

## **Autofagia y respuesta inmunitaria.**

*María Johanna Peña-Sanoja y Juan Bautista De Sanctis.*

Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

**Palabras clave:** autofagia, muerte celular, respuesta inmune, sistema mayor de histocompatibilidad, cáncer.

**Resumen.** La autofagia es un proceso complejo en el cual la homeóstasis celular de proteínas, organelos y vacuolas exocíticas y endocíticas es controlada. Hay una relación directa entre autofagia y muerte celular con el procesamiento antigénico, la generación de la respuesta inflamatoria y la respuesta inmune. En diversas enfermedades se han reportado deficiencias en el proceso de autofagia. En cáncer, se propone que la autofagia, a los inicios, es capaz de inducir la muerte de la célula tumoral; sin embargo, en tumores agresivos y en metástasis, el proceso es responsable de la resistencia farmacológica y sobrevida del tumor. Se requiere más investigación en el tema que permita entender los mecanismos de este proceso para así generar opciones terapéuticas acordes con diversas patologías importantes para el ser humano.

### **Autophagy and immune response.**

*Invest Clin 2013; 54(3): 325 - 337*

**Keywords:** autophagy, cell death, immune response, major histocompatibility complex, cancer.

**Abstract.** Autophagy is a complex process in which cell homeostasis of proteins, organelles, exocytic and endocytic vacuoles are controlled. There is a direct link between autophagy and cell death with antigen processing, generation of inflammatory response and immune response. In different diseases, deficiencies in autophagy have been reported. It has been proposed that in early stages of cancer, autophagy is capable of inducing cell death; however, in aggressive tumors and metastasis, the process is responsible for pharmacologic resistance and tumor survival. More research has to be done in order to allow us to understand the process and generate therapeutic options in different pathologies important for the human being.

*Recibido: 06-02-2013. Aceptado: 28-02-2013*

## INTRODUCCIÓN

La autofagia es un proceso homeostático y de degradación celular en el cual una porción del citosol y organelos son secuestrados en una vesícula simple o de doble membrana y liberados en el interior de un organelo degradativo, vacuola/lisosoma, para la ruptura y eventual reciclaje de las macromoléculas resultantes (1, 2). En las células eucariotas, se conocen tres tipos no selectivos de rutas de liberación de contenido citoplasmático en el lumen del lisosoma: autofagia mediada por chaperonas (CMA de sus siglas en inglés: *Chaperone-Mediated Autophagy*), microautofagia y macroautofagia. La CMA está restringida a un subgrupo de proteínas solubles con motivos pentapéptidos, específicamente KFERQ, reconocidas por una proteína chaperona citosólica (Hsc70) que media la traslocación de sustratos desdoblados a través de la membrana lisosomal en conjunto con la proteína de membrana lisosomal LAMP-2A (de sus siglas en inglés: *Lysosome Associated Membrane Protein type*) (1, 3). La microautofagia, implica la inmersión directa del material citoplasmático a la superficie del lisosoma por invaginación, protrusión y septación de la membrana lisosomal (4, 5). En hongos, la remoción de peroxisomas por microautofagia ocurre en condiciones específicas; sin embargo, en la literatura todavía se discute su relevancia en células de mamíferos superiores (4, 5). En la macroautofagia, porciones de citoplasma son retiradas en el interior de una vesícula doble membrana formada *de novo*, llamada autofagosoma. Luego, el autofagosoma se fusiona con la vacuola lisosomal en donde las macromoléculas son degradadas (3-6).

Aparte de los mecanismos “no selectivos” de autofagia ya mencionados, se han descritos rutas de autofagia altamente selectivas, y aún cuando el mecanismo molecular es poco comprendido, se reporta la

presencia de posibles receptores de reconocimientos de organelos citoplasmáticos que faciliten la incorporación de la macromolécula al interior del lisosoma, y donde los diferentes nombres asignados para autofagia selectiva dependen del organelo a degradar: para retículo endoplásmico (RE) (retículo-fagia o refagia), peroxisoma (peroxifagia), mitocondria (mitofagia), gotas de lípidos (lipidofagia), gránulos secretorios (zimofagia), incorporación progresiva del núcleo (nucleofagia), patógenos (xenofagia) y ribosomas (ribofagia) (2, 4, 6). La importancia de la existencia de un mecanismo de degradación organelo-específico radica en que la autofagia selectiva garantiza la degradación de moléculas (proteínas desdobladas, mitocondrias disfuncionales o microorganismos) que pudieran escapar a la macroautofagia, fungiendo como un mecanismo de “control de calidad” (6, 7).

La autofagia es esencial para mantener la homeostasis celular. El evento involucra: la degradación de proteínas, en ausencia prolongada de nutrientes, como fuentes de energía y la remoción de organelos dañados para su posterior reposición. Asimismo, promueve la supervivencia celular durante el estrés regulando el RE, las proteínas agregadas y las infecciones por patógenos. Está asociada a los receptores de patrones moleculares vinculados con el daño celular (PAMP), al inflamosoma y a la liberación de alarminas, como HMGB1 e IL-1 $\beta$ , que regulan el desarrollo, supervivencia de linfocitos y el procesamiento y presentación de antígenos. La autofagia contribuye a una variedad de enfermedades, incluyendo cáncer, desórdenes cardiovasculares y neurodegenerativos y enfermedades infecciosas (8-10).

## AUTOFAGIA EN LA RESPUESTA INMUNITARIA

La autofagia actúa en diversos eventos durante la respuesta inmunitaria: 1) Frente

a patógenos invasores, bacterias, virus y parásitos, degradando el agente patógeno vía autofagosoma que luego se fusiona con el lisosoma, o activando los mecanismos de señalización y/o alerta inflamatoria; 2) En la “resolución” de la respuesta inflamatoria removiendo cuerpos apoptóticos; 3) En la presentación de moléculas antigénicas por proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (2).

### Autofagia en la inmunidad innata

La inducción de autofagia constituye la primera línea de defensa durante infecciones por patógenos, dado que restringe las infecciones virales así como la replicación de bacterias intracelulares. Algunos ejemplos que ilustran la participación de la autofagia en la inmunidad innata son: a) Bacterias libres, por ejemplo *A. Streptococci*, envueltas en un autofagosoma y luego liberadas para la hidrólisis lisosomal (11, 12) b) La macroautofagia de bacterias o parásitos que impiden la fusión con el lisosoma, por ejemplo infecciones con *Mycobacterium tuberculosis* que impide la biogénesis del fagolisosoma, (11, 13, 14) y de *Rickettsias*, *Listeria monocytogenes*, y *Salmonella typhimurium* (11). Sin embargo, el mecanismo de señalización que explica el reconocimiento y ejecución de la autofagia durante la respuesta inmunitaria innata sigue siendo objeto de estudio. Uno de los mecanismos mejor descritos identificó a los receptores semejantes a TOLL (TLR) como mediadores de la autofagia asociada a la respuesta contra patógenos (11-13). Sobre la base de que ligandos de los TLRs como Poli(I:C) (TLR3), LPS (TLR4) y ARN de cadena sencilla (TLR7) son capaces de activar macroautofagia, se reporta que TLR4 sirve como un “sensor” de autofagia (11-13). El mecanismo más estudiado que relaciona autofagia con inmunidad innata, propone que los LPS activan la autofagia a través de TLR4 en macrófagos murinos y humanos,

por una ruta de señalización dependiente de TRIF (*Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adaptor-inducing interferon- $\beta$* ) e independiente de MyD88 (que es la proteína adaptadora reclutada por casi todos los TLRs activos), y que induce la activación “río abajo” de RIP1 y la proteína quinasa activada por mitógeno p38 (11-13). Esta ruta de señalización no afecta la viabilidad celular, por lo que se concluye que es distinta de la ruta de señalización de muerte celular autofágica (15, 16). La autofagia inducida por privación de nutrientes abarca poco más de 2 horas, mientras la formación del autofagosoma postestimulación con LPS del macrófago murino o humano requiere de 8 a 16 horas. Se ha propuesto un modelo en el cual la autofagia retardada, mediada por TLR4, se deben a la necesidad primaria en el macrófago de internalizar el patógeno en un fagosoma por dos rutas. La primera ruta, MyD88 dependiente, es rápida, y la secundaria lenta, mediada por la señalización de TLR4-TRIF, en los cuales se evidencia la formación de vacuolas autofágicas (15, 17-19). La maquinaria autofágica induce la liberación de PAMPs, reconocidos por TLRs endosomales, que potencian la respuesta inmunitaria innata. Por ejemplo, en las células dendríticas plasmocitoides (pCD) se desencadena la producción de INF tipo I, en respuesta a ARN de cadena sencilla del virus de la estomatitis vesicular (VSV) que es reconocido por TLR7 (20). Otro de los receptores del sistema inmunitario innato asociado con la autofagia son los receptores NOD (del inglés *Nucleotide-binding Oligomerization Domain*) ampliamente reportados por ser sensores de patrones moleculares asociados a bacterias e inducción de la producción de citocinas y péptidos antimicrobianos. La estimulación de NOD2 con MDP (*muramyl dipeptide*) induce la formación de autofagosomas y promueve la presentación antigénica sobre moléculas del MHC clase II en células

dendríticas humanas (21). En macrófagos, NOD1 y NOD2 reclutan la proteína ATG16L1 de autofagia, al sitio de la membrana celular donde se ha internalizado el microorganismo, mientras que en células mutantes para NOD2, no hubo “captura” del patógeno porque no fue formado adecuadamente el autofagosoma (22, 23).

La autofagia regula la activación del inflammasoma, plataforma molecular activada ante infecciones o estrés, que conlleva a la maduración, vía caspasa 1, de citocinas pro-inflamatorias como la IL-1 $\beta$  e IL-18 y la liberación de la alarmina HMGB1 (24,25). La activación del inflammasoma-NLRP3, que se ensambla en respuesta a patógenos, estructuras correspondientes a PAMPs o/y DAMPs, irritantes extracelulares o desregulación metabólica, es regulada negativamente por la autofagia, sirviendo ésta última como un mecanismo de defensa y/o protector durante la respuesta inmunitaria innata. Estudios *in vitro*, demostraron que, durante el bloqueo de la autofagia por ablación genética de los reguladores ATG16L1 y ATG7, se potenció la actividad del inflammasoma, mientras que la estimulación de la autofagia lo limitó (26-29). El mecanismo de inhibición del inflammasoma-dependiente de la autofagia, no ha sido totalmente dilucidado. Se ha sugerido que el autofagosoma “selecciona” al inflammasoma para su degradación, o que el incremento en especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias activa la formación del autofagosoma y por ende el desensamblaje del inflammasoma (30, 31).

#### **Autofagia en la inmunidad adaptativa**

Dado que la autofagia capacita a la célula para digerir su propio citosol, remover agregados proteicos y eliminar organelos no funcionales, libera antígenos citosólicos en el lumen de compartimientos endosomales que contienen moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC cla-

se II) o bien en endosomas que contienen sensores innatos de daños (por ejemplo: endosomas con TLR7). En la respuesta inmunitaria adaptativa, se ha reportado que la macroautofagia puede influir en la presentación de antígenos extracelulares e intracelulares a las células T CD4+ (32, 33). Las moléculas del MHC Clase I presentan principalmente productos de la degradación proteosomal a las células T CD8+, mientras que las moléculas de MHC clase II presentan péptidos que son principalmente generados por degradación lisosomal a las células T CD4+ (32, 33). Diversos estudios plantean la participación de autofagia en la presentación de antígenos intracelulares a las células T CD4+ o su intervención durante el proceso de presentación-cruzada de las células T CD8+ (33, 34).

**Autofagia y presentación antigénica en MHC clase II.** Tradicionalmente, las moléculas de MHC clase II presentan péptidos antigénicos derivados de proteínas extracelulares. Las moléculas de MHC II son constitutivamente expresadas sobre la superficie de células presentadoras de antígenos profesionales como células B, células dendríticas y macrófagos, así como células epiteliales tímicas medulares y corticales (35). Estudios de secuenciación y/o elusión de péptidos presentados por las moléculas de MHC clase II han revelado la presencia de antígenos virales citoplasmáticos y nucleares, y antígenos propios y tumorales (35-37). Por ello, la participación de la autofagia en la inducción de respuesta de las células T es crítico en la respuesta inmune (38). La autofagia ha sido identificada como una ruta por la cual entre 10-25% de antígenos citoplasmáticos y nucleares (proteína ribosomal S30, c-myc, k-ras y citocromo B5-reductasa) son liberados en los endosomas y de allí, cargados sobre moléculas de MHC clase II para la presentación a las células T CD4+ (35-36). La unión de un ligando al complejo MHC clase II sobre la su-

perficie celular es el resultado de procesos de edición de péptidos (HLA-DM). El complejo MHC clase II viaja a través de endosomas tempranos, endosomas maduros (llamados MIIC), lisosomas y fagosomas para adquirir péptidos, antes del tránsito hacia la superficie celular donde interactúa con las células T CD4+ y como resultado la intersección física de la autofagia con endosomas y lisosomas es crítica para el procesamiento y presentación de antígenos nucleares y citoplasmáticos por moléculas de MHC clase II. (36, 40-41).

La macroautofagia y la autofagia mediada por chaperonas están involucradas en la presentación de antígenos intracelulares por MHC clase II (35). Un ejemplo de este fenómeno es la ruta de presentación, mediado por autofagia, de un epítipo derivado de la proteína citosólica neomicina fosfotransferasa II (NeoR) (42). El proceso involucra el secuestro de NeoR en el interior de un autofagosoma y su posterior liberación en el interior de un compartimento "lítico" (42). En el diseño experimental, se bloqueó la macroautofagia con inhibidores de PI3K (3-metiladenina y wortmanina) y se demostró que la autofagia constituye el enlace entre la presentación por el MHC clase II y las proteínas celulares (42). El proceso de macroautofagia ha sido asociado con la presentación de antígenos virales como los de Herpes Viral, los de la proteína de matriz de la Influenza y antígenos nucleares del virus de Epstein-Barr (EBV), en diferentes tipos celulares (43-47). En un modelo murino, la autofagia potenció la eficacia de vacunas del Bacilo Calmette-Guérin (BCG) con antígenos inmunodominantes micobacterianos presentados por células dendríticas y macrófagos murinos (48). La rapamicina potenció la co-localización de la micobacteria con autofagosomas y lisosomas, y fue inhibido por 3-metiladenina o por ARN de interferencias dirigidos contra beclina 1 (11, 48). La autofagia, se presume, es más que

un mecanismo de remoción de organelos citosólicos, balance celular muerte/sobrevivida, interviniendo en la presentación de péptidos antigénicos y en la tolerancia y homeostasis de las células T CD4+.

**Autofagia y presentación antigénica en MHC clase I.** La autofagia también interviene en la presentación de antígenos virales y extracelulares para la presentación antigénica vía MHC clase I para reconocimiento por las células T CD8+, fenómeno denominado presentación-cruzada (34, 39). El mecanismo básico de presentación antigénica a las células T CD8+ comprende el reconocimiento por estas células de péptidos antigénicos intracelulares para las moléculas MHC clase I. Los epítopos de antígenos citoplasmáticos y nucleares comprenden proteínas virales y antígenos tumorales endógenos y/o autoantígenos, que son cargados sobre las moléculas de MHC clase I por una ruta dependiente de la degradación proteosomal y un transportador de péptidos antigénicos (TAP). El rol directo de la autofagia en la presentación convencional de antígenos a las células T CD8+, no ha sido claramente demostrado. Se ha reportado un efecto potenciador de la autofagia en la presentación de los antígenos del virus de Herpes Simple (34, 36, 49). En el proceso se encapsulan los antígenos que escapan de los autofagosomas y son degradados por el proteosoma. Por ello, el proceso básico de producción de péptidos durante la presentación de antígenos intracelulares para ser exhibidos a las células T CD8+ es atribuido exclusivamente al proteosoma (34, 36, 49). De esta manera, al tratarse de péptidos derivados de citoplasma y/o núcleo se logra la detección temprana de infecciones y/o transformación celular (34, 36, 39).

Las evidencias de la participación de la autofagia en la ruta de "presentación-cruzada" antigénica no son tan tajantes como las demostradas para la ruta convencional de carga de antígenos a moléculas MHC cla-

se I. Durante el proceso de presentación-cruzada, las células presentadoras de antígenos derivadas de médula ósea, como las células dendríticas, internalizan y degradan antígenos del ambiente extracelular, posteriormente despliegan péptidos en asociación con moléculas de MHC clase I sobre su superficie celular. Este mecanismo inmunovigilancia facilita la eliminación de células infectadas con patógenos o células tumorales, garantizando la apropiada respuesta a patógenos o malignidad (34, 35). En lo que respecta a la participación de la macroautofagia en la presentación-cruzada, básicamente dos estudios han demostrado que los antígenos tumorales y virales son presentados con mejor eficiencia por las células T CD8+ cuando es activada la ruta autofagia (35, 50, 51). En uno de ellos, fibroblastos embrionarios de ratones deficientes en genes apoptóticos (Bax/Bak  $-/-$  MEF) presentaron eficientemente virus de influenza A respecto a los fibroblastos sin la mutación (tipo silvestre), y la presentación-cruzada fue inhibida por ARN de interferencia (siRNA) contra Atg5, proteína esencial para la macroautofagia (36, 50, 51). Otro estudio, reseña que la presentación-cruzada de ovalbúmina y el antígeno de diferenciación de melanocitos gp100 sobre las líneas celulares de melanoma y epitelial fue regulado negativamente por la presencia de un ARN de interferencia sobre los genes Atg6 y Atg12 (34, 50, 52). A pesar de los resultados obtenidos, se requieren más estudios que permitan establecer la importancia de la macroautofagia en la presentación-cruzada antigénica (51, 52, 53).

### AUTOFAGIA Y CÁNCER

La autofagia tiene un rol crítico en el mantenimiento de la homeostasis celular y la integridad genómica. Sin embargo, deficiencias de proteínas claves, han sido impli-

cada en la patofisiología de diversas enfermedades, trastornos neurodegenerativos, envejecimiento, infecciones recurrentes, miopatías, enfermedad de Crohn y cáncer (54-57). Durante el desarrollo de tumores, las células malignas pueden presentar señalización proliferativa sostenida (oncogenes activos), evasión de las funciones supresoras de crecimiento, invasión de tejidos sanos debido al potencial metastásico, estimulación de la angiogénesis y resistencia a la muerte celular inducida por agentes quimioterapéuticos (58). El escenario se complica cuando los mecanismos de "control" como la autofagia contribuyen a la supervivencia del tumor (54, 58). La relevancia fisiológica de la autofagia en la formación y progresión tumoral es controversial. Con frecuencia se reporta que la autofagia tiene un rol paradójico durante la carcinogénesis y la respuesta a tratamiento; actúa como supresor tumoral, contrarrestando la inestabilidad del genoma y organelos y el exceso de factores de crecimiento, pero también puede contribuir con la supervivencia del tumor, protegiendo a las células tumorales ante condiciones adversas (54, 58). Un mecanismo que explica la naturaleza dinámica de la autofagia en cáncer propone que la misma constituye una barrera que limita la iniciación del tumor, pero una vez establecida la neoplasia, ocurren cambios adaptativos, favorables al mantenimiento y progresión del tumor; sin embargo, el mecanismo definitivo aún no ha sido dilucidado (54, 59).

### Autofagia como un mecanismo supresor de tumores

La autofagia funciona como un mecanismo supresor de tumores por tres mecanismos principales: 1) remueve organelos y/o proteínas dañadas (mitocondrias y peroxisomas), 2) limita el crecimiento celular y la inestabilidad genómica 3) limita los procesos inflamatorios y/o la necrosis, alarmina (HMGB1) dependiente, y 4) limita la

tolerancia y promueve la inmunovigilancia tumoral (60-62). Se ha reportado que entre un 40-70% de los tumores de seno, ovario y próstata presentan supresión monoalélica del gen de la Beclina-1 (55, 58, 63). La Beclina-1 induce autofagia por unión y activación a Vps34 (specific protein complex vacuolar protein sorting 34) y su sobreexpresión en la línea celular de cáncer de seno humano MCF7 inhibe la proliferación *in vitro*. Ratones con disrupción heterocigota de gen de la Beclina-1, desarrollaron espontáneamente linfomas, cáncer de seno y pulmón, así como hepatocarcinoma celular (64). Qu y col. (65) demostraron que la Beclina-1 es un supresor haplo-insuficiente (la delección de una copia de Beclina-1 es suficiente para modular la oncogénesis), y que la supresión tumoral requiere la presencia del dominio inductor de autofagia en la proteína (65). Otras proteínas supresoras de tumores han sido mostradas como promotores de autofagia, incluyendo factor de interacción con Bax 1 (Baf-1), proteínas BH3, genes asociados a resistencia de radiación ultravioleta (UVRAG), PTEN, p53 nuclear y AMPK (58, 64, 66, 67). Por ello, se sugiere que una actividad autofágica normal regula la transformación celular, mientras que una disminución de la misma, pudiera contribuir al mayor crecimiento y resistencia de células tumorales.

#### **Autofagia en la promoción y mantenimiento de tumores**

Si bien se ha reportado la presencia de autofagia como regulador negativo en etapas tempranas de cáncer, también ha sido documentado que, en células neoplásicas establecidas, el estrés metabólico (originado como resultado de deficiencias de nutrientes, hipoxia, incremento en la demanda energética producto de una replicación acelerada) induce autofagia. El proceso produce ventajas selectivas a las células tumorales en el microambiente tumoral como

durante la diseminación y metástasis, incrementando agresividad neoplásica y/o resistencia a fármacos (58, 68, 69). En diferentes líneas celulares la terapia antineoplásica, radioterapia y quimioterapia inducen autofagia que a su vez induce sobrevida (69, 70, 71). Si se inhibe la autofagia, las células mueren (69-71). Las características intrínsecas al tumor, aún en ausencia de fármacos, son comúnmente reportados como inductores de autofagia, como por ejemplo estrés metabólico y citotóxico, la hipoxia y la ausencia de nutrientes. Las dos más estudiadas son la hipoxia y la anoikis (68, 69). La hipoxia en el tumor, producto de la deficiente vascularización tumoral, se asocia con fenotipos de mayor malignidad, alta predisposición a metástasis y mal pronóstico. La conexión entre la hipoxia y la autofagia está dada por el Factor Inducible de Hipoxia (HIF1 $\alpha$ ), un factor de transcripción que regula una plétora de genes responsables de alteraciones metabólicas: angiogénesis, invasión, metástasis y resistencia a terapia en tumores hipóxicos. Un ejemplo de su participación en cáncer es: HIF1 $\alpha$  regula BNIP3 (Bcl-2/adenovirus E1B 19-kDa interacting protein 3) y su activación bajo condiciones de hipoxia se reporta como inductor de autofagia para la degradación selectiva de mitocondrias (mitofagia), de manera que promueve la sobrevida durante la hipoxia en tumores esferoides hepatocelulares (60, 68, 72-74). La evidencia clínica también sugiere que los tumores “utilizan” autofagia como mecanismo de sobrevida y proliferación durante condiciones de hipoxia (72, 75). Al evaluar la expresión de Beclina-1 junto con la expresión de HIF-1 $\alpha$ , se demostró que las rutas se activan paralelamente durante la hipoxia y son empleadas por células de carcinoma para “resistir” la acción de fármacos quimioterapéuticos y por tanto adquirir fenotipos resistentes y de recurrencia en adenocarcinoma colorectal y nasofaríngeo humano (72, 75). Por otra

parte, la Anoikis es negativamente regulada por la autofagia. En condiciones normales, la Anoikis constituye un mecanismo de muerte celular inducido por separación de las células, garantizando la homeostasis celular "asesinando" a las células que han perdido contacto con la membrana celular basal. Sin embargo, la autofagia funciona como un mecanismo protector de Anoikis en células no transformadas, de allí que se extrapole su participación en la migración celular durante la metástasis, donde la sobrevivencia de las células posterior al desprendimiento de la membrana basal es la principal característica (68, 69, 76). Queda mucho por dilucidar en los diferentes escenarios que regulan la autofagia durante la carcinogénesis.

### AUTOFAGIA Y p53

Varios factores intracelulares han sido implicados en la promoción e inhibición de autofagia: múltiples oncogenes (en particular fosfatidilinositol 3-kinasa, PI3K; Akt1 activada; proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl2) inhiben la autofagia. A la par, varias proteínas supresoras de tumores (como proteínas solo BH3; proteínas quinasas asociadas a muerte, DAPK1; las fosfatasa que antagonizan la función de PI3K, PTEN; complejos de esclerosis tuberosa 1 y 2, TSC1 and TSC2; así como LKB1/STK11) inducen autofagia, de manera que su pérdida se traduce en disminución de la misma (77, 78). La proteína p53, una de los principales supresores de tumores y el gen más mutado en diversos tipos de tumores humanos, ejerce una función ambigua durante la regulación de la autofagia (67, 78, 79). El p53, ha sido implicado en múltiples procesos biológicos, arresto del ciclo celular, apoptosis, senescencia, diferenciación, angiogénesis, metabolismo energético, estrés oxidativo, y autofagia, y también induce o inhibe la transcripción genes específicos (67, 77-79).

El rol de la autofagia en la oncogénesis y la terapia contra el cáncer es contradictorio. La supresión crónica de la autofagia puede estimular la oncogénesis; sin embargo, una vez formado el tumor, la inhibición de la autofagia puede ser una meta terapéutica para la radiosensibilización y la quimiosensibilización (78). Por su parte, p53 desempeña un rol dual en la regulación de la autofagia dependiente de la localización subcelular. En el núcleo, p53 funciona como un factor pro-autofagia de manera dependiente o independiente de la transcripción, y en el citoplasma p53 suprime la inducción de la autofagia (67, 80). El p53 puede ser activado por una amplia variedad de señales de estrés celular [81]. Una vez activado, inhibe al regulador negativo de la autofagia mTOR a través de la regulación transcripcional de Sestrin 1 y Sestrin 2, activadores de la proteína AMP kinasa fosforilando al complejo TSC2, que regula negativamente a mTOR induciendo autofagia (81). Otra vía de inducción de autofagia por p53 es la activación de DRAM (*Damage-Regulate Autophagy Modulator*), por fosforilación de Bcl2 que se disocia de la Beclina 1, siendo ésta última esencial en la formación del autofagosoma. Alternativamente, p53 activa genes apoptóticos promotores de autofagia como son PUMA y Bax, pero el mecanismo de señalización de estos últimos ha sido controversial y requiere futuras investigaciones (67, 81-83).

Contrario a las observaciones arriba descritas, p53 también ha sido reportado como inhibidor de autofagia en nematodos, ratones y humanos. Específicamente, la inhibición de p53 por inhibidores químicos, ARN de interferencia o deleciones genéticas, son reportadas por incrementar los niveles basales de autofagia. En tal sentido, la regulación negativa es ejercida por la proteína de localización citosólica y no la de localización nuclear. Inductores distintos de autofagia (por ejemplo: privación de nu-

trientes, rapamicina y toxinas desestabilizantes de retículo endoplasmático) estimularon la degradación mediada por proteosoma del p53 a través de una ruta dependiente de la E3 ubiquitina ligasa HDM2 (64, 80, 84). Un mecanismo similar fue observado en líneas celulares oncogénicas mutadas para p53, principalmente de localización citoplasmática, sugiriendo cierta conexión entre la inhibición de la autofagia por p53 y la carcinogénesis (84). Debido a que el supresor tumoral p53 regula negativamente el supresor ARF (p14ARF en humanos y p19ARF en ratones), ha sido sugerido que el silenciamiento o inhibición de p53 induce autofagia por un incremento en la expresión de ARF, regulador positivo de autofagia cuando se une a Bel-xL y limita la unión de éste a Beclina1 induciendo la formación del autofagosoma (84-86).

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La autofagia es un proceso metabólico crucial tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, y puede ser considerado como uno de los mecanismos que “conecta” la respuesta inmunitaria innata y adaptativa, dado su participación activa como “sensor” de daño celular durante infecciones por patógenos y/o activación de los sensores innatos de alertas (TLRs, NOD) y las evidencias que sugieren su participación en la presentación antigénica tanto en el marco de moléculas de MHC Clase I, MHC Clase II y/o durante el proceso de presentación-cruzada de las células T CD8+. Sin embargo, dada su múltiple intervención durante los diferentes mecanismos de la respuesta inmunitaria se ha transformado en un “arma de doble filo” durante las condiciones patológicas, principalmente durante la respuesta inmunitaria tumoral, donde definitivamente puede actuar como mecanismo supresor o promotor del desarrollo tumoral dependiendo del microambiente pre-

dominante (factores de crecimiento, hipoxia, privación de nutrientes, condiciones de acidez, activación de genes de respuesta a estrés: oncogenes); de allí, la creciente necesidad de dilucidar la participación específica de la autofagia en cada proceso de la respuesta inmunitaria, o en su defecto, la identificación de todos los procesos de la respuesta inmunitaria en los cuales interviene, todo ello con el objetivo de reconocer las condiciones en las cuales la activación o supresión de la autofagia pudiera favorecer/potenciar la respuesta inmunitaria o suprimirla, respectivamente, en condiciones patológicas, tal que se favorezca el desarrollo de fármacos y/o efectividad de los ya existentes.

### REFERENCIAS

1. Yang Z, Klionsky D. An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Curr Top Microbiol* 2009; 335: 1-32.
2. Kavikumar B, Sarkar S, Davies J, Futter M, Garcia-Arencibia M, Green-Thompson ZW, Jimenez-Sanchez M, Korolchuk VI, Lichtenberg M, Luo S, Massey DC, Menzies FM, Moreau K, Narayanan U, Renna M, Siddiqi FH, Underwood BR, Winslow AR, Rubinsztein DC. Regulation of mammalian in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2010; 1383-1435.
3. Kaushik S, Bandyopadhyay U, Sridhar S, Kiffin R, Martinez M, Kon M, Orenstein SJ, Wong E, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy at glance. *J Cell Sci* 2011; 124: 495-499.
4. Reggiori F, Komatsu M, Finley K, Simonsen A. Selective types of autophagy. *Int J Cell Biol* 2012; 1-18.
5. Sahu R, Kaushik S, Clement C, Cannizzo E, Scharf B, Follenzi A, Potalicchio I, Nieves E, Cuervo AM, Santambrogio L. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosome. *Dev Cell* 2011; 20 (1): 131-139.
6. Yen WL, Klionsky D. How to live long and prosper: autophagy, mitochondria, and aging. *Physiology* 2008; 23: 248-262.

7. **Behrends C, Fulda S.** Receptor proteins in selective autophagy. *Intern J Cell Biol* 2012; 1-9.
8. **Virgin H, Levine B.** Autophagy genes in immunity. *Nat Immunol* 2009; 10 (5): 461-470.
9. **Deretic V.** Autophagy as an innate immunity paradigm: expanding the scope and repertoire of pattern recognition receptors. *Curr Opin Immunol* 2012, 24: 21-31.
10. **Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, Codogno P.** Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell Res* 2010; 20: 748-762.
11. **Xu Y, Eissa T.** Autophagy in innate and adaptive immunity. *Proc Am Thorac Soc* 2010; 7: 22-28.
12. **Kuballa P, Nolte W, Castoreno A, Xavier R.** Autophagy and the immune system. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 611-646.
13. **Lünemann JD, Münz C.** Autophagy in CD4+ T-cell immunity and tolerance. *Cell Death Differ* 2009; 16: 79-85.
14. **Gutierrez M, Master S, Singh S, Taylor G, Colombo M, Deretic V.** Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages. *Cell* 2004; 119: 753-766.
15. **Xu Y, De Liu X, Gong X, Eissa T.** Signaling pathway of autophagy associated with innate immunity. *Autophagy* 2008; 4 (1): 110-112.
16. **Shi CS, Kehrl JH.** MyD88 and Trif target beclin 1 to trigger autophagy in macrophages. *J Biol Chem* 2008; 283 (48): 33175-33182.
17. **Xu Y, Jagannath C, Liu XD, Sharafkhaneh A, Kolodziejaska K, Eissa T.** Toll-like receptor 4 is a sensor for autophagy with innate immunity. *Immunity* 2007; 27 (1): 135-144.
18. **He C, Klionsky D.** Regulation mechanism and signaling pathway of autophagy. *Annu Rev Gen* 2009; 43: 67-93.
19. **Sumpter R, Levine B.** Autophagy and Innate Immunity: triggering, targeting and tuning. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21 (7): 699-711.
20. **Iwasaki A.** Role of autophagy in innate viral recognition. *Autophagy* 2007; 3 (4): 354-356.
21. **Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, Ferguson DJ, Campbell BJ, Jewell D, Simmons A.** NOD2 stimulation induce autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nature Med* 2010; 16: 90-98.
22. **Travassos L, Carneiro L, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Yuan L, Soares F, Chea E, Le Bourhis L, Boneca IG, Allaoui A, Jones NL, Nuñez G, Girardin SE, Philpott DJ.** Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nature Immunol* 2012; 11:55-62.
23. **Saitoh T, Akira S.** Regulation of innate immune response by autophagy-related proteins. *J Cell Biol* 2010; 189 (6): 925-935.
24. **Lamkanfi M, Dixit V.** Modulation of inflammasome pathway by bacterial and viral pathogens. *J Immunol* 2011; 187: 597-602.
25. **Lamkanfi M, Dixit V.** The inflammasomes. *Plos Pathogens* 2009; 5: 1-4.
26. **Lamkanfi M.** Emerging inflammasome effector mechanisms. *Nature Rev Immunol* 2011; 11: 213-220.
27. **Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S.** Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production. *Nature* 2008; 456 (7219): 264-268.
28. **Shi CS, Shenderov K, Huang N, Kabat J, Abu-Asab M, Fitzgerald K, Sher A, Kehrl JH.** Activation of autophagy by inflammatory signals limits IL-1β production by targeting ubiquitinated inflammasomes for destruction. *Nature Immunol* 2012; 13: 255-264.
29. **Zhou R, Yazdi A, Menu P, Tschopp J.** A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 2011; 469 (7329): 221-225.
30. **Schroder K, Tschopp J.** The Inflammasome. *Cell* 2010; 140: 821-832.
31. **Nakahira K, Haspel JA, Rathinam V, Lee SJ, Dolinay T, Lam HC, Englert JA,**

- Rabinovitch M, Cernadas M, Kim HP, Fitzgerald KA, Ryter SW, Choi AM. Autophagy proteins regulate innate immune response by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nature Immunol* 2011; 12:222-230.
32. Deretic V. Multiple regulatory and effector roles of autophagy in immunity. *Curr Opin Immunol* 2009; 21 (1): 53-62.
33. Münz C. Antigen processing for MHC class II presentation via autophagy. *Frontiers Immunol* 2012; 3: 1-6.
34. Münz C. Antigen processing via autophagy –not only for MHC class II presentation anymore? *Curr Opin Immunol* 2010; 22 (1): 89-93.
35. Crotzer V, Blum J. Autophagy and its role in MHC-mediated antigen presentation. *J Immunol* 2009; 182(6): 3335-3341.
36. Crotzer V, Blum J. Autophagy and adaptive immunity. *Immunology* 2010; 131: 9-17.
37. Marrack P, Ignatowicz L, Kappler J, Boymel J, Freed J. Comparison of peptides bound to spleen and thymus class II. *J Exp Med* 1993; 178: 2173-2183.
38. Mintern J, Villadangos J. Eat thyself, heal thyself: autophagy in innate and adaptive immunity. *Austral Biochem* 2011; 42 (2): 8-11.
39. Dengjel J, Schoor O, Fischer R, Releh M, Kraus M, Müller M, Kreymborg K, Altenberend F, Brandenburg J, Kalbacher H, Brock R, Driessen C, Rammensee HG, Stevanovic S. Autophagy promotes MHC class II presentation of peptides from intracellular source proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(22): 7922-7927.
40. Mukherjee P, Dani A, Bhatia S, Singh N, Rudensky A, George A. Efficient presentation of both cytosolic and endogenous transmembrane protein antigens on MHC class II is dependent on cytoplasmic proteolysis. *J Immunol* 2001; 167: 2632-2641.
41. Guéguen M, Long E. Presentation of a cytosolic antigen by major histocompatibility complex class II molecules requires a long-lived form of the antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14692-14697.
42. Nimmerjahn F, Milosevic S, Begrends U, Jaffee EM, Pardoll DM, Bornkamm GW. Major histocompatibility complex class II-restricted presentation of a cytosolic antigen by autophagy. *Eur J Immunol* 2003; 33(5): 1250-1259.
43. Hayward A, Kumar D. Special delivery for MHC II via autophagy. *Immunity* 2010; 32: 587-590.
44. Crotzer V, Blum J. Cytosol to lysosome transport of intracellular antigens during immune surveillance. *Traffic* 2008; 9: 10-16.
45. Randow F, Münz C. Autophagy in the regulation of pathogen replication and adaptive immunity. *Trends Immunol* 2012; 33 (10): 475-487.
46. Taylor G, Rickinson A. Antigens and autophagy. *Autophagy* 2007; 3(1): 60-62.
47. Crotzer V, Blum J. Autophagy and intracellular surveillance: Modulating MHC class II antigen presentation with stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(22): 7779-7780.
48. Jagannath C, Lindsey DR, Dhamdayuthapani S, Xu Y, Hunter RL, Eissa NT. Autophagy enhances the efficacy of BCG vaccine by increasing peptide presentation in mouse dendritic cells. *Nature Med* 2009; 15 (3): 267-276.
49. English L, Chemali M, Duron J, Rondeau C, Laplante A, Gingras D, Alexander D, Leib D, Norbury C, Lippé R, Desjardins M. Autophagy enhances the presentation of endogenous viral antigens on MHC class I molecules during HSV-1 infection. *Nat Immunol* 2009; 10: 480-487.
50. Münz C. Antigen processing for MHC presentation by autophagy. *F1000 Biol Report* 2010; 2: 61-4.
51. Uhl M, Kepp O, Jusforgues H, Vicencio JM, Kroemer G, Albert ML. Autophagy within the donor cell facilitates efficient antigen cross-priming of virus-specific CD8+ T cell. *Cell Death Differ* 2009; 16: 991-1005.
52. Li Y, Wang LX, Yang G, Hao F, Urban WJ, Hu HM. Efficient cross-presentation depends on autophagy in tumor cells. *Cancer Res* 2008; 68: 6889-6895.

53. Münz C. Antigen processing by macroautophagy for MHC presentation *Frontiers Immunol* 2011; 2 (42): 1-7.
54. Choi K. Autophagy and cancer. *Exp Mol Med* 2012; 44(2) 109-120.
55. Rubinsztein D, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell* 2011; 146: 682-695.
56. Henderson P, Stevens C. The role of autophagy in Crohn's disease. *Cells* 2012; 1: 492-519.
57. Wong E, Cuervo AM. Autophagy gone away in neurodegenerative disease. *Nature Neurosci* 2010; 13 (7): 805-811.
58. Aredia F, Guamán LM, Giansanti V, Scovassi I. Autophagy and cancer. *Cells* 2012; 1: 520-534.
59. Kimmelman A. The dynamic nature of autophagy in cancer. *Genes Develop* 2011; 25:1999-2010.
60. Yang Z, Chee C, Huang S, Sinicrope FA. The role of autophagy in cancer: Therapeutic implications. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1533-1541.
61. Tang D, Kang R, Livesey K, Cheh CW, Farkas A, Loughran P, Hoppe G, Bianchi ME, Tracey KJ, Zeh HJ 3rd, Lotze MT. Endogenous HMGB1 regulates autophagy *J Cell Biol* 2010; 190 (5): 881-892.
62. Mathew R, Karantza V, White E. Role of autophagy in cancer. *Nature Rev* 2007; 7: 961-967.
63. Aita V, Liang XH, Murty V, Pincus D, Yu W, Cayanis E, Kalachikov S, Gilliam TC, Levine B. Cloning and genomic organization of Beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics* 1999; 59: 59-65.
64. Kung C, Budina A, Balaburski G, Bergenstock M, Murphy M. Autophagy in tumor suppression and cancer therapy. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2011; 21(1): 71-100.
65. Qu X, Yu J, Bhagat G, Furuya H, Hibshoosh H, Troxel A, Rosen J, Eskelinen EL, Mizushima N, Ohsumi Y, Cattoretti G, Levine B. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the Beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003; 112(12): 1809-1820.
66. Arico S, Petiot A, Bauvy C, Dubbelhuis P, Maijer A, Codogno P, Ogier-Denis E. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem* 2001; 276 (38): 35243-35246.
67. Sui X, Jin L, Huang X, Geng S, He C, Hu X. p53 signaling and autophagy in cancer: A revolutionary strategy could be developed for cancer treatment. *Autophagy* 2011; 7(6): 565-571.
68. Roy S, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 383-396.
69. Brech A, Ahlquist T, Lothe R, Stenmark H. Autophagy in tumour suppression and promotion. *Mol Oncol* 2009; 3: 366-375.
70. Berardi D, Campodónico P, Bessone MI, Urtreger A, Todaro L. Autophagy: friend or foe in breast cancer development, progression, and treatment. *Inter J Breast Cancer* 2011; 1-7.
71. Abedin MJ, Wang D, MacDonnell MA, Lehmann U, Kelekar A. Autophagy delays apoptotic death in breast cancer cells following DNA damage. *Cell Death Differ* 2007; 14: 500-510.
72. Schlie K, Spowart J, Hughson L, Townsend K, Lum J. When cells suffocate: Autophagy in cancer and immune cells under low oxygen. *Int J Cell Biol* 2011; 1-13.
73. White E, DiPaola R. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15(17): 5308-5316.
74. Semenza G. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20(1):51-61
75. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Pitiakoudis M, Gatter KC, Harris AL. Beclin I over- and under-expression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumor hypoxia. *Br J Cancer* 2010; 103: 1209-1214.
76. Fung C, Lock R, Gao E, Debnath J. Induction of Autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival *Mol Cell Biol* 2008; 19: 797-806.

77. **Brady CA, Attardi L.** p53 at a glance. *J Cell Sci* 2010; 123:2527-32.
78. **Naidu SR, Lakhter AJ, Androphy EJ.** PIASy-mediated Tip60 sumoylation regulates p53-induced autophagy. *Cell Cycle* 2012; 11(14):2717-28.
79. **Mauri MC, Tasmemir E, Criollo A, Morselli E, Vicencio JM, Carnuccio R, Kroemer G.** Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes *Cell Death Differ* 2009; 16: 87-93.
80. **Tasmemir E, Maiuri C, Morselli E, Criollo A, D'Amelio M, Djavaheri-Mergny M, Cecconi F, Tavernarakis N, Kroemer G.** A dual role of p53 in the control of autophagy. *Autophagy* 2008; 4(6): 810-814.
81. **Maiuri C, Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, Malik S, Kroemer G.** Autophagy regulation by p53. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 181-185.
82. **Morselli E, Galluzzi L, Kepp O, Vicencio JM, Criollo A, Maiuri MC.** Anti- and pro-tumor function of autophagy. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 1524-1532.
83. **Crichton D, Wilkinson S, O'Prey J, Syed N, Smith P, Harrison P.** DRAM, a p53-Induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell* 2006; 126: 121-134.
84. **Tasmemir E, Maiuri C, Galluzzi L, Vitale I, Djavaheri M, D'Amelio M, Criollo A, Morselli E, Zhu C, Harper F, Nannmark U, Samara C, Pinton P, Vicencio JM, Carnuccio R, Moll UM, Madeo F, Paterlini-Brechot P, Rizzuto R, Szabadkai G, Pierron G, Blomgren K, Tavernarakis N, Codogno P, Cecconi F, Kroemer G.** Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol* 2008; 10 (6): 676-687.
85. **Morselli E, Tasmemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, Kepp O, Criollo A.** Mutant p53 protein localized in the cytoplasm inhibits autophagy *Cell Cycle* 2008; 7(19): 3056-3061.
86. **Humbey O, Pimkina J, Zilfou JT, Jarnik M, Dominguez-Brauer C, Burgess DJ, Eischen CM, Murphy ME.** The ARF tumor suppressor can promote the progression of some tumors. *Cancer Res* 2008; 68: 9608-9613.