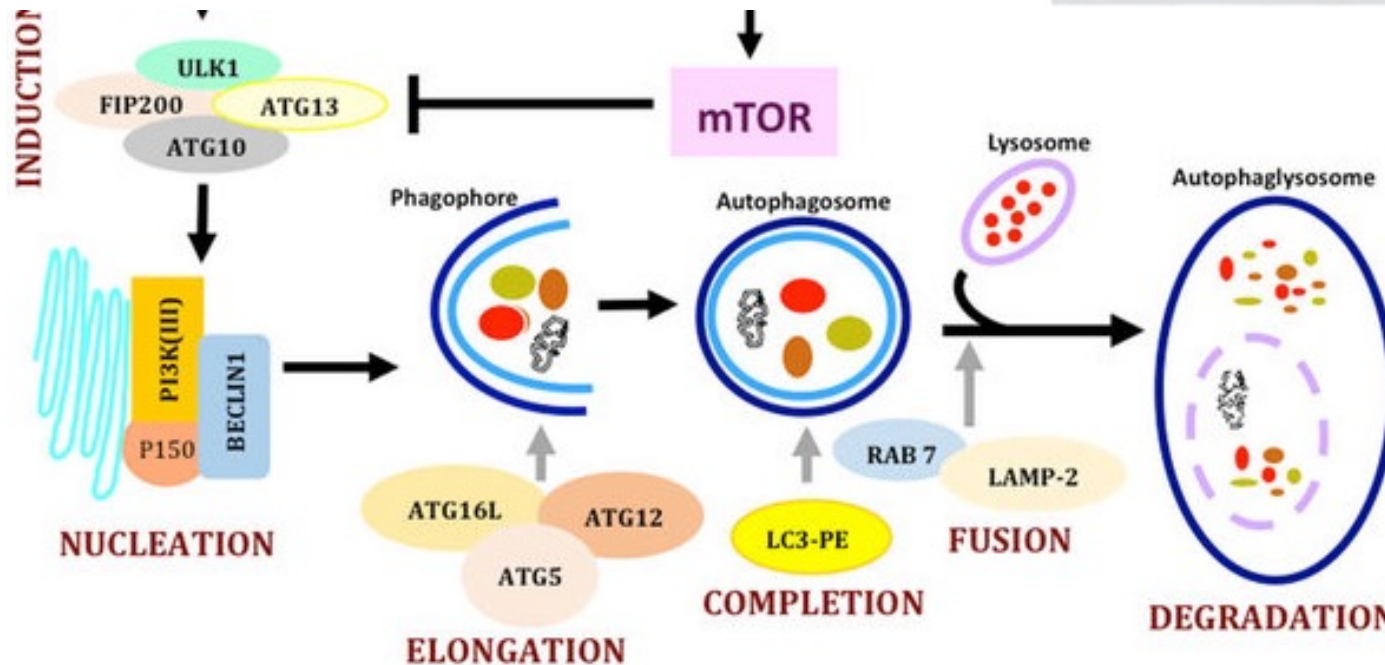
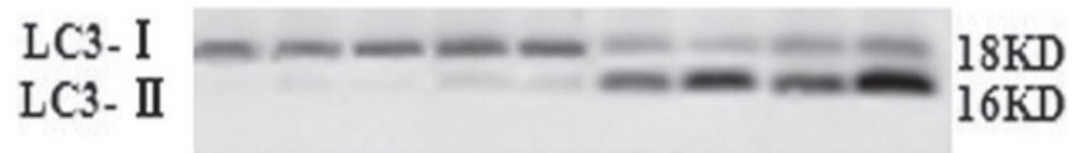
# Microtubule-associated protein light chain 3 (LC3)

## LC3-II è un marcatore di autofagia

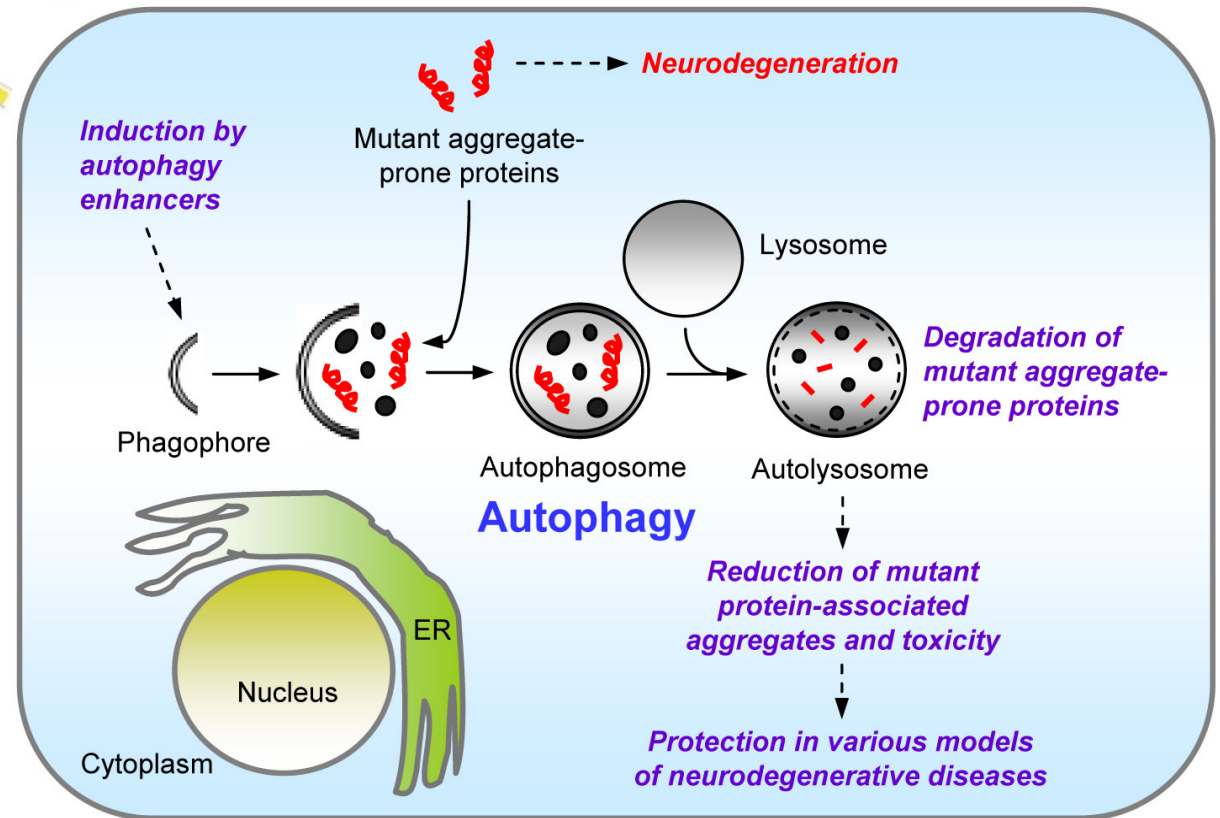
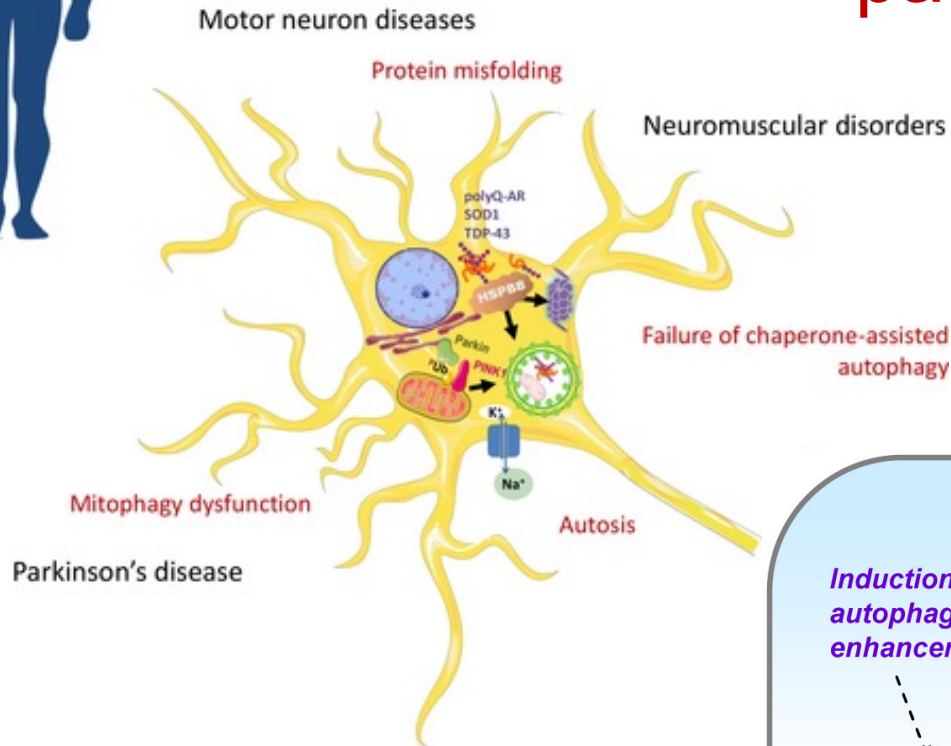
**LC3-II:** forma coniugata con fosfatidiletanolamina (**LC3-PE**) che viene reclutata sulla membrana dell'autofagosoma ed è essenziale per il suo allungamento e chiusura. Inoltre recluta le proteine cargo e la fusione dell'autofagosoma con il lisosoma.



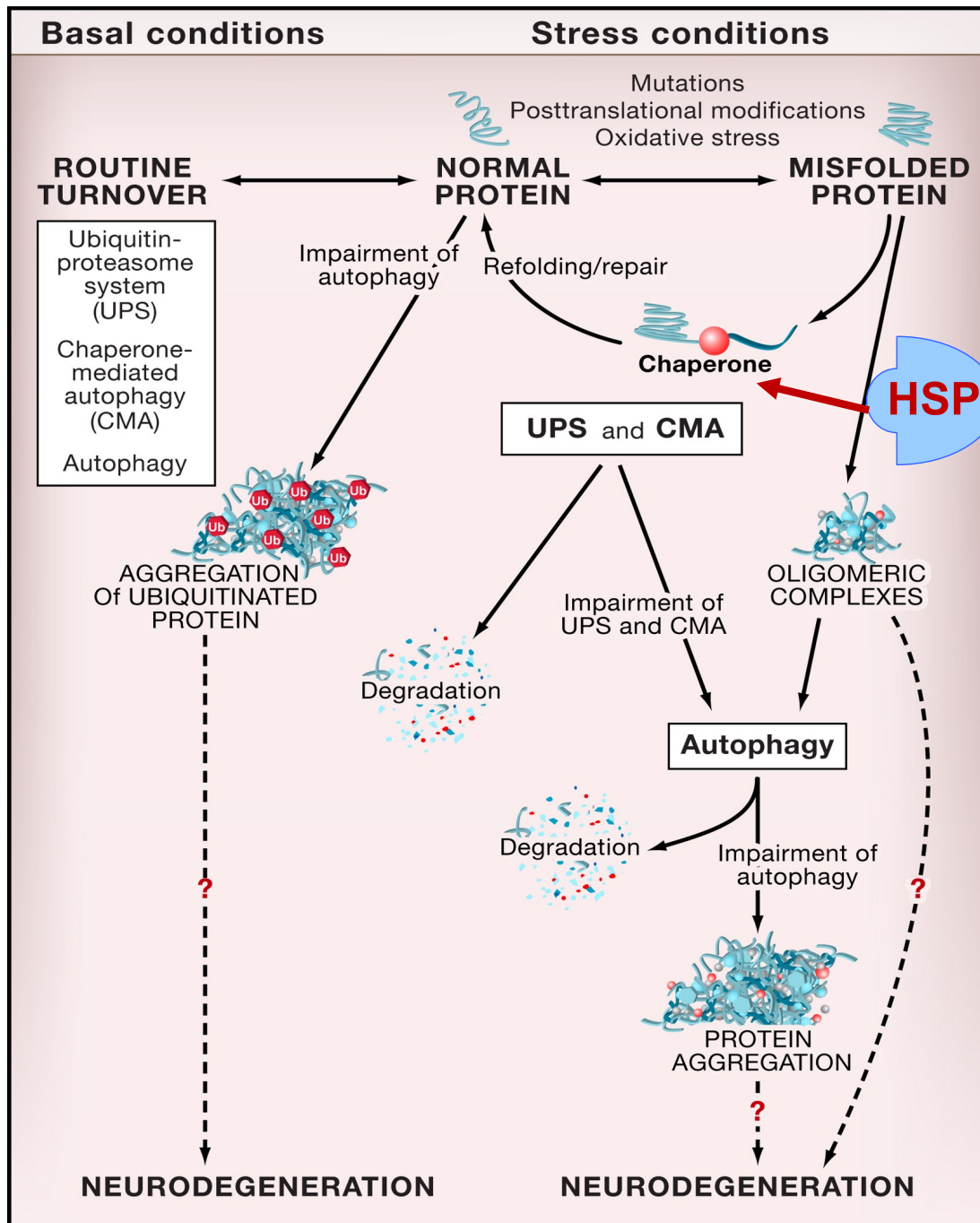
LC3-I viene modificato e lipidato da una molecola di fosfatidiletanolamina (PE). Quando questo succede, il processo autofagico è in atto.



# L'autofagia è coinvolta nelle patologie neurodegenerative



# L'autofagia previene le malattie neurodegenerative



Il processo funziona come una “pattumiera” ed è particolarmente importante in cellule terminalmente differenziate dove le sostanze tossiche non vengono diluite dalla duplicazione cellulare.

**UPS:** ubiquitin-proteasome system

**CMA:** chaperon-mediated autophagy



ULISSE FRANCIOSI

**Digiuno, Autofagia, Cibi Autofagici e Longevità**

*Il "riciclo" e il rinnovamento delle cellule per vivere a lungo in salute*

Presentazione del prof. Ettore Bergamini

NUOVA EDIZIONE ARRICCHITA ED AGGIORNATA

Le ultime straordinarie scoperte scientifiche sulla regolazione dell'autofagia cellulare attraverso l'alimentazione e sui fattori di prevenzione dell'invecchiamento umano



TUTTI I PROVENTI DELL'AUTORE DEVOLUTI ALLA RICERCA

