



**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



**FACULTAD DE BIOLOGÍA**  
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

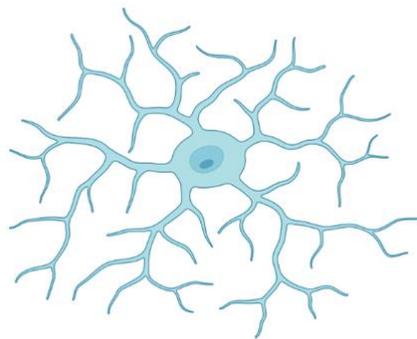
TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN BIOLOGÍA

**NEURODEGENERACIÓN ASOCIADA A TRASTORNOS LISOSOMALES  
EN LA MICROGLÍA**

---

**NEURODEGENERATION ASSOCIATED WITH LYSOSOMAL DISORDERS IN THE  
MICROGLIA**



Autor: Diego Fadrique Valle

**22TFG315**

## **RESUMEN**

Durante los últimos años los lisosomas de las células han cobrado una mayor importancia, tanto a nivel terapéutico como funcional. Durante mucho tiempo se ha considerado al lisosoma sólo como un orgánulo degradador de componentes celulares. Sin embargo, su capacidad secretora y señalizadora, entre otras, hacen de este un componente esencial para el correcto funcionamiento de la célula. Todo ello está proporcionando nuevos enfoques para entender y combatir los trastornos neurodegenerativos. Algunas de estas enfermedades se caracterizan por fallos en las funciones lisosomales que provocan eventos inflamatorios, desestabilización y muerte neuronal. Las células microgliales son algunas de las encargadas de la defensa del Sistema Nervioso Central. Sin embargo, ante eventos neurodegenerativos, se acaban convirtiendo en un arma letal contra el propio sistema. Los lisosomas de la microglía pueden ser parte del problema, ya que controlan la capacidad secretora, degradadora y señalizadora de estas células. Entender la función lisosomal-microglial es esencial para comprender el desarrollo de estos trastornos. De esta manera, se podrán encontrar nuevas vías de señalización que sirvan como diana terapéutica.

## **ABSTRACT**

In recent years, cellular lysosomes have gained greater importance, both therapeutically, and functionally. For a long time, the lysosome has just been considered as a degradative organelle. However, its secretory and signaling capacity, among others, make it an essential component for the proper functioning of the cell. All this provides new approaches when it comes to understanding and treating neurodegenerative disorders. Some of these diseases are characterized by failures in lysosomal functions that lead to inflammatory events, destabilization, and neuronal death. Microglial cells are in charge of the defense of the Central Nervous System. However, in the face of neurodegenerative events, they might become a lethal weapon against the system itself. Microglial lysosomes might be part of the problem, since they control the secretory, degradative and signaling capacity of these cells. Understanding lysosomal-microglial function is essential to comprehend the development of these disorders. Thus, new signaling pathways can be used as therapeutical targets.

## **ABREVIATURAS:**

**AMC:** Autofagia mediada por chaperonas

**AMPK:** Proteína quinasa activada por adenosín monofosfato

**ATG5:** Gen relacionado con la autofagia 5

**ATP:** Adenosín trifosfato

**BDNF:** Factor neurotrófico derivado del cerebro

**CX3CR1:** Gen del receptor 1 de quimiocinas CX3C

**EAL:** Enfermedades por Almacenamiento Lisosomal

**ELA:** Esclerosis Lateral Amiotrófica

**EMA:** Agencia Europea del Medicamento

**LC3:** Proteína asociada a microtúbulos 3

**LPS:** Lipopolisacáridos

**MEC:** Matriz extracelular

**mTORC1:** Diana mecanicista de las vías del complejo 1 de rapamicina

**N:** Nitrógeno

**NIH:** Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos

**O:** Oxígeno

**p62:** Proteína de unión a ubiquitina

**SNC:** Sistema Nervioso Central

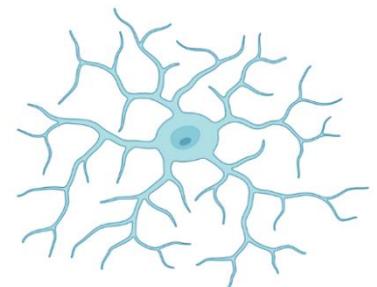
**TNF $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

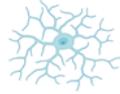
**TREM2:** Gen del receptor desencadenante expresado en células mieloides 2

**v-ATPasa:** ATPasa vacuolar

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 ENDOCITOSIS-AUTOFAGIA-EXOCITOSIS .....	2
1.2 CÉLULAS DE LA NEUROGLÍA.....	3
2. OBJETIVOS.....	4
3. MÉTODOS .....	5
4. FUNCIONES LISOSOMALES EN LA MICROGLÍA .....	5
4.1 EXOCITOSIS .....	5
4.1.1 Disfunción de la exocitosis .....	7
4.2 ENDOCITOSIS .....	8
4.2.1 Fagocitosis.....	8
4.2.2 Disfunción de la fagocitosis.....	11
4.3 AUTOFAGIA.....	13
4.3.1 Disfunción de la autofagia .....	13
5. ENFERMEDADES RARAS ASOCIADAS A LA DISFUNCIÓN LISOSOMAL.....	15
6. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES LISOSOMALES RARAS .....	16
7. TERAPIAS .....	17
8. CONCLUSIONES.....	18
9. BIBLIOGRAFÍA.....	19





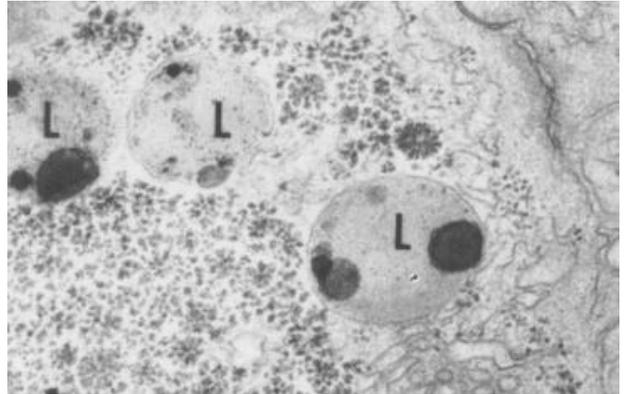
---

## 1. INTRODUCCIÓN

---

Los lisosomas son los orgánulos celulares encargados de mediar la degradación y el reciclaje de partículas extracelulares por endocitosis, y de componentes intracelulares, vía autofagia (**Figura 1**). Contienen enzimas digestivas ácidas responsables de la descomposición de polisacáridos, proteínas y lípidos complejos (**Xu et al., 2015**). Por ello, se los considera como uno de los lugares del catabolismo celular, es decir, de degradación y oxidación de biomoléculas.

Estas estructuras membranosas fueron descubiertas en los años 50 por el premio Nobel Christian de Duve. Su tamaño varía entre los 200 y 1000 nm de diámetro y, estructuralmente, se encuentran rodeados por una membrana. Su pH oscila entre 4,5 y 5,5, y está mantenido por una bomba de protones, la v-ATPasa (**Zoncu et al., 2011**). Este ambiente ácido permite la acción de enzimas, como las hidrolasas, y proteínas asociadas a membrana.

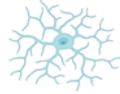


**Figura 1.** Lisosomas próximos a un canalículo biliar (Confer & Stenger, 1964).

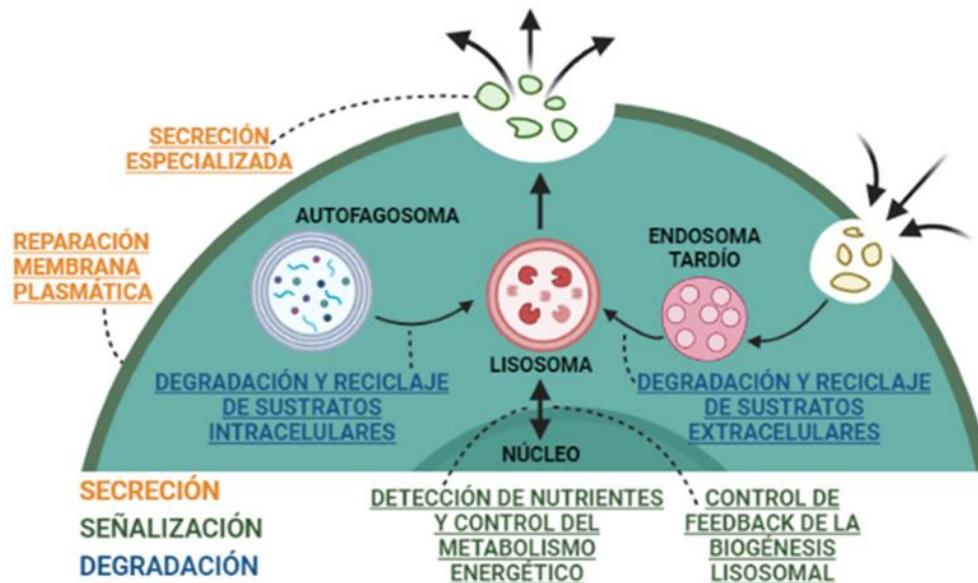
Los lisosomas realizan múltiples funciones, entre las que destacan (**Settembre et al., 2013; Erie et al., 2015**):

- Mantenimiento de la homeostasis celular.
- Eliminación de desechos celulares.
- Eliminación de patógenos intra- y extra- celulares.
- Reparación de membranas dañadas mediante exocitosis regulada por  $Ca^{2+}$ .
- Defensa contra patógenos.
- Reguladores del metabolismo energético por señalización celular.
- Apoptosis.

Estos orgánulos globulares juegan un papel muy importante a nivel neural, ya que contribuyen a la homeostasis del Sistema Nervioso Central (SNC). Su disfunción está relacionada con enfermedades tan conocidas como la enfermedad de Alzheimer, la demencia por cuerpos de Lewy o la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (**Kreher et al., 2021**).



Este trabajo se centrará fundamentalmente en el estudio de la función y relevancia de los lisosomas en trastornos neurodegenerativos, enfocándose en la microglía. De la misma manera, se hará hincapié en los fenómenos de degradación, secreción y señalización que realizan (**Figura 2**).



**Figura 2.** Esquema de las principales funciones lisosomales: degradación, secreción y señalización (Modificado con BioRender.com de Settembre et al., 2013).

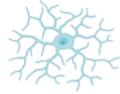
### 1.1 ENDOCITOSIS-AUTOFAGIA-EXOCITOSIS

Para que los lisosomas cumplan con la función degradadora han de incorporar el material a procesar. En el caso de que dicha carga provenga del exterior celular, la célula lo internaliza a través del proceso de endocitosis. Existen diferentes modos de incorporación como son la fagocitosis, la pinocitosis mediada por citoesqueleto o la endocitosis dependiente e independiente de receptores de clatrina y caveolina (**Settembre et al., 2013**). Una vez se produce esa internalización del material, el endosoma formado puede seguir dos rutas: fusionarse con endosomas de reciclaje y ser reutilizado, o madurar a endosoma tardío para así fusionarse con el lisosoma e iniciar la vía degradativa (**Kreher et al., 2021**).

En el caso de que el material a degradar o reciclar provenga del interior celular, tiene lugar la autofagia. Este es un proceso catabólico de autodegradación, reciclaje y eliminación de componentes no deseados como orgánulos dañados o proteínas mal plegadas (**Xu et al., 2020**).

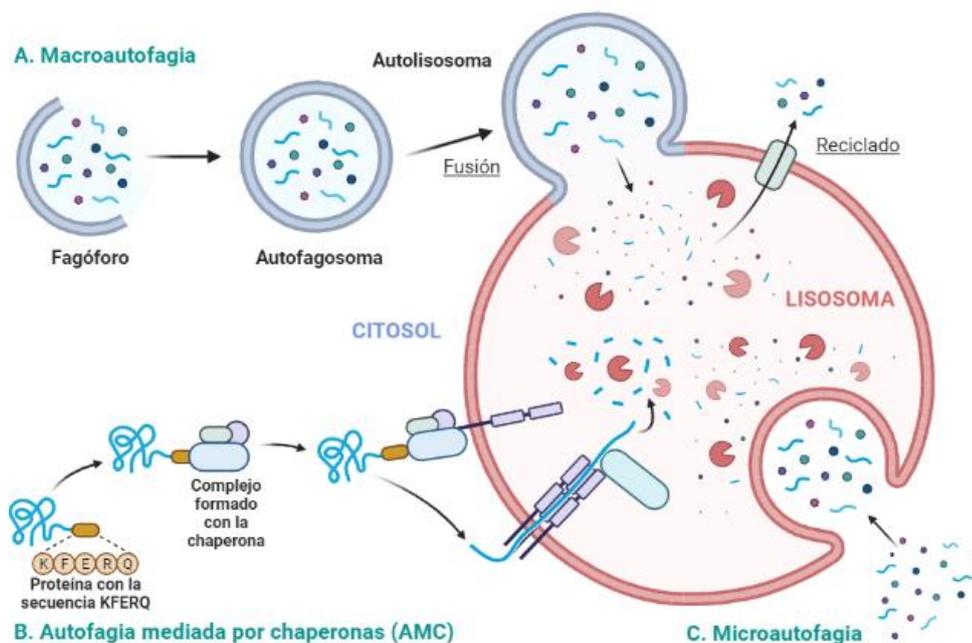
Se pueden distinguir tres grandes tipos de autofagia (**Xu et al., 2020**) (**Figura 3**):

- La macroautofagia, proceso en el cual los componentes celulares son ingeridos por los autofagosomas y transportados hacia los lisosomas.



- La autofagia, donde no es necesaria la presencia de un intermediario, es decir, el material es transportado directamente por invaginación al lumen lisosomal.
- La autofagia mediada por chaperonas (AMC), en la que el material es reconocido por estas proteínas y transportado a los lisosomas.

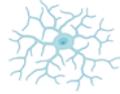
La autofagia es un proceso clave como respuesta a diferentes tipos de estrés y daño celular. Durante este proceso, la carga a degradar es incorporada y dirigida hacia los lisosomas para fusionarse. El material generado se destina a realizar procesos celulares o se libera al espacio extracelular como desecho (Xu et al., 2020). Cuando se la menciona sin especificar el modelo de actuación, nos referimos a la macroautofagia como método más habitual (Kreher et al., 2021).



**Figura 3.** Representación de los diferentes modelos autofágicos. La macroautofagia (A) mediada por proteína asociada a microtúbulos (LC3). La AMC (B) en la que las chaperonas reconocen la secuencia pentapéptica KFERQ permitiendo así su entrada en el lisosoma. La microautofagia (C) como una absorción directa (Elaborado con BioRender.com).

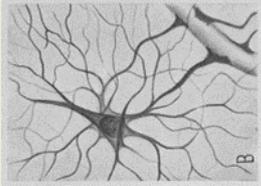
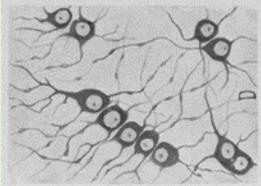
## 1.2 CÉLULAS DE LA NEUROGLÍA

El SNC, a nivel celular, está conformado por las neuronas, células encargadas de transmitir el impulso nervioso, y las células gliales. Las células gliales, o neuroglía, está compuesta a su vez por la microglía y la macroglía. En esta última, incluimos los astrocitos, los endotelios y los oligodendrocitos (Kreher et al., 2021). Sus funciones, como la mielinización por parte de oligodendrocitos o la eliminación de placas por parte de astrocitos, dependen de las vías lisosomales (Simons et al., 2016). Las células gliales, de menor tamaño que las neuronas, componen alrededor del 90% de las células del cerebro humano. Además, sirven como soporte del SNC y se encargan de



su mantención y de la homeostasis. En el caso de que estas no funcionen correctamente, se puede generar un fenotipo neurodegenerativo (Belgrad et al., 2020).

Así, las competencias principales de los tres tipos más importantes de la neuroglía son (Figura 4):

<p><b>MICROGLÍA</b></p>  <p>A</p>	<p>Células que actúan principalmente como defensa inmunitaria y con función fagocítica. Además, participan en el reciclaje de neurotransmisores (Vilalta et al., 2017; Kreher et al., 2021).</p>
<p><b>ASTROCITOS</b></p>  <p>B</p>	<p>Células inmunes que participan en el transporte de metabolitos y también poseen actividad fagocítica, de forma que degradan sinapsis, cúmulos de proteínas y desechos de mielina entre otras estructuras (Vilalta et al., 2017).</p>
<p><b>OLIGODENDROCITOS</b></p>  <p>C</p>	<p>Células encargadas de producir las vainas de mielina que rodean a las neuronas, lo que permite la conducción saltatoria del impulso nervioso. Asimismo, se encargan de la fabricación y transporte de macromoléculas para la formación de mielina (Simons et al., 2016).</p>

**Figura 4.** Representación artística de las células de la glía. **A:** Microglía. **B:** Astrocito en la materia blanca. **C:** Oligodendrocitos. Imágenes tomadas de los trabajos sobre la microglía (1919) del científico vallisoletano Pío del Río Hortega (Sierra et al., 2016).

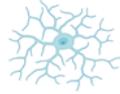
Respecto a las células que nos interesan, las microgliales, componen alrededor del 15% de las células del SNC, y se encargan de mantener la estabilidad mediante la fagocitosis, así como la liberación de factores y señales, siendo las células clave para su defensa (Jülg et al., 2021).

---

## 2. OBJETIVOS

---

El propósito de este trabajo bibliográfico es analizar y discutir la función de los lisosomas en las células microgliales así como las posibles disfunciones causadas por estas. Veremos las enfermedades en las que estos orgánulos aparecen involucrados y algunas de las terapias que actualmente se están llevando a cabo para frenar este tipo de patologías.



---

### 3. MÉTODOS

---

Se han utilizado documentos bibliográficos, revisiones y artículos, procedentes de diversas instituciones y plataformas, como PubMed y ScienceDirect. Se describirán los experimentos científicos realizados recientemente para la comprobación de la actividad de determinadas proteínas, así como la efectividad de medicamentos.

---

### 4. FUNCIONES LISOSOMALES EN LA MICROGLÍA

---

La homeostasis, la defensa y la comunicación del SNC dependen fundamentalmente de las células gliales. Estas disponen de vías lisosomales para la captación y secreción de determinadas moléculas reguladoras, como citoquinas y quimiocinas, así como para señalización o fagocitosis (**Kreher et al., 2021**).

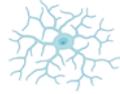
Las células microgliales se encargan de la defensa, comunicación y supervivencia neuronal, tanto de la formación de sinapsis como de la fagocitosis de estas, incluyendo axones, dendritas y precursores neuronales (**Prada et al., 2013**). Los lisosomas participan en dichos procesos desempeñando además un papel crucial en la exocitosis de proteasas de matriz extracelular, en el metabolismo microglial y en la fagocitosis. En este último adquieren especial relevancia en la eliminación de restos de mielina, sustancias patógenas y agregados extracelulares (**Vilalta et al., 2017**).

La microglía libera diversas moléculas dependiendo del estímulo que reciba. Ante la exposición a factores antiinflamatorios, secreta citoquinas para promover la fagocitosis y reconstrucción de matriz extracelular (MEC). Por el contrario, si se da una respuesta proinflamatoria, provoca la expresión de otro tipo de citoquinas para eliminar cualquier agente nocivo y mantener así la homeostasis. Cuando esa inflamación se hace persistente se genera neurotoxicidad, en la zona dañada, lo que conduce a la neurodegeneración (**Hickman et al., 2018; Prowse et al., 2021**).

En los siguientes apartados se van a desarrollar los tres puntos clave en relación con la función y disfunción lisosomal en las células microgliales (exocitosis, endocitosis y autofagia), así como algunos puntos de especial interés terapéutico. Se hará hincapié en la fagocitosis y veremos cómo dichas funciones se encuentran relacionadas con diversas patologías.

#### 4.1 EXOCITOSIS

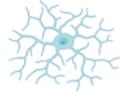
Los lisosomas de las células microgliales liberan desechos y moléculas de señalización a través de la exocitosis, principalmente. En lo que respecta a la exocitosis llevada a cabo por la microglía,



actualmente todavía no se sabe con certeza cómo se produce. Una de las posibles vías sería por exocitosis dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  mediada por lisosomas secretores. Estas estructuras multilamelares, similares a los lisosomas en acidez y enzimas degradadoras, tienen además la capacidad de regular los procesos de secreción. Por otro lado, poseen también una función comunicativa. Dichos complejos liberarían ATP al exterior celular, y de esa manera se podría establecer un gradiente de ATP de largo alcance que permite la comunicación con las células dañadas. El ATP serviría como quimioatrayente para provocar la migración de la microglía a la zona dañada **(Prada et al., 2013)**.

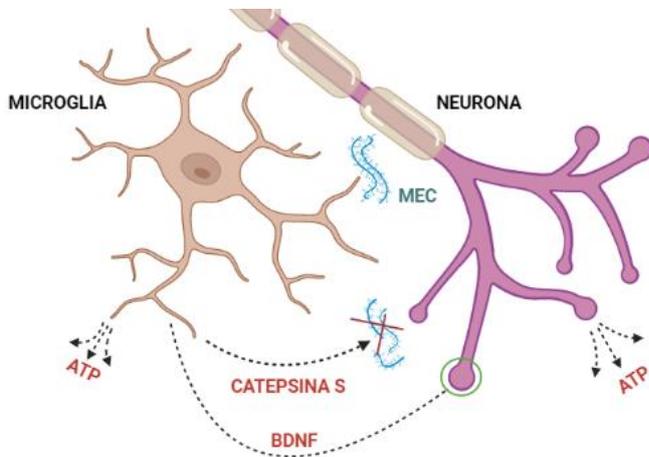
Respecto a la expulsión de sustancias de desecho, no es necesaria la exocitosis regulada, sino que la carga se libera al fusionarse las vesículas del auto-/fago- lisosoma con la membrana celular. Por otro lado, los lisosomas de la microglía secretan también componentes para promover la degradación de MEC. Esta se acumula alrededor de las neuronas, lo que puede entorpecer la transmisión del impulso nervioso y la función neuronal **(Büeler, 2021)**. Para que esto no ocurra, los lisosomas secretan proteasas encargadas de la degradación. Una de ellas es la catepsina S, proteína específica de la microglía en la región cerebral. Esta enzima es necesaria para la degradación de la MEC acumulada, en respuesta a estímulos proinflamatorios, ya que modula la secreción de citoquinas proinflamatorias **(Figura 5)**. Por tanto, a pesar de ser una enzima lisosomal, ejerce su función en el exterior celular gracias a su estabilidad a pH neutro (7). Por el contrario, ante la deficiencia de catepsina S, se produce la alteración de MEC y un aumento en la fagocitosis de espinas dendríticas de neuronas corticales, aquellas en las que se produce la sinapsis. Al no ser la MEC fagocitada y verse disminuida la cantidad de espinas, se produce la modificación del entorno sináptico y se reduce la fuerza sináptica. Bajo un fenotipo neurodegenerativo, provocaría la alteración del comportamiento del sujeto, que se resume en mayor actividad locomotora y situación similar al trastorno por déficit de atención con hiperactividad **(Nakanishi, 2020)**.

Otra de las funciones lisosomales clave de las células microgliales es su contribución en la formación de sinapsis. Estas células secretan un factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) que es liberado por exocitosis regulada dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ . BDNF participa en la supervivencia y plasticidad neuronal, y promueve la formación de espinas dendríticas. Esta proteína se encuentra regulada por el ATP, y por los complejos encargados de la homeostasis lisosomal, AMPK y mTORC1. Altos niveles de ATP liberado por células circundantes, como neuronas dañadas, desencadenan la respuesta inflamatoria que provoca la secreción de BDNF **(Figura 5)**. Cuando los niveles de ATP son bajos no se secreta, como ocurre en personas con depresión o esquizofrenia **(Prowse et al., 2021)**. De la misma manera, en caso de fallo en las vías reguladoras, sus niveles se ven reducidos y disminuye la plasticidad neuronal, como se ha podido observar en cerebros afectados



por Alzheimer. Hoy en día, numerosos antidepresivos tienen como objetivo aumentar los niveles de BDNF consiguiendo efectos beneficiosos sobre el paciente (Bisht et al., 2018).

Tanto la catepsina S como el BDNF contribuyen, junto con otras proteínas, al desarrollo del SNC, a la remodelación de la MEC y a la sinapsis. Estos son algunos ejemplos que nos muestran la función exocítica en la actividad de la microglía, clave en procesos de comunicación, señalización y liberación de sustancias de desecho y factores pro-/anti- inflamatorios (Nakanishi, 2020; Prowse et al., 2021).

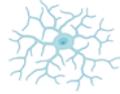


**Figura 5.** Principales actividades de exocitosis lisosomal en microglía. Un gradiente de ATP establecido entre la microglía y la neurona dañada permitirá la aproximación de la microglía hacia esta. La liberación, por parte de los lisosomas de la microglía, de factores, como catepsina S y BDNF, promoverá la mantención y estabilidad neuronal (Elaborado con BioRender.com).

#### 4.1.1 Disfunción de la exocitosis

La disfunción de la exocitosis lisosomal en microglía por estrés u otros eventos está implicada en patologías como la enfermedad del Alzheimer. Esta se caracteriza por la presencia, en el cerebro, de placas seniles de  $\beta$ -amiloide excretado por las neuronas. Dicho péptido insoluble es imposible de degradar por la microglía y los astrocitos. Aunque aparentemente sea un problema fagocítico para la microglía, la exocitosis lisosomal juega también un papel importante (Kreher et al., 2021). El  $\beta$ -amiloide aumenta la liberación masiva de factores proinflamatorios por parte de la microglía, como  $\text{TNF-}\alpha$  y determinadas interleucinas, lo que incrementa la inflamación. En el caso de la enfermedad de Parkinson, la situación es similar con la agregación de placas de  $\alpha$ -sinucleína formando los cuerpos de Lewy (Prowse et al., 2021).

Estos trastornos neurodegenerativos tienen al menos una característica en común con las enfermedades de almacenamiento lisosomal (EAL) que veremos más adelante: la acumulación de materiales no fagocitados. Por ejemplo, en el caso de las esfingolipidosis, como las enfermedades de Tay-Sachs y de Niemann-Pick, la microglía acumula lípidos, pero no tiene capacidad de degradarlos. Como consecuencia, se bloquea la vía endo-lisosomal lo que desencadena una secreción descontrolada de citoquinas proinflamatorias que provoca la muerte neuronal (Walkley, 2021).



## 4.2 ENDOCITOSIS

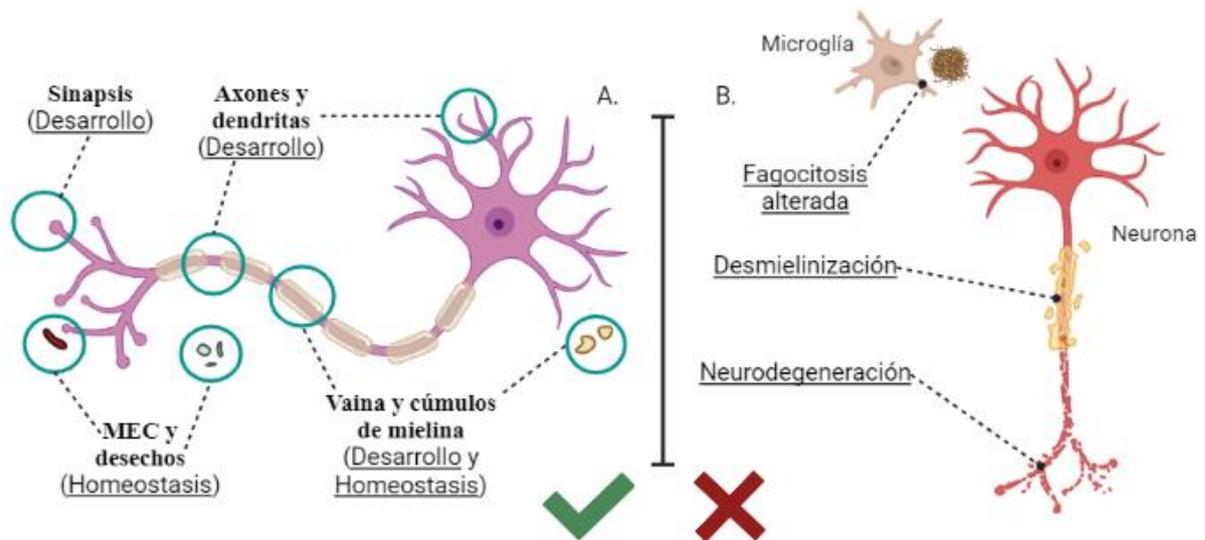
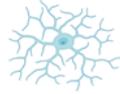
La microglía incorpora diferentes estructuras y sustancias de desecho acorde con las necesidades del SNC manteniendo así su homeostasis. Dentro de esa materia a degradar encontramos neuronas, agentes patógenos, cúmulos de mielina y placas proteicas. El mecanismo más utilizado es la fagocitosis. Esta es una función clave para el desarrollo, pero también lo es durante la enfermedad en el SNC (**Kreher et al., 2021**).

### 4.2.1 Fagocitosis

La fagocitosis es el proceso por el que el material a incorporar es reconocido por la célula y rodeado por prolongaciones de la propia célula llamadas pseudópodos. Al ser engullido por las células, se forma el endosoma donde, tras la fusión con el lisosoma, la carga se degrada para su posterior reutilización o eliminación. Aquí nos centraremos en la función degradadora en las células de la microglía (**Xu et al., 2015**).

Se ha clasificado la fagocitosis según la finalidad de las células microgliales y el contenido a degradar en relación con la función neuronal (**Figura 6**) (**Vilalta et al., 2017**):

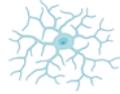
- Fagocitosis de sinapsis viables: es el proceso de eliminación de las sinapsis. Se produce durante el desarrollo y contribuye a la formación de la red neuronal y el aprendizaje.
- Fagocitosis de axones viables y dendritas: consiste en la degradación de axones y dendritas durante el desarrollo. También contribuye a la reorganización de la red neuronal, eliminando conexiones neuronales excesivas.
- Fagocitosis de precursores neuronales: La microglía, junto con astrocitos, contribuye a la eliminación de precursores durante el desarrollo. Se trata de una muerte celular programada.
- Fagocitosis de mielina: la microglía se encarga de la homeostasis de esta, una estructura membranosa que aísla a los axones y resulta necesaria para la conductancia del potencial de acción. Las células microgliales degradan áreas con demasiada mielina ya que los cúmulos formados pueden entorpecer la función del SNC. Sin embargo, en procesos de neurodegeneración, la microglía actúa sobre la mielina que se encuentra en oligodendrocitos, precursores de esta, y en las vainas de mielina en neuronas (**Hughes et al., 2020**).
- Fagocitosis de neuronas dañadas/muertas y sustancias de desecho: consiste en la degradación de restos, ya sean de neuronas u otras estructuras, y agregados de proteínas que resultan patógenos para el cerebro. En el caso de las neuronas que se encuentren en mal estado, estas expondrán un fosfolípido, la fosfatidilserina, como señal para ser fagocitadas.



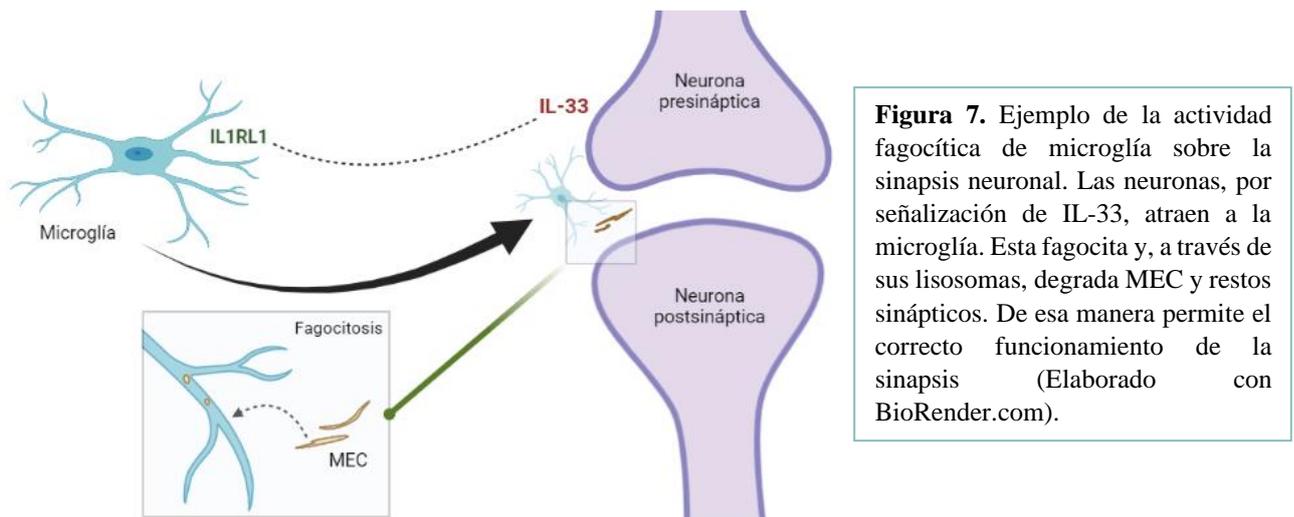
**Figura 6.** Representación de la función fagocítica microglial sobre las neuronas en condiciones normales (A) y patológicas (B). **A.** En situación estable, las células microgliales protegen a la neurona mediante la eliminación de determinados compuestos, la remodelación de la mielina y la eliminación de estructuras, contribuyendo así al correcto desarrollo neuronal y homeostasis del SNC. **B.** En determinadas condiciones, la microglía no funciona correctamente eliminando neuronas activas o atacando las vainas de mielina y otras estructuras. En el caso de cúmulos de proteínas imposibles de digerir, como  $\beta$ -amiloide, estos provocan fagocitosis aberrantes que potencian la neurodegeneración (Elaborado con BioRender.com).

En la endocitosis, una vez se haya producido la internalización del material, los endosomas maduran a endosomas tardíos por la formación y unión de vesículas intracelulares hasta unirse a los lisosomas. En el caso de la fagocitosis, la vesícula que se forma alrededor de la partícula ingerida (fagosoma) se une con el lisosoma formando el fagolisosoma. Independientemente de la situación previa, es entonces cuando comienza la degradación de la carga mediante la llegada de enzimas digestivas e hidrolasas procedentes del complejo de Golgi. Estas pueden ejercer su función gracias a la v-ATPasa, que mantiene el pH estable (Min Lai et al., 2021).

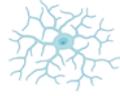
Todo el proceso de fagocitosis de neuronas se encuentra sometido a un estricto control. Como hemos visto hasta ahora, diferentes factores y señales determinan la actividad lisosomal de las células microgliales. Los factores y proteínas como catepsinas e interleucinas que intervienen en su regulación son numerosos. En este trabajo destacaremos el que se refiere a la interleucina IL-33 (Vilalta et al., 2017). Esta proteína, perteneciente a la familia de las citoquinas, se asocia con el desarrollo de eventos neurodegenerativos. Se cree que tiene una función inmunoreguladora, aunque no está claramente definida (Reverchon et al., 2020).



IL-33 se expresa en las neuronas, mientras que la microglía posee su receptor, IL1RL1. Su unión promueve la fagocitosis cerca de las sinapsis neuronales y la absorción de MEC. El objetivo principal es, como vimos con la catepsina S, la eliminación de la MEC o cúmulos de diferentes sustancias que puedan haberse concentrado alrededor de las neuronas (Nguyen et al., 2020). Una de las proteínas que forman parte de la MEC, y que pueden interrumpir la actividad neuronal debido a su abundancia en las redes perineuronales, es el agregano. Por ello es de interés saber si la microglía es capaz de degradarlo. Se ha comprobado que, cuando se establece la unión entre IL-33 y su receptor, aumenta la actividad fagocítica microglial alrededor de las espinas dendríticas y, además, se promueve la degradación del agregano, entre otros componentes de la MEC (Figura 7) (Reverchon et al., 2020).



Cabe destacar el caso de la degradación de mielina en sus diferentes formas. La microglía es la encargada de fagocitar los restos de mielina para así evitar la inflamación que genera la presencia de cúmulos que, al igual que la MEC alterada, puede dificultar la sinapsis (Vilalta et al., 2017). Sin embargo, todavía no se sabe con seguridad el modo en el que se elimina ese exceso. Se trata de un proceso muy regulado, ya que la microglía entra en contacto con las vainas de numerosas neuronas y ha de actuar sólo en aquellas regiones donde haya excesiva presencia de mielina, sin alterar la estructura de las demás. Recientemente se ha descubierto que es la propia actividad neuronal la que regula la actividad fagocítica microglial sobre la mielina. A mayor actividad neuronal, menor eliminación de mielina. Sin embargo, como se ha visto previamente en otras situaciones, muchos factores están implicados. Por ejemplo, el ATP, el cual podría regular la mielinización modificando la ubicación de las células microgliales. Desbalances en la concentración de ATP pueden inducir comportamientos aberrantes de la microglía y atacar regiones donde no haya células dañadas (Hughes et al., 2020).

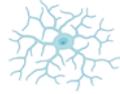


#### 4.2.2 Disfunción de la fagocitosis

Respecto a los fallos en la regulación fagocítica, se ha descrito que están relacionados con patologías como el Alzheimer o el trastorno del espectro autista, donde se han observado problemas de señalización entre la microglía y las neuronas. La señalización deteriorada de IL-33 y su disminución, típica en personas de edad avanzada, se asocia con la progresión temprana del Alzheimer. Al reducirse las señales que induzcan la actividad fagocítica de la microglía, el agregado, principalmente, se acumula, lo que genera sinapsis aberrantes y conduce a una alteración de la memoria. Hay estudios que demuestran la eficacia de la aplicación exógena de IL-33. Al parecer es capaz de aumentar la actividad fagocítica y promover la expresión génica antiinflamatoria. Una de las proteínas que mejora su expresión con la actividad de IL-33 es CX3CR1, la cual participa en la remodelación de las sinapsis y modula la respuesta microglial ante estímulos inflamatorios (**Lau et al., 2020**). Sin embargo, su finalidad es aún desconocida. En estudios de ratones afectados de Alzheimer, se ha observado que la deficiencia de CX3CR1 mejoraba la eliminación de placas de  $\beta$ -amiloide, pero empeoraba la patología de Tau afectando a las redes neuronales. Las agregaciones de esta proteína, característica del Alzheimer, desestabilizan los microtúbulos de la MEC, lo que interfiere directamente sobre la comunicación celular. Actualmente se sigue estudiando la función de CX3CR1 con el objetivo de buscar su inhibición parcial para desintegrar dichos cúmulos de proteínas, pero sin afectar a la propagación de Tau (**Hickman et al., 2018; Hickman et al., 2019**).

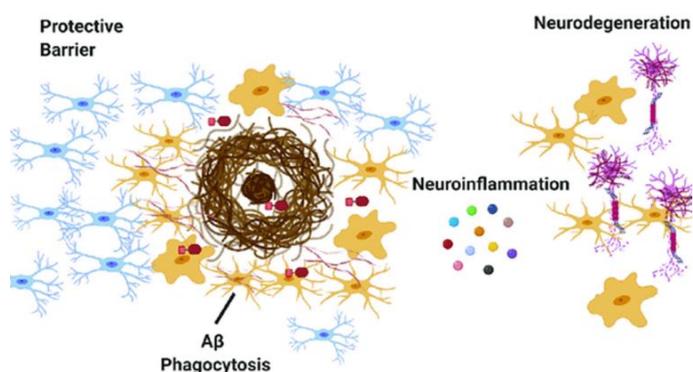
Los errores fagocíticos se pueden deber a numerosos factores que hacen que las células microgliales degraden estructuras que se encuentran en condiciones adecuadas. Además, se producen cúmulos que serán incapaces de degradar por errores en los procesos de endocitosis y autofagia, alterando así la homeostasis del SNC (**Vilalta et al., 2017**). También se pueden producir alteraciones una vez incorporada la materia. Situaciones de estrés celular y mutaciones genéticas que alteren la actividad de la v-ATPasa no permitirán la actividad de las enzimas degradantes al verse modificado el pH. El material introducido no se degradaría, lo que provoca acumulación de la carga e inflamación de la microglía, con la consecuente emisión de enzimas proinflamatorias, y defectos como la disfunción microglial y alteración en su actividad. Estas modificaciones en el lumen lisosomal han sido observadas en pacientes con Alzheimer, principalmente (**Kreher et al., 2021; Min Lai et al., 2021**).

En la relación neurona-microglía, bajo fenotipo neurodegenerativo (**Figura 6**), se ha observado que compuestos reactivos del N y O, liberados por las células de microglía, provocan la exposición de la fosfatidilserina en neuronas vivas de manera irreversible. Es decir, la microglía las convierte en

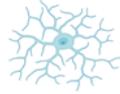


células diana para ser fagocitadas. Tras una serie de cambios complejos en la microglía, la quimioatracción por ATP sería suficiente para su aproximación hacia las neuronas y comienzo de su eliminación. La liberación de compuestos reactivos se puede deber al error en la actividad inflamatoria de la microglía causada por factores como TNF- $\alpha$ ,  $\beta$ -amiloide o lipopolisacáridos (LPS) no digeridos. La fagocitosis alterada podría tratarse, por tanto, de una causa en vez de una consecuencia de la muerte neuronal. Hoy en día se están realizando numerosos ensayos con la intención de bloquear la fosfatidilserina, evitando así el reconocimiento por parte de la microglía alterada (Neher et al., 2011).

Un ejemplo claro de fagocitosis alterada se ha observado en el Alzheimer. Como mencionábamos previamente, en esta se acumulan placas de  $\beta$ -amiloide y ovillos de Tau, proteína relacionada con el Parkinson, y otras patologías, que provoca deterioro e impide la sinapsis (Hickman et al., 2018). Estos agregados han de ser degradados por la microglía que se coloca a su alrededor con el objetivo de eliminarlos mediante fagocitosis y liberación de factores proinflamatorios y enzimas degradantes (Figura 8) (Prowse et al., 2021). Sin embargo, la producción continua de  $\beta$ -amiloide favorece su deposición, lo que impide su degradación y provoca disfunción microglial (Figura 8). La microglía, ante la acumulación de dicho péptido, libera en exceso citoquinas proinflamatorias, lo que reduce la capacidad fagocítica y provoca errores en la actividad lisosomal. La expresión de receptores fagocíticos de  $\beta$ -amiloide en microglía se ve reducida, al igual que las enzimas degradantes. Es decir, los cúmulos generados de dicho péptido no son identificados y, consecuentemente, no son eliminados. Por otro lado, esas citoquinas promueven la inflamación y la extensión de Tau, afectando así a las redes neuronales (Hickman et al., 2018). Se han encontrado defectos de acidificación lisosomal, catepsinas y alteraciones del almacenamiento lisosomal que influyen en el avance de dicha enfermedad. Esta es la neuropatología del Alzheimer en relación con la fagocitosis microglial, pero eventos similares suceden en otros trastornos neurodegenerativos donde la capacidad de incorporación de material se ve afectada (Min Lai et al., 2021).



**Figura 8.** La microglía detecta los cúmulos de  $\beta$ -amiloide y responde promoviendo fagocitosis y rodeándolos para así impedir su expansión. En la enfermedad de Alzheimer, la activación continuada de células microgliales, sin capacidad fagocítica, hace que se liberen factores proinflamatorios, lo que genera inflamación y facilita la agregación de Tau, resultando en neurodegeneración (Shippy et al., 2020)



A nivel genético, la modificación de una serie de genes como *TREM2* y, el ya mencionado *CX3CR1*, también puede alterar la actividad fagocítica de la microglía, como ocurre en la Esclerosis Múltiple. *TREM2* es un regulador clave de la fagocitosis y desplazamiento de la microglía. En personas con Esclerosis Múltiple, la activación de una vía dependiente de *TREM2* impide la capacidad reguladora de la microglía sobre el SNC. A su vez, al inhibirse la expresión de *CX3CR1*, se impide la correcta fagocitosis de la mielina lo que genera cúmulos de esta y afecta a la remielinización y la desmielinización. Además, induce, en la microglía, la liberación masiva de factores proinflamatorios que atacan las vainas de mielina provocando desestabilización y apoptosis neuronal (**Kamma et al., 2022**).

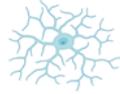
La desregulación de ambos genes se ha observado en otros trastornos lisosomales como el Parkinson o el Alzheimer. En este último caso, la delección de *TREM2* disminuye la fagocitosis sobre las placas de  $\beta$ -amiloide y aumenta la actividad inflamatoria, al igual que lo hace la alteración sobre *CX3CR1* (**Hickman et al., 2018; Kamma et al., 2022**). Se ha observado en cerebros post-mortem, con *TREM2* modificado, que la barrera neuroprotectora que producen las células microgliales sobre los cúmulos de  $\beta$ -amiloide, para rodearlos y evitar su expansión, no se había formado (**Bisht et al., 2018**).

### 4.3 AUTOFAGIA

La autofagia es el proceso de degradación de moléculas que se encuentran en el propio citoplasma de la célula. Su misión principal es controlar la homeostasis celular. La regulación de la autofagia depende de los propios lisosomas y de sensores celulares, donde AMPK y mTORC1 están implicados, considerándose el primero un activador y el segundo un inhibidor (**Kreher et al., 2021**). Además del reciclado, la autofagia cumple otras funciones como la producción de energía en situaciones donde la célula carece de nutrientes (**Jülg et al., 2021**).

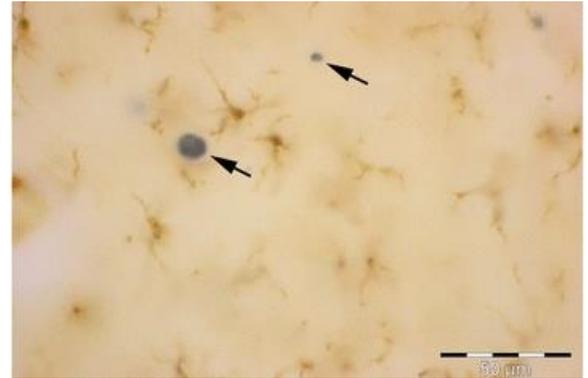
#### 4.3.1 Disfunción de la autofagia

La autofagia funciona como medida protectora frente a la pérdida neuronal, pero en personas de avanzada edad se ve disminuida. Se ha observado que, en cerebros con trastornos neurodegenerativos, hay disfunción autofágica lo que provoca la acumulación de proteínas en la microglía y el retraso en la remielinización. En condiciones normales, la microglía endocita parte de la mielina de las vainas para su remodelación. En cambio, ante disfunción autofágica, los lisosomas y el interior celular se acaban dañando, lo que altera su función degradadora. Todo ello provoca la alteración de las vías reguladoras y la liberación en exceso de citoquinas que atacan a las neuronas y causan errores en la



actividad microglial. Las alteraciones autofágicas en microglía pueden estar relacionadas con  $\text{TNF}\alpha$ , LPS y cúmulos de proteína que la inhiben (Tu et al., 2021).

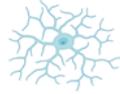
El ejemplo más claro lo tenemos, por acumulación de  $\alpha$ -sinucleína, en la demencia por cuerpos de Lewy y otras  $\alpha$ -sinucleopatías como el Parkinson (Figura 9). En esta última se han observado inclusiones fibrilares de  $\alpha$ -sinucleína mal plegada que forman los cuerpos de Lewy y causan la pérdida neuronal. Dichos acúmulos resultan dañinos para el funcionamiento de las células del SNC. Al no ser digeridos se desencadena la actividad secretora de la microglía generando una respuesta proinflamatoria (Colonna et al., 2017).



**Figura 9.** Células microgliales inactivas próximas a cuerpos de Lewy (flechas) en un cerebro con Parkinson. La microglía se encuentra ramificada, no activa, por lo que no hay actividad autofágica, a pesar de su proximidad (Streit et al., 2014).

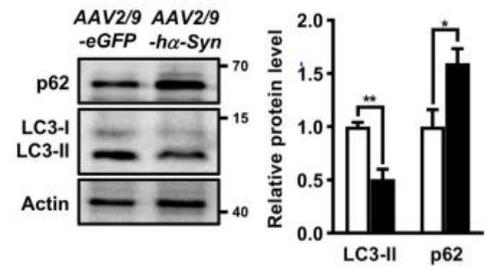
La  $\alpha$ -sinucleína es una proteína generalmente liberada por estrés o por lesión que puede ser transferida a las células circundantes, incluidas células gliales y neuronas. Cuando este péptido se libera en exceso o de forma aberrante, daña a las neuronas y activa la microglía. Esta, en respuesta, libera factores proinflamatorios e intenta internalizar la  $\alpha$ -sinucleína extracelular. Todavía no está clara la vía de entrada, pero se sabe que no es por fagocitosis ni endocitosis mediada por receptores. Una vez en el interior, es degradada vía autofagia selectiva mediante autofagosomas. Este hecho se descubrió en el año 2020 por Insup Choi, ya que hasta entonces no se pensaba que este péptido pudiera penetrar en la microglía y ser degradado vía autofagia (Choi et al., 2020a; Choi et al., 2020b). Su degradación está mediada principalmente por los receptores autofágicos p62 que aumentan su transcripción debido a la presencia de  $\alpha$ -sinucleína, a la cual se unen. Esto promueve su internalización en los autofagosomas (Tu et al., 2021). No obstante, la excesiva acumulación de  $\alpha$ -sinucleína en el interior microglial y la unión aberrante con p62 hacen que se escape de dichos compartimentos, lo que dificulta la función de los lisosomas, impidiendo la degradación y favoreciendo su acumulación (Jülg et al., 2021).

Los últimos estudios han demostrado que parte de la patogenia del Parkinson también puede deberse a la transferencia de la  $\alpha$ -sinucleína entre células, lo cual interfiere en la señalización lisosomal. El papel extracelular de esta proteína es poco conocido. Al parecer la inhibición de la autofagia se contempla no sólo en el incremento de p62, sino también en la alteración de otras proteínas que intervienen en la autofagia como LC3, marcador del material a degradar (Figura 10).



La  $\alpha$ -sinucleína extracelular desencadena cascadas de señalización que reducen la presencia de LC3. Al no señalar ningún tipo de carga, promueve la acumulación de esta y no se induce la autofagia (Tu et al., 2021).

**Figura 10.** Alteración de proteínas relacionadas con la autofagia a través de Western Blot en microglía aislada. Los ratones a los que se les ha inducido la sobreexpresión de  $\alpha$ -sinucleína expresan valores alterados de LC3 y p62 (Tu et al., 2021).

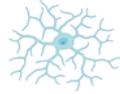


Respecto a la alteración autofágica por modificaciones genéticas, aparece el ya mencionado *TREM2*, y destacamos la actuación de *ATG5*. *ATG5* promueve la formación de autofagosomas. Se ha descubierto que la delección de *ATG5*, y agotamiento de la proteína a la que codifica, contribuyen a la neurodegeneración temprana y aumento en los niveles de p62 en individuos que ya sufren de Parkinson. Asimismo, se han realizado experimentos con ratones que indican que *ATG5* no induce la enfermedad, aunque sí participa en su avance. Actualmente, esta cuestión sigue en controversia (Tu et al., 2021). Por otro lado, la deficiencia de *TREM2* contribuye a la intensificación de Tau, lo que afecta a las redes neuronales (Hickman et al., 2018). No obstante, también se ha observado, en ratones, que el déficit de *TREM2* redujo la liberación de factores proinflamatorios y, sin embargo, no alteró los niveles de Tau. Todavía se requiere más investigación para comprender su total actuación y determinar su potencial como diana terapéutica (Kamma et al., 2022).

## 5. ENFERMEDADES RARAS ASOCIADAS A LA DISFUNCIÓN LISOSOMAL

Como ya hemos visto, reconocidas enfermedades están relacionadas con la disfunción lisosomal en las células microgliales. Hay muchas otras enfermedades donde el error lisosómico está también presente en el resto de células del SNC (Deus et al., 2020). Evidentemente la etiopatogenia de estas enfermedades es mucho más compleja.

Entre todas ellas encontramos un grupo de enfermedades raras lisosomales que difieren del resto, las Enfermedades por Almacenamiento Lisosomal (EAL). Se trata de un grupo de alrededor de 70 trastornos de carácter hereditario causados por mutaciones en proteínas lisosomales. Casi todas ellas son letales a edades tempranas y carecen de tratamiento. Se caracterizan por el déficit o alteración de enzimas lisosomales, lo que imposibilita la eliminación de sustancias patógenas para el organismo. La acumulación de estas y los errores enzimáticos conducen a la neurodegeneración. Como consecuencia, se ve alterado el metabolismo celular y capacidad catabólica, afectando sobre la microglía. No obstante, se ha descubierto que la patogenia de estas enfermedades no se debe exclusivamente al almacenamiento. Se han encontrado defectos en las enzimas del Complejo de Golgi y del Retículo Endoplasmático, que procesan las enzimas lisosomales, y en factores que promueven



las interacciones enzima-sustrato (Walkley, 2021). Existen discrepancias sobre si estas enfermedades deben ser separadas del resto de trastornos ya que, a pesar de su rareza y carácter exclusivamente hereditario, no parece que sean provocadas únicamente por fallos en el almacenamiento lisosomal. Actualmente, las pocas que no provocan la muerte a edad temprana, son tratadas mediante el reemplazo enzimático, como es el caso de los tipos I y III de la enfermedad de Gaucher. También se trabaja con la terapia génica, aunque actualmente no parece resultar efectiva (Deus et al., 2020).

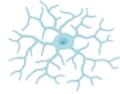
---

## 6. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES LISOSOMALES RARAS

---

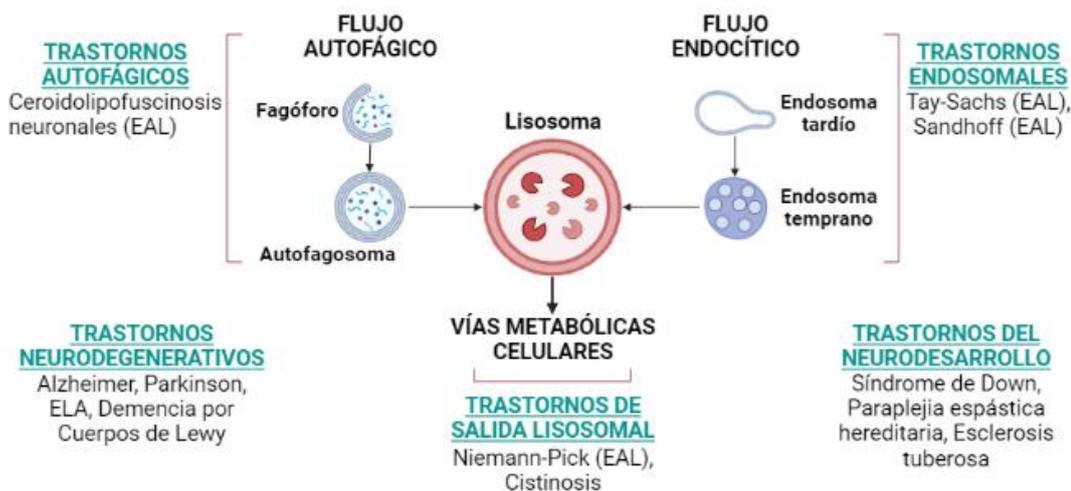
Se ha realizado una clasificación de las distintas patologías derivadas de la disfunción lisosomal que afectan al SNC. En ella se recogen las enfermedades lisosomales raras y aquellos trastornos de mayor prevalencia con defectos similares (Figura 11). En algunas de ellas, el error lisosomal tiene origen en la microglía, mientras que en otras lo tiene en la neurona, la cual actúa sobre la función microglial. No obstante, algunas se encontrarían en más de una categoría (Walkley, 2021):

- **Trastornos del neurodesarrollo:** Se ha observado disfunción lisosomal de la microglía en alteraciones genéticas como el síndrome de Down, donde esta se sobreactiva y secreta factores proinflamatorios en exceso. Un ejemplo de EAL son las gangliosidosis, caracterizadas por la acumulación de gangliósidos. La aglutinación de estos lípidos en la célula genera la sobreactivación de mTORC1 y, consecuentemente, error autofágico (Walkley, 2021).
- **Trastornos neurodegenerativos:** Provocan el empeoramiento del SNC y muerte neuronal. La mayoría de estos presentan agregaciones de proteínas alterando las vías lisosomales de las células microgliales, entre otras estructuras, y la función lisosomal. Además de los ya vistos destaca como enfermedad rara la ELA (Kreher et al., 2021).
- **Trastornos autofágicos:** La desregulación de la autofagia es sinónimo de errores en la homeostasis de la propia microglía. Generalmente es la inhibición de la autofagia lo que causa neurodegeneración. Se ha observado en lisosomas de células microgliales, como ocurre en la enfermedad de Parkinson, pero también en los de neuronas como en la ceroidlipofuscinosis. En este tipo de enfermedad lisosomal rara, deficiencias en la autofagia neuronal desencadenan la secreción masiva de sustancias proinflamatorias por parte de microglía y la acumulación de lipofuscina en los lisosomas (Bosch et al., 2015).
- **Trastornos endosomales:** Errores en la formación del endosoma dificultan la función degradadora de la microglía y la señalización por parte de la misma. Un ejemplo claro es la enfermedad de Sandhoff. En esta se producen errores en la eliminación de gangliósidos por parte de los lisosomas de neuronas y microglía. Ante la ausencia de la enzima encargada de



su degradación, estos se acumulan provocando toxicidad. Ello conduce a la liberación masiva de factores proinflamatorios y muerte neuronal. Se trata de una enfermedad mortal a edades muy tempranas y sin ningún tipo de tratamiento (Walkley, 2021).

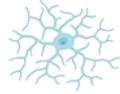
- **Trastornos de salida lisosomal:** En estos se han encontrado defectos moleculares en las proteínas de la membrana lisosomal, lo que dificulta la salida del material degradado. Destaca la enfermedad de Niemann-Pick. La salida de lípidos de lisosomas neuronales se ve dificultada, lo que provoca la acumulación de estos y activación desregulada de la microglía produciendo daño axonal (Bosch et al., 2015; Walkley, 2021). En mayo de 2022 la EMA ha aprobado la utilización de Xenpozyme, el primer tratamiento específico para esta enfermedad. Se trata de una terapia de reemplazo enzimático para paliar los daños causados fuera del SNC.



**Figura 11.** Esquema de los tipos de trastornos provocados por la disfunción lisosomal junto con sus ejemplos más representativos. EAL: enfermedad de almacenamiento lisosomal (Modificado con BioRender.com de Walkley, 2021).

## 7. TERAPIAS

En el caso de personas que padecen enfermedades neurodegenerativas con acumulación de proteínas, actualmente se utiliza el medicamento Donepezilo, el cual disminuye la cantidad de factores proinflamatorios liberados por la microglía y reduce su actividad inflamatoria. Además, reduce los compuestos reactivos generados en las mitocondrias (Kim et al., 2021). Entre los nuevos compuestos que se están probando destaca la Hidralazina, uno de los medicamentos con mayor proyección en el ámbito de los trastornos lisosomales y un candidato prometedor para contribuir a esa reducción de compuestos reactivos. Es un fármaco que se utiliza desde hace muchos años para tratar la hipertensión y recientemente se ha descubierto su capacidad antineurodegenerativa. Su ensayo clínico comenzó en 2021 y continúa en progreso en estos momentos, esperando que concluya en 2023 (Mirzaei, 2022).



Su última actualización es de enero de 2022 y, hasta ahora, se han observado tres características importantes del fármaco (Mirzaei, 2022):

- **Activación de la vía Nrf2:** Este factor de transcripción controla la expresión de algunos genes y promueve la defensa de las células ante radicales libres. Esta vía se encuentra dañada en individuos con Alzheimer.
- **Activación de la autofagia:** En la mayoría de los trastornos neurodegenerativos permanece desregulada o inhibida, como ocurría en la demencia por cuerpos de Lewy. Incrementaría, por tanto, la capacidad de degradación de cúmulos de proteínas por parte de microglía y astrocitos.
- **Rejuvenecimiento de las mitocondrias:** Aumenta su capacidad respiratoria, mejorando la producción de ATP y, por tanto, aporte energético. Al mejorar la actividad mitocondrial no se libera un exceso de radicales libres, lo que permite un mejor funcionamiento de la autofagia.

El ensayo clínico se encuentra en fase III, y su objetivo es comprobar la efectividad de la Hidralazina en pacientes con Alzheimer que tomen Donepezilo (Mirzaei, 2022). A día de hoy, se están llevando a cabo un total de 39 estudios clínicos, enfocados en la acción microglial, según el NIH. Tres de ellos se encuentran en fase IV, y están dirigidos a tratar la Esclerosis Múltiple, depresión y fibromialgia.

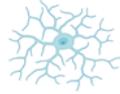
---

## 8. CONCLUSIONES

---

Numerosas enfermedades pueden deberse a trastornos lisosomales en las células microgliales del SNC. Es evidente la importancia de estos orgánulos, no sólo como piezas fundamentales en la función del SNC, sino también como posible diana terapéutica. Actualmente se trabaja con medicamentos cuyas vías de acción tienen como objetivo los lisosomas de la microglía. Las terapias no sólo van dirigidas a proteínas lisosomales, sino también a factores que intervengan en la señalización o la expresión de determinados genes. Las células microgliales pueden actuar en distintos sentidos: bajo condiciones patológicas comienzan siendo útiles pero terminan convirtiéndose en células perjudiciales para el SNC. Debemos destacar también que las Enfermedades por Almacenamiento Lisosomal, aunque posean una prevalencia mucho menor, requieren de investigación. La mayoría de ellas causan la muerte del individuo prematuramente y, actualmente, las posibilidades de ser tratadas son limitadas y no demasiado eficaces.

Por lo tanto, la estructura y función de los lisosomas de las células microgliales está alterada en diversos procesos de la neurodegeneración. Es necesario continuar las investigaciones sobre estos orgánulos para así poder definir nuevas dianas terapéuticas que puedan ayudar a millones de pacientes.

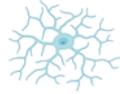


---

## 9. BIBLIOGRAFÍA

---

- Belgrad J, De Pace R, & Fields R. Autophagy in Myelinating Glia. *The Journal of Neuroscience*, 2020; 40(2): 256-266.
- Bisht K, Sharma K, & Tremblay M-E. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease: Roles of microglia-mediated synaptic remodeling, inflammation, and oxidative stress. *Neurobiology of stress*, 2018; 9: 9-21.
- Bosch M, & Kielian T. Neuroinflammatory paradigms in lysosomal storage diseases. *Front. in Neuroscience*, 2015; 9,417.
- Büeler H. Mitochondrial and Autophagic Regulation of Adult Neurogenesis in the Healthy and Diseased Brain. *Int. J. of Molecular Sciences*, 2021; 22, 3342.
- Choi I, Seegobin PS, Liang D, & Yue Z. Synucleinphagy: a microglial “community cleanup program” for neuroprotection. *Autophagy*, 2020b; 16(9): 1718-1720.
- Choi Y, Zhang Y, Seegobin S, Pruvost M, Wang Q, Purtell K, Zhang B, & Yue Z. Microglia clear neuron-released  $\alpha$ -synuclein via selective autophagy and prevent neurodegeneration. *Nature Communications*, 2020a; 11, 1386.
- Colonna M, & Butovsky O. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annu Rev Immunol*, 2017; 35: 441-468.
- Confer D, & Strenger R. The evolution of lysosomes in hypoxic liver parenchyma as seen with the electron microscope. *American Journal of Pathology*, 1964; 45(4): 546.
- Deus C, Yambire K, Oliveira P, & Raimundo N. Mitochondria–Lysosome Crosstalk: From Physiology to Neurodegeneration, 2020; *Trends in Molecular Medicine*. 26, 1.
- Erie C, Sacino M, Houle L, Lu M, & Wei J. Altered lysosomal positioning affects lysosomal functions in a cellular model of Huntington's disease. *European Journal of Neuroscience*, 2015; 42(3): 1941-1951.
- Hickman S, Allison E, Coleman U, Kingery-Gallagher N, & El Khoury J. Heterozygous CX3CR1 Deficiency in Microglia Restores Neuronal  $\beta$ -Amyloid Clearance Pathways and Slows Progression of Alzheimer's Like-Disease in PS1-APP Mice. *Front. in Immunology*, 2019; 10, 2780.
- Hickman S, Izzy S, Sen P, Morsett L, & El Khoury J. Microglia in neurodegeneration. *Nature Neuroscience*, 2018; 21(10): 1359-1369.
- Hughes AN, & Appel B. Microglia phagocytose myelin sheaths to modify developmental myelination. *Nature Neuroscience*, 2020; 23(9): 1055-1066.
- Jülg J, Strohm L, & Behrends C. Canonical and Noncanonical Autophagy Pathways in Microglia. *Molecular and Cellular Biology*, 2021; 41, 3.
- Kamma E, Lasisi W, Libner C, Ng HS, & Plemel JR. Central nervous system macrophages in progressive multiple sclerosis: relationship to neurodegeneration and therapeutics. *Journal of Neuroinflammation*, 2022; 19, 45.
- Kim J, Lee H, Park S, Park J, Jeong H, Lee S, Lee H, Seol E, & Hoe H. Donepezil Regulates LPS and A $\beta$ -Stimulated Neuroinflammation through MAPK/NLRP3 Inflammasome/STAT3 Signaling. *Int. J. of Molecular Sciences*, 2021; 22, 10637
- Kreher C, Favret J, Maulik M, & Shin D. Lysosomal Functions in Glia Associated with Neurodegeneration. *Biomolecules*, 2021; 11, 400.
- Lau S-F, Chen C, Fu W-Y, Qu JY, Cheung TH, Fu A, & Ip N. IL-33-PU.1 Transcriptome Reprogramming Drives Functional State Transition and Clearance Activity of Microglia in Alzheimer's Disease. *Cell Reports*, 2020; 31, 107530.
- Min Lai SS, Ng KY, Koh RY, Chok KC, & Chye SM. Endosomal-lysosomal dysfunctions in Alzheimer's disease: Pathogenesis and therapeutic interventions. *Metabolic Brain Disease*, 2021; 36: 1087-1100.
- Mirzaei M. Effect of Hydralazine on Alzheimer's Disease. 2022. Identifier: NCT04842552
- Nakanishi H. Cathepsin regulation on microglial function. *BBA-Proteins and proteomics*, 2020; 1868, 9.
- Neher JJ, Neninskyte U, Zhao J-W, Bal-Price A, Tolkovsky AM, & Brown GC. Inhibition of microglial phagocytosis is sufficient to prevent inflammatory neuronal death. *The Journal of Immunology*, 2011; 186: 4973-4983.



- Nguyen PT, Dorman LC, Pan S, Molofsky AB, Kheirbek MA, & Molofsky AV. Microglial Remodeling of the Extracellular Matrix Promotes Synapse Plasticity. *Cell*, 2020; 182: 388-403.
- Prada I, Furlan R, Matteoli M, & Verderio C. Classical and Unconventional Pathways of Vesicular Release in Microglia. *Wiley Online Library: GLIA*, 2013; 61: 1003-1017.
- Prowse N, & Hayley S. Microglia and BDNF at the crossroads of stressor related disorders: Towards a unique trophic phenotype. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2021; 131: 135-163.
- Reverchon F, De Concini V, Larrigaldie, V, Benmerzoug S, Briault S, Togbé, D, Ryffel, B, Quesniaux VFJ, & Arnaut M. Hippocampal interleukin-33 mediates neuroinflammation-induced cognitive impairments. *Journal of Neuroinflammation*, 2020; 17, 268.
- Settembre C, Fraldi A, Medina D, & Ballabio A. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013; 14: 283-296.
- Shippy DC, & Ulland TK. Microglial Immunometabolism in Alzheimer's Disease. *Front. Cell. Neuro.*, 2020; 14, 563446.
- Sierra A, De Castro F, Del Río-Hortega J, Iglesias-Rozas JR, Garrosa M, & Kettenmann H. The Big-Bang for Modern Glial Biology: Translation and Comments on Pío del Río-Hortega 1919 Series of Papers on Microglia. *Wiley Online Library: GLIA*, 2016; 64(11): 1801-1840.
- Simons M, & Nave K-A. Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2016; 22, 8.
- Streit WJ, Xue Q-S, Tischer J, & Bechmann I. Microglial Pathology. *Acta Neuro. Comm.*, 2014; 2, 142.
- Tu H-Y, Yuan B-S, Hou X-O, Zhang X-J, Pei C-S, Ma Y-T, Yang Y-P, Fan Y, Qin Z-H, Liu C-F, & Hu L-F.  $\alpha$ -synuclein suppresses microglial autophagy and promotes neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Aging Cell*, 2021; 20, 12.
- Vilalta A, & Brown G. Neurophagy, the phagocytosis of live neurons and synapses by glia, contributes to brain development and disease. *The FEBS Journal*, 2017; 285(2018): 3566-3575.
- Walkley S. Rethinking lysosomes and lysosomal disease. *Neuroscience Letters*, 2021; 762.
- Xu H, & Ren D. Lysosomal Physiology. *Annu Rev Physiol*, 2015; 77: 57-80.
- Xu W, Ocak U, Gao L, Tu S, Lenahan C, Zhang J, & Shao A. Selective autophagy as a therapeutic target for neurological diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2020; 78: 1369-1392.
- Zoncu R, Bar-Peled L, Efeyan A, Wang S, Sancak Y, & Sabatini D. mTORC1 Senses Lysosomal Amino Acids Through an Inside-Out Mechanism That Requires the Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase. *Science*, 2011; 334(6056): 678-683.