

# MELANOMA: MECANISMOS DE ACCIÓN Y DE SECRECIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF- $\beta$ )\*

Mitzi Pérez-Calixto\*, Isabel Anaya-Rubio, Carolina Mota-López & Marina Macías-Silva

Departamento de Biología Celular y Desarrollo. Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510 CDMX, México. \*Autor de correspondencia correo E: mcalixto@ifc.unam.mx

## RESUMEN

El melanoma es un cáncer de piel agresivo y mortal. La vía de señalización del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) actúa como supresora (etapas tempranas) o promotora (estados avanzados) del cáncer. En la presente revisión nos enfocamos en la secreción del TGF- $\beta$ , el cual puede ser transportado por vesículas extracelulares (EVs) secretadas por las células tumorales para educar a otras células y promover la tumorigénesis.

## ABSTRACT

Melanoma is an aggressive and mortal skin cancer. The transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) signaling pathway acts as a tumor suppressor or promoter depending on the stages of cancer. In the present work, we focused on the secretion of TGF- $\beta$ , which can be transported by extracellular vesicles (EVs) secreted by cancer cells to educate target cells and favor tumorigenesis.

## PALABRAS

### CLAVE:

cáncer, melanoma, TGF- $\beta$ , vesículas extracelulares

### KEY WORDS:

cancer, melanoma, TGF- $\beta$ , extracellular vesicles

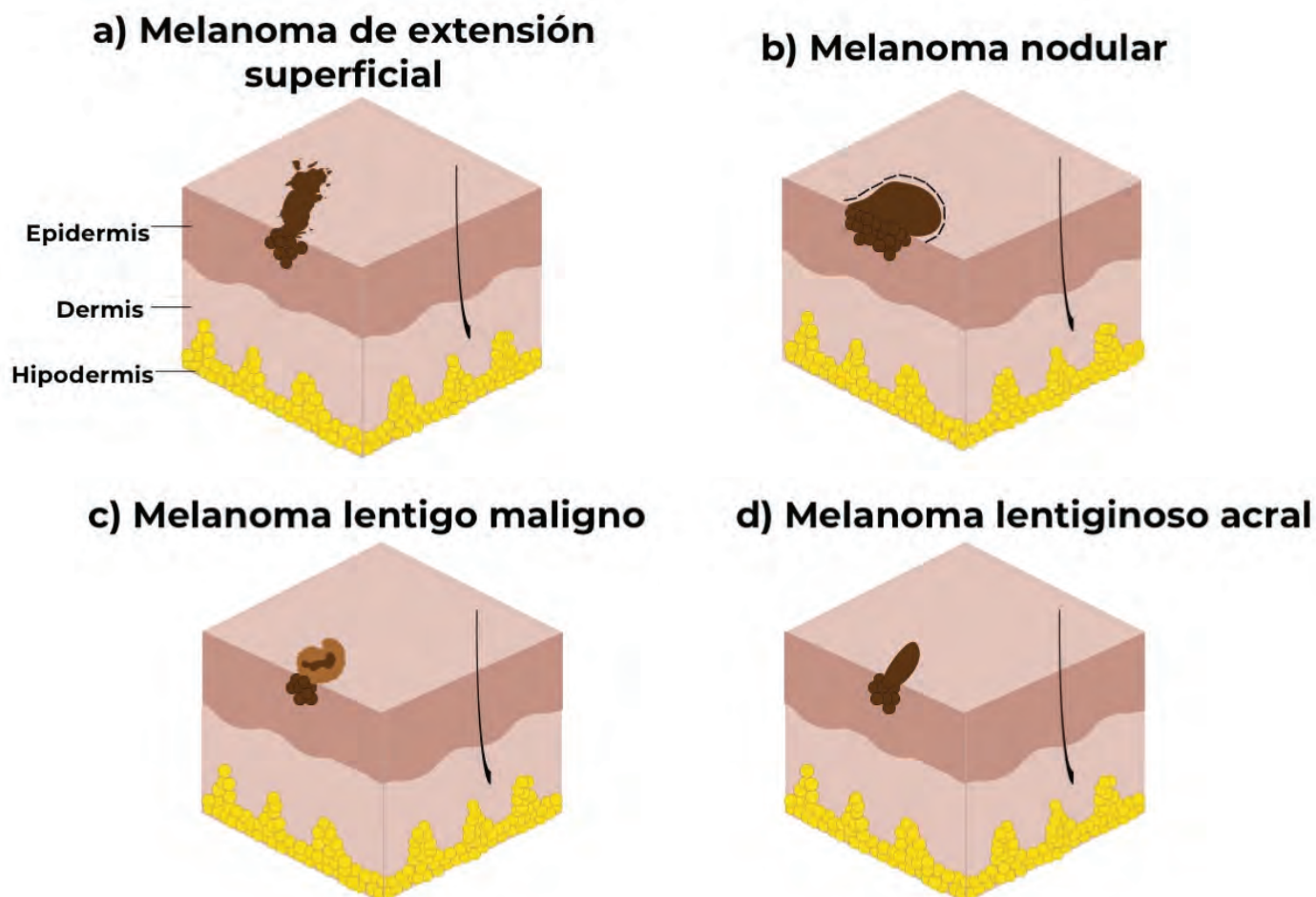
## INTRODUCCIÓN

El melanoma es un tipo de cáncer que tiene su origen en los melanocitos, los cuales se transforman en células de melanoma, este es el cáncer de piel más agresivo debido a su rápida capacidad de metástasis (1). Se han encontrado diferentes factores de riesgo que contribuyen al desarrollo del melanoma, tales como: 1) la exposición a la luz solar que conlleva a una exposición a la radiación ultravioleta (UV); este es considerado el mayor factor de riesgo para contraer melanoma (2); 2) el historial familiar con melanoma; 3) la susceptibilidad genética; 4) la inmunosupresión; 5) un gran número de lunares; y 6) la exposición a algunos hidrocarburos aromáticos (3).

El melanoma se puede dividir en cuatro subtipos de acuerdo a su histopatología (Fig. 1). El primero es de extensión superficial (SMM), el cual se caracteriza por una fase de crecimiento horizontal con la formación de melanocitos acomodados en nidos, o unidades aisladas que se disponen en un patrón

pagetoide, es decir irregular. Después se encuentra el melanoma nodular, usualmente ocurre exclusivamente en la fase de crecimiento vertical. Posteriormente, el melanoma lentigo maligno se caracteriza por tener células dispersas individualmente a lo largo de la unión dérmica-epidérmica y los apéndices de la piel, los signos de exposición a radiación ultravioleta (UV) son prominentes. Por último, el melanoma lentiginoso acral, en el cual las células están de manera individual a lo largo de la unión dermal-epidérmica, como focos confluentes. Este tipo de melanoma surge mayormente en sitios acrales, es decir, en las extremidades como en el dorso de dedos, manos, falanges, muñecas y dedos de los pies; sin embargo, ocasionalmente puede ocurrir en las mucosas.

El melanoma cutáneo es una importante causa de muerte entre los principales cánceres de piel; según la *American Cancer Society* el riesgo de padecer melanoma en personas caucásicas es de 1 en 38 (2.6%), para los afroamericanos 1 en 1000 (0.1%) y para los hispanos 1 en 167



**Figura 1.** Patrones histopatológicos de melanoma. a) El melanoma de extensión superficial es una mancha asimétrica que tiene bordes irregulares. b) El melanoma nodular comienza como un lunar con superficie elevada y crece verticalmente. c) El melanoma lentigo maligno surge como un lunar de estructura irregular, conforme pasan los años crece y cambia de color. d) El melanoma lentiginoso acral aparece como una mancha irregular en las palmas de las manos o de los pies y también puede cambiar de coloración.

(0.6%); su incidencia mundial es de 15-25 casos por cada 100,000 individuos, siendo más común en hombres y en personas menores de 50 años (4). Actualmente, existen diversos procedimientos para tratar el melanoma que comprenden desde fármacos que activan al sistema inmune, como el Ipilimumab (anticuerpo anti-CTLA-4), así como tratamientos como la radioterapia y en algunos casos la cirugía (5).

Existen varios modelos que explican el surgimiento del melanoma. Los dos modelos principales que explican el surgimiento de melanoma se diferencian entre sí por el sitio de origen anatómico, el grado de exposición acumulada a la radiación UV, la edad, la carga de mutaciones y el tipo de oncogenes implicados (1, 6). Cuando el melanoma surge por medio de alguna lesión precursora visible, como la formación benigna de nevos (lunares), se conoce como melanoma

no asociado al daño solar crónico (nCSD). En este proceso, el nevo es susceptible a la transformación a melanoma en etapas tempranas de la vida, debido a que los melanocitos contienen alteraciones que fueron heredadas o adquiridas; es decir, son melanocitos que contienen las mutaciones necesarias para que aparezca el melanoma repentinamente sin precursores aparentes. Durante el proceso de formación de melanoma nCSD, el nevo se convierte en melanoma *in situ*, posteriormente, se convierte a melanoma maligno invasivo y da lugar al melanoma metastásico; en este escenario, las células tumorales se han esparcido desde el sitio primario y se han establecido en sitios distantes.

Por otro lado, se encuentra el melanoma asociado al daño solar crónico (CSD), en el cual no existen nevos precursores, solo existen signos de exposición prolongada a la radiación UV, es decir,

un cambio degenerativo de las fibras elásticas de la dermis llamada elastosis solar. En este proceso, los nevos aparecen en las zonas expuestas al sol, lo cual implica que la exposición a la radiación UV es un iniciador de la formación de nevos y contribuye a la generación de mutaciones en algunos genes.

Las células de melanoma presentan múltiples alteraciones o mutaciones genéticas características del tumor, las cuales afectan a los genes de las vías de señalización para la proliferación (BRAF, NRAS y NF1), el crecimiento y el metabolismo (PTEN y KIT), la identidad celular (dominio de interacción 2 rico en adenina-timina (AT) (ARID2)), la resistencia a la apoptosis (TP53), el control del ciclo celular (inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina 2A (CDKN2A) como P16INK4A y P14ARF) y la replicación celular (transcriptasas reversa de telomerasa (TERT)) (1). El rol que desempeñan estas mutaciones en los principales tipos de melanoma ya ha sido ampliamente estudiado (1, 5), sin embargo, el completo entendimiento sobre cómo las mutaciones toman el control de estas vías sigue bajo investigación.

La desregulación del ciclo celular conduce a la producción de sus propios factores de crecimiento utilizados de manera autocrina o paracrina. Algunos de los factores de crecimiento sobre-expresados en este tipo de cáncer son: el bFGF (factor de crecimiento de fibroblastos básico), el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), el EGF (factor de crecimiento epidérmico) y el TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformante-beta) (6, 7).

La síntesis y secreción de los diferentes factores de crecimiento por parte de las células de cáncer, ha sido un tema importante de estudio para dilucidar la comunicación intercelular que se establecen en este tipo de tumores. Los factores liberados por las células de melanoma, como el TGF- $\beta$ , pueden educar a las células del microambiente tumoral (TEM), para adquirir funciones pro-tumorigénicas, de tal forma que las células del TEM una vez educadas puedan secretar y responder a diferentes moléculas como proteasas, citocinas, factores de crecimiento y factores pro-angiogénicos (5).

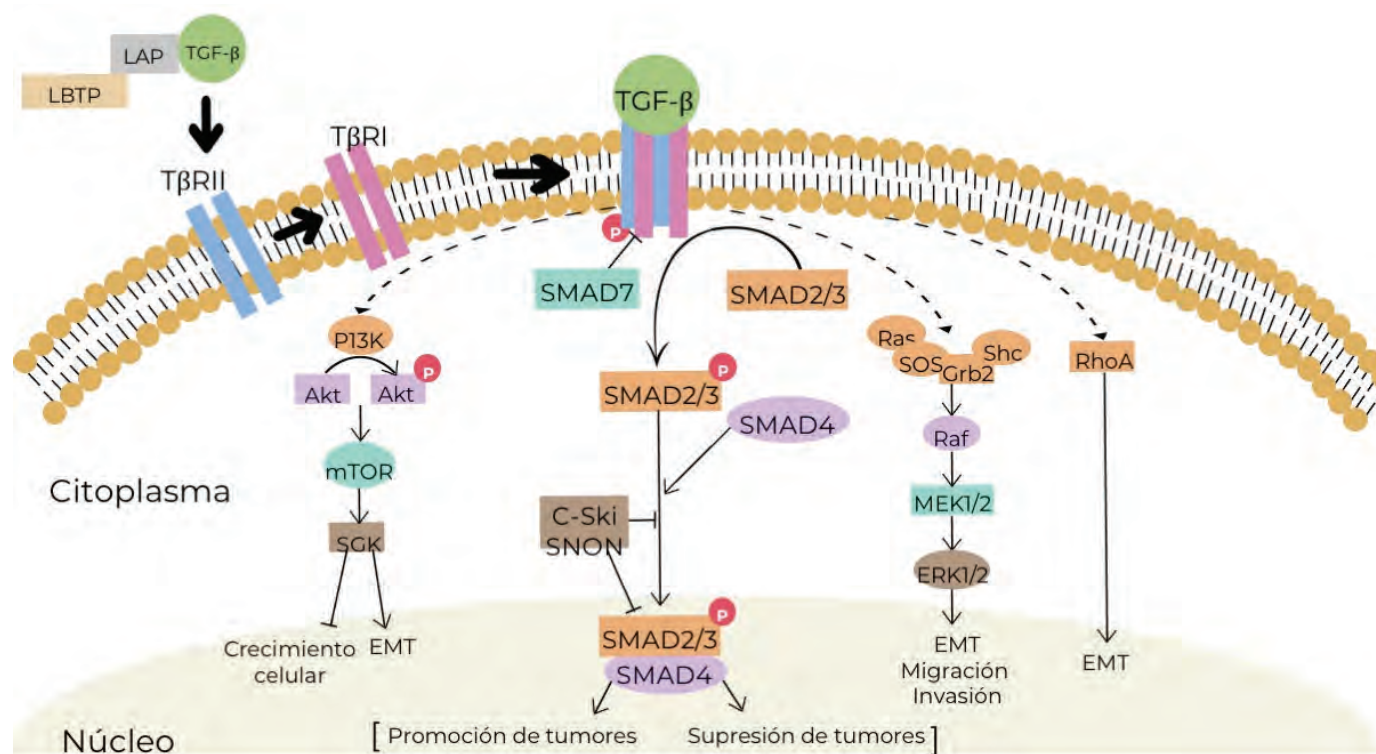
La citocina TGF- $\beta$ , desempeña un papel importante en la regulación de diversos procesos celulares, tales como el crecimiento y la muerte celular. Las vías de señalización del TGF- $\beta$  ejercen efectos supresores de tumores en células normales y en un carcinoma temprano; no obstante, a medida que los tumores se desarrollan y progresan, estos efectos se pierden, posteriormente, la señalización del TGF- $\beta$  cambia para promover la progresión, invasión y metástasis tumoral, es decir, el TGF- $\beta$  tiene un rol dual en el cáncer humano (8, 9).

## Funciones del TGF- $\beta$

El TGF- $\beta$  pertenece a una superfamilia de proteínas multifuncionales, que comprende más de 30 factores que pueden ser divididos en varias categorías (8, 10), los cuales regulan desde el crecimiento celular, la formación de hueso y la remodelación de tejidos, hasta la función del sistema inmunológico y el proceso de la cicatrización. En los mamíferos existen tres isoformas del TGF- $\beta$ -1, -2 y -3 y dependiendo del contexto celular, cada una de las isoformas puede realizar funciones similares o diferentes (11).

La mayoría de los tipos de células de mamíferos pueden sintetizar y responder al TGF- $\beta$ , una citocina con efectos pleiotrópicos, que permite la reparación de tejidos, mantiene la homeostasis tisular y evita que los tumores incipientes progresen a tumores malignos, debido a que controla la proliferación, la diferenciación, la supervivencia y la adhesión celular; además, regula finamente la expresión de algunos de los inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina CDKs como p21, p15, p27Kip1 y p57Kip2; las CDKs son enzimas que regulan el correcto desarrollo del ciclo celular. Al mismo tiempo reprime la expresión de algunos factores promotores de la proliferación celular como c-MYC y como los factores de diferenciación (ID). No obstante, cuando esta vía de señalización se encuentra alterada, puede resultar en una gran variedad de trastornos del desarrollo y de patologías. En el cáncer, promueve el crecimiento e invasión tumoral, además de la diseminación, la metástasis, la transición epitelio-mesénquima y la evasión del sistema inmune (6, 8, 10).

El TGF- $\beta$  modula al sistema inmunitario adaptativo promoviendo la expansión de los linfocitos Treg, los cuales regulan o suprimen a otras células para controlar la respuesta inmunitaria. En el microambiente tumoral, el TGF- $\beta$  puede evitar la expansión de los linfocitos T cooperadores y citotóxicos, que son específicos para los antígenos tumorales al promover la producción de citocinas y otros factores proinflamatorios (12), como sucede con el melanoma B16, en el cual las células Treg generadas inhiben la función citotóxica de las células T CD8+. Además, una amplia evidencia sugiere que un entorno rico en TGF- $\beta$  en los cánceres en etapa tardía, promueve la diferenciación de las células T (Th0 o diferenciados) a un fenotipo Treg. Por ejemplo, el TGF- $\beta$  junto con otros participantes como la prostaglandina E2 desencadena la transdiferenciación de Th17 a Treg en los tumores. Las células Treg utilizan al TGF- $\beta$  para suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales mediante el transporte del TGF- $\beta$ 1 latente en su superficie,



**Figura 2.** Vías de señalización del Factor de Crecimiento Transformante β (TGF-β). El TGF-β puede realizar su señalización por una vía canónica, activando a la familia de las proteínas Smad, lo cual conlleva tanto a la promoción como supresión de tumores, dependiendo del contexto celular. Además, el TGF-β puede regular otras vías de señalización, que se le conoce como "crosstalk" mediante una señalización no canónica. Entre estas vías se encuentran PI3K, Rho GTPasa y MAPK, con efectos como el crecimiento celular, la transición epitelio-mesénquima, la migración y la invasión, dependiendo del contexto celular.

unido a la proteína GARP transmembranal, para su posterior activación por las integrinas αV.

En cuanto a la respuesta inmunitaria innata, el TGF-β puede inhibir la respuesta de las células *natural killers* (NK), las cuales se encargan de eliminar a las células infectadas por virus y a las células tumorales. La vía de señalización del TGF-β bloquea la función de las NK a múltiples niveles; por ejemplo, disminuye la expresión de algunas citocinas como IFN-γ inhibiendo así las respuestas de los linfocitos Th1 (linfocitos ayudadores), este mecanismo es contrarrestado por señales inflamatorias, además, la vía de señalización del TGF-β inhibe la expresión de NKG2D y NKp30, dos receptores de superficie de las células NK que median el reconocimiento de las células transformadas malignas y estresadas (13-14).

Se cree que las células tumorales pueden evadir los efectos supresores del TGF-β, ya sea por la inactivación de los componentes centrales de la vía, como los receptores del TGF-β o las proteínas Smad, o bien por alteraciones que inhabilitan sus funciones supresoras de tumores (10). La dualidad de esta vía para promover o suprimir el desarrollo

de tumores radica en los puntos de interrupción en la vía de señalización y del contexto en el que ocurre.

### Vía de señalización del TGF-β

La vía de señalización canónica del TGF-β ha sido ampliamente estudiada por diversos autores (6, 10, 15), la cual se describe brevemente: comienza con la unión del TGF-β activo al receptor tipo II, el cual une al receptor tipo I formando un complejo heterotetramérico de dos moléculas del receptor tipo I y dos del tipo II. Cuando esto ocurre, el receptor tipo II transfosforila al receptor tipo I en el dominio GS. Esta fosforilación permite que el receptor tipo I se active y pueda transmitir las señales del TGF-β al interior de la célula por medio de las proteínas Smad (Fig. 2), las cuales son factores transcripcionales que controlan la expresión de más de 500 genes. El receptor tipo I del TGF-β fosforila a dos proteínas, llamadas Smad2 y Smad3 (R-Smads). Está reportado que la fosforilación de las R-Smad requiere al receptor del tipo I que a su vez es activado por el receptor

tipo II. Las R-Smad son un sustrato directo de los receptores del TGF- $\beta$  y su fosforilación ocurre en el motivo SXS del carboxilo terminal de las Smad (15). Además, existen algunas proteínas que se encuentran en la membrana plasmática y que pueden actuar como correceptores del TGF- $\beta$ ; estos correceptores unen al ligando y forman complejos con los receptores TR $\beta$ II o TR $\beta$ I. Por lo que la transmisión de la señal se facilita (6, 16). La señalización del TGF- $\beta$  puede ser facilitada por sus receptores tipo III como el betaglicano o la endogлина (CD105). La endogлина media la señalización del TGF- $\beta$ 1 por medio de la unión del TGF- $\beta$ 1 al receptor ALK1. En las células de melanoma que expresan la endogлина, cuando se une al TGF- $\beta$ , regula la actividad antiproliferativa (6, 8).

El TGF- $\beta$  puede activar a otras vías independientes de las SMADs, conocidas como vías no canónicas, tales como: la cascada de MAPKs (ERK1, JNK, p38), así como la activación de proteínas G monoméricas como Rho, Cdc42, Rac y Ras, y la activación de la vía de PI3K (11), las cuales pueden promover la función oncogénica de esta citocina y el desarrollo de tumores (Fig. 2) (10).

### TGF- $\beta$ en melanocitos y melanoma

El TGF- $\beta$  actúa como un potente inhibidor de la proliferación y la diferenciación celular en los melanocitos normales. Los efectos supresores del TGF- $\beta$  durante la fase inicial de la carcinogénesis son principalmente mediados por la inducción de programas citostáticos. El TGF- $\beta$  sobrerregula la expresión de los inhibidores de CDKs (p21, p15, p27Kip1 y p57Kip2), mientras que reprime la expresión de los factores que favorecen la proliferación, incluidos c-MYC y los inhibidores de la diferenciación (ID); además regula la expresión de varios genes pro-apoptóticos, los cuales contribuyen a la supresión de tumores (17).

La expresión y secreción de varias isoformas del TGF- $\beta$  se han identificado en melanocitos no tumorales, nevos y en melanoma (6, 8). Los melanocitos normales solo expresan TGF- $\beta$ 1, mientras que las células de melanoma expresan las tres isoformas del TGF- $\beta$ ; sin embargo, el TGF- $\beta$ 2 es expresado heterogéneamente en melanomas primarios y metastásicos, mientras que el TGF- $\beta$ 3 es expresado uniformemente. Se sugiere que las isoformas TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 tienen un papel fundamental durante la progresión de nevos a melanomas. Además, existe una correlación entre la expresión del TGF- $\beta$ 2 y el grosor del melanoma y la invasión (1). Se ha demostrado que las poblaciones de células de melanoma metastásico exhiben una respuesta disminuida al TGF- $\beta$  en

comparación con las células de melanoma de origen primario (7, 17).

El TGF- $\beta$  es capaz de activar su vía de señalización e inducir la transcripción dependiente de las Smad en células de melanoma (18, 19). La fosforilación de Smad3 ha sido detectada en células de melanoma *in vitro*, lo que sugiere una activación constitutiva de los receptores de TGF- $\beta$  en este cáncer (14), ya que la vía de señalización comienza por la fosforilación de las proteínas R-Smad como Smad3, que son un sustrato directo del receptor tipo I (15, 20).

Se han sugerido algunos mecanismos para explicar la posible atenuación o inhibición de la señalización del TGF- $\beta$  en células de melanoma. Existen algunas proteínas que se encuentran en la membrana plasmática y que pueden actuar como correceptores en la vía de señalización del TGF- $\beta$ , como el betaglicano o la endogлина (CD105). Estos correceptores unen al ligando y forman complejos con los receptores T $\beta$ RII o T $\beta$ RI, por lo que la transducción de la señal se facilita. La endogлина media la señalización del TGF- $\beta$ 1 por medio de la unión del TGF- $\beta$  al receptor tipo I llamado ALK1 (21). En las células de melanoma, la endogлина se une al TGF- $\beta$ 1 (6, 8, 16, 22).

En células de melanoma deficientes de filamina, una proteína de unión a la actina del citoesqueleto, la señalización del TGF- $\beta$  /Smad es defectuosa, lo que sugiere que la filamina puede unir a las Smads y puede servir como proteína de andamio que permite la localización de las proteínas Smads cerca de los receptores de la superficie celular para su fosforilación y activación (6, 11). Asimismo, altos niveles de las oncoproteínas Ski y SnoN también son detectados en el melanoma. Estas proteínas son potentes inhibidores de la señalización del TGF- $\beta$ , actúan tanto en el núcleo celular, en donde reclutan a otros correceptores transcripcionales para inhibir a los complejos de Smad, como también funcionan en el citoplasma en donde secuestran a las proteínas Smad (23-24). La expresión alta de estos inhibidores de la vía del TGF- $\beta$ , puede parecer un mecanismo obvio para que los melanocitos evadan la vía del TGF- $\beta$  por su actividad inhibidora; no obstante, se ha encontrado que, en algunas líneas celulares de melanoma, el silenciamiento de Ski y de SnoN inhibe el crecimiento tumoral (25). Además, el TGF- $\beta$  es un potente y rápido inductor de la degradación proteosomal de Ski y SnoN en varias líneas celulares cancerosas, entre ellas, el melanoma. Sin embargo, esto indica que el mecanismo por el cual las células de melanoma pueden evadir a las señales anti-proliferativas del TGF- $\beta$  es muy complejo.

Por otro lado, las células de melanoma secretan altos niveles de TGF- $\beta$  que actúa en las células del microambiente tumoral, para iniciar o potenciar varios procesos. Por ejemplo, en células tumorales epiteliales, la vía del TGF- $\beta$  promueve un paso crítico para el progreso del cáncer, el cual convierte a las células epiteliales en células del tipo mesenquimal, con capacidad de movilidad e invasión. Este mecanismo se le conoce como transición epitelio-mesénquima (EMT), por el cual las células de cáncer viajan del tumor primario hacia otras regiones, para convertirse en un cáncer metastásico (1, 6, 9, 26). Se ha demostrado que el TGF- $\beta$  promueve la EMT a través de un aumento en la expresión de la metaloproteasa de matriz -9 (MMP9). Además, en la fase de crecimiento de radial a vertical del melanoma, las células de melanoma experimentan un proceso llamado pseudo-EMT, en el que adquieren una morfología de tipo fibroblasto. En este contexto, se demostró que el TGF- $\beta$  promueve este proceso de pseudo-EMT en las células de melanoma a través de la regulación de MMP9 y de la expresión de las integrinas  $\beta$ 1 y  $\beta$ 3, además de la disminución del marcador epitelial E-cadherina (26). Asimismo, se ha encontrado que SMAD7 induce la degradación de  $\beta$ -catenina y promueve interacciones homotípicas con N-cadherina entre las células de melanoma, para estabilizar su asociación con los fibroblastos vecinos (6, 28).

El TGF- $\beta$  también induce la expresión de integrinas, de proteasas como catepsinas B y de proteínas remodeladoras de la matriz como SPARC, que pueden estar involucradas en el proceso de EMT.

### **Vesículas extracelulares tumorales en el melanoma**

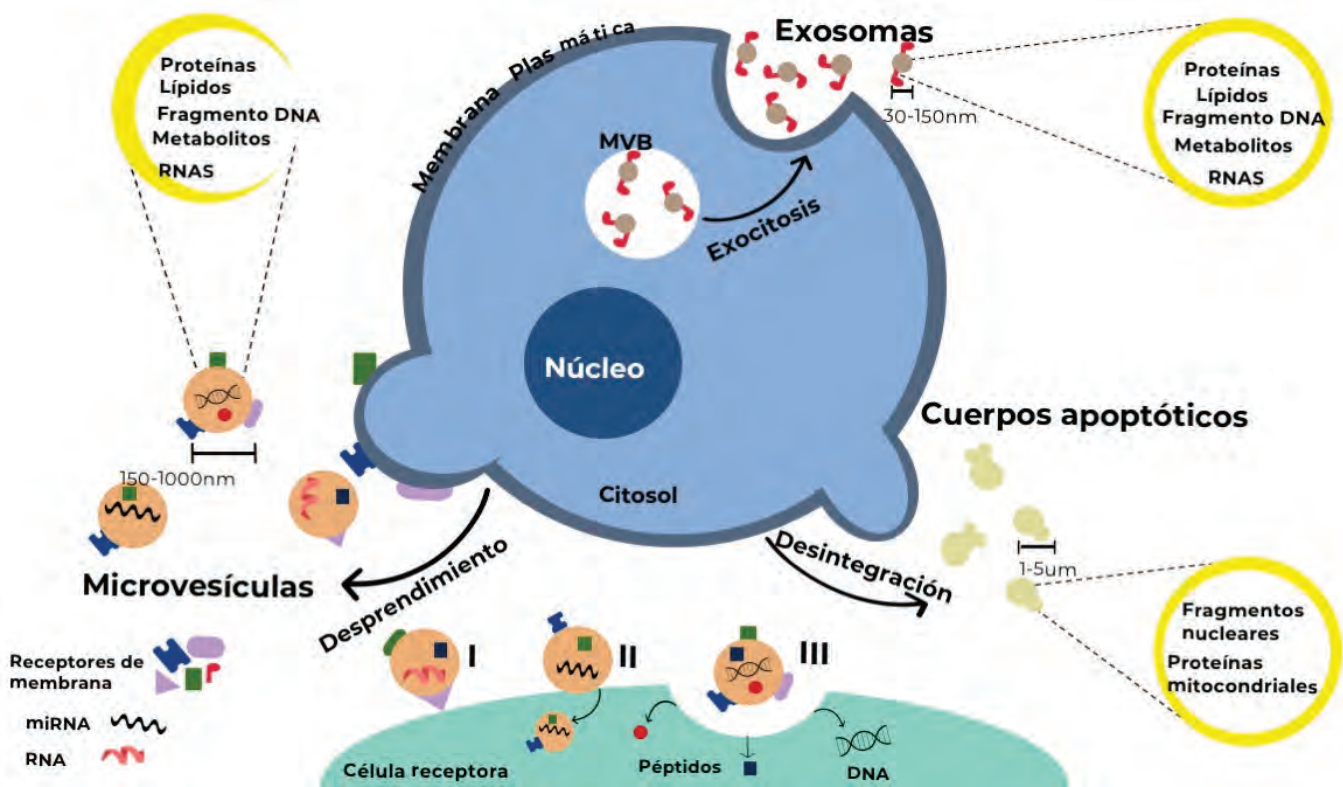
En la última década han aumentado los estudios de la secreción de la citocina TGF- $\beta$ 1 por las células de melanoma, a través de unas partículas llamadas vesículas extracelulares (EVs) (26-27), las cuales son liberadas por casi todo tipo de células y se sabe que transportan diversos tipos de moléculas (carga molecular): incluyendo proteínas de superficie celular, citosólicas y nucleares, así como transcritos de RNA, microRNA (miRNAs) y fragmentos de DNA. Existen tres clases de EV: los exosomas, las microvesículas (MVs) y los cuerpos apoptóticos, las cuales son diferenciadas de acuerdo con su tamaño y biogénesis. Las dos clases principales de EV son las microvesículas (MVs) y los exosomas; las MVs son generadas a partir de la membrana plasmática por gemación al exterior y fisión (Fig. 3), son de tamaño aproximado de 200-1000 nm; mientras que los exosomas son de tamaño más

pequeño (50-150 nm), proceden del interior de los cuerpos multivesiculares (MVB) que se han fusionado con la membrana plasmática y son liberados de manera constitutiva al microambiente tumoral y a la circulación (29).

La carga molecular puede ser transferida a otras células cancerosas, así como también a otras células receptoras normales (célula del estroma), provocando que las células receptoras experimenten cambios fenotípicos que promuevan diferentes aspectos de la progresión del cáncer (Fig. 4). El contenido puede variar según la célula de origen, la etapa de desarrollo de la enfermedad y la respuesta a diversas terapias.

### **Determinar porqué se producen las EVs, es otro campo de estudio**

Las EVs dan lugar a procesos de diferenciación e inmunorregulación (31-32). Las células de melanoma pueden liberar una gran cantidad de proteínas al medio extracelular a través de las EV del tipo exosomas. En el desarrollo tumoral, los exosomas son capaces de transferir proteínas pro-metastásicas a las células circundantes (33). Algunas investigaciones han demostrado que los exosomas derivados del melanoma metastásico son capaces de transferir una oncoproteína identificada como Met a las células circundantes; no obstante, los exosomas pueden viajar a células distantes para preparar el nicho pre-metastásico para la formación de nuevos tumores en el sitio. La transferencia de esta oncoproteína da como resultado un aumento significativo de la metástasis, esto ocurre una vez que se educaron a las células progenitoras de la médula ósea por medio de una transferencia horizontal de exosomas para que adquieran un fenotipo pro-metastásico. Otra de las proteínas enriquecida en los exosomas de melanoma es la Rab27a, que también promueve la metástasis (34-35). Además, los exosomas derivados del melanoma, son capaces de promover la angiogénesis por la inducción de la formación de esferoides endoteliales. La expresión de Wnt aumenta en las células de melanoma e induce una rápida liberación de exosomas cargados con factores pro-angiogénicos, como la interleucina-8 (IL-8) y el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF). De manera similar, los exosomas derivados de células de melanoma que contienen al miRNA-9 son internalizados fácilmente por las células del endotelio, lo que promueve la angiogénesis y posteriormente la metástasis de las células cancerosas por la activación de la vía JAK-STAT (35).



**Figura 3.** Biogénesis de las vesículas extracelulares. Durante la biogénesis de las EV es posible empaquetar selectivamente proteínas, lípidos, RNAs o incluso fragmentos de DNA, los cuales se podrían volver parte de la membrana o del contenido de la vesícula; por lo cual su contenido refleja su origen y les da el potencial como biomarcadores. La cantidad del material llevado dentro de la EV es extremadamente pequeño, al igual que el número de vesículas que llevan biomoléculas particulares a ciertas poblaciones celulares, por lo cual se asume que las células receptoras tienen herramientas de reconocimiento altamente específicas y eficientes (30-31).

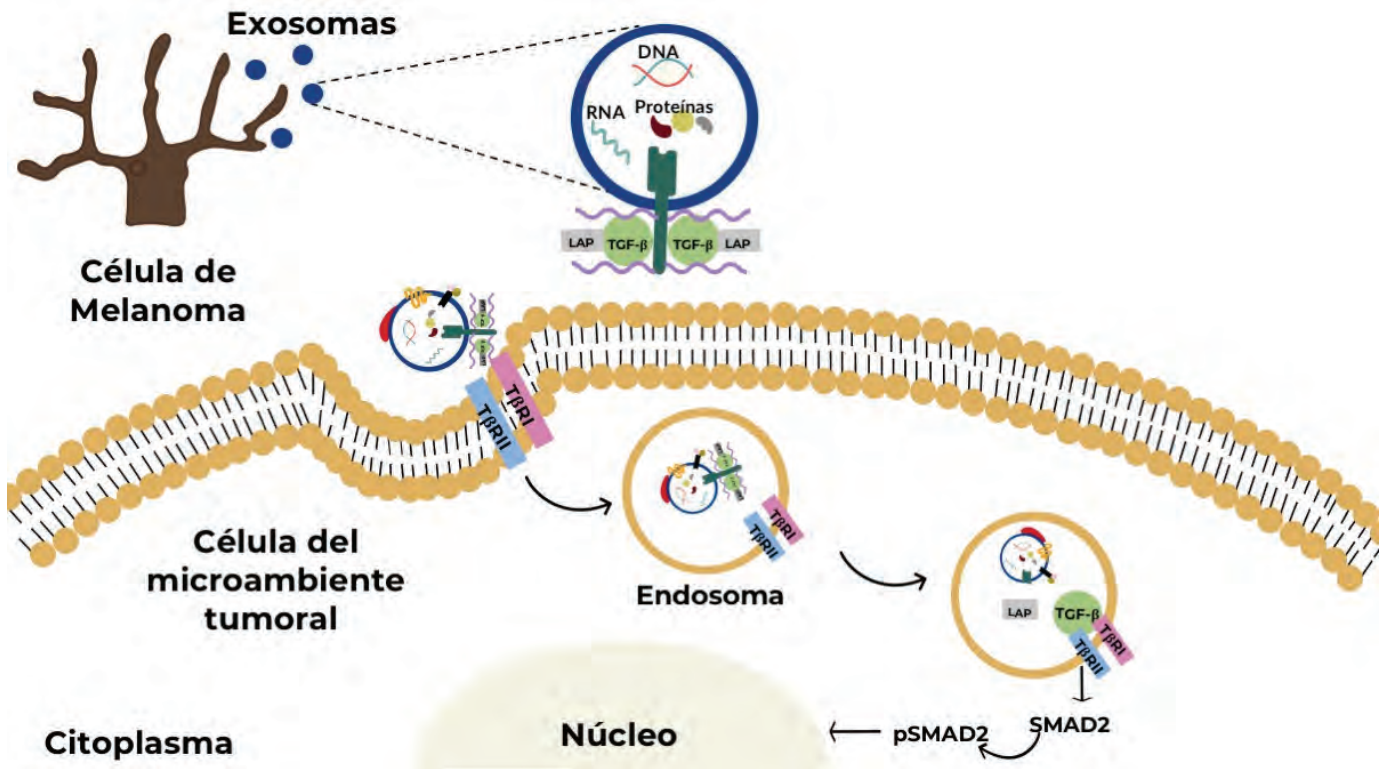
Las EV derivadas del melanoma son capaces de transportar el TGF- $\beta$  y dirigirlo a las células blanco, como células endoteliales, del sistema inmune e incluso a las mismas células cancerosas (Fig. 4). Algunas investigaciones han demostrado el rol que desempeña el TGF- $\beta$  en las EV. En 2018, Park y colaboradores (36) identificaron que los exosomas producidos por células de melanoma en condiciones de hipoxia, están enriquecidos con TGF- $\beta$  (en sus distintas isoformas 1, -2 y -3) y con otras moléculas moduladoras del sistema inmune que median el reclutamiento de monocitos/macrófagos y la inmunosupresión del huésped; en algunos casos se encontró de 4-6 veces más cantidad de TGF- $\beta$  secretado en exosomas bajo condiciones de hipoxia, en comparación con las células normales, sugiriendo que los exosomas liberados por un melanoma hipóxico pueden ejercer efectos más potentes sobre la inmunidad del huésped.

Asimismo, se encontró que el TGF- $\beta$  transportado mediante EV de melanoma puede inducir un fenotipo supresor de las células presentadoras de

antígenos (APC). El TGF- $\beta$  disminuyó la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I y II, así como de las moléculas CD40 y CD86. El MHC y las moléculas CD40 y CD86 están asociadas directamente con la activación del sistema inmune adaptativo, específicamente de las células T citotóxicas, las cuales pueden suprimir el crecimiento tumoral (37).

Además, se ha demostrado que los exosomas de melanoma afectan la diferenciación celular, ya que promueven el cambio fenotípico de los fibroblastos a miofibroblastos, lo que facilita el crecimiento tumoral, la angiogénesis y la metástasis. Se necesita más investigación para identificar el mecanismo molecular por el cual los exosomas promueven o inhiben la diferenciación de los fibroblastos.

Cabe mencionar que los exosomas y las microvesículas pueden ser usadas en aplicaciones clínicas para diagnóstico, por ejemplo, conocer las cantidades y el contenido de las EV liberadas por las células tumorales puede dar información potencial acerca de la etapa de la enfermedad en la que se encuentra el paciente.



**Figura 4.** Secreción de la citocina TGF-β1 por las células de melanoma a través de EVs. Las EVs transportan diversas cargas moleculares, como proteínas de superficie celular, citosólicas y nucleares, así como ácidos nucleicos. La carga puede ser transferida a otras células cancerosas, así como también a otras células del estroma, lo que conlleva a que experimenten cambios fenotípicos. Las células de melanoma pueden secretar proteínas por medio de exosomas, los cuales son capaces de transportar al TGF-β y dirigirlo a otras células en el TME y activar su vía de señalización. Los exosomas derivados de melanoma afectan la diferenciación celular, ya que promueven el cambio de los fibroblastos a miofibroblastos, lo que facilita el crecimiento tumoral, la angiogénesis y la metástasis.

### Conclusiones

En los últimos años se ha hecho un gran esfuerzo para comprender a las vías de señalización implicadas en la iniciación, desarrollo y progresión del melanoma. La vía de señalización de la citocina TGF-β en el melanoma es de gran importancia para la progresión e invasión del cáncer, debido a que está citocina es secretada no solo por los melanocitos, sino también por las células del microambiente tumoral, y además porque puede viajar a través de las vesículas extracelulares y llegar a distintas células blanco. Algunas investigaciones se encuentran en desarrollo para dilucidar el mecanismo por el cual el TGF-β es transportado por

las EV de origen tumoral y cómo son captadas por las células receptoras. Por lo que a pesar de los esfuerzos para lograr comprender el rol del TGF-β en el melanoma, aún existe un campo grande de estudio para su total comprensión.

### Agradecimientos

Nuestro trabajo está apoyado por el proyecto PAPIIT IV200220 de la DGAPA/UNAM. Isabel A. Anaya Rubio fue apoyada por una beca de CONACyT para sus estudios de maestría en Ciencias Bioquímicas de la UNAM. Mitzi P. Pérez Calixto está apoyada por una beca posdoctoral de la DGAPA/UNAM.





## REFERENCIAS

1. Shain AH & Bastian BC (2016) From melanocytes to melanomas. *Nat. Rev. Cancer.* 16: 345–358.
2. El Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, Benbrahim-Talla L, Guha N, Freeman C, Galichet L & Coglianò V (2009) A review of human carcinogens part D: Radiation. *Lancet Oncol.* 10: 751–752.
3. Wong D J L & Ribas A (2016) Targeted Therapy for Melanoma. *Cancer Treat. Res.* 167: 251–262.
4. Website. [<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipomelanoma/acerca/estadisticas-clave.html>]. Consultado 24 abril 2021
5. Schadendorf D, Fisher DE, Garbe C, Gershenwald JE, Grob JJ, Halpern A, Herlyn M, Marchetti MA, McArthur G, Ribas A, Roesch A & Hauschild A (2015) Melanoma. *Nat Rev Dis Primers* 1: 15003.
6. Perrot CY, Javelaud D, & Mauviel A (2013) Insights into the Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling Pathway in Cutaneous Melanoma. *Ann. Dermatol.* 25: 135–144.
7. Polsky D. & Cordon-Cardo C (2003) Oncogenes in melanoma. *Oncogene* 22: 3087–3091.
8. Krasagakis K, Krüger-Krasagakes S, Fimmel S, Eberle J, Thölke D, von de Ohe M, Mansmann U & Orfanos CE (1999) Desensitization of melanoma cells to autocrine TGF- $\beta$  isoforms. *J. Cell. Physiol.* 178; 179–187.
9. Lebrun J J (2012) The Dual Role of TGF- $\beta$  in Human Cancer: From Tumor suppression to Cancer Metastasis. *ISRN Mol Biol*; 38: 1428.
10. Massagué J (2008) TGF $\beta$  in Cancer. *Cell* 134: 215–230.
11. Macías-Silva M, Sosa-Garrocho M (2004) El Factor De Crecimiento Transformante Beta (TGF- $\beta$ ): Funciones Y Vías De Transducción. *REB.* 23: 3–11.
12. Johnston CJ, Smyth DJ, Dresser D W & Maizels RM (2016) TGF- $\beta$  in tolerance, development and regulation of immunity. *Cellular immunology* 299: 14–22.
13. Massagué J & Ganesh K (2021) Metastasis-Initiating Cells and Ecosystems. *Cancer Discovery.* 11 (4): 971–994.
14. Battle E & Massagué J (2019) Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling in Immunity and Cancer. *Immunity* 50(4): 924–940.
15. Macías-Silva M, Abdollah S, Hoodless PA, Pirone R, Attisano L, Wrana JL (1996) MADR2 is a substrate of the TGF $\beta$  receptor and its phosphorylation is required for nuclear accumulation and signaling. *Cell.* 27; 87 (7): 1215–24
16. Derynck R & Budi EH (2019) Specificity, versatility and control of TGF- $\beta$  family signaling. *Sci Signal* 12 (570).
17. Hussein MR (2005) Transforming growth factor-beta and malignant melanoma: molecular mechanisms. *J Cutan Pathol.* 32: 389–395.
18. Rodeck U, Bossler A, Graeven U, Fox FE, Norwell PC, Knabbe C & Kari C (1994). Transforming growth factor beta production and responsiveness in normal human melanocytes and melanoma cells. *Cancer Res.* 54: 575–581.
19. Rodeck U, Nishiyama T & Mauviel A (1999) Independent regulation of growth and SMAD-mediated transcription by transforming growth factor beta in human melanoma cells. *Cancer Res.* 59: 547–550.
20. Javelaud D, Mohammad KS, McKenna CR, Fournier P, Luciani F, Niewolna M, André J, Delmas V, Larue L, Guise TA & Mauviel A (2007) Stable overexpression of Smad7 in human melanoma cells impairs bone metastasis. *Cancer Res.* 67: 2317–2324
21. Mohammad KS, Javelaud D, Fournier PGJ, Niewolna M, McKenna CR, Peng XH, Duong V, Dunn LK, Mauviel A & Guise TA (2011) TGF- $\beta$ -RI kinase inhibitor SD-208 reduces the development and progression of melanoma bone metastases. *Cancer Res,* 71: 175–184.
22. Tzavlaki K, & Moustakas A. (2020) TGF- $\beta$  Signaling. *Biomolecules,* 10(3).
23. Tecalco-Cruz AC, Ríos-López DG, Vázquez-Victorio G, Rosales-Alvarez RE & Macías-Silva M (2018) Transcriptional cofactors Ski and SnoN are major regulators of the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in health and disease. *Signal Transduct Target Ther* 3:15.
24. Deheuninck J & Luo K (2009) Ski and SnoN, potent negative regulators of TGF- $\beta$  signaling. *Cell Research,* 19: 47–57
25. Javelaud D, van Kempen L, Alexaki VI, Le Scolan E, Luo K & Mauviel A (2011) Efficient TGF- $\beta$ /SMAD signaling in human melanoma cells associated with high c-SKI/SnoN expression. *Molecular Cancer,* 10:2.
26. Gowda R, Robertson BM, Iyer S, Barry J, Dinavahi SS & Robertson GP (2020) The role

- of exosomes in metastasis and progression of melanoma, *Cancer Treat. Rev.* 85: 101975.
27. Maacha S, Bhat AA, Jimenez L, Raza A, Harris M, Uddin S & Grivel JC (2019) Extracellular vesicles-mediated intercellular communication: roles in the tumor microenvironment and anti-cancer drug resistance. *Mol. Cancer* 18: 5.
  28. van Niel G, D'Angelo G & Raposo G (2018) Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 19 (4): 213–228.
  29. Latifkar A, Hur YH, Sanchez JC, Cerione RA & Antonyak MA (2019) New insights into extracellular vesicle biogenesis and function. *J. Cell Sci*: 132
  30. Xavier CPR, Caires HJ, Barbosa MA, Bergantim R, Guimaraes JE & Vasconcelos MH (2020) The Role of Extracellular Vesicles in the Hallmarks of Cancer and Drug Resistance. *Cells*: 9.
  31. Clayton A (2012) Cancer cells use exosomes as tools to manipulate immunity and the microenvironment. *Oncoimmunology* 1: 78–80.
  32. Webber J, Steadman R, Mason MD, Tabi Z & Clayton A (2010) Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation *Cancer Res.* 70: 9621–9630
  33. Steinbichler TB, Dudás J, Riechelmann H & Skvortsova I I, (2017) The role of exosomes in cancer metastasis. *Semin. Cancer Biol* 44: 170–181.
  34. Peinado H, Aleckovic M, Lavotshkin S, Matei I, Costa-Silva B, Moreno-Bueno G, Hergueta-Redondo M, Williams C, García-Santos G, Ghajar C, Nitadori-Hoshino A, Badal K, Garcia BA, Callahan MK, Yuan J, Martins VR, Skog J, Kaplan RN, Brady MS, Wolchock JD, Chapman PB, Kang Y, Bromberg J & Lyden D (2012). Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET *Nat Med* 18: 883–891.
  35. Gajos-Michniewicz A, Duechler M & Czyz M (2014). MiRNA in melanoma-derived exosomes *Cancer Lett.* 347: 29–37.
  36. Park JE, Dutta B, Tse SW, Gupta N, Tan CF, Low JK, Yeoh KW, Kon OL, Tam JP & Sze SK (2019) Hypoxia-induced tumor exosomes promote M2-like macrophage polarization of infiltrating myeloid cells and microRNA-mediated metabolic shift, *Oncogene*, 38:5158–73.
  37. Döchler M, Czernek L, Peczek L, Cypryk W, Sztiller-Sikorska M, Czyz M (2019) Melanoma-Derived Extracellular Vesicles Bear the Potential for the Induction of Antigen-Specific Tolerance. *Cells*, 8 (7):665.