



**TRABAJO FIN DE GRADO
FACULTAD DE BIOLOGÍA
GRADO EN BIOQUÍMICA**

Funciones emergentes de las proteasas lisosomales en la regulación de procesos tumorales

**MARÍA ACOSTA ARMAS
Julio 2023**

**TUTOR: Jonathan Martínez Fábregas
Departamento de Bioquímica Vegetal y Biología Molecular**

RESUMEN

Los lisosomas son unos orgánulos multifuncionales que regulan la homeostasis celular participando en numerosos procesos biológicos como la degradación y reciclaje de macromoléculas, la respuesta inmune, la reparación de la membrana plasmática, la adhesión/migración celular y la apoptosis. Los cambios y la disfunción lisosomal están involucrados en el desarrollo de numerosas enfermedades. Se ha demostrado el papel crítico que desempeñan los lisosomas en el desarrollo y la progresión tumoral a través de los procesos biológicos mencionados anteriormente, destacando el papel de las proteasas lisosomales. Por lo tanto, comprender la estructura, composición y la química de los lisosomas y dilucidar la relación entre estos orgánulos y el desarrollo tumoral proporciona información relevante para el diagnóstico del cáncer, la predicción del pronóstico y generar nuevas dianas terapéuticas.

Palabras clave: Lisosomas, enzimas lisosomales, catepsinas, autofagia, cáncer, progresión tumoral

Abreviaturas

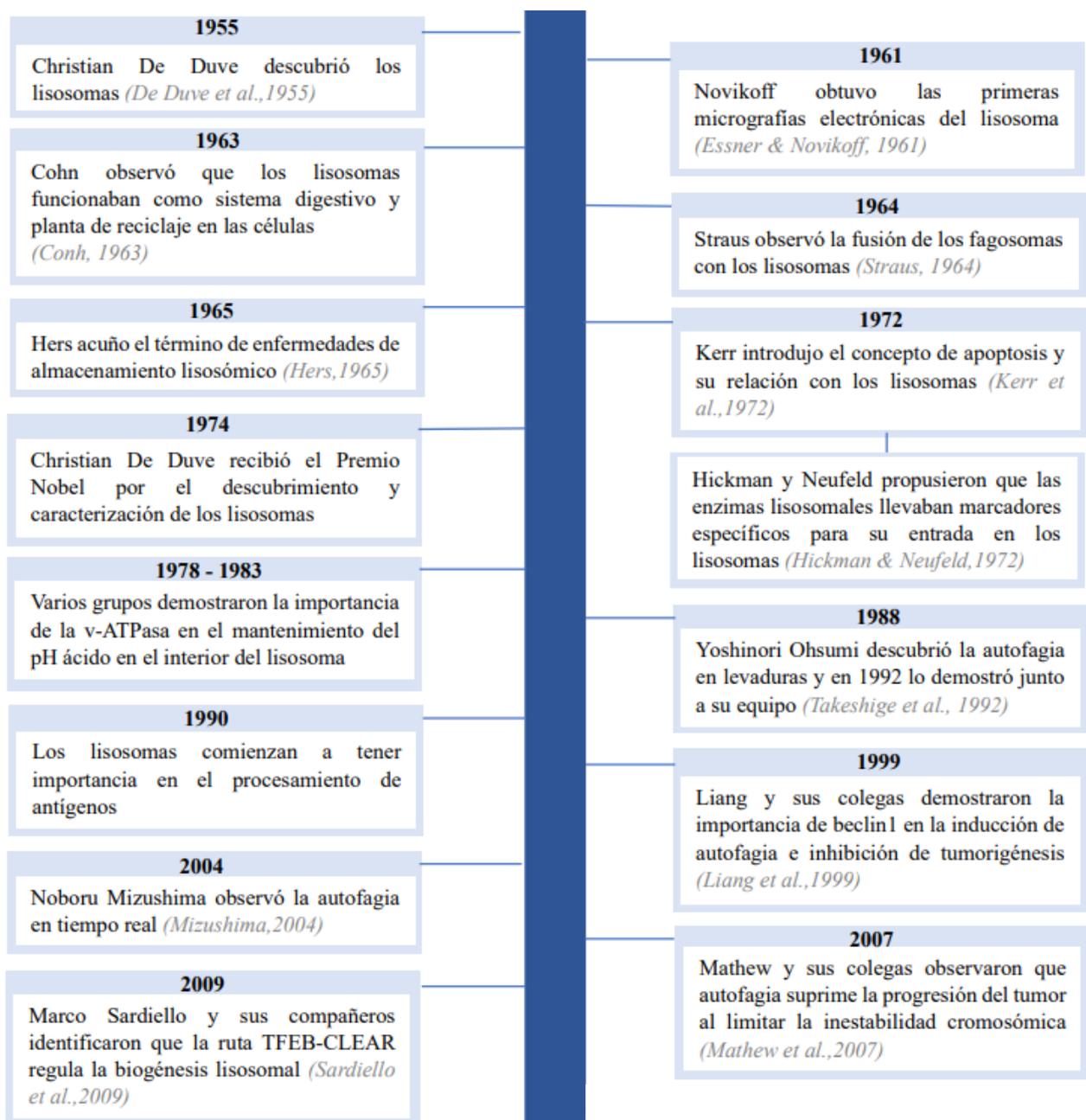
v-ATPasa: H⁺-ATPasa vacuolar; **ATP:** adenosín trifosfato; **SNAREs:** receptores de proteínas de fijación soluble de N-etilmaleimida; **LAMPs:** proteínas asociada a lisosomas; **RER:** Retículo endoplasmático rugoso; **TFEB:** factor de transcripción EB; **mTORC1:** Diana mecanicista de las vías del complejo 1 de rapamicina; **MITF:** factor de transcripción asociado con microftalmia; **TFE3:** factor de transcripción E3; **TFEC:** factor de transcripción C; **TFIIH:** factor de transcripción II H; **TLRs:** receptores tipo Toll; **PAMPs:** patrones moleculares asociados a patógenos; **ATG:** genes relacionados con la autofagia; **CMA:** autofagia mediada por chaperonas; **ULK1:** quinasa tipo Unc-51; **TNF:** factor de necrosis tumoral; **IL-1:** interleucina-1; **ADN:** ácido desoxirribonucleico; **MHC:** complejo principal de histocompatibilidad; **AEP:** endopeptidasa de asparraguina; **LSD:** enfermedades de almacenamiento lisosomal; **EA:** enfermedad de Alzheimer; **EP:** enfermedad de Parkinson; **FTD:** demencia frontotemporal; **ALP:** vía autofagia-lisosoma; **LES:** lupus eritematoso sistémico; **AR:** artritis reumatoide; **SjS:** síndrome de Sjögren; **ELA:** esclerosis lateral amiotrófica; **EM:** esclerosis múltiple; **ROS:** especies reactivas del oxígeno; **PI3K:** fosfatidilinositol 3-quinasa; **AMPK:** quinasa activada por AMP; **MEC:** matriz extracelular; **EMT:** transición epitelio-mesénquima; **LTC:** linfocitos T citotóxicos; **NK:** células natural killer; **CatB:** catepsina B; **IGF-I:** factor de crecimiento similar a la insulina I; **TGF-β:** factor de crecimiento transformante-β; **MTE:** microambiente tumoral; **TAMs:** macrófagos asociados a tumor; **FDA:** administración de alimentos y medicamentos; **CQ:** cloriquina; **HCQ:** hidroxicloriguina.

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	4
2. INTRODUCCIÓN	6
2.1. Descripción general de los lisosomas	6
2.2. Los lisosomas como orgánulos multifuncionales.....	9
2.2.1. Autofagia	10
2.2.1.1. Regulación coordinada de la autofagia y la biogénesis lisosomal.....	12
2.2.2. Inmunidad innata y adaptativa.....	13
2.3. Enzimas lisosomales.....	14
2.4. Disfunción del lisosoma en la enfermedad	15
2.4.1. Enfermedades de almacenamiento lisosomal.....	15
2.4.2. Enfermedades autoinmunes	16
2.4.3. Enfermedades neurodegenerativas	17
3. OBJETIVO	18
4. METODOLOGÍA	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
5.1. Función de los lisosomas en la biología del cáncer.....	20
5.1.1. Papel de la autofagia en el cáncer ¿supresora o promotora de tumores?	20
5.1.2. Papel de las proteasas lisosomales en procesos tumorales.....	22
5.1.3. Análisis bioinformático de correlación entre los niveles de expresión de catepsinas y distintos tipos de cáncer	24
6. CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO	27
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1. ANTECEDENTES

Los lisosomas, orgánulos subcelulares presentes en todas las células animales, son los responsables de la degradación y reciclaje del material extracelular que ha sido internalizado por endocitosis (Doherty & McMahon, 2009) y/o fagocitosis (Green et al., 2016) y de los componentes intracelulares que se han secuestrado por autofagia (Mizushima, 2007). Fueron descritos por primera vez en 1955 por Christian de Duve (De Duve et al., 1955), quién recibió el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por su descubrimiento en 1974. Desde entonces, los lisosomas han sido objeto de numerosos estudios y descubrimientos importantes, lo que ha permitido una mejor comprensión de su papel en la célula (Figura 1).



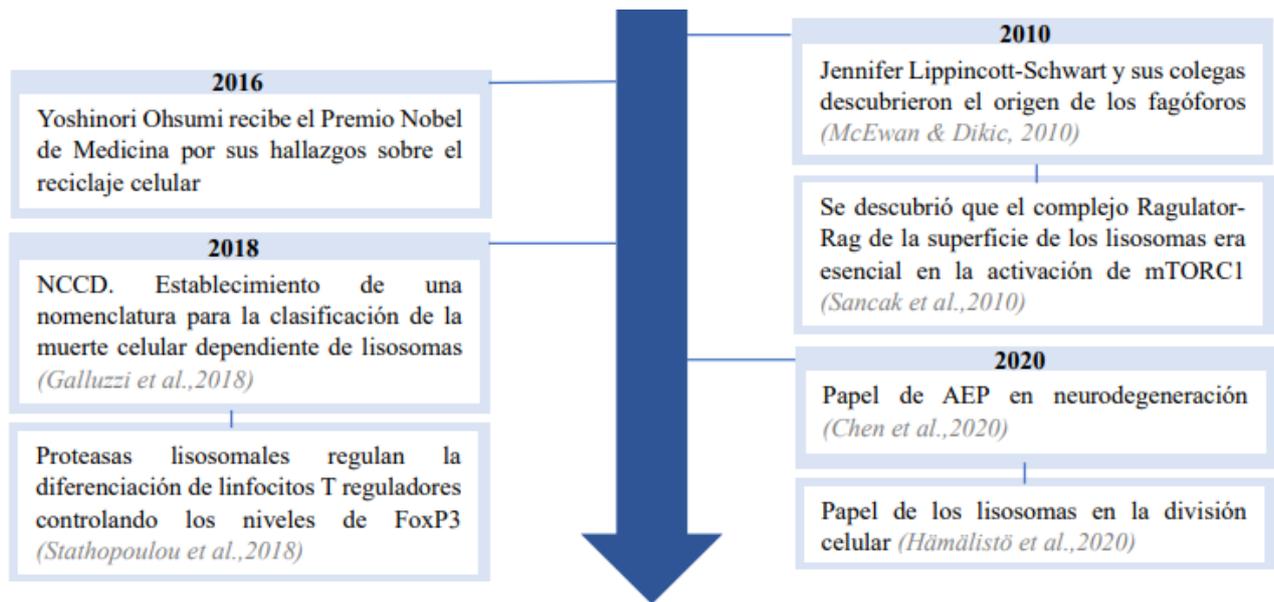


Fig.1| **Línea de tiempo de los principales hallazgos sobre lisosomas.** En esta figura se observan algunos de los acontecimientos más importantes en el desarrollo de la investigación sobre los lisosomas. Desde el descubrimiento y caracterización de los lisosomas por Christian de Duve en 1955, los científicos han realizado grandes contribuciones para desentrañar la estructura y la química de los lisosomas y vincularlos con procesos como la autofagia, la endocitosis, la vía mTOR y la muerte celular, sentando así las bases para utilizar los lisosomas como dianas terapéuticas.

Estos estudios nos han permitido cambiar nuestra visión de los lisosomas, desde simples centros de reciclaje a complejos centros de señalización implicados en la regulación de múltiples procesos fisiológicos.

Actualmente se sabe que estos orgánulos son multifuncionales ya que no solo son clave en la digestión celular, sino que también desempeñan un papel crucial en la respuesta inmune, la adhesión y migración celular, la reparación de la membrana plasmática, la muerte celular programada (apoptosis), la autofagia, la señalización celular y el control del metabolismo (Ballabio & Bonifacino, 2020). Estos procesos son fundamentales para mantener la homeostasis celular, pero cuando se alteran, pueden contribuir al desarrollo y la progresión de distintas enfermedades.

En este sentido, estudios recientes han demostrado la importancia de los lisosomas en diversas patologías como enfermedades neurodegenerativas, trastornos autoinmunes, enfermedades metabólicas y cáncer (Zhang et al., 2021).

La investigación sobre los lisosomas y su implicación en el cáncer ha avanzado significativamente en las últimas décadas. Los lisosomas desempeñan un papel esencial en varios procesos de la progresión tumoral como la invasión celular, la angiogénesis, la resistencia a la quimioterapia y la metástasis (Castro-Gomes et al., 2016; Zhang et al., 2021).

De hecho, se ha relacionado a los lisosomas con diferentes aspectos críticos de la biología de las células cancerosas:

1. Las células tumorales utilizan los lisosomas para obtener los nutrientes y la energía que necesitan para crecer y sobrevivir (Tonnessen-Murray et al., 2019).
2. La activación de la vía de la autofagia permite a las células tumorales desarrollar resistencia a la quimioterapia (Yoon et al., 2012).
3. La disfunción de los lisosomas puede impedir la apoptosis de las células tumorales, lo que contribuye a su crecimiento y supervivencia (Perera et al., 2019).
4. Las enzimas lisosomales contribuyen a la promoción de la invasión y metástasis al ser capaces de degradar la matriz extracelular, lo que permite que las células tumorales migren, invadan y metastaticen a través de los tejidos circundantes (Vidak et al., 2019).
5. La sobreexpresión de estas proteasas lisosomales se ha descrito en la mayoría de tumores en humanos y se correlaciona con una mayor agresividad y progresión del cáncer (Kos et al., 2022).

La investigación sobre los lisosomas sigue siendo un área activa y vital en la Biología Celular y la Medicina, representando una diana terapéutica atractiva para el desarrollo de nuevas estrategias contra el cáncer y otras enfermedades en las que la disfunción de estos orgánulos interviene.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Descripción general de los lisosomas

Los lisosomas son orgánulos esféricos de dimensiones variables rodeados por una membrana lipídica, que contienen en su interior abundantes enzimas hidrolíticas capaces de degradar tanto el material extracelular que la célula ha tomado por endocitosis (heterofagia) como estructuras intracelulares o macromoléculas dañadas o innecesarias (autofagia). Además de degradar moléculas estos orgánulos tienen funciones críticas en la señalización celular, el metabolismo, la reparación de membranas, la homeostasis y la respuesta inmunitaria (Settembre et al., 2013; Xu & Ren, 2015).

Los lisosomas contienen un conjunto de proteínas específicas (Braulke & Bonifacino, 2009) entre los que destacan I) las hidrolasas ácidas que degradan los diferentes sustratos entre las que encontramos proteasas, lipasas, glucosidasas, etc, II) activadores enzimáticos y factores que ayudan en la degradación, así como III) proteínas transportadoras. Los lisosomas se caracterizan por tener un pH interno ácido, que oscila entre 4.5 – 5.0, valor en el que las enzimas

degradativas muestran su máxima actividad (hidrolasas ácidas). Este pH se mantiene gracias a bombas de protones dependientes de ATP que hay en sus membranas, acidificando su interior y favoreciendo la digestión de macromoléculas (Mindell, 2012). Los lisosomas se protegen de esta actividad destructora de las enzimas hidrolíticas y de la acidez con una capa de glúcidos que recubre la cara interna de su membrana (Ballabio & Bonifacino, 2020). Además, los lisosomas contienen en su membrana diversas bombas, canales iónicos y transportadores de membrana específicos que permiten el paso de iones y productos de la degradación, por lo tanto, garantizan que el material degradado en el interior de los lisosomas sea devuelto al citosol donde se puede reutilizar en la síntesis de nuevas biomoléculas. En la cara citosólica se encuentran I) complejos señalizadores y factores de transcripción que transducen las señales metabólicas, II) factores de unión, complejos adaptadores y motores de microtúbulos que favorecen la fusión y contacto con otros orgánulos y III) pequeñas GTPasas que controlan la activación y reclutamiento de estas moléculas (Figura 2).

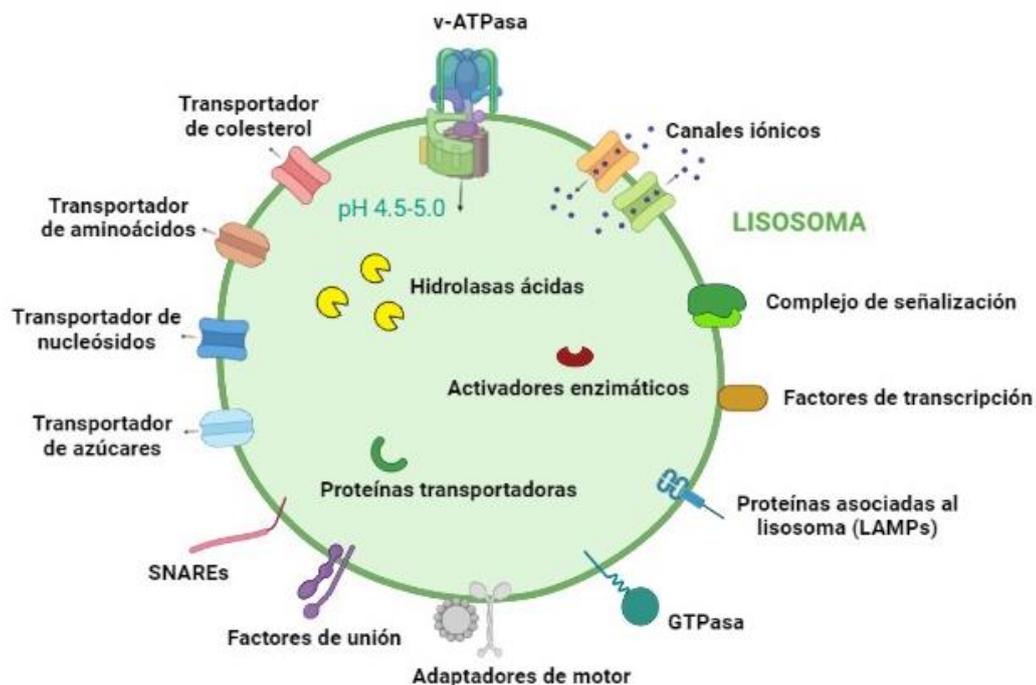


Fig.2 | **Estructura de un lisosoma.** En esta figura se puede observar las características de un lisosoma: son orgánulos rodeados por una membrana lipídica que contiene enzimas hidrolíticas en su parte luminal y una serie de proteínas transportadoras y bombas de protones, que garantizan el transporte de solutos a través de su membrana y el mantenimiento de un pH ácido, respectivamente. (Modificada con BioRender de Ballabio and Bonifacino, 2020).

Los lisosomas están altamente regulados, son dinámicos y heterogéneos en cuanto a contenido, morfología y localización en la célula (Johnson et al., 2016; Li et al., 2016; Saric et al., 2016). Los lisosomas más cercanos al núcleo poseen mayor acidez que los periféricos y estos últimos mediante su asociación con mTORC1 participan en la regulación de la disponibilidad de nutrientes y en la reparación de membranas (Perera & Zoncu, 2016).

En función de las necesidades de la célula y de su entorno, el número y tamaño de los lisosomas puede variar (Lawrence & Zoncu, 2019). Esto fue inicialmente caracterizado en 2012, cuando por primera vez se describió el eje mTORC1/TFEB y su papel como regulador de biogénesis de lisosomas y autofagia. En condiciones nutricionales favorables, mTORC1 se encuentra en la superficie del lisosoma, activo y promoviendo proliferación celular. Por el contrario, en condiciones de déficit nutricional, –p.e. ausencia de aminoácidos– mTORC1 se disocia del lisosoma y se inactiva, lo que promueve la activación de TFEB, un factor transcripcional de la familia MIT. Una vez activo, TFEB se transporta al núcleo donde activa la transcripción de genes lisosomales y autofágicos. Así, en momentos de escasez de alimentos las células aumentan el número de lisosomas para descomponer el interior celular y obtener energía (Settembre et al., 2012).

Para la generación de nuevos lisosomas, su regeneración o aumento de tamaño se necesita coordinación entre el tráfico vesicular y la síntesis proteica (Saftig & Klumperman, 2009). La biogénesis lisosomal está genéticamente muy controlada y coordinada. Todos los genes que codifican proteínas lisosomales, incluidos los transportadores de membrana y las hidrolasas ácidas y muchos genes autofágicos comparten un motivo común en su promotor conocido como CLEAR, cuya secuencia canónica es 5'-GTCACGTGAC-3' al que se unen factores de transcripción como TFEB, TFE3, TFEC, MITF y TFIIH (Palmieri et al., 2009; Franco-Juárez et al., 2022).

La red de rutas de señalización implicadas en la regulación de la expresión de proteínas lisosomales y de la actividad lisosomal ha seguido expandiéndose gracias a trabajos más recientes (Martínez-Fábregas et al., 2022). Estos trabajos están revelando una compleja red de regulación lisosomal, que nos permite entender el papel central que el lisosoma desempeña no solo en procesos fisiológicos, sino también en el desarrollo de múltiples enfermedades.

Los lisosomas obtienen sus proteínas mediante transporte vesicular. Las enzimas lisosomales se sintetizan en los ribosomas del Retículo Endoplásmico Rugoso (RER), a cuya luz se incorporan para ser transportadas hacia el aparato de Golgi, donde se seleccionan en la cara trans por medio de un receptor de manosa-6-fosfato (Ghosh et al., 2003). Después de sucesivas modificaciones en el RER y el aparato de Golgi, las enzimas lisosomales se empaquetan en vesículas recubiertas de clatrina, que se expulsan desde la cara trans del aparato de Golgi. En primer lugar, se añade N-acetil-glucosamina fosfato a residuos específicos de manosa, luego se

produce la eliminación del grupo N-acetil-glucosamina, dejando residuos de manosa-6-fosfato (Korfeld, 1987).

Las vesículas recubiertas de clatrina que se emiten desde la cara trans del aparato de Golgi se denominan lisosomas primarios, estos son de pequeño tamaño y solo contienen enzimas digestivas. Después, estas vesículas pierden la cubierta de clatrina y pueden fusionarse con otros lisosomas primarios, fagosomas (fagolisosomas), endosomas (endolisosomas) o incluso con lisosomas secundarios. Los lisosomas secundarios son de mayor tamaño y poseen contenido heterogéneo (enzimas, sustratos y productos de hidrólisis), y se forman por maduración de endosomas tardíos.

El proceso de formación de nuevos lisosomas en las células se conoce como biogénesis lisosómica. Se trata de un proceso complejo en donde se fusionan endosomas tardíos, que contienen material captado en la superficie celular, con vesículas de transporte que brotan de la red trans-Golgi, cuya regulación genética está muy controlada. Una vez formados, los lisosomas desempeñan numerosas funciones celulares, entre las que se incluyen la degradación y reciclaje de moléculas, la regulación de la señalización intracelular y la respuesta a situaciones de estrés. Para la preservación de la homeostasis celular y el correcto funcionamiento de los sistemas biológicos, la regulación de la actividad lisosomal es fundamental (Luzio et al., 2007).

2.2. Los lisosomas como orgánulos multifuncionales

Los lisosomas, además de desempeñar un papel crucial en el catabolismo celular pueden actuar como centros señalizadores en las células (Lawrence & Zoncu, 2019). Se encuentran en una posición única para interactuar con otros orgánulos celulares y responder a diferentes estímulos ambientales, contribuyendo así al mantenimiento de la homeostasis y el correcto funcionamiento celular (Perera & Zoncu, 2016; Ballabio & Bonifacino, 2020).

Hoy en día, se sabe que los lisosomas están involucrados en muchos procesos biológicos tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Ballabio & Bonifacino, 2020; Yang & Wang, 2021; Zhang et al., 2021). Fisiológicamente los lisosomas desempeñan un papel central en el control de los procesos biológicos, entre los que destacan la regulación del metabolismo celular por la integración de señales procedentes de distintos compartimentos, la respuesta inmune, la reparación de membranas, la migración y adhesión celular y la regulación de eventos transcripcionales y traduccionales (Inpanathan & Botelho, 2019; Martínez-Fábregas et al., 2022). El papel central que ejercen estos orgánulos en la regulación de los procesos biológicos

facilita comprender por qué la disfunción lisosomal está íntimamente asociada con la aparición y el desarrollo de diversas patologías humanas.

2.2.1. Autofagia

La autofagia es un proceso celular catabólico altamente conservado, desde levaduras hasta mamíferos, en el que se degradan y reciclan componentes celulares dañados, envejecidos o disfuncionales para el mantenimiento de una función celular adecuada (Ohsumi, 2014).

Se trata de un mecanismo esencial para mantener la homeostasis celular (Chun & Kim, 2018), que juega un papel importante en la comunicación, el desarrollo, la respuesta al estrés, la modulación de la función inmunitaria, el envejecimiento, el mantenimiento de la integridad de la barrera tisular y la defensa contra patógenos intracelulares, entre otros (Mizushima & Levine, 2010; Fang et al., 2015; He et al., 2018; Leidal et al., 2018; Yun & Lee, 2018; Morishita & Mizushima, 2019; Chang, 2020; Deretic, 2021). En condiciones normales, todas las células utilizan niveles basales de autofagia con el fin de ayudar en el mantenimiento de la función biológica, mantener la homeostasis, el control de calidad del contenido celular y la eliminación de proteínas viejas y orgánulos dañados (Mizushima, 2007; Yu et al., 2018).

La autofagia es un mecanismo de supervivencia celular muy regulado. Su desregulación está implicada en patologías como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas y trastornos autoinmunes, trastornos cardiovasculares, renales, pulmonares y hepáticos y disfunciones reproductivas (Mizushima, 2018; Klionsky et al., 2021). Además, una desregulación de la autofagia está relacionada con el envejecimiento fisiológico (Saxton & Sabatini, 2017). Actualmente, los mecanismos de la autofagia son muy estudiados ya que su disfunción representa un paso crucial en la patología de muchas enfermedades y podría ser un objetivo para las futuras intervenciones.

Aunque normalmente se use el término autofagia para referirse a la macroautofagia, se pueden distinguir otros tipos de autofagia en las células. Se trata de procesos morfológicamente diferentes que convergen en el transporte de sustancias al lisosoma para su degradación y reciclaje (Figura 3):

- **Macroautofagia:** Se inicia con la formación del fagóforo, este crece y engulle el material a degradar, que se secuestra en vesículas de doble membrana (autofagosomas). La formación de los autofagosomas implica una familia conservada de genes relacionados con la autofagia (ATG), que se activan y reclutan

en las membranas para iniciar la autofagia. Posteriormente, los autofagosomas se fusionan con los lisosomas formando los autolisosomas, en donde su contenido se descompone en constituyentes básicos para ser utilizados en la síntesis de nuevas moléculas o para generar energía (Reggiori & Ungermann, 2017). El contenido que se introduce en autofagosoma puede seleccionarse de forma selectiva (autofagia selectiva) o de forma no selectiva (autofagia no selectiva). La autofagia no selectiva se induce principalmente por situaciones de estrés como la falta de alimento, cuando el aporte de aminoácidos o glucosa no es suficiente, la falta de factores de crecimiento, infecciones, estrés oxidativo o hipoxia. Por otro lado, la autofagia selectiva se activa para eliminar componentes celulares específicos como orgánulos dañados o agregados proteicos (Gatica et al., 2018; Nam, 2021). Así, de esta manera podemos distinguir distintos tipos de autofagia selectiva: agrefagia (degradación de agregados de proteínas), mitofagia (degradación de mitocondrias), pexofagia (degradación de peroxisomas), reticulofagia (degradación de retículo endoplasmático), nucleofagia (degradación de núcleos), lisofagia (degradación de lisosomas), xenofagia (degradación de bacterias y virus), lipofagia (degradación de gotas lipídicas), ferritinofagia (degradación de ferritina) y glicofagia (degradación de glucógeno) entre otros (Kirkin & Rogov, 2019; Pérez-Montoyo, 2020).

- **Microautofagia:** este tipo de autofagia puede ser selectiva o no selectiva, consiste en la captación del material citosólico directamente por el lisosoma, mediante la formación de pequeñas invaginaciones de su membrana, que se desprenden de ésta y quedan en el interior del lisosoma en donde serán degradadas por acción de las hidrolasas ácidas presentes en su interior (Mijaljica et al., 2011; Nam, 2021; Wang et al., 2023).
- **Autofagia mediada por chaperonas (CMA):** mediante este tipo de autofagia se incorporan proteínas citosólicas a través de un transportador localizado en la membrana del lisosoma. Se trata de un proceso muy específico, ya que únicamente son reconocidas las proteínas que poseen el motivo canónico KFERQ (Kirchner et al., 2019). La chaperona citosólica HSC70 se une a esta región y se encarga de mantener expuesta esta secuencia para facilitar su reconocimiento y evitar el plegamiento de la proteína sobre sí misma dirigiendo a las proteínas para la degradación lisosomal. El complejo chaperona-sustrato se une a LAMP2A (proteína de membrana asociada a superficie de los lisosomas) la cual internaliza el sustrato en el lisosoma en donde se va a degradar (Kaushik & Cuervo, 2018; Nam, 2021).

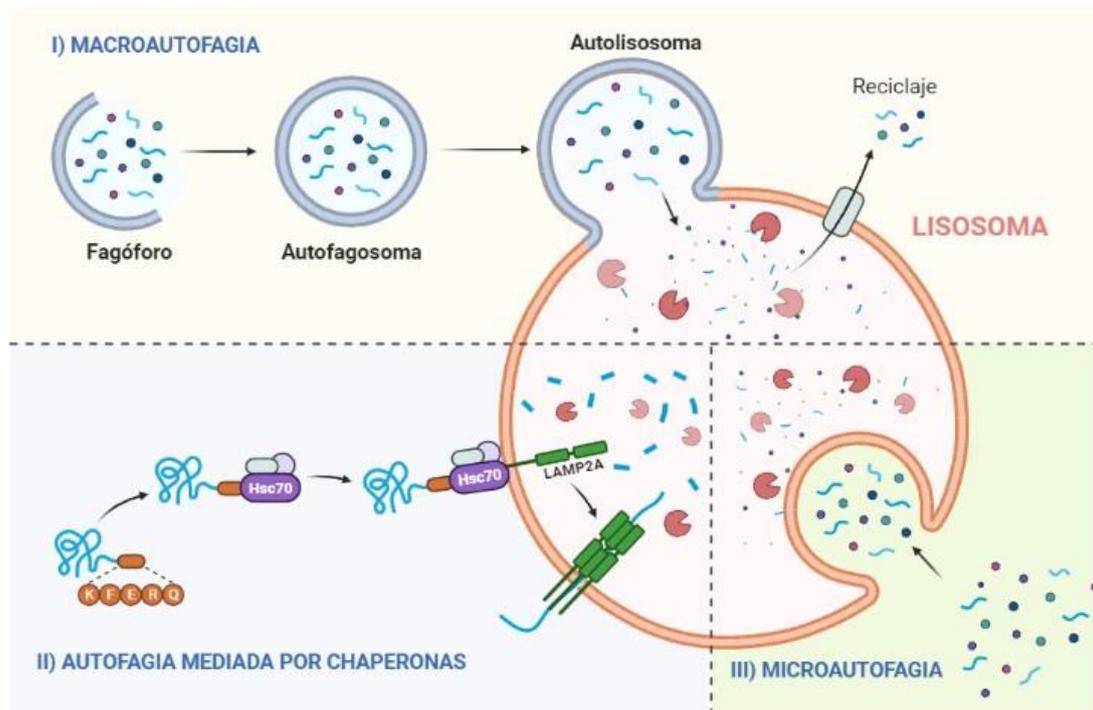


Fig.3 | **Tipos de autofagia.** En esta figura se pueden observar los distintos tipos de autofagia que existen en mamíferos: macroautofagia, autofagia mediada por chaperonas y microautofagia. I) Cuando se induce la macroautofagia, el material citoplásmico se engulle por el fagóforo y forma el autofagosoma que se fusiona con el lisosoma para ser degradado. II) En la CMA el motivo KFERQ es reconocido por Hsc70 y se une con LAMP2A, que media la translocación del sustrato a los lisosomas para su degradación. III) En la microautofagia el lisosoma absorbe directamente la carga citoplásmica (Modificada con BioRender de Nam, 2021).

2.2.1.1. Regulación coordinada de la autofagia y la biogénesis lisosomal

Las células son capaces de censar su estado energético y actividad lisosomal y de regular la transcripción de los genes lisosomales para adecuarse a la disponibilidad nutricional y energética. Esta vía de regulación lisosómica se basa en el eje mTORC1-TFEB (Settembre et al., 2011). mTORC1 es una quinasa de serina/treonina que integra la información sobre la disponibilidad de factores de crecimiento, oxígeno, glucosa, aminoácidos y energía con el fin de regular el metabolismo. TFEB es un factor de transcripción miembro de la familia de factores de transcripción de cremallera de leucina (MiT/TFE) asociado a la microftalmía, tras activarse este se transloca al núcleo en donde se une a los motivos CLEAR activando la transcripción coordinada de genes lisosomales y autofágicos (Franco-Juárez et al., 2022; Martínez-Fábregas et al., 2022).

La localización de la quinasa mTORC1 en la superficie del lisosoma es crítica para su función, por lo que para iniciar la señalización se requiere su reclutamiento, que está mediado por la activación dependiente de aminoácidos de las RAG GTPasas heterodiméricas y su interacción con el complejo Ragulator-Rag (complejo proteico que se encuentra en la membrana del lisosoma) (Sancak et al., 2010). Cuando se detecta una gran cantidad de

aminoácidos, es decir, hay abundancia de nutrientes, mTORC1 se activa e inhibe los factores de transcripción (Napolitano et al., 2018) que conducen a la expresión de los genes que inician la autofagia y la biogénesis lisosomal a través de la fosforilación de la quinasa tipo Unc-51 (ULK1) secuestrándolos en el citosol (Kim et al., 2011). Además, en estas condiciones se activan las vías anabólicas promoviendo el crecimiento y la proliferación celular (Saxton & Sabatini, 2017). Por otro lado, cuando los niveles de aminoácidos son bajos, es decir, cuando las condiciones metabólicas son desfavorables, mTORC1 se inhibe y permite que los factores de transcripción ingresen al núcleo, donde activan la expresión de genes que inician la autofagia y la biogénesis lisosomal. Además de desencadenar este proceso, la inhibición de mTORC1 permite el desplazamiento de los lisosomas periféricos hacia el interior celular, donde pueden fusionarse con los autofagosomas y descomponer su contenido para obtener energía (Yu et al., 2010).

2.2.2. Inmunidad innata y adaptativa

La actividad lisosomal influye directamente en la regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa. Los lisosomas desempeñan un papel clave en la detección y señalización de patógenos, a través del procesamiento y la presentación de antígenos. Además, los lisosomas se encuentran estrechamente relacionados con las distintas etapas de vida de las células dendríticas, que son las células encargadas de conectar la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa (Reis e Sousa, 2004; Steinman, 2007; Watts, 2022).

En la respuesta inmune innata, los patógenos se internalizan mediante fagocitosis y se dirigen hacia los lisosomas para su degradación por las enzimas hidrolíticas, actuando así durante la infección como un sistema de defensa intracelular (Sachdeva & Sundaramurthy, 2020). En caso de escapar del fagosoma y liberarse al citosol, a través de la autofagia se pueden capturar los patógenos y dirigirlos a los lisosomas para su destrucción. Además, varias proteasas lisosomales se encargan del procesamiento proteolítico necesario para la activación de los receptores tipo toll (TLR) encargados de detectar los PAMPs (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos, por sus siglas en inglés), moléculas características de los patógenos cuyo reconocimiento por los receptores del sistema inmune innato desencadena una respuesta inmune rápida y generalizada. Esta respuesta incluye la producción de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1), que promueven la inflamación y el reclutamiento de células del sistema inmune a la zona infectada, y la inducción de la fagocitosis, proceso por el cual las células fagocíticas, engullen y destruyen

en su interior a los microorganismos invasores (Sepulveda et al., 2009; Kawai & Akira, 2010; Ewald et al., 2011; Manoury, 2011; Maschalidi et al., 2012; Hipp et al., 2013).

Los lisosomas secretores (Blott & Griffiths, 2002) regulan la exocitosis lisosómica de los gránulos líticos o la desgranulación. Los linfocitos T citotóxicos contienen lisosomas secretores en cuyo interior poseen hidrolasas ácidas además de proteínas letales como las perforinas y las granzimas (Peters et al., 1991). Cuando estos linfocitos interactúan con células huésped infectadas por virus y con células cancerosas liberan perforinas y granzimas. Las perforinas forman un poro en la célula diana permitiendo el paso de agua y solutos lo que provoca su muerte por lisis osmótica. Las granzimas son unas proteasas que se introducen en la célula diana a través de los poros formados provocando la apoptosis de la célula mediante la activación de caspasas y la acción de las nucleasas que fragmentan el ADN (Lettau et al., 2015; Martínez-Lostao et al., 2015; Durgeau et al., 2018).

En la respuesta inmune adaptativa, los lisosomas están involucrados en el procesamiento y la presentación de antígenos. En las células presentadoras de antígenos –macrófagos, células dendríticas y linfocitos B– las proteínas antigénicas son transportadas al lisosoma donde se degradan en fragmentos más pequeños para formar antígenos y estos se cargan en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) y se presentan a los linfocitos T activando así la respuesta inmune. Este proceso además de mostrar péptidos extraños también es capaz de mostrar antígenos propios, por lo que juega un papel esencial en el desarrollo de la autotolerancia (Watts, 2022).

Aun así, todavía no se comprende del todo bien como las células presentadoras de antígenos son capaces de modular su actividad lisosomal durante las distintas fases de la respuesta inmune, para así garantizar una eficiente generación de antígenos al principio de la respuesta inmune vs una máxima actividad para eliminar la infección durante la respuesta inflamatoria (Martínez-Fábregas et al., 2022).

2.3. Enzimas lisosomales

Los lisosomas son orgánulos celulares que contienen alrededor de 60 tipos de enzimas hidrolíticas entre las que se incluyen nucleasas, proteasas, fosfatasas, lipasas, sulfatasas y glucosidasas, capaces de degradar y eliminar los componentes celulares y extracelulares no deseados o dañados. Todas estas enzimas son hidrolasas ácidas ya que requieren de un pH ácido (entre 4,5 y 5,0) para una actividad óptima.

En las últimas décadas, las enzimas proteolíticas han adquirido un gran interés en la fisiopatología tumoral debido a su papel potencial en la degradación de los componentes de la matriz extracelular y la membrana basal, facilitando de esta forma la invasión tumoral y la metástasis (Pišlar et al., 2018; Jakoš et al., 2019; Kos, 2022; Kos et al., 2022).

Las proteasas o peptidasas son las enzimas proteolíticas que catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos en la mayoría de los procesos biológicos. Se trata de una gran familia de hidrolasas lisosomales que se pueden clasificar en distintos grupos según su estructura y tipo catalítico. Las catepsinas se clasifican en: proteasas de cisteína (B, C, F, H, K, L, O, S, V, W y X), proteasas de serina (A y G) y proteasas de aspártico (E y D) (Jiang et al., 2023). Además de las catepsinas, encontramos la endopeptidasa de asparraguina (AEP o legumina), una proteasa de cisteína no relacionada con las catepsinas, evolutivamente relacionada con las caspasas, y que corta exclusivamente detrás de residuos de asparraguina. La localización de este tipo de enzimas no se limita al lumen del compartimento lisosomal, se pueden encontrar también en el citosol, en el espacio extracelular y en núcleo lo que indica que tienen un amplio espectro de actividades biológicas (Reiser et al., 2010; Stoka et al., 2016; Wang et al., 2018; Vidak et al., 2019).

2.4. Disfunción del lisosoma en la enfermedad

Los lisosomas desempeñan un papel central en el mantenimiento de la homeostasis celular (Ballabio & Bonifacino, 2020). Con el fin de proteger a las células del daño o la muerte, los lisosomas responden rápidamente a las distintas condiciones, aumentando o disminuyendo su función y/o número, así como modificando su localización dentro de la célula. La alteración de las funciones lisosomales puede traer consigo diversos efectos perjudiciales como el deterioro de elementos de la maquinaria metabólica celular, la desregulación de la señalización celular, la incapacidad para eliminar desechos tóxicos, la inflamación y la apoptosis (Bonam et al., 2019). Dichos efectos están implicados en diversas patologías, entre las que destacan los trastornos de almacenamiento lisosomal, los trastornos autoinmunes y las enfermedades neurodegenerativas. Además, con el envejecimiento se da una pérdida progresiva de la actividad de los lisosomas, lo que contribuye al desarrollo enfermedades asociadas con la edad (Zhang et al., 2021).

2.4.1. Enfermedades de almacenamiento lisosomal

Las enfermedades de almacenamiento lisosomal (LSD, por sus siglas en inglés), son un grupo heterogéneo de trastornos genéticos causados por mutaciones en los genes que codifican

hidrolasas lisosomales, proteínas de membrana lisosomal, proteínas implicadas en el tráfico y proteínas no lisosomales (Bonam et al., 2019; Trivedi, 2020). En las LSD los sustratos no se degradan y se acumulan en los lisosomas, causando estrés y disfunción de las células, tejidos y órganos. Esto puede afectar al desarrollo del sistema nervioso central y el sistema inmune provocando síntomas severos e incluso la muerte (Ballabio & Gieselmann, 2009; Ren & Wang, 2020).

Hasta la fecha, se han descubierto más de 70 tipos de LSD. A pesar de que la incidencia de cada tipo sea muy baja, los trastornos de almacenamiento lisosomal como grupo, es una de las enfermedades genéticas más comunes. Dependiendo del sustrato que se acumule en el interior de los lisosomas se distinguen distintos tipos de esta enfermedad. Por ejemplo, la enfermedad de Pompe, una mutación en el gen GAA que codifica para la enzima α -glucosidasa lisosomal provoca la acumulación generalizada de glucógeno tipo II que afecta principalmente a los músculos esqueléticos y respiratorios (Dasouki et al., 2014). Por otro lado, una mutación en el gen GBA, que codifica para la enzima glucocerebrosidasa lisosomal provoca la enfermedad de Gaucher, que presenta la organomegalia y la citopenia como características clínicas (Stirnemann et al., 2017). De manera similar, una mutación en la isoforma A o B del gen HEX que codifica para la hexosamidasa causa la enfermedad de Tay-Sachs o Sandhoff (Dersh et al., 2016). Análogamente, defectos en las proteínas de la membrana lisosomal como LAMP2 y NPC1 causan las enfermedades de Danon y Niemann-Pick tipo C, respectivamente (Seranova et al., 2017).

Muchas enfermedades de almacenamiento lisosomal están relacionadas con fenotipos neurodegenerativos. Algunas mutaciones que causan LSD se consideran factores de riesgo para el desarrollo de trastornos neurodegenerativos de aparición tardía como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington y la demencia frontotemporal (FTD) (Perera & Zoncu, 2016).

2.4.2. Enfermedades autoinmunes

En las enfermedades autoinmunes, el sistema inmune ataca erróneamente a sus propias células y tejidos, dando lugar a disfunciones en varios sistemas y órganos. Los lisosomas desempeñan un papel fundamental en las vías centrales del sistema inmunitario, incluidos el procesamiento y presentación de antígenos, la señalización de la muerte celular, el procesamiento de citoquinas, la activación de señalización mediada por el receptor Toll-like (TLR), etc. Se ha visto que los lisosomas desempeñan un papel multifacético en este tipo de

trastornos al demostrar que la autofagia, la expresión de enzimas lisosomales y el pH luminal de las células inmunes están alterados en los pacientes que padecen este tipo de trastornos (Bonam et al., 2018). En la autofagia, los autofagosomas formados se deben fusionar con los lisosomas para procesar antígenos, eliminar restos apoptóticos nocivos, reciclar moléculas y producir energía. Si se producen alteraciones en este procesamiento se pueden ver afectadas las funciones inmunitarias de las células, como el control de la liberación de citoquinas, la anergia de las células autoinmunes, la muerte celular programada y la autofagia (Wang et al., 2017; Bonam et al., 2019).

Los lisosomas pueden estar implicados en la patogénesis y la progresión de distintas enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoide (AR), el síndrome de Sjögren (SjS), la enfermedad de Crohn, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y la esclerosis múltiple (EM) (Zhang et al., 2021).

- a. El lupus eritematoso sistémico es un trastorno autoinmune caracterizado por la producción de autoanticuerpos, inflamación aberrante y daño multiorgánico. La autofagia activada respalda la supervivencia, el desarrollo y la diferenciación de las células B y las células T (Zhang et al., 2021). En el LES la autofagia se encuentra desregulada (Gros et al., 2012), demostrándose la correlación entre los genes ATG, implicados en la autofagia, y la susceptibilidad al LES (Qi et al., 2019).
- b. En la artritis reumatoide se ha observado que los lisosomas en las células inflamatorias, como los fibroblastos sinoviales y los macrófagos, están hiperactivos. Esto puede contribuir a la degradación excesiva del cartílago y la inflamación crónica en las articulaciones afectadas. Una autofagia excesiva puede exacerbar la autoinmunidad en la AR (Matsuzawa-Ishimoto et al., 2018).

2.4.3 Enfermedades neurodegenerativas

Muchos trastornos neurodegenerativos se caracterizan por la agregación de proteínas y orgánulos anormales. Para la supervivencia de las neuronas es esencial eliminar estos agregados neurotóxicos que se acumulan en el cerebro mediante la vía autofagia-lisosoma (ALP) (Boland et al., 2018). Varias enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP) y la enfermedad de Huntington (EH) están relacionadas con la eliminación defectuosa por ALP y/o el aumento de la agregación anormal de proteínas características de cada enfermedad (Nixon, 2013; Martini-Stoica et al., 2016; Lie & Nixon,

2019; Zhang et al., 2021). Actualmente es difícil esclarecer si ALP defectuosa puede ser la causa o la consecuencia de los trastornos neurodegenerativos. Esta situación se puede agravar con la interacción de ALP disfuncional con agregados neurotóxicos, orgánulos dañados, especies reactivas de oxígeno y un aporte energético insuficiente (Darios & Stevanin, 2020). El lisosoma juega un papel importante en el mantenimiento de la salud neuronal, especialmente dada la capacidad regenerativa limitada y el estado postmitótico de este tipo celular, actuando, así como nexo de una gran variedad de trastornos asociados con la disfunción neurológica.

La presenilina-1 (PS-1) está involucrada en la maduración de la v-ATPasa, necesaria para la acidificación del interior del lisosoma y activación de las hidrolasas ácidas. Una mutación en PS-1 altera la autofagia promoviendo el desarrollo de la EA (Lee et al., 2010; Zhang et al., 2021).

La EP se caracteriza por el depósito y agregación de α -sinucleína, con la formación de cuerpos de Lewy. Esta proteína aberrante se elimina mediante la autofagia mediada por chaperonas (CMA) para mantener la homeostasis neuronal. Una mutación en LRRK2 bloquea la entrada de esta proteína al lisosoma para su degradación resultando en una autofagia disfuncional y participando en la patología de esta enfermedad (Xilouri et al., 2009; Boecker, 2023).

A pesar de haber una gran investigación en esta área, aún no queda claro por qué los sistemas de control de calidad que mantienen la homeostasis neuronal fallan en ciertas ocasiones y no pueden proteger al cerebro de la agregación proteica conduciendo así al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

3. OBJETIVO

Dada la alta prevalencia del cáncer y el papel de los lisosomas en el desarrollo de este, el objetivo principal de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica que describa la función del lisosoma, en especial de las enzimas lisosomales, e intentar recopilar toda la información existente hoy en día referente a su grado de implicación en los procesos tumorales. Todo ello de acuerdo con los siguientes objetivos específicos:

- Describir la estructura, función, características y tipos de lisosomas
- Estudiar el papel de los lisosomas en la regulación del sistema inmune
- Estudiar los mecanismos por los que se altera la homeostasis de los lisosomas en la enfermedad

- Analizar el rol que desempeñan las enzimas lisosomales en la progresión tumoral
- Examinar la correlación entre los niveles de expresión de distintas proteasas lisosomales y el pronóstico de distintos tipos de cáncer
- Sintetizar la información anterior y evaluar la importancia de las enzimas lisosomales en el avance del proceso tumoral con perspectivas de futuro

4. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de la literatura disponible sobre los lisosomas, su función fisiológica y patológica y su relación con la progresión tumoral. Para ello, se han utilizado distintas bases de datos como PubMed, Medline, Scieloo, además de consultar revistas científicas, como Nature, Frontiers, FEBS Press y libros de texto como Introducción a la Biología Celular de la editorial Panamericana (quinta edición, 2021), Biología celular Biomédica de la editorial Elsevier (2015) y Molecular biology of the cell de la editorial Garland Science (2015). De igual modo se han visitado las páginas webs oficiales de la Sociedad Española de Oncología Médica (www.seom.org) y de la Asociación Española Contra el Cáncer (www.contraelcancer.es).

La búsqueda se ha realizado principalmente en inglés para acceder a un mayor número de publicaciones, usando palabras clave y frases como “Lysosomes”, “Role of lysosomes”, “Lysosomes in the immune system”, “Implications of lysosomes in cancer”, “Tumor progression”, “Lysosomal enzymes”, “Cathepsins”, utilizando operadores booleanos “And” y “Or” para ampliar el campo de búsqueda. Así mismo, para hacer la búsqueda más extensiva se ha realizado también en castellano.

Para ello se han seleccionado artículos recientes, donde se tuvo en cuenta la lectura del “abstract” y las conclusiones, así como el prestigio de los autores o el lugar de publicación. La búsqueda se realizó entre el 17 de marzo y el 1 de Julio de 2023, utilizando un total de 152 artículos para llevar a cabo este trabajo. A continuación, para realizar el análisis bioinformático de correlación con perfiles de expresión génica se utilizó el servidor web GEPIA2 (gepia2.cancer-pku.cn). Además, para demostrar la correlación obtenida, se obtuvieron imágenes al microscopio de la expresión de las proteasas lisosomales en distintos tipos de cáncer del Human Protein Atlas (www.proteinatlas.org).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Función de los lisosomas en la biología del cáncer

En las últimas décadas la investigación sobre los lisosomas y su implicación en el cáncer ha aumentado significativamente. Se sabe que la función y mal funcionamiento de los lisosomas juega un papel importante en el desarrollo del cáncer (Tang et al., 2020), aunque aún quedan por descubrir muchos de los mecanismos por los cuales están involucrados en la tumorigénesis (Sui et al., 2013; Zhang et al., 2021).

Las células tumorales se caracterizan por una alta inestabilidad genómica, alta tasa de mutaciones, capacidad de proliferar continuamente, evitar la muerte celular (Perera et al., 2019), inducir la angiogénesis, invadir, hacer metástasis, evitar la supervisión inmunológica y ser resistentes a la quimioterapia y radioterapia. Para ello dependen en gran medida de una función lisosomal eficaz, que mantenga la homeostasis energética (Tonnessen-Murray et al., 2019), genere componentes básicos para el crecimiento celular y la señalización mitogénica, prepare los tejidos para la angiogénesis, la formación de metástasis (Vidak et al., 2019) y active programas transcripcionales (Castro-Gomes et al., 2016; Davidson et al., 2017). Por consiguiente, la progresión y la transformación del cáncer se caracteriza por grandes cambios de volumen, composición y localización de los lisosomas. Según el contexto, estos cambios pueden ser positivos o negativos, aunque la mayoría contribuyen a la progresión tumoral (Kallunki et al., 2013).

Muchas características del cáncer son causa o consecuencia de la función o disfunción lisosomal (Hanahan & Weinberg, 2011; Davidson et al., 2017). Por ello, identificar y comprender los factores y mecanismos que regulan el estado funcional y la distribución espacial de los lisosomas es fundamental para dilucidar la relación entre estos orgánulos y la progresión tumoral. Esta relación proporciona información importante para el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad y para poder generar nuevas dianas terapéuticas (Tang et al., 2020).

5.1.1. Papel de la autofagia en el cáncer ¿supresora o promotora de tumores?

La autofagia es una herramienta esencial para mantener la homeostasis celular (Chun & Kim, 2018). En las células cancerosas el papel de la autofagia sigue siendo controvertido ya que puede tener efectos promotores de tumores –favoreciendo el crecimiento del tumor, la resistencia a terapias, la metástasis– y antitumorales –facilitando la eliminación de células cancerígenas (Yun & Lee, 2018)–. Dependiendo del tipo de tumor y la etapa en la que se

encuentre puede tener un efecto u otro, por lo que es necesario conocer cómo se desregula la autofagia en los distintos tipos de cáncer para saber que función desempeña.

En todas las células existe un nivel basal de autofagia que funciona como mecanismo de supresión de tumores al eliminar proteínas celulares dañadas y sustancias que pueden ser tóxicas para la célula como las especies reactivas del oxígeno (ROS), protegiendo a las células de la alteración en la homeostasis, daños en el ADN e inestabilidad genética, los cuales son clave en la producción de mutaciones oncogénicas para su transformación en células malignas (Galluzzi et al., 2015; Poillet-Perez, 2015; Hewitt & Korolchuk, 2017; Pérez-Montoyo, 2020; Nam, 2021).

En las células cancerosas el papel de la autofagia es controvertido, ya que puede tener efectos protumorales y antitumorales. En tumores ya establecidos, la autofagia es fundamental para la supervivencia celular en condiciones de estrés microambiental (Nam, 2021). Cuando las células cancerosas se encuentran en condiciones estresantes –p.e. aumento de la demanda energética, la privación de nutrientes, la hipoxia, la ausencia de factores de crecimiento– la autofagia aparece como una respuesta celular adaptativa que permite que las células cancerosas sobrevivan, desempeñando un papel protumoral. Para ello se regula rápidamente manteniendo la homeostasis celular, garantizando que su tasa de crecimiento sea adecuada a las condiciones metabólicas y promoviendo una degradación aumentada de proteínas y orgánulos excesivos o innecesarios (Sui et al., 2013; Pérez-Montoyo, 2020). Por lo tanto, la autofagia contribuye a la supervivencia de las células tumorales al mejorar la tolerancia al estrés y proporcionar nutrientes para satisfacer las demandas metabólicas de los tumores (Yun & Lee, 2018).

Aunque aún no se conocen por completo los mecanismos por los que la autofagia media sus efectos en las células tumorales, se ha visto que las vías de señalización de la fosfatidilinositol 3-quinasa/ Diana mecanicista de rapamicina (PI3K/mTOR) y la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) regulan al alza o a la baja la autofagia (Klionsky et al., 2021). mTOR puede ser inhibido por AMPK y p53 y activado por la señal de factores de crecimiento a través de la vía PI3K/Akt. Cuando mTOR se encuentra activo fosforila a ULK1/2 (un complejo de proteínas de autofagia), inhibiendo así la autofagia. Por otro lado, la AMPK suprime la señalización de mTORC1 y estimula la autofagia al fosforilar a TSC1/2. Se ha comprobado que varios genes supresores de tumores como p53, PTEN, TSC1/2 pueden estimular la autofagia y que genes asociados a tumores como p21 y AKT pueden inhibirla (Sui et al., 2013), estableciendo así una clara correlación entre una adecuada regulación de la autofagia y el cáncer.

Se ha visto que la delección de genes que participan en la autofagia puede acelerar la aparición de lesiones tumorales (Yun & Lee, 2018). Se ha demostrado en varios experimentos que la supresión del gen beclin1, que codifica para una proteína que interviene en la formación del fagóforo, provoca una mayor incidencia de cáncer de mama (Liang et al., 1999; Niklaus et al., 2021). Este papel antitumoral de la autofagia se ve reforzado con la certeza de que la autofagia mediada por chaperonas evita la transformación celular maligna al promover la degradación de oncoproteínas y estimular la respuesta inmunooncogénica (Gomes et al., 2017; Arias & Cuervo, 2020). Aunque se ha visto que en algunos tipos de cáncer como el glioblastoma este tipo de autofagia tiene funciones controvertidas (Lo Dico et al., 2021).

Actualmente la relación entre la autofagia y la resistencia a la quimioterapia es un tema muy activo en la investigación oncológica. La autofagia en las células tumorales puede tener efectos tanto protectores como promotores en la respuesta a la quimioterapia, y su papel puede variar dependiendo del tipo de cáncer y el agente quimioterapéutico utilizado (Smith & Macleod, 2019). Algunos estudios han sugerido que la activación de la autofagia puede potenciar el efecto citotóxico de los fármacos o dar como resultado resistencia a la quimioterapia al permitir que las células tumorales sobrevivan y se recuperen del estrés inducido por los agentes quimioterapéuticos. En este último caso, la autofagia estaría actuando como un mecanismo de supervivencia que contrarresta los efectos de los fármacos citotóxicos (Niklaus et al., 2021). Por otro lado, existen evidencias que sugieren que la inhibición de la autofagia puede aumentar la eficacia de la quimioterapia en ciertos casos. Al bloquear la autofagia, se impide la capacidad de las células tumorales de adaptarse al estrés, lo que aumenta su sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos, mejorando así su efecto (Li et al., 2017).

Teniendo en cuenta los efectos opuestos de la autofagia, es esencial una caracterización detallada de los distintos tipos de tumores y el papel que desempeña la autofagia en ellos a la hora de usar inhibidores o inductores de la autofagia como terapia para el tratamiento de esta enfermedad.

5.1.2. Papel de las proteasas lisosomales en procesos tumorales

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de las proteasas lisosomales en la progresión tumoral. Los lisosomas liberan enzimas como las catepsinas que remodelan la matriz extracelular (MEC) degradando las fibras de colágeno y las integrinas facilitando la invasión tumoral y la metástasis (Pišlar et al., 2018; Jakoš et al., 2019; Tang et al., 2020; Kos, 2022). Las proteasas lisosomales, además de participar en cambios en la morfología celular,

señalización, migración, invasión y metástasis que favorecen la progresión tumoral, pueden potenciar los mecanismos que dan lugar a la regresión del cáncer, como la apoptosis de las células tumorales o las respuestas inmunitarias antitumorales (Kos et al., 2022).

Las proteasas lisosomales pueden degradar directamente las proteínas de la MEC o indirectamente al procesar factores dentro de la cascada proteolítica promoviendo así la invasión tumoral, migración celular y metástasis (Brix et al., 2008; Khaket et al., 2019). Se ha visto que las catepsinas extracelulares modulan las interacciones de la MEC con el receptor de la integrina alterando las propiedades adhesivas y migratorias de las células cancerosas (Kos et al., 2009). Además, este tipo de proteasas lisosomales pueden modular el tráfico y reclutamiento de células a través del procesamiento proteolítico de quimiocinas (Repnik et al., 2015) e influir en las vías de señalización modificando factores de crecimiento y eliminando ectodominios de receptores de membrana (Jakoš et al., 2019). Por ello, el aumento de la expresión y/o actividad de las peptidasas lisosomales crea condiciones favorables para la invasión tumoral y la metástasis.

Una de las proteasas lisosomales más estudiadas es la catepsina B (CatB), que promueve la progresión tumoral directa e indirectamente degradando proteínas de la matriz extracelular como la laminina, la fibronectina, los tipos de colágeno I y IV y los proteoglicanos y activando a otras peptidasas que degradan la MEC (Kos et al., 2022). Además, esta catepsina activa a TLR3 favoreciendo la migración celular (Garcia-Cattaneo et al., 2012). CatB está involucrada en la proliferación celular a través de la regulación de la producción y señalización de activadores como el factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I) y el factor de crecimiento transformante- β (TGF- β). El TGF- β tiene propiedades promotoras y supresoras de tumores (Massagué, 2008) y además es un regulador clave de la transición epitelio-mesénquima (EMT), evento crítico en el desarrollo de tumores. Por otro lado, el IGF-I regula y mantiene las propiedades invasivas y metastásicas del fenotipo maligno. Asimismo, la CatB regula las quinasas involucradas en la señalización de Ras/proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK)/quinasa regulada por señal extracelular (ERK) y la señalización mediada por la ruta PI3K/Akt, vías esenciales para la progresión tumoral. Además, CatB escinde el inhibidor del ciclo celular p27Kip1 promoviendo la proliferación de células cancerosas (Kos et al., 2022).

Las células inmunitarias especializadas como los linfocitos T citotóxicos (LTc) y las células natural killer (NK) contienen lisosomas secretores (Blott & Griffiths, 2002), que regulan la exocitosis lisosómica de los gránulos citotóxicos. Estos gránulos líticos contienen captasinas de

cisteína, que junto a las granzimas y perforinas desencadenan la apoptosis en las células diana (Perišić Nanut et al., 2017).

Las catepsinas desempeñan un papel crucial en el microambiente tumoral (TME) (Mitrović et al., 2017) ya que además de encontrarse en los lisosomas de las células cancerosas se encuentran en los macrófagos asociados a tumores (TAMs), desempeñando un papel esencial en la regulación de la respuesta inmune y contribuyendo a la invasión de las células tumorales modulando el destino final del tumor (Zhang et al., 2021).

5.1.3. Análisis bioinformático de correlación entre los niveles de expresión de catepsinas y distintos tipos de cáncer

En los últimos años, los avances en tecnología de secuenciación de alto rendimiento han permitido la generación de grandes conjuntos de datos de expresión génica, que contienen información sobre los niveles de expresión de proteasas lisosomales en muestras tumorales. Estos datos se pueden analizar utilizando distintos programas bioinformáticos y servidores web, lo que permite identificar patrones de expresión diferencial de catepsinas entre tejidos sanos y tumores, así como entre distintos tipos de cáncer.

El análisis bioinformático de correlación entre los niveles de expresión génica de distintas catepsinas en los diferentes tipos de cáncer se ha convertido en una herramienta fundamental para comprender la importancia de estas proteasas lisosomales en la progresión tumoral. Como se ha visto las catepsinas son unas proteasas lisosomales que desempeñan un papel crucial en la degradación y remodelación de la matriz extracelular, lo que contribuye a la invasión y metástasis del cáncer. Aunque trabajos recientes han comenzado a demostrar que estas catepsinas desempeñan papeles cruciales en la biología del cáncer a través de su actividad extralisosomal, las dianas moleculares y los procesos biológicos que regulan aún son desconocidos.

La sobreexpresión de catepsinas se ha asociado con una peor prognosis en varios tipos de cáncer, lo que resalta la necesidad de investigar su contribución en la progresión tumoral y su potencial como diana terapéutica. Para ello, el análisis bioinformático de correlación de expresión génica permite identificar qué catepsinas están sobreexpresadas o subexpresadas en diferentes tipos de cáncer brindando información clave sobre la implicación de estas enzimas lisosomales en eventos críticos para el desarrollo y la progresión tumoral. Además, este análisis puede revelar asociaciones entre la expresión de catepsinas y características clínicas de los

pacientes, como la supervivencia y la respuesta al tratamiento, lo que tiene implicaciones tanto en el pronóstico como en el desarrollo de terapias dirigidas.

A continuación, se muestran las imágenes obtenidas al realizar el análisis bioinformático de correlación de la expresión génica de algunas catepsinas utilizando el servidor web GEPIA2 (gepia2.cancer-pku.cn) junto con imágenes al microscopio de la expresión de estas proteasas lisosomales en distintos tipos de cáncer obtenidas del Human Protein Atlas (www.proteinatlas.org).

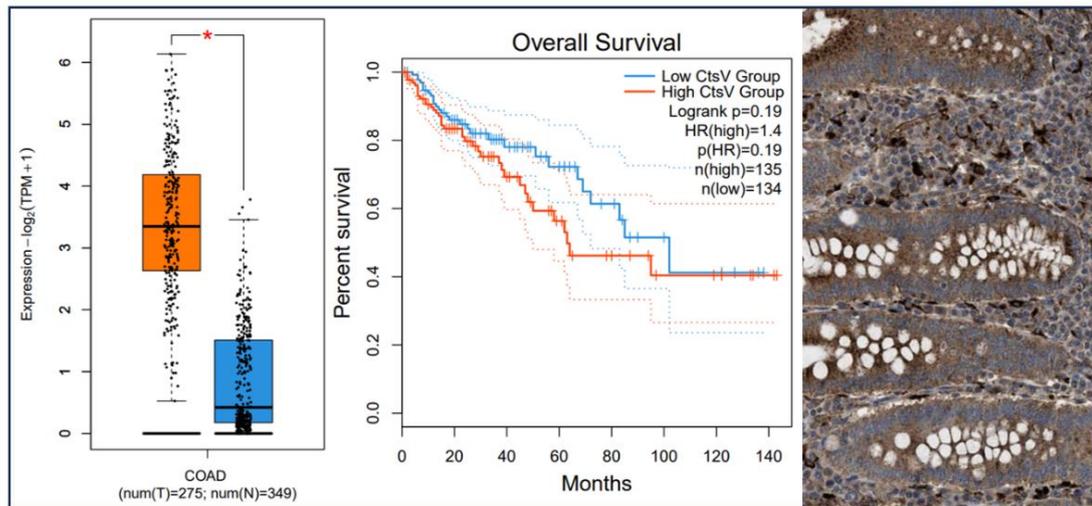


Fig.4 | **Expresión diferencial de catepsina V (CatV) en adenocarcinoma de colón (COAD).** En esta figura se puede observar en primer lugar (panel izquierdo) un boxplot en el que se compara la expresión de CatV en pacientes con adenocarcinoma de colón (naranja) y personas sanas (azul). En segundo lugar (panel central), se observa un gráfico de supervivencia en el que una alta expresión de CatV (naranja) se correlaciona con una disminución en la supervivencia del paciente, lo que se traduce en un peor pronóstico. Por último (panel derecho), encontramos una imagen al microscopio que muestra la expresión de CatV en un paciente que padece adenocarcinoma de colón.

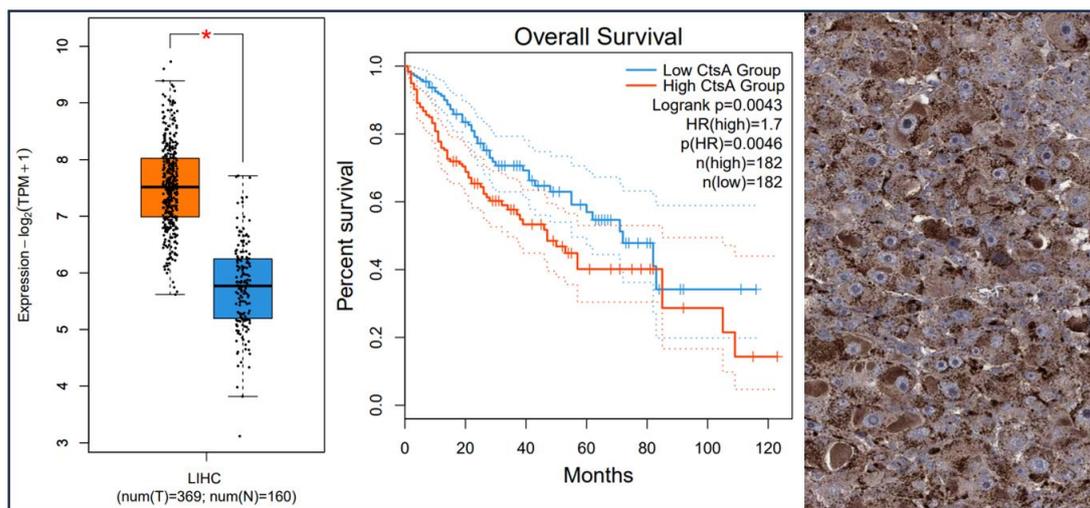


Fig.5 | **Expresión diferencial de catepsina A (CatA) en carcinoma hepatocelular de hígado (LIHC).** En esta figura se puede observar en primer lugar (panel izquierdo) un boxplot en el que se compara la expresión de CatA en pacientes con carcinoma hepatocelular de hígado (naranja) y personas sanas (azul). En segundo lugar (panel central), se puede observar un gráfico de supervivencia en el que una alta expresión de CatA se correlaciona con una reducción en la supervivencia del paciente, lo que se traduce en un peor pronóstico. Por último (panel derecho), encontramos una imagen al microscopio que muestra la expresión de CatA en un paciente que padece carcinoma hepatocelular de hígado.

Con las figuras obtenidas del análisis realizado con GEPIA2 (Figura 4 y figura 5) se demuestra la importancia de las proteasas lisosomales en la prognosis, desarrollo y progresión tumoral.

5.1. Los lisosomas como diana terapéutica

Los lisosomas han emergido recientemente como importantes centros de señalización involucrados en el control de diferentes aspectos de la biología celular, lo que explica por qué la disfunción lisosomal desempeña un papel crítico en una amplia gama de enfermedades humanas en las que se incluye el cáncer, los trastornos autoinmunes, las enfermedades neurodegenerativas y las enfermedades de almacenamiento lisosomal (Martínez-Fábregas et al., 2022).

A la luz de la evidencia discutida anteriormente, los componentes de los lisosomas y las vías lisosomales podrían representar una diana terapéutica prometedora en el tratamiento de diversas enfermedades. Al considerar los lisosomas como objetivos en el tratamiento del cáncer se debe tener en cuenta que estos orgánulos se encuentran en todas las células, por lo que para no alterar la homeostasis celular los agentes deben atacar selectivamente a los lisosomas en células patológicas (Wang et al., 2018). Por suerte existe la glicoingeniería metabólica de azúcares, que permite marcar selectivamente las células tumorales para que la administración de fármacos y anticuerpos se restrinja a las células cancerosas que expresan ciertos antígenos (Wang et al., 2017 ; Cao et al., 2022).

Se están explorando diversos enfoques terapéuticos para corregir las alteraciones lisosomales, entre los que destacan la terapia de reemplazo enzimático, la terapia génica y la modulación farmacológica de los procesos lisosomales. La terapia de reemplazo enzimático consiste en administrar enzimas lisosomales defectuosas o ausentes a los pacientes con deficiencias enzimáticas específicas. Este enfoque ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de enfermedades de almacenamiento lisosomales, como la enfermedad de Pompe (Ley-Martos et al., 2015). La modulación de la función lisosomal a través de fármacos permite activar o inhibir los componentes lisosomales, la actividad enzimática y la autofagia según el contexto de la enfermedad (Bonam et al., 2019). Un ejemplo de ello es el tratamiento del carcinoma de células renales con Temsirolimus/CCI-779, un análogo de la rapamicina capaz de inducir autofagia mediante la inhibición de mTOR, que fue aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) en 2007 (Nam, 2021). Además, se están desarrollando fármacos oncolíticos basados en inhibidores de la autofagia como el SBI-0206965, un inhibidor de ULK1 que en etapas preclínicas redujo el crecimiento celular y promovió la apoptosis en

neuroblastoma (Dower et al., 2018). Por otro lado, se puede modular la actividad lisosomal, mediante bloqueadores químicos que aumentan el pH intralisosomal inhibiendo así la autofagia (el mecanismo exacto no se comprende bien). Los bloqueadores químicos más conocidos y utilizados clínicamente son la cloroquina (CQ) o la hidroxicloriguina (HCQ) y se emplean tanto para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como el LES (Danza et al., 2016) como para el tratamiento combinado de algunos tipos de cáncer (Compter et al., 2020).

Los avances en la comprensión de la biología lisosomal y los enfoques terapéuticos emergentes están allanando el camino para nuevas opciones terapéuticas que pueden brindar esperanza a los pacientes con enfermedades que cursan con trastornos lisosomales y mejorar su calidad de vida.

6. CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

En esta revisión bibliográfica, se resume la función fisiológica de los lisosomas, las funciones de los lisosomas en el desarrollo de varias enfermedades destacando el papel de las proteasas lisosomales y los posibles métodos terapéuticos dirigidos a estos orgánulos.

Las principales conclusiones que se pueden extraer de este trabajo son las siguientes:

- Desde el descubrimiento de los lisosomas como centro de degradación y reciclaje por Christian De Duve en 1955 estos orgánulos han sido objeto de múltiples estudios que nos han permitido revelar el papel multifuncional de estos orgánulos, que funcionan como centro señalizador controlando el metabolismo a través de la regulación del complejo mTORC1, regulan la respuesta inmune, la adhesión y migración celular, la muerte celular programada y la autofagia.
- La disfunción lisosomal se relaciona con el desarrollo y progresión de muchas enfermedades humanas entre las que destacan las enfermedades neurodegenerativas, los trastornos autoinmunes, las enfermedades de almacenamiento lisosomal y el cáncer.
- La regulación de la función lisosomal, el contenido y la distribución del lisosoma en la célula están estrechamente relacionadas con el desarrollo y progresión del cáncer, en donde la autofagia y las enzimas lisosomales juegan un papel crítico.
- La autofagia desempeña un papel controvertido en cáncer, ya que dependiendo del tipo de tumor y etapa de desarrollo puede tener efectos promotores o supresores de tumores. Además, la autofagia está estrechamente relacionada con quimioterapia dado que puede proteger a las células cancerosas del estrés inducido por los agentes

quimioterapéuticos produciendo resistencia a esta o puede aumentar su efecto citotóxico.

- Las proteasas lisosomales desempeñan un papel clave en la progresión tumoral al remodelar la matriz extracelular, facilitar la invasión tumoral y la metástasis, y regular la proliferación celular a través de las vías de señalización relacionadas con el crecimiento tumoral, estando implicadas en el microambiente tumoral. Además, estas enzimas lisosomales pueden influir en las respuestas inmunitarias antitumorales y la apoptosis de las células cancerosas.

En resumen, los lisosomas y sus funciones desempeñan un papel importante en la biología del cáncer, y comprender su papel y regulación puede proporcionar información relevante para el diagnóstico, pronóstico y desarrollo de nuevas terapias dirigidas contra esta enfermedad.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, E., & Cuervo, A. M. (2020). Pros and Cons of Chaperone-Mediated Autophagy in Cancer Biology. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 31(1), 53–66.
- Ballabio, A., & Bonifacino, J. S. (2020). Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(2), 101–118.
- Ballabio, A., & Gieselmann, V. (2009). Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochimica et biophysica acta*, 1793(4), 684–696.
- Blott, E. J., & Griffiths, G. M. (2002). Secretory lysosomes. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 3(2), 122–131.
- Boecker C. A. (2023). The Role of LRRK2 in Intracellular Organelle Dynamics. *Journal of molecular biology*, 435(12), 167998.
- Boland, B., Yu, W. H., Corti, O., Mollereau, B., Henriques, A., Bezaud, E., Pastores, G. M., Rubinsztein, D. C., Nixon, R. A., Duchen, M. R., Mallucci, G. R., Kroemer, G., Levine, B., Eskelinen, E. L., Mochel, F., Spedding, M., Louis, C., Martin, O. R., & Millan, M. J. (2018). Promoting the clearance of neurotoxic proteins in neurodegenerative disorders of ageing. *Nature reviews. Drug discovery*, 17(9), 660–688.
- Bonam, S. R., Wang, F., & Muller, S. (2018). Autophagy: A new concept in autoimmunity regulation and a novel therapeutic option. *Journal of autoimmunity*, 94, 16–32.
- Bonam, S. R., Wang, F., & Muller, S. (2019). Lysosomes as a therapeutic target. *Nature reviews. Drug discovery*, 18(12), 923–948.
- Braulke, T., & Bonifacino, J. S. (2009). Sorting of lysosomal proteins. *Biochimica et biophysica acta*, 1793(4), 605–614.
- Brix, K., Dunkhorst, A., Mayer, K., & Jordans, S. (2008). Cysteine cathepsins: cellular roadmap to different functions. *Biochimie*, 90(2), 194–207.
- Cao, M., Luo, X., Wu, K., & He, X. (2021). Targeting lysosomes in human disease: from basic research to clinical applications. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 379.
- Castro-Gomes, T., Corrotte, M., Tam, C., & Andrews, N. W. (2016). Plasma Membrane Repair Is Regulated Extracellularly by Proteases Released from Lysosomes. *PLoS one*, 11(3), e0152583.
- Chang N. C. (2020). Autophagy and Stem Cells: Self-Eating for Self-Renewal. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 138.
- Chen, C., Ahn, E. H., Kang, S. S., Liu, X., Alam, A., & Ye, K. (2020). Gut dysbiosis contributes to amyloid pathology, associated with C/EBPβ/AEP signaling activation in Alzheimer's disease mouse model. *Science advances*, 6(31), eaba0466.
- Chun, Y., & Kim, J. (2018). Autophagy: An Essential Degradation Program for Cellular Homeostasis and Life. *Cells*, 7(12), 278.
- Cohn Z. A. (1963). The fate of bacteria within phagocytic cells. II. The modification of intracellular degradation. *The Journal of experimental medicine*, 117(1), 43–53.
- Compter, I., Eekers, D. B. P., Hoeben, A., Rouschop, K. M. A., Reymen, B., Ackermans, L., Beckervordersantforth, J., Bauer, N. J. C., Anten, M. M., Wesselink, P., Postma, A. A., De Ruyscher, D., & Lambin, P. (2021). Chloroquine combined with concurrent radiotherapy and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: a phase IB trial. *Autophagy*, 17(9), 2604–2612.
- Danza, Á., Graña, D., Goñi, M., Vargas, A., & Ruiz-Irastorza, G. (2016). Hidroxicloroquina en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes sistémicas [Hydroxychloroquine for autoimmune diseases]. *Revista médica de Chile*, 144(2), 232–240.
- Darios, F., & Stevanin, G. (2020). Impairment of Lysosome Function and Autophagy in Rare Neurodegenerative Diseases. *Journal of molecular biology*, 432(8), 2714–2734.
- Dasouki, M., Jawdat, O., Almadhoun, O., Pasnoor, M., McVey, A. L., Abuzinadah, A., Herbelin, L., Barohn, R. J., & Dimachkie, M. M. (2014). Pompe disease: literature review and case series. *Neurologic clinics*, 32(3), 751–ix.
- Davidson, S. M., & Vander Heiden, M. G. (2017). Critical Functions of the Lysosome in Cancer Biology. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 57, 481–507.

- De Duve, C., Pressman, B. C., Gianetto, R., Wattiaux, R., & Appelmans, F. (1955). Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *The Biochemical journal*, 60(4), 604–617.
- Deretic V. (2021). Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism. *Immunity*, 54(3), 437–453.
- Dersh, D., Iwamoto, Y., & Argon, Y. (2016). Tay-Sachs disease mutations in HEXA target the α chain of hexosaminidase A to endoplasmic reticulum-associated degradation. *Molecular biology of the cell*, 27(24), 3813–3827.
- Doherty, G. J., & McMahon, H. T. (2009). Mechanisms of endocytosis. *Annual review of biochemistry*, 78, 857–902.
- Dower, C. M., Bhat, N., Gebru, M. T., Chen, L., Wills, C. A., Miller, B. A., & Wang, H. G. (2018). Targeted Inhibition of ULK1 Promotes Apoptosis and Suppresses Tumor Growth and Metastasis in Neuroblastoma. *Molecular cancer therapeutics*, 17(11), 2365–2376.
- Durgeau, A., Virk, Y., Corgnac, S., & Mami-Chouaib, F. (2018). Recent Advances in Targeting CD8 T-Cell Immunity for More Effective Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 9, 14.
- Essner, E., & Novikoff, A. B. (1961). Localization of acid phosphatase activity in hepatic lysosomes by means of electron microscopy. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, 9(4), 773–784.
- Ewald, S. E., Engel, A., Lee, J., Wang, M., Bogyo, M., & Barton, G. M. (2011). Nucleic acid recognition by Toll-like receptors is coupled to stepwise processing by cathepsins and asparagine endopeptidase. *The Journal of experimental medicine*, 208(4), 643–651.
- Fang, Y., Tan, J., & Zhang, Q. (2015). Signaling pathways and mechanisms of hypoxia-induced autophagy in the animal cells. *Cell biology international*, 39(8), 891–898.
- Franco-Juárez, B., Coronel-Cruz, C., Hernández-Ochoa, B., Gómez-Manzo, S., Cárdenas-Rodríguez, N., Arreguin-Espinosa, R., Bandala, C., Canseco-Ávila, L. M., & Ortega-Cuellar, D. (2022). TFEB; Beyond Its Role as an Autophagy and Lysosomes Regulator. *Cells*, 11(19), 3153.
- Galluzzi, L., Pietrocola, F., Bravo-San Pedro, J. M., Amaravadi, R. K., Baehrecke, E. H., Cecconi, F., Codogno, P., Debnath, J., Gewirtz, D. A., Karantza, V., Kimmelman, A., Kumar, S., Levine, B., Maiuri, M. C., Martin, S. J., Penninger, J., Piacentini, M., Rubinsztein, D. C., Simon, H. U., Simonsen, A., ... Kroemer, G. (2015). Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *The EMBO journal*, 34(7), 856–880.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M. J. M., Bianchi, K., Blagosklonny, M. V., ... Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell death and differentiation*, 25(3), 486–541.
- García-Cattaneo, A., Gobert, F. X., Müller, M., Toscano, F., Flores, M., Lescure, A., Del Nery, E., & Benaroch, P. (2012). Cleavage of Toll-like receptor 3 by cathepsins B and H is essential for signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(23), 9053–9058.
- Gatica, D., Lahiri, V., & Klionsky, D. J. (2018). Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nature cell biology*, 20(3), 233–242.
- Ghosh, P., Dahms, N. M., & Kornfeld, S. (2003). Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 4(3), 202–212.
- Gomes, L. R., Menck, C. F. M., & Cuervo, A. M. (2017). Chaperone-mediated autophagy prevents cellular transformation by regulating MYC proteasomal degradation. *Autophagy*, 13(5), 928–940.
- Green, D. R., Oguin, T. H., & Martinez, J. (2016). The clearance of dying cells: table for two. *Cell death and differentiation*, 23(6), 915–926.
- Gros, F., Arnold, J., Page, N., Décossas, M., Korganow, A. S., Martin, T., & Muller, S. (2012). Macroautophagy is deregulated in murine and human lupus T lymphocytes. *Autophagy*, 8(7), 1113–1123.
- Hämälistö, S., Stahl, J. L., Favaro, E., Yang, Q., Liu, B., Christoffersen, L., Loos, B., Guasch Boldú, C., Joyce, J. A., Reinheckel, T., Barisic, M., & Jäättelä, M. (2020). Spatially and temporally defined lysosomal leakage facilitates mitotic chromosome segregation. *Nature communications*, 11(1), 229.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674.
- He, L., Zhang, J., Zhao, J., Ma, N., Kim, S. W., Qiao, S., & Ma, X. (2018). Autophagy: The Last Defense against Cellular Nutritional Stress. *Advances in nutrition* (Bethesda, Md.), 9(4), 493–504.
- Hers H. G. (1965). *Inborn lysosomal diseases*. *Gastroenterology*, 48, 625–633.
- Hewitt, G., & Korolchuk, V. I. (2017). Repair, Reuse, Recycle: The Expanding Role of Autophagy in Genome Maintenance. *Trends in cell biology*, 27(5), 340–351.
- Hickman, S., & Neufeld, E. F. (1972). A hypothesis for I-cell disease: defective hydrolases that do not enter lysosomes. *Biochemical and biophysical research communications*, 49(4), 992–999.
- Hipp, M. M., Shepherd, D., Gileadi, U., Aichinger, M. C., Kessler, B. M., Edelmann, M. J., Essalmani, R., Seidah, N. G., Reis e Sousa, C., & Cerundolo, V. (2013). Processing of human toll-like receptor 7 by furin-like proprotein convertases is required for its accumulation and activity in endosomes. *Immunity*, 39(4), 711–721.
- Inpanathan, S., & Botelho, R. J. (2019). The Lysosome Signaling Platform: Adapting With the Times. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 113.
- Jakoš, T., Pišlar, A., Jewett, A., & Kos, J. (2019). Cysteine Cathepsins in Tumor-Associated Immune Cells. *Frontiers in immunology*, 10, 2037.
- Jiang, H., Dong, Z., Xia, X., & Li, X. (2023). Cathepsins in oral diseases: mechanisms and therapeutic implications. *Frontiers in immunology*, 14, 1203071.
- Johnson, D. E., Ostrowski, P., Jaumouillé, V., & Grinstein, S. (2016). The position of lysosomes within the cell determines their luminal pH. *The Journal of cell biology*, 212(6), 677–692.
- Kallunki, T., Olsen, O. D., & Jäättelä, M. (2013). Cancer-associated lysosomal changes: friends or foes?. *Oncogene*, 32(16), 1995–2004.

- Kaushik, S., & Cuervo, A. M. (2018). The coming of age of chaperone-mediated autophagy. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 19(6), 365–381.
- Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*, 11(5), 373–384.
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239–257.
- Khaket, T. P., Kwon, T. K., & Kang, S. C. (2019). Cathepsins: Potent regulators in carcinogenesis. *Pharmacology & therapeutics*, 198, 1–19.
- Kim, J., Kundu, M., Viollet, B., & Guan, K. L. (2011). AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nature cell biology*, 13(2), 132–141.
- Kirchner, P., Bourdenx, M., Madrigal-Matute, J., Tiano, S., Diaz, A., Bartholdy, B. A., Will, B., & Cuervo, A. M. (2019). Proteome-wide analysis of chaperone-mediated autophagy targeting motifs. *PLoS biology*, 17(5), e3000301.
- Kirkin, V., & Rogov, V. V. (2019). A Diversity of Selective Autophagy Receptors Determines the Specificity of the Autophagy Pathway. *Molecular cell*, 76(2), 268–285.
- Klionsky, D. J., Petroni, G., Amaravadi, R. K., Baehrecke, E. H., Ballabio, A., Boya, P., Bravo-San Pedro, J. M., Cadwell, K., Cecconi, F., Choi, A. M. K., Choi, M. E., Chu, C. T., Codogno, P., Colombo, M. I., Cuervo, A. M., Deretic, V., Dikic, I., Elazar, Z., Eskelinen, E. L., Fimia, G. M., ... Pietrocola, F. (2021). Autophagy in major human diseases. *The EMBO journal*, 40(19), e108863.
- Kornfeld S. (1987). Trafficking of lysosomal enzymes. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1(6), 462–468.
- Kos, J., Jevnikar, Z., & Obermajer, N. (2009). The role of cathepsin X in cell signaling. *Cell adhesion & migration*, 3(2), 164–166.
- Kos, J., Mitrović, A., Perišić Nanut, M., & Pišlar, A. (2022). Lysosomal peptidases-intriguing roles in cancer progression and neurodegeneration. *FEBS open bio*, 12(4), 708–738.
- Kos J. (2022). Proteases: Role and Function in Cancer. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 4632.
- Lawrence, R. E., & Zoncu, R. (2019). The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nature cell biology*, 21(2), 133–142.
- Lee, J. H., Yu, W. H., Kumar, A., Lee, S., Mohan, P. S., Peterhoff, C. M., Wolfe, D. M., Martinez-Vicente, M., Massey, A. C., Sovak, G., Uchiyama, Y., Westaway, D., Cuervo, A. M., & Nixon, R. A. (2010). Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell*, 141(7), 1146–1158.
- Leidal, A. M., Levine, B., & Debnath, J. (2018). Autophagy and the cell biology of age-related disease. *Nature cell biology*, 20(12), 1338–1348.
- Lettau, M., Kabelitz, D., & Janssen, O. (2015). Lysosome-Related Effector Vesicles in T Lymphocytes and NK Cells. *Scandinavian journal of immunology*, 82(3), 235–243.
- Ley-Martos, M., Salado-Reyes, M. J., Espinosa-Rosso, R., Solera-García, J., & Jiménez-Jiménez, L. (2015). Variabilidad en la presentación clínica en la enfermedad de Pompe: evolución tras terapia de reemplazo enzimático. *Revista de neurología*, 61(9), 416–420.
- Liang, X. H., Jackson, S., Seaman, M., Brown, K., Kempkes, B., Hibshoosh, H., & Levine, B. (1999). Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 402(6762), 672–676.
- Lie, P. P. Y., & Nixon, R. A. (2019). Lysosome trafficking and signaling in health and neurodegenerative diseases. *Neurobiology of disease*, 122, 94–105.
- Li, Y. J., Lei, Y. H., Yao, N., Wang, C. R., Hu, N., Ye, W. C., Zhang, D. M., & Chen, Z. S. (2017). Autophagy and multidrug resistance in cancer. *Chinese journal of cancer*, 36(1), 52.
- Li, X., Rydzewski, N., Hider, A., Zhang, X., Yang, J., Wang, W., Gao, Q., Cheng, X., & Xu, H. (2016). A molecular mechanism to regulate lysosome motility for lysosome positioning and tubulation. *Nature cell biology*, 18(4), 404–417.
- Lo Dico, A., Martelli, C., Diceglie, C., & Ottobrini, L. (2021). The Multifaceted Role of CMA in Glioma: Enemy or Ally?. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 2217.
- Luzio, J. P., Pryor, P. R., & Bright, N. A. (2007). Lysosomes: fusion and function. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(8), 622–632.
- Manoury B. (2011). TLR9 regulation by proteolysis: a friend or a foe. *European journal of immunology*, 41(8), 2142–2144.
- Martinez-Fabregas, J., Tamargo-Azpilicueta, J., & Diaz-Moreno, I. (2022). Lysosomes: multifunctional compartments ruled by a complex regulatory network. *FEBS open bio*, 12(4), 758–774.
- Martínez-Lostao, L., Anel, A., & Pardo, J. (2015). How Do Cytotoxic Lymphocytes Kill Cancer Cells?. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 21(22), 5047–5056.
- Martini-Stoica, H., Xu, Y., Ballabio, A., & Zheng, H. (2016). The Autophagy-Lysosomal Pathway in Neurodegeneration: A TFEB Perspective. *Trends in neurosciences*, 39(4), 221–234.
- Maschalidi, S., Hässler, S., Blanc, F., Sepulveda, F. E., Tohme, M., Chignard, M., van Endert, P., Si-Tahar, M., Descamps, D., & Manoury, B. (2012). Asparagine endopeptidase controls anti-influenza virus immune responses through TLR7 activation. *PLoS pathogens*, 8(8), e1002841.
- Massagué J. (2008). TGFbeta in Cancer. *Cell*, 134(2), 215–230.
- Mathew, R., Kongara, S., Beaudoin, B., Karp, C. M., Bray, K., Degenhardt, K., Chen, G., Jin, S., & White, E. (2007). Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability. *Genes & development*, 21(11), 1367–1381.
- Matsuzawa-Ishimoto, Y., Hwang, S., & Cadwell, K. (2018). Autophagy and Inflammation. *Annual review of immunology*, 36, 73–101.
- McEwan, D. G., & Dikic, I. (2010). Not all autophagy membranes are created equal. *Cell*, 141(4), 564–566.
- Mijaljica, D., Prescott, M., & Devenish, R. J. (2011). Microautophagy in mammalian cells: revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy*, 7(7), 673–682.

- Mindell J. A. (2012). Lysosomal acidification mechanisms. *Annual review of physiology*, 74, 69–86.
- Mitrović, A., Pećar Fonović, U., & Kos, J. (2017). Cysteine cathepsins B and X promote epithelial-mesenchymal transition of tumor cells. *European journal of cell biology*, 96(6), 622–631.
- Mizushima N. (2004). Methods for monitoring autophagy. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36(12), 2491–2502.
- Mizushima N. (2007). Autophagy: process and function. *Genes & development*, 21(22), 2861–2873.
- Mizushima N. (2018). A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease. *Nature cell biology*, 20(5), 521–527.
- Mizushima, N., & Levine, B. (2010). Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nature cell biology*, 12(9), 823–830.
- Mizushima, N., Yoshimori, T., & Ohsumi, Y. (2011). The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annual review of cell and developmental biology*, 27, 107–132.
- Morishita, H., & Mizushima, N. (2019). Diverse Cellular Roles of Autophagy. *Annual review of cell and developmental biology*, 35, 453–475.
- Nam H. J. (2021). Autophagy Modulators in Cancer: Focus on Cancer Treatment. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(8), 839.
- Napolitano, G., Esposito, A., Choi, H., Matarese, M., Benedetti, V., Di Malta, C., Monfregola, J., Medina, D. L., Lippincott-SYuchwartz, J., & Ballabio, A. (2018). mTOR-dependent phosphorylation controls TFEB nuclear export. *Nature communications*, 9(1), 3312.
- Niklaus, N. J., Tokarchuk, I., Zbinden, M., Schläfli, A. M., Maycotte, P., & Tschan, M. P. (2021). The Multifaceted Functions of Autophagy in Breast Cancer Development and Treatment. *Cells*, 10(6), 1447.
- Nixon R. A. (2013). The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nature medicine*, 19(8), 983–997.
- Ohsumi Y. (2014). Historical landmarks of autophagy research. *Cell research*, 24(1), 9–23.
- Palmieri, M., Impey, S., Kang, H., di Ronza, A., Pelz, C., Sardiello, M., & Ballabio, A. (2011). Characterization of the CLEAR network reveals an integrated control of cellular clearance pathways. *Human molecular genetics*, 20(19), 3852–3866.
- Perera, R. M., Di Malta, C., & Ballabio, A. (2019). MiT/TFE Family of Transcription Factors, Lysosomes, and Cancer. *Annual review of cancer biology*, 3, 203–222.
- Perera, R. M., & Zoncu, R. (2016). The Lysosome as a Regulatory Hub. *Annual review of cell and developmental biology*, 32, 223–253.
- Pérez-Montoyo H. (2020). Therapeutic Potential of Autophagy Modulation in Cholangiocarcinoma. *Cells*, 9(3), 614.
- Peters, P. J., Borst, J., Oorschot, V., Fukuda, M., Krähenbühl, O., Tschopp, J., Slot, J. W., & Geuze, H. J. (1991). Cytotoxic T lymphocyte granules are secretory lysosomes, containing both perforin and granzymes. *The Journal of experimental medicine*, 173(5), 1099–1109.
- Perišić Nanut, M., Sabotič, J., Švajger, U., Jewett, A., & Kos, J. (2017). Cystatin F Affects Natural Killer Cell Cytotoxicity. *Frontiers in immunology*, 8, 1459.
- Pišlar, A., Jewett, A., & Kos, J. (2018). Cysteine cathepsins: Their biological and molecular significance in cancer stem cells. *Seminars in cancer biology*, 53, 168–177.
- Poillet-Perez, L., Despouy, G., Delage-Mourroux, R., & Boyer-Guittaut, M. (2015). Interplay between ROS and autophagy in cancer cells, from tumor initiation to cancer therapy. *Redox biology*, 4, 184–192.
- Qi, Y. Y., Zhou, X. J., & Zhang, H. (2019). Autophagy and immunological aberrations in systemic lupus erythematosus. *European journal of immunology*, 49(4), 523–533.
- Reggiori, F., & Ungermann, C. (2017). Autophagosome Maturation and Fusion. *Journal of molecular biology*, 429(4), 486–496.
- Reiser, J., Adair, B., & Reinheckel, T. (2010). Specialized roles for cysteine cathepsins in health and disease. *The Journal of clinical investigation*, 120(10), 3421–3431.
- Ren, H., & Wang, G. (2020). Autophagy and Lysosome Storage Disorders. *Advances in experimental medicine and biology*, 1207, 87–102.
- Repnik, U., Starr, A. E., Overall, C. M., & Turk, B. (2015). Cysteine Cathepsins Activate ELR Chemokines and Inactivate Non-ELR Chemokines. *The Journal of biological chemistry*, 290(22), 13800–13811.
- Reis e Sousa C. (2004). Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Current opinion in immunology*, 16(1), 21–25.
- Sachdeva, K., & Sundaramurthy, V. (2020). The Interplay of Host Lysosomes and Intracellular Pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 595502.
- Saftig, P., & Klumperman, J. (2009). Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 10(9), 623–635.
- Sancak, Y., Bar-Peled, L., Zoncu, R., Markhard, A. L., Nada, S., & Sabatini, D. M. (2010). Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell*, 141(2), 290–303.
- Sardiello, M., Palmieri, M., di Ronza, A., Medina, D. L., Valenza, M., Gennarino, V. A., Di Malta, C., Donaudy, F., Embrione, V., Polishchuk, R. S., Banfi, S., Parenti, G., Cattaneo, E., & Ballabio, A. (2009). A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5939), 473–477.
- Saric, A., Hipolito, V. E., Kay, J. G., Canton, J., Antonescu, C. N., & Botelho, R. J. (2016). mTOR controls lysosome tubulation and antigen presentation in macrophages and dendritic cells. *Molecular biology of the cell*, 27(2), 321–333.
- Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*, 168(6), 960–976.
- Sepulveda, F. E., Maschalidi, S., Colisson, R., Heslop, L., Ghirelli, C., Sakka, E., Lennon-Duménil, A. M., Amigorena, S., Cabanie, L., & Manoury, B. (2009). Critical role for asparagine endopeptidase in endocytic Toll-like receptor signaling in dendritic cells. *Immunity*, 31(5), 737–748.
- Seranova, E., Connolly, K. J., Zatyka, M., Rosenstock, T. R., Barrett, T., Tuxworth, R. I., & Sarkar, S. (2017). Dysregulation of autophagy as a common mechanism in lysosomal storage diseases. *Essays in biochemistry*, 61(6), 733–749.

- Settembre, C., Di Malta, C., Polito, V. A., Garcia Arencibia, M., Vetrini, F., Erdin, S., Erdin, S. U., Huynh, T., Medina, D., Colella, P., Sardiello, M., Rubinsztein, D. C., & Ballabio, A. (2011). TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* (New York, N.Y.), 332(6036), 1429–1433.
- Settembre, C., Fraldi, A., Medina, D. L., & Ballabio, A. (2013). Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 14(5), 283–296.
- Settembre, C., Zoncu, R., Medina, D. L., Vetrini, F., Erdin, S., Erdin, S., Huynh, T., Ferron, M., Karsenty, G., Vellard, M. C., Facchinetti, V., Sabatini, D. M., & Ballabio, A. (2012). A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB. *The EMBO journal*, 31(5), 1095–1108.
- Smith, A. G., & Macleod, K. F. (2019). Autophagy, cancer stem cells and drug resistance. *The Journal of pathology*, 247(5), 708–718.
- Stathopoulou, C., Gangaplara, A., Mallett, G., Flomerfelt, F. A., Liniany, L. P., Knight, D., Samsel, L. A., Berlinguer-Palmini, R., Yim, J. J., Felizardo, T. C., Eckhaus, M. A., Edgington-Mitchell, L., Martinez-Fabregas, J., Zhu, J., Fowler, D. H., van Kasteren, S. I., Laurence, A., Bogyo, M., Watts, C., Shevach, E. M., ... Amarnath, S. (2018). PD-1 Inhibitory Receptor Downregulates Asparaginyl Endopeptidase and Maintains Foxp3 Transcription Factor Stability in Induced Regulatory T Cells. *Immunity*, 49(2), 247–263.e7.
- Steinman R. M. (2007). Dendritic cells: understanding immunogenicity. *European journal of immunology*, 37 Suppl 1, S53–S60.
- Stirnemann, J., Belmatoug, N., Camou, F., Serratrice, C., Froissart, R., Caillaud, C., Levade, T., Astudillo, L., Serratrice, J., Brassier, A., Rose, C., Billette de Villemeur, T., & Berger, M. G. (2017). A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 441.
- Stoka, V., Turk, V., & Turk, B. (2016). Lysosomal cathepsins and their regulation in aging and neurodegeneration. *Ageing research reviews*, 32, 22–37.
- Straus W. (1964). occurrence of phagosomes and phago-lysosomes in different segments of the nephron in relation to the reabsorption, transport, digestion, and extrusion of intravenously injected horseradish peroxidase. *The Journal of cell biology*, 21(3), 295–308.
- Sui, X., Chen, R., Wang, Z., Huang, Z., Kong, N., Zhang, M., Han, W., Lou, F., Yang, J., Zhang, Q., Wang, X., He, C., & Pan, H. (2013). Autophagy and chemotherapy resistance: a promising therapeutic target for cancer treatment. *Cell death & disease*, 4(10), e838.
- Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., & Ohsumi, Y. (1992). Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *The Journal of cell biology*, 119(2), 301–311.
- Tang, T., Yang, Z. Y., Wang, D., Yang, X. Y., Wang, J., Li, L., Wen, Q., Gao, L., Bian, X. W., & Yu, S. C. (2020). The role of lysosomes in cancer development and progression. *Cell & bioscience*, 10(1), 131.
- Trivedi, P. C., Bartlett, J. J., & Puliniilkunnil, T. (2020). Lysosomal Biology and Function: Modern View of Cellular Debris Bin. *Cells*, 9(5), 1131.
- Tonnessen-Murray, C. A., Frey, W. D., Rao, S. G., Shahbandi, A., Ungerleider, N. A., Olayiwola, J. O., Murray, L. B., Vinson, B. T., Chrisey, D. B., Lord, C. J., & Jackson, J. G. (2019). Chemotherapy-induced senescent cancer cells engulf other cells to enhance their survival. *The Journal of cell biology*, 218(11), 3827–3844.
- Van Kasteren, S. I., & Overkleeft, H. S. (2014). Endo-lysosomal proteases in antigen presentation. *Current opinion in chemical biology*, 23, 8–15.
- Vidak, E., Javoršek, U., Vizovišek, M., & Turk, B. (2019). Cysteine Cathepsins and their Extracellular Roles: Shaping the Microenvironment. *Cells*, 8(3), 264.
- Wang, F., Gómez-Sintes, R., & Boya, P. (2018). Lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Traffic* (Copenhagen, Denmark), 19(12), 918–931.
- Wang, F., Li, B., Schall, N., Wilhelm, M., & Muller, S. (2017). Assessing Autophagy in Mouse Models and Patients with Systemic Autoimmune Diseases. *Cells*, 6(3), 16.
- Wang, H., Wang, R., Cai, K., He, H., Liu, Y., Yen, J., Wang, Z., Xu, M., Sun, Y., Zhou, X., Yin, Q., Tang, L., Dobrucki, I. T., Dobrucki, L. W., Chaney, E. J., Boppart, S. A., Fan, T. M., Lezmi, S., Chen, X., Yin, L., ... Cheng, J. (2017). Selective in vivo metabolic cell-labeling-mediated cancer targeting. *Nature chemical biology*, 13(4), 415–424.
- Wang, L., Klionsky, D. J., & Shen, H. M. (2023). The emerging mechanisms and functions of microautophagy. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 24(3), 186–203.
- Watts C. (2022). Lysosomes and lysosome-related organelles in immune responses. *FEBS open bio*, 12(4), 678–693.
- Xilouri, M., Vogiatzi, T., Vekrellis, K., Park, D., & Stefanis, L. (2009). Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PLoS one*, 4(5), e5515.
- Xu, H., & Ren, D. (2015). Lysosomal physiology. *Annual review of physiology*, 77, 57–80.
- Yang, C., & Wang, X. (2021). Lysosome biogenesis: Regulation and functions. *The Journal of cell biology*, 220(6), e202102001.
- Yoon, J. H., Ahn, S. G., Lee, B. H., Jung, S. H., & Oh, S. H. (2012). Role of autophagy in chemoresistance: regulation of the ATM-mediated DNA-damage signaling pathway through activation of DNA-PKcs and PARP-1. *Biochemical pharmacology*, 83(6), 747–757.
- Yu, L., Chen, Y., & Tooze, S. A. (2018). Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Autophagy*, 14(2), 207–215.
- Yu, L., McPhee, C. K., Zheng, L., Mardones, G. A., Rong, Y., Peng, J., Mi, N., Zhao, Y., Liu, Z., Wan, F., Hailey, D. W., Oorschot, V., Klumperman, J., Baehrecke, E. H., & Lenardo, M. J. (2010). Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature*, 465(7300), 942–946.
- Yun, C. W., & Lee, S. H. (2018). The Roles of Autophagy in Cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3466.
- Zhang, Z., Yue, P., Lu, T., Wang, Y., Wei, Y., & Wei, X. (2021). Role of lysosomes in physiological activities, diseases, and therapy. *Journal of hematology & oncology*, 14(1), 79.