

Tema 14. Lisosomas. Concepto, tipos y estructura. Composición química. Función en los fenómenos de digestión celular. Endocitosis, fagocitosis y exocitosis. La endocitosis y el transporte asociado a vesículas. Mecanismos de endocitosis: Endocitosis mediada por receptor y endocitosis en fase líquida. Mecanismos de recambio de membranas.

1. Lisosomas: concepto, tipos y estructura

Los lisosomas son orgánulos celulares con forma de vesículas membranosas que contienen enzimas hidrolíticos para la digestión intracelular controlada de macromoléculas. Existen en todas las células animales; pero no se han demostrado en células vegetales, en las que los fenómenos de digestión celular están parcialmente asumidos por la vacuola vegetal.

Se diferencian dos clases:

- a) Lisosomas primarios: están recién formados y no han encontrado todavía sustrato para la digestión. Sólo contienen enzimas hidrolíticos, son muy pequeños (0,05-0,5 μm de diámetro) y se corresponden a vesículas emanadas de la cara trans del complejo de Golgi. Son de contenido denso y homogéneo.
- b) Lisosomas secundarios: contienen materiales en digestión en su interior, muestran contenido heterogéneo y mayor tamaño.

La heterogeneidad de la morfología lisosomal contrasta con la de otros orgánulos. Sus dimensiones y contenido son muy variables. Su polimorfismo se debe a que actúan como vacuolas digestivas, y esto les proporciona un contenido heterogéneo.

El interior del lisosoma tiene un pH ácido, de aproximadamente 5. Para conseguir este bajo pH, en la membrana del lisosoma existe una bomba de protones, que utiliza ATP para bombear H^+ hacia el interior. El lisosoma se autoprotege de las hidrolasas ácidas y de la acidez de su matriz, porque su hemimembrana interna está intensamente glicosilada. Además, la membrana del lisosoma contiene proteínas de transporte que facilitan el paso de productos finales de la degradación de sustancias hacia el citoplasma.

2. Composición química

Una característica común a todos los lisosomas es que contienen hidrolasas ácidas, con actividad óptima cerca de pH 5; el pH que se mantiene en su interior. Aunque normalmente la membrana del lisosoma es impermeable a estos enzimas, el hecho de que los enzimas requieran un pH ácido para una actividad óptima protege al citoplasma contra las lesiones que se pudieran producir en caso de fuga.

Hasta ahora se han identificado unas 40 enzimas diferentes que degradan proteínas (proteasas), ácidos nucleicos (nucleasas: DNAasa y RNAasa), glúcidos (glucosidasas y lisozima), ésteres de sulfato (arilsulfatasas),

lípidos (lipasas y fosfolipasas) o fosfatos de moléculas orgánicas (fosfatasas). No todas las enzimas están presentes en cada lisosoma, la más común es la fosfatasa ácida.

3. Función en los fenómenos de digestión celular

Los lisosomas no sólo degradan sustancias procedentes del exterior de la célula (heterolisosomas); también pueden englobar y digerir orgánulos (mitocondrias, membranas citoplasmáticas, etc.) y porciones del citoplasma de la propia célula en grandes vacuolas digestivas denominadas vacuolas de autofagia, autolisosomas o citolisosomas. Para explicar la formación de vacuolas de este gran tamaño, se piensa que el retículo endoplasmático liso proporcionaría la membrana que envolvería los orgánulos sobrantes. Estas vacuolas digestivas se forman, p. ej., en condiciones de ayuno donde la célula tiene que nutrirse a sus expensas, pero también en circunstancias fisiológicas normales, como son los procesos de destrucción de orgánulos sobrantes. Además de orgánulos, hay proteínas citoplasmáticas que deben entrar en los lisosomas para su destrucción. Estas proteínas están marcadas por ciertas secuencias de aminoácidos, como la secuencia Lys-Phe-Glu-Arg-Gln. Mediante estas secuencias, esas proteínas citosólicas se unen a los orgánulos viejos que van a ser lisados. También es posible que esas proteínas citosólicas entren directamente en los lisosomas porque las secuencias que las marcan sean reconocidas por receptores de la membrana del lisosoma y se incorporen a éste.

Otro tipo de lisosoma son los cuerpos multivesiculares constituidos por una membrana y que en su interior contiene numerosas vesículas. Se han dado tres interpretaciones acerca de su origen y significado:

- a) Se trata de vesículas de pinocitosis que penetran en el lisosoma primario; se unirían la superficie del lisosoma y posteriormente se invaginarían.
- b) Pueden ser varios lisosomas primarios, cada uno delimitado por su propia membrana, pero el conjunto quedaría delimitado por una membrana común.
- c) El lisosoma primario incorpora moléculas pequeñas del citoplasma a su interior (microautofagia) por un proceso semejante a la pinocitosis.

4. Endocitosis, fagocitosis y exocitosis

4.1. Endocitosis y fagocitosis

Las rutas que llevan hacia los lisosomas desde la superficie celular empiezan con la endocitosis, mediante la cual las células captan macromoléculas, sustancias particuladas y, en casos especiales, otras células.

La sustancia que va a ser ingerida es rodeada progresivamente por una pequeña porción de la membrana plasmática, que primero se invagina y luego se estrangula formando una vesícula intracelular que contiene el material ingerido. Este proceso requiere ATP.

En función del tipo de vesículas que se forman, se pueden distinguir dos tipos de endocitosis:

- Pinocitosis: ("bebida de la célula"), que implica la ingestión de fluidos y de solutos vía pequeñas vesículas (<150 nm de diámetro).
- Fagocitosis: ("comida de la célula") que comporta la ingestión de grandes partículas tales como microorganismos o restos celulares, mediante grandes vesículas llamadas fagosomas (>150 nm de diámetro superior).

Aunque la mayoría de las células eucarióticas ingieren continuamente fluidos y solutos por pinocitosis, las grandes partículas son ingeridas principalmente por células fagocíticas especializadas.

Prácticamente, todas las células eucarióticas ingieren continuamente zonas de su membrana plasmática en forma de pequeñas vesículas pinocíticas (o endocíticas) que posteriormente retornan a la superficie de la célula. La velocidad a la que se internaliza la membrana plasmática en este proceso de pinocitosis varía de un tipo celular a otro, pero normalmente es bastante elevada (p. ej., en macrófagos el 100% en media hora). Dado que el área de la superficie y el volumen celular no varían durante este proceso, está claro que toda la membrana que desaparece por endocitosis se ha de ir añadiendo por exocitosis (proceso contrario a la endocitosis).

En este sentido, endocitosis y exocitosis son procesos ligados que se pueden considerar que constituyen un ciclo endocítico-exocítico.

4.2. Exocitosis

Es el proceso inverso a la endocitosis y es utilizado para que la célula vierta al exterior diversas sustancias (enzimas, hormonas, etc.). Mediante la exocitosis se libera al exterior el contenido de unas vesículas intracelulares especiales, cuando se fusionan con la membrana plasmática. El proceso más representativo es la secreción celular. Hay dos tipos:

- a) **Secreción constitutiva:** Es realizada por todas las células eucarióticas de modo continuo; mediante vesículas procedentes de la cara trans del complejo de Golgi, que se fusionan a la membrana plasmática. Corresponde a sustancias que van destinadas al medio extracelular (se incorporan a la matriz extracelular, o difunden al fluido extracelular para alimentar o transmitir mensajes a otras células), o a la propia superficie celular como receptores de superficie (vesículas cubiertas de coatómero).
- b) **Secreción regulada:** Funciona sólo en células especializadas en secreción (células secretoras), y únicamente cuando la célula es estimulada por una señal extracelular, generalmente un mensajero químico, que se une a los receptores de membrana y genera cambios intracelulares. Las células secretoras

producen grandes cantidades de productos (como hormonas, mucus, enzimas digestivos, etc.), que son almacenados en vesículas secretoras hasta su liberación (vesículas cubiertas de clatrina).

5. La endocitosis y el transporte asociado a vesículas

La mayoría de las células animales superiores se nutren por difusión y transporte activo a través de la membrana. Sin embargo, algunos materiales que deben penetrar son demasiado voluminosos para poder atravesar la membrana plasmática y son introducidos por endocitosis (fagocitosis o pinocitosis).

El proceso se inicia con la formación de una vesícula de endocitosis (vesícula de pinocitosis o endosoma), que al adentrarse en el citoplasma, entra a formar parte de una red de túbulos y vesículas, conocida como compartimiento endosomal periférico, externo o temprano. A medida que este compartimiento se adentra aún más en la célula, disminuye el pH en su interior, y pasa a denominarse compartimiento endosomal perinuclear, interno o tardío. Más en profundidad, el compartimiento endolisosomal, que es ya verdaderamente un compartimiento lisosómico (contiene hidrolasas ácidas), pues en él vierten sus enzimas los lisosomas primarios, emanados del complejo de Golgi, para proceder a la degradación de las sustancias incorporadas por endocitosis sin que las enzimas salgan al citoplasma.

No está claro cómo se desplazan las moléculas endocitadas de un compartimiento endosomal a otro y acaban en los lisosomas. Una hipótesis sería que los endosomas tempranos van desplazándose lentamente hacia el interior de la célula y pasan a ser endosomas tardíos; éstos se convierten en lisosomas como resultado de su fusión con las vesículas que transportan hidrolasas desde la cara trans del complejo de Golgi y del incremento de la acidez en la matriz lisosomal. Otra hipótesis sería que los endosomas tempranos y tardíos son dos compartimientos separados, y que el transporte entre ellos tiene lugar a través de un compartimiento intermediario de transporte mediante una red dinámica de túbulos o mediante el desprendimiento de trozos del endosoma temprano que son transportados al interior celular, donde se fusionan con los endosomas tardíos.

Lo mismo ocurre en la fagocitosis de microorganismos o partículas de mayor tamaño. Las vacuolas de endocitosis, denominadas fagosomas en este caso, se unen a lisosomas procedentes del compartimiento endolisosomal, formándose un fagolisosoma.

En ambos casos, completada la digestión, las moléculas resultantes difunden al citoplasma. Quedan los residuos, que o bien son defecados (por unión de la membrana del lisosoma a la plasmática y liberación del contenido al exterior), o bien se acumulan en el lisosoma y permanece allí por el resto de la vida de la célula, formando los denominados cuerpos residuales o telolisosomas.

Normalmente, los ligandos endocitados que se disocian de sus receptores en el endosoma temprano están predestinados a ser destruidos en los lisosomas, conjuntamente con los otros contenidos del endosoma

no unidos a membrana. Sin embargo, algunos ligandos endocitados permanecen unidos a sus receptores transmembranales y comparten su destino.

El destino de los receptores transmembranales (y de algunos ligandos unidos a ellos) varía según el tipo de receptor de que se trate:

- a) Reciclaje: retornan al mismo dominio de la membrana plasmática de donde proceden (receptores LDL y transferrina).
- b) Degradación: viajan hasta los lisosomas, donde son degradados (factor de crecimiento epitelial, EGF).
- c) Transcitosis: retornan a un dominio diferente de la membrana plasmática (endocitosis intestinal de las inmunoglobulinas de la leche materna). Estos endosomas no llegan a transformarse en endolisosomas.

6. Mecanismos de endocitosis: Endocitosis mediada por receptor y endocitosis en fase líquida

6.1. Endocitosis mediada por receptor

En la mayoría de células animales, las macromoléculas del fluido extracelular se unen a receptores complementarios específicos de la superficie celular (proteínas transmembranales), que se acumulan en depresiones revestidas y entran en la célula en forma de complejos receptor-macromolécula en vesículas recubiertas de clatrina; proporcionando una ruta eficiente para captar macromoléculas específicas. Es la llamada endocitosis mediada por receptor.

Normalmente, la parte endocítica de este ciclo empieza en regiones especializadas de la membrana plasmática llamadas depresiones revestidas de clatrina (*clathrin-coated pits*), que ocupan aproximadamente un 2% del área total de la membrana plasmática. Estas depresiones aparecen como invaginaciones de la membrana plasmática revestidas en su superficie interna (citósica) con estructuras densas. Estos revestimientos están formados por clatrina; la cual, junto con otras proteínas forma una estructura característica. La vida media de las depresiones revestidas de clatrina es corta; un minuto después de haber sido formadas, se invaginan hacia el interior de la célula y se separan de la membrana formando las vesículas revestidas de clatrina.

La endocitosis mediada por receptores proporciona un mecanismo de concentración selectivo que incrementa la eficiencia de la internalización de determinados ligandos más de 1000 veces. De esta manera se pueden captar específicamente y en grandes cantidades, componentes incluso minoritarios del fluido extracelular; sin internalizar el gran volumen correspondiente de fluido extracelular. Un ejemplo bien conocido y fisiológicamente importante, es el proceso mediante el que las células de los mamíferos captan el colesterol.

Se han descrito más de 25 receptores diferentes que participan en la endocitosis mediada por receptor de diferentes tipos de macromoléculas, y todos ellos aparentemente utilizan la ruta de las depresiones revestidas de clatrina. Muchos de estos receptores, como el receptor de las LDL, entran en las depresiones

revestidas independientemente de si se han unido o no a sus ligandos específicos; otros entran sólo si se han unido a su ligando específico; lo que sugiere que es necesario un cambio conformacional, inducido por el ligando, para llegar a las depresiones cubiertas de la membrana plasmática.

Pero no todas las proteínas de la membrana plasmática se acumulan en depresiones revestidas de clatrina, lo cual indica que estas depresiones actúan como filtros moleculares recogiendo ciertas proteínas de la membrana plasmática (receptores) y excluyendo a otras.

En una misma depresión revestida se agrupan muchas clases de receptores. La membrana plasmática de una depresión revestida de clatrina puede acumular probablemente unos 1000 receptores de varias clases. Aunque todos los complejos receptor-ligando que utilizan esta ruta endocítica terminan aparentemente en el mismo compartimiento endosomal, el destino posterior de las moléculas endocitadas varía.

6.1.1. Complejo clatrina-adaptina

La clatrina es una proteína que configura sobre la membrana de la vesícula una estructura poligonal (pentágonos y hexágonos). Cada molécula de clatrina se dispone formando un trisquelión (complejo de tres brazos), compuesto por tres polipéptidos mayores y tres menores. Cada brazo del trisquelión tiene tres dominios rectos que forman ángulo cada uno respecto al siguiente. El dominio aminoterminal finaliza en una estructura a modo de esfera que queda hacia el interior de la vesícula.

Una vesícula cubierta por clatrina tiene 36 trisqueliones organizados en 12 pentágonos y 8 hexágonos, de modo que cada brazo del trisquelión se solapa con parte de los brazos de los trisqueliones vecinos.

La clatrina favorecería la expansión hacia dentro de la vesícula, facilitando su desprendimiento de la membrana donde se origina y la captación de los receptores a los que se une la molécula transportada.

Entre la clatrina y la membrana se encuentran unas partículas denominadas adaptinas, que sirven para el ensamblaje de los trisqueliones. Cada adaptina tiene dos copias de tres polipéptidos diferentes. Las partículas se unen, por una parte, a los extremos globulares distales de los trisqueliones promoviendo su ensamblaje y, por otra, a las colas de los receptores específicos de las moléculas que se incorporan en la vesícula participando en la selectividad del proceso. Existen diferentes tipos de adaptinas, según el tipo de receptor.

Las moléculas de clatrina y adaptina se ensamblan espontáneamente para formar la cubierta de la vesícula. Pero su desensamblaje requiere ATP y Ca^{2+} .

6.2. Endocitosis en fase líquida

Dado que las depresiones revestidas de clatrina están llenas de fluido extracelular, cuando se invaginan formando vesículas revestidas también se internalizan las sustancias disueltas en el fluido extracelular, proceso denominado endocitosis de fase líquida o fluida.

7. Mecanismos de recambio de membranas

La membrana plasmática se encuentra en un continuo proceso de reciclaje (ciclo endocítico-exocítico). De ella se invaginan vesículas con contenidos necesarios para el metabolismo de las células, lo que supone una pérdida de membrana, y con ella se fusionan vesículas procedentes del citoplasma (principalmente del complejo de Golgi), lo que supone una recuperación de membrana.

Los polipéptidos de membrana de alto peso molecular se renuevan cada 2-5 días, mientras que los de bajo peso molecular lo hacen cada 7-13 días. Los lípidos se renuevan cada 3-5 días.

Los lípidos, glucoproteínas y proteoglicanos del glicocálix, y las proteínas integrales y periféricas externas se sintetizan en el retículo endoplasmático (liso para los lípidos y rugoso para las proteínas) y, a través del complejo de Golgi, forman vesículas de exocitosis que se unen a la membrana plasmática, incrementando su superficie. Las proteínas periféricas internas se sintetizan en polisomas libres y van por el citoplasma hasta unirse a la membrana plasmática.