



---

# EXOSOMAS Y CÁNCER

---

PILAR MEDEL CORTÉS



TRABAJO FIN DE GRADO





## TRABAJO FIN DE GRADO

Revisión Bibliográfica

# EXOSOMAS Y CÁNCER

**Pilar Medel Cortés**

Universidad de Sevilla, Grado de Farmacia

Departamento de Fisiología

Tutora: María José Peral Rubio

Sevilla, Junio 2020.



## **RESUMEN**

Los exosomas son vesículas extracelulares que pueden ser liberadas por cualquier tipo de célula. Su contenido es variable, pero pueden llevar proteínas, lípidos o ácidos nucleicos. Estas vesículas extracelulares participan en la comunicación entre células, manteniendo la homeostasis celular y colaborando en diversas funciones fisiológicas.

Sin embargo, también pueden estar involucrados en el desarrollo de enfermedades como el cáncer. Los exosomas pueden favorecer el desarrollo del cáncer, gracias a la transmisión de proteínas o ácidos ribonucleicos (ARN). Debido a esta transmisión por parte de los exosomas, procesos como la angiogénesis o la metástasis se ven favorecidos lo que beneficia a las células cancerígenas que pueden continuar, sin problemas, su crecimiento.

Pero al mismo tiempo, los exosomas pueden ser claves para las terapias anticancerígenas. Al ser vesículas tan pequeñas y no generar una respuesta del sistema inmune para atacarlos, los exosomas pueden ser utilizados para llevar fármacos a la zona del tumor. Asimismo pueden ayudar a activar el sistema inmune, favoreciendo la eliminación de las células cancerígenas, y pueden ser utilizados como biomarcadores para observar la evolución de la enfermedad.

Aunque el empleo de los exosomas en las terapias anticancerígenas puede llegar a ser muy útil, se necesita aún un mayor número de ensayos clínicos que prueben la efectividad y la rentabilidad de su uso. Todo ello, junto con un mayor estudio de la participación de los exosomas en el desarrollo del cáncer, podría posicionar a los exosomas como una herramienta muy útil en la lucha contra el cáncer.

**Palabras clave: exosomas, cáncer, metástasis, terapia anticancerígena**



**ÍNDICE:**

<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCCIÓN:.....</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>12</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>13</b>
<b>Los exosomas como factores que favorecen el cáncer. ....</b>	<b>13</b>
Apoptosis:.....	13
Angiogénesis. ....	14
Metástasis. ....	16
Sistema inmune. ....	21
<b>Los exosomas como agentes contra el cáncer. ....</b>	<b>23</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>29</b>

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS:**

---

### ***A***

ARNm: ARN mensajero

ARNmi: micro-ARN

---

### ***E***

EMT: Epithelial to Mesenchymal Transition / Transición epitelio-mesénquima

ERK: Extracellular signal regulated kinases / Proteínas quinasas reguladas por señal extracelular

ESCRT: Endosomal Sorting Complex Required for Transport / Complejo de clasificación endosomal requerido para transporte

---

### ***G***

GLUT1: Transportador de glucosa 1

---

### ***H***

HIF: Hipoxia-inducible factors / Factor inducible por hipoxia

---

### ***I***

ITG: Integrinas

---

### ***M***

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinases / Proteínas quinasas activadas por mitógenos

MVB: Multivesicular Bodies / Cuerpos multivesiculares

---

### ***T***

TGF- $\beta$ 1: Transforming Growth Factor Beta 1 / Factor de crecimiento transformante Beta 1

---

### ***V***

VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor / Factor de crecimiento endotelial vascular

## INTRODUCCIÓN:

Las células, para poder comunicarse entre ellas, necesitan un método que sea rápido y que consiga transmitir una cantidad importante de información. En el organismo existen sólo dos tipos de señales fisiológicas para compartir la información: una que recurre a las señales eléctricas (relacionadas con los potenciales de membrana) y otra que recurre a las señales químicas. Las señales químicas son moléculas secretadas por las células en el líquido extracelular. Estas moléculas secretadas pueden actuar bien sea cerca de la célula que las liberó o en otras partes distantes del organismo (Silverthorn et al., 2019).

En ocasiones, para poder transportar las moléculas, las células recurren al transporte por vesículas. Estas vesículas separan a las moléculas del medio extracelular mediante una bicapa lipídica, similar a la membrana citoplasmática. (Silverthorn et al., 2019)

Estas vesículas pueden entrar y salir de las células mediante dos procesos distintos: la endocitosis, para introducirse en la célula, y la exocitosis, para abandonarla (Silverthorn et al., 2019).

La endocitosis (Figura 1) es el mecanismo mediante el cual las células incorporan moléculas del medio extracelular a su interior a través de la formación de vesículas de la membrana plasmática, conocidas como endosomas (Stanfield, 2011).

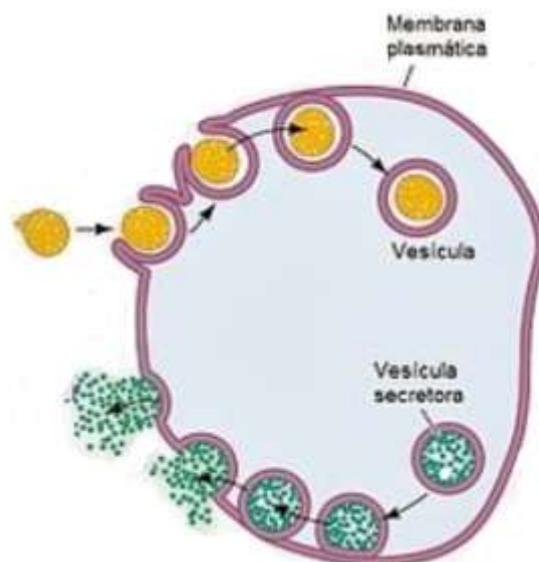


Figura 1. Representación de la endocitosis (amarillo) y de la exocitosis (azul).  
Modificada de (Sadava et al., 2004).

Mientras que la exocitosis (Figura 1), es el proceso inverso. Durante la exocitosis, las vesículas intracelulares se mueven hacia la membrana plasmática y se fusionan con ella, liberando al medio extracelular su contenido (Silverthorn et al., 2019).

En la exocitosis, se ven involucradas dos familias de proteínas, Rabs que ayudan a las vesículas a fijarse en la membrana y SNARE que facilitan la fusión de la membrana. La exocitosis puede ser regulada, dependiendo de un aumento del calcio intracelular como señal para la liberación de la vesícula (Silverthorn et al., 2019).

La endocitosis también puede ser específica y estar mediada por receptores (Figura 2). La endocitosis mediada por receptores se produce en regiones de la membrana celular, donde el lado citoplasmático tiene un alto contenido en proteínas, sobre todo clatrina. En el primer paso de este tipo de endocitosis, ligandos extracelulares se unen a sus receptores de membrana. Cuando ya se ha formado el complejo ligando-receptor, la membrana se invagina, se separa de la membrana celular y se convierte en una vesícula citoplasmática que pasará a ser un endosoma. (Silverthorn et al., 2019).

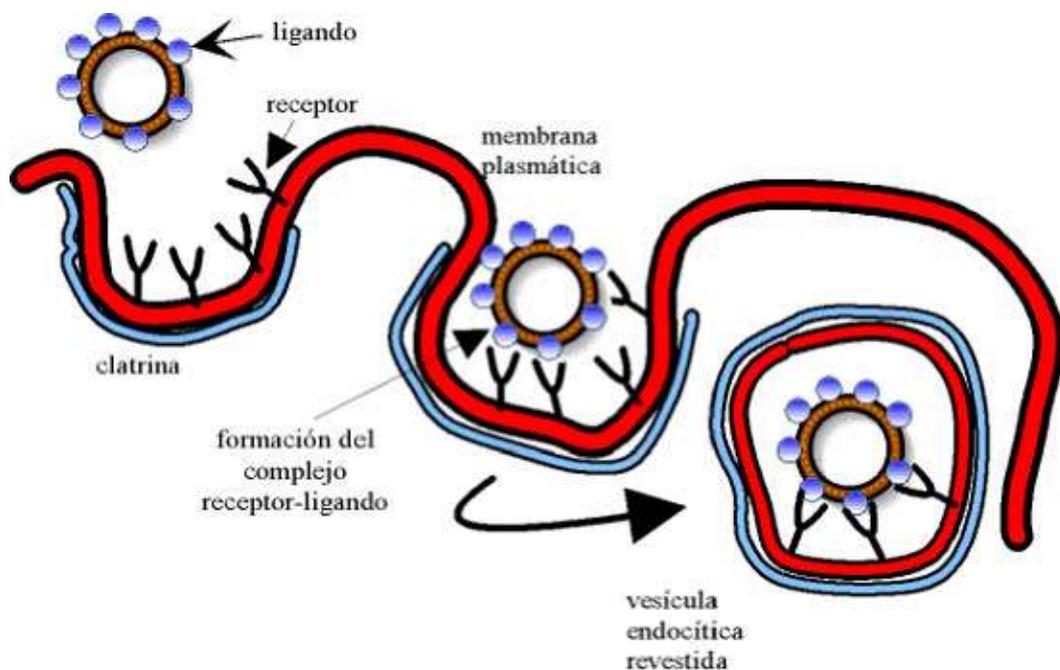


Figura 2. Representación de la endocitosis mediada por receptores (Lorenzo Corchón, 2014).

Durante la endocitosis, se forman en primer lugar, endosomas tempranos. La forma exacta en que se producen estos endosomas tempranos no se conoce del todo, pero se sabe que su membrana y su volumen proceden de la fusión de vesículas endocíticas primarias (Huotari and Helenius, 2011).

La gemación interna de la membrana del endosoma temprano forma vesículas intraluminales, de esta manera los endosomas tempranos maduran a endosomas tardíos. Al tener los endosomas tardíos las vesículas intraluminales en su interior, se les suele referir como cuerpos multivesiculares (por sus siglas en inglés MVB, de *Multivesicular Bodies*). Mientras se produce la formación de las vesículas intraluminales, se captan los ácidos nucleicos, las proteínas y los lípidos que van a formar el contenido de estas vesículas (Aslan et al., 2019).

Los MVB pueden seguir dos caminos diferentes, bien sea fusionándose con los lisosomas, orgánulos que contienen enzimas hidrolíticas, e ir a la vía de degradación o fusionándose con la membrana celular para liberar al medio extracelular las vesículas intraluminales, que pasan a llamarse exosomas (Jella et al., 2018).

Los exosomas son un tipo de vesícula extracelular (Figura 3). Se distinguen de otros tipos de vesículas extracelulares por su pequeño tamaño (50-150 nm) y su origen a partir de endosomas tardíos o cuerpos multivesiculares. Así, otras vesículas extracelulares como las microvesículas, tienen un tamaño mayor (100-1000 nm) y tienen su origen en la membrana plasmática, mientras que los cuerpos apoptóticos tienen un tamaño aún mayor (1000-5000 nm) y son liberados por células apoptóticas, es decir, células que están muriendo por apoptosis (Zhang and Yu, 2019).

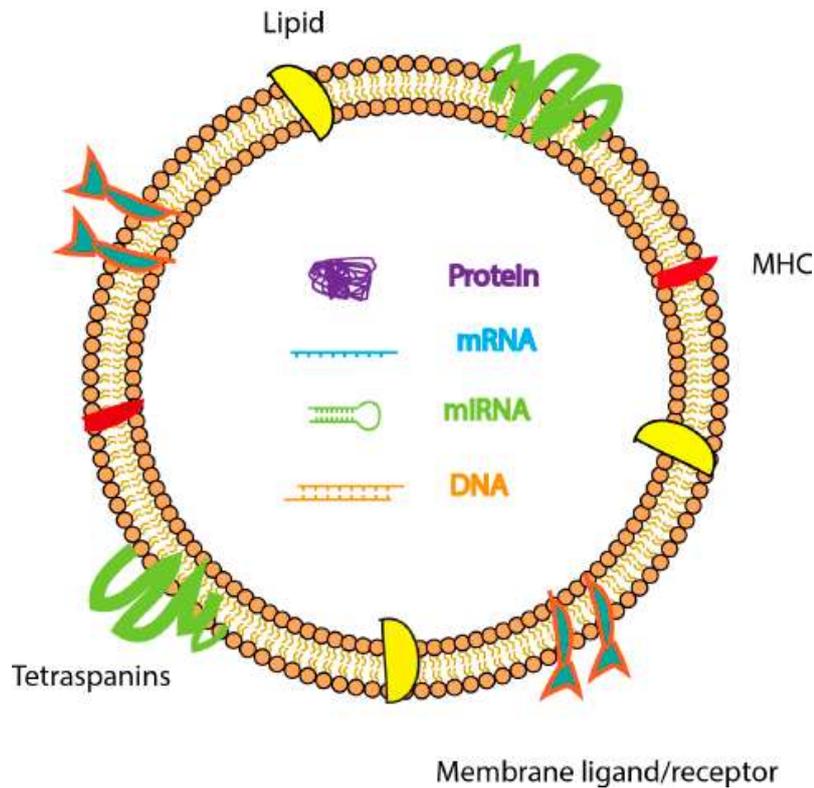


Figura 3. Representación esquemática de la estructura de un exosoma (Jella et al., 2018)

Gracias a los procesos de endocitosis y exocitosis, los exosomas pueden formarse y ser liberados al medio extracelular. Al igual que la exocitosis de cualquier otra vesícula, las proteínas Rab, en concreto las proteínas Rab27a y Rab27b, y las proteínas SNARE intervienen en la exocitosis de los exosomas (Aslan et al., 2019; Mashouri et al., 2019).

En la siguiente imagen (figura 4), podemos ver un esquema de la biogénesis de los exosomas, con la formación en primer lugar de un endosoma temprano, su maduración a cuerpo multivesicular, y los dos caminos que puede seguir este a continuación, la degradación por los lisosomas o la exocitosis y posterior endocitosis por parte de otra célula de los exosomas.

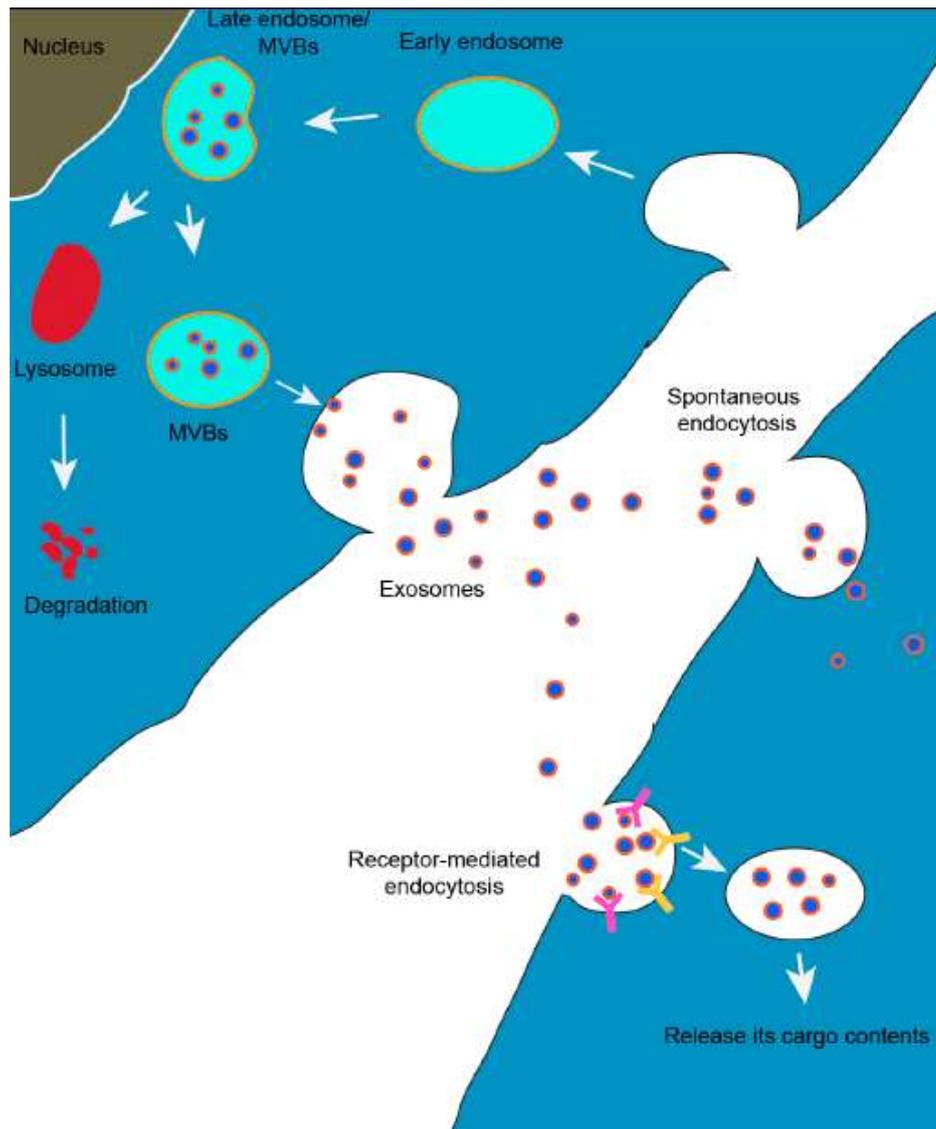


Figura 4. Biogénesis de los exosomas (Jella et al., 2018).

Los exosomas son liberados por casi todas las células al medio extracelular. Inicialmente se pensaba que estaban solo implicados en los procesos de eliminación de desechos celulares para mantener la homeostasis celular (Baixauli et al., 2014).

En la actualidad, sin embargo, se reconoce su papel, no solo en el mantenimiento de la homeostasis celular, sino también en numerosas funciones fisiológicas, como puede ser la respuesta inmune, la transducción de señal y la presentación de antígeno. Además se ha comprobado su participación en procesos fisiopatológicos, como pueden ser las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas o en el cáncer (Zhang et al., 2019).

El contenido dentro de los exosomas es un reflejo de la composición de la célula de la que proceden y muestra un mecanismo de clasificación regulado. Entre el contenido que pueden tener los exosomas, dentro o en su superficie, se encuentran receptores, factores de transcripción, enzimas, proteína de la matriz extracelular, lípidos o ácidos nucleicos (Mashouri et al., 2019).

El análisis de la composición de proteínas en los exosomas permitió descubrir que algunas proteínas surgen específicamente de la célula o el tejido de origen, y otras son comunes entre todos los exosomas. Así, las moléculas de adhesión, como las tetraspaninas, o las relacionadas con la señalización celular, como las integrinas, se encuentran entre los ejemplos característicos de proteínas exosómicas específicas, mientras que las proteínas de fusión y transferencia, como Rab2 y Rab7, y las proteínas de choque térmico como Hsp70 y Hsp90, están en el grupo de proteínas presentes en todos los exosomas (Mashouri et al., 2019).

La distribución de las proteínas en los exosomas es un mecanismo altamente regulado, que puede depender de la maquinaria del complejo de clasificación endosomal requerido para transporte (ESCRT por sus siglas en inglés *endosomal sorting complex required for transport*), maquinaria responsable de clasificar las proteínas de membrana ubiquitinadas, o ser independiente de está, interviniendo las tetraspaninas (proteínas transmembrana) en este caso (Hessvik and Llorente, 2018).

Respecto a la captación de los exosomas por otras células, se ha demostrado que este proceso es llevado a cabo mediante endocitosis, interacciones entre ligandos y receptores o por fusión directa de la membrana del exosoma con la membrana plasmática de la célula (Aslan et al., 2019). Esta captación se ve influenciada por el pH del microambiente, así cuando el pH es bajo existe una mayor captación de los exosomas por fusión de membranas (Subramanian et al., 2016).

Por lo tanto, los exosomas son vesículas, que pueden ser liberadas por casi cualquier célula, capaces de transportar proteínas, lípidos o ácidos nucleicos, a otra célula, interviniendo en la comunicación intercelular. Además son vesículas muy específicas, ya que no interactúan aleatoriamente con cualquier célula receptora que se encuentre cerca (Zhang et al., 2019).

Las moléculas transportadas por los exosomas son capaces de impactar en las células diana a través de mecanismos como pueden ser la estimulación directa a través de ligandos unidos a superficie, la transferencia de receptores activados o la reprogramación epigenética de las células receptoras (Zhang et al., 2019).

El contenido que pueden llevar los exosomas varía según la célula de la que procedan y en función del estado en el que se encuentre esta (Zhang et al., 2019). Esto hace que los exosomas puedan dar información pronóstica en distintas enfermedades, como puede ser el cáncer (Tai et al., 2018).

El cáncer, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de las células que puede aparecer en cualquier zona del cuerpo, siendo capaz de invadir el tejido circundante y provocar metástasis (OMS. Temas de salud. Cáncer, 2009). Actualmente, es una de las enfermedades más importantes en nuestra sociedad, siendo la segunda causa de muerte en todo el mundo, solo superado por las enfermedades cardiovasculares (Section and Epidemic, 2018).

Durante el crecimiento del tumor se ha observado que las células cancerígenas son especialmente activas en la producción de exosomas (Ludwig and Whiteside, 2018). Así pues, los exosomas provenientes de las células cancerígenas han demostrado a través del transporte de moléculas entre las células cancerígenas y entre estas y las células sanas intervenir en el desarrollo tumoral (Tai et al., 2018).

Su participación en procesos inherentes a la progresión del tumor, como la angiogénesis o la modulación del sistema inmunitario, así como su contribución a la aparición de resistencias frente a las terapias anticancerígenas (Mashouri et al., 2019), dan a los exosomas un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad.

Un mejor conocimiento de las funciones que desempeñan los exosomas, como factores que influyen en el cáncer, así como las funciones que pueden desempeñar como vehículos terapéuticos, puede ayudar a obtener mejores resultados en las terapias anticancerígenas (Tai et al., 2018).

## OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es recopilar información actualizada sobre la implicación de los exosomas en el desarrollo del cáncer así como el papel que pueden desempeñar en las terapias anticancerígenas.

## METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se han consultado diversas fuentes bibliográficas como pueden ser libros de texto de Fisiología y Anatomía Humana, artículos científicos y páginas web. Los libros de texto de Fisiología y Anatomía Humana fueron usados para comprender mejor aspectos básicos del trabajo.

La búsqueda de los artículos científicos se realizó usando preferentemente la base de datos de MEDLINE, producida por la biblioteca nacional de medicina de Estados Unidos. La base de datos PubMed también fue utilizada, especialmente para revisar la bibliografía de los artículos utilizados. Respecto a los artículos científicos utilizados, se emplearon principalmente revisiones de los últimos 5-10 años, pero también se consultaron artículos científicos originales por su importancia al describir mecanismos por primera vez o la implicación de los exosomas en procesos concretos.

Para realizar la búsqueda, se utilizaron combinaciones de palabras clave, como exosomes, seguido de *biogenesis*, *cancer*, *metastasis*, *angiogenesis*, *apoptosis*, *immune suppression* o *cancer therapy* para poder obtener información más concreta.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Los exosomas como factores que favorecen el cáncer.

El desarrollo tumoral es un proceso dinámico y no uniforme en el tiempo, que depende de varias señalizaciones para producirse. Los exosomas liberados por las células cancerígenas, es decir, los exosomas derivados del tumor (*tumor-derived exosomes*, *TEX*, en inglés) colaboran en el crecimiento del cáncer actuando sobre los puntos de regulación de éste. De esta manera, están implicados en diferentes procesos como son, la reprogramación celular, la modulación del sistema inmune o la angiogénesis (Tai et al., 2018).

En función de donde intervengan los exosomas, se puede analizar cómo actúan y cuál es el efecto que desencadenan.

#### Apoptosis:

La apoptosis, o muerte celular programada, es un proceso fisiológico controlado genéticamente por el cual se provoca la muerte de las células como respuesta a unos determinados estímulos. Durante el cáncer, se producen alteraciones en su regulación, permitiendo a las células cancerígenas continuar su crecimiento (Pazo Cid et al., 2012).

Entre las moléculas que pueden estar implicadas en la supervivencia celular se encuentran algunos factores de crecimiento. Estas proteínas de bajo peso molecular inducen la supervivencia celular, inhibiendo la apoptosis mediante la activación de genes de supervivencia y anti-apoptóticos.

Uno de estos factores de crecimiento es el factor de crecimiento transformante beta 1, o TGF- $\beta$ 1 (*Transforming Growth Factor  $\beta$ 1*) por sus siglas en inglés. A través de una liberación autocrina de este factor TGF- $\beta$ 1 se produce una activación de las proteínas quinasas reguladas por señal extracelular, ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) y de la proteína quinasa B o AKT. Estas proteínas forman respectivamente la ruta MAPK por sus siglas en inglés *Mitogen-Activated Protein Kinases* (proteínas quinasas activadas por mitógenos) y la ruta PI3K/Akt.

Estas rutas están implicadas en la activación de genes de supervivencia y anti-apoptóticos. Se ha observado que los exosomas liberados por las células cancerígenas, que llevan este factor TGF- $\beta$ 1, promueven la supervivencia de la célula, impidiendo la apoptosis (Raimondo et al., 2015).

### Angiogénesis.

Para que el cáncer puede avanzar y seguir creciendo, se deben formar nuevos vasos sanguíneos que proporcionen a las células cancerígenas nutrientes, oxígeno y factores de crecimiento (Aslan et al., 2019) .

Esta angiogénesis, que debe ocurrir para el desarrollo tumoral, se ha relacionado especialmente con los niveles de exosomas que produce el tumor (Ludwig and Whiteside, 2018).

En un estudio realizado en 2015, se demostró que los exosomas de células epiteliales oncogénicas sometidas a una transición epitelio-mesénquima, proceso por el cual las células epiteliales se transforman gradualmente en células de tipo mesenquimal, eran capaces de promover la angiogénesis (Gopal et al., 2016). En concreto en el glioblastoma, un tipo de cáncer cerebral muy agresivo, se demostró la presencia de exosomas cuyo contenido contribuía a la proliferación de las células endoteliales, lo que lleva a la formación de nuevos vasos sanguíneos (Skog et al., 2008).

Por lo tanto, los exosomas son capaces de promover la angiogénesis actuando sobre las células endoteliales. Tras ser los exosomas internalizados por parte de estas células (Figura 5), principalmente por endocitosis, se produce la reprogramación de estas células (Ludwig and Whiteside, 2018). Esta reestructuración es debida al contenido de los exosomas, principalmente ARN mensajero (ARNm), micro-ARN (ARNmi) y proteínas, que llevan a cabo cambios estables en las células endoteliales (Skog et al., 2008).

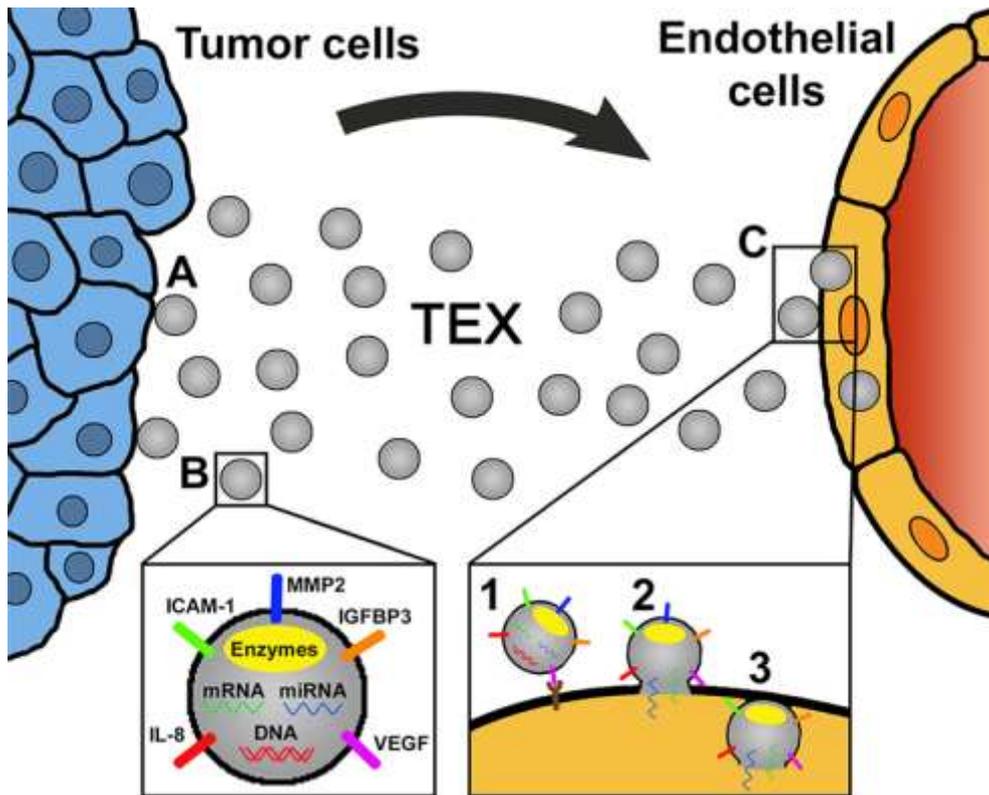


Figura 5. Representación esquemática donde los exosomas de células tumorales liberan su contenido en las células endoteliales. En ella se puede observar el contenido que pueden llevar los exosomas en su interior. Además del material genético (ARNm, ARNm o ADN), pueden llevar proteínas como la metaloproteínasa de la matriz extracelular-2 (MMP2), la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), la proteína transportadora 3 del factor de crecimiento similar a la insulina (IGFBP-3) o la interleucina 8 (IL-8) (Ludwig and Whiteside, 2018)

Estos cambios se producen gracias a que los exosomas alteran la actividad de las rutas moleculares ya existentes en las células, reorganizando los componentes que participan en ellas (Ludwig and Whiteside, 2018).

Gracias a esto, los exosomas regulan los genes relacionados con la angiogénesis permitiendo a las células endoteliales mejorar su migración y aumentar la proliferación y el nacimiento de nuevos vasos sanguíneos (Ludwig and Whiteside, 2018).

Este contenido de ARNm, ARNm o proteínas de los exosomas puede estar condicionado por la situación de hipoxia que hay en la masa tumoral (Tadokoro et al., 2013). Para poder regular la respuesta celular a la falta de oxígeno, se encuentra la familia del factor inducible por hipoxia, en inglés *hipoxia-inducible factors* (HIF).

En condiciones de hipoxia, el dímero formado por las isoformas HIF-1 $\alpha$  y HIF-2 $\alpha$  se une a sus genes diana proangiogénicos y aumenta su transcripción (Shao et al., 2018), estimulando la expresión de factores proangiogénicos, como el factor de crecimiento endotelial vascular o VEGF por sus siglas en inglés, (*Vascular Endotelial Growth Factor*), el transportador de glucosa 1 (GLUT1), o la anhidrasa carbónica 9 (Aslan et al., 2019).

Varios estudios en diferentes tumores han demostrado la presencia de exosomas cuyo contenido se ha relacionado con un aumento de la angiogénesis. En el cáncer de mama, por ejemplo, se demostró la presencia de la proteína anexina II en exosomas, y como está favorece la angiogénesis (Maji et al., 2017).

En el caso del cáncer de pulmón, se evidenció la presencia de microARN 21, que una vez dentro de las células receptoras, aumentaba la expresión de VEGF y consecuentemente estimulaba la angiogénesis (Aslan et al., 2019).

También se ha demostrado en este tipo de tumor, la presencia de exosomas con microARN 210 y microARN 23a, y como estos favorecían la angiogénesis (Ludwig and Whiteside, 2018).

### Metástasis.

La metástasis, o las consecuencias de su tratamiento, se encuentra, como la principal causa de muerte por cáncer (Steege, 2016). Esta metástasis consiste en la migración de células tumorales primarias desde el sitio de origen del tumor a otras zonas del cuerpo, su proliferación en ese lugar y, por último, la formación de un nuevo tumor en esa zona (Tian et al., 2019).

Su desarrollo tiene cuatro pasos principales (Figura 6) que incluyen la intravasación del tumor a los vasos sanguíneos, la extravasación desde la circulación sanguínea al sitio de metástasis, la latencia tumoral y la formación, en primer lugar, de una micrometástasis y luego de una macrometástasis (Tian et al., 2019).

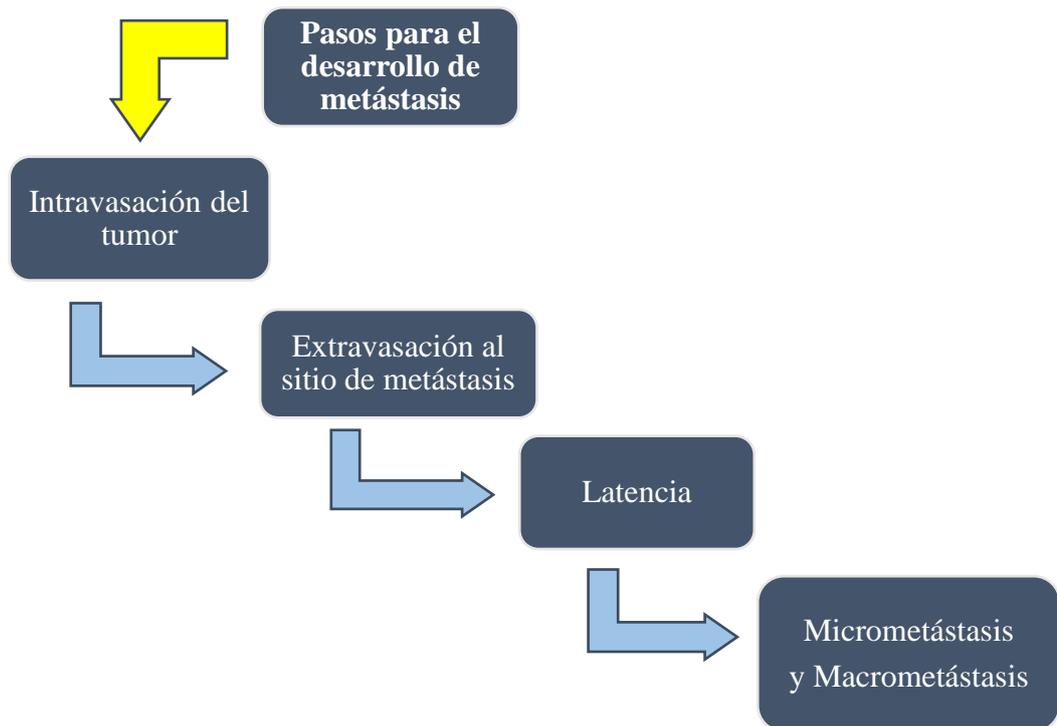


Figura 6. Esquema de las etapas de la metástasis (Tian et al., 2019).

Los exosomas tienen varias funciones, entre las que se incluyen contribuir a la organotropidad de la metástasis, a la formación del nicho premetastásico así como influir en las células tumorales y en el microambiente tumoral (Tian et al., 2019).

La organotropidad de la metástasis se ha relacionado con las integrinas (ITG), que lleven los exosomas. Así, por ejemplo, exosomas provenientes de un tumor que contengan  $ITG\alpha_6\beta_4$  y  $ITG\alpha_6\beta_1$ , están relacionados con una metástasis pulmonar, mientras que los exosomas con  $ITG\beta_3$ , están relacionados con una metástasis cerebral (Figura 7) (Tian et al., 2019).

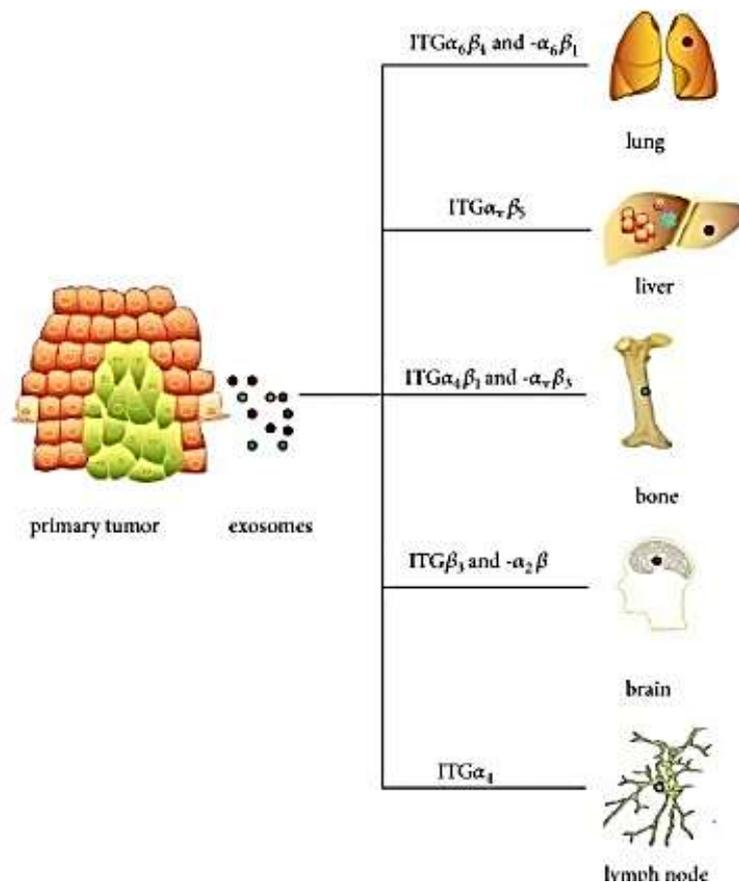


Figura 7. Papel de las integrinas procedentes de exosomas tumorales en la organotropicidad de la metástasis. Los exosomas con ITG $\alpha_6\beta_4$  o ITG $\alpha_6\beta_1$  se dirigen al pulmón. Los exosomas con ITG $\alpha_v\beta_5$  se dirigen al hígado. Los exosomas con ITG $\alpha_4\beta_1$  o ITG $\alpha_v\beta_3$  se dirigen al hueso. Los exosomas con ITG $\beta_3$  o ITG $\alpha_2\beta$  se dirigen al cerebro. Por último los exosomas con ITG $\alpha_4$  se dirigen a los ganglios linfáticos. Modificada de (Tian et al., 2019).

La interacción, mediada por las integrinas, se produce entre los exosomas y células residentes específicas del órgano diana, de esta manera, por ejemplo, los exosomas tumorales dirigidos al hígado interaccionarán con las células hepáticas de Kupffer y los exosomas tumorales que se dirijan al cerebro interaccionarán con las células endoteliales del cerebro (Tian et al., 2019).

Una vez los exosomas llegan a la célula diana, las integrinas que transportaban se encargan de regular la función de esta.

Esta regulación se produce gracias a que median la activación del protooncogén de la tirosina-proteína quinasa Src (Src) y aumentan la expresión de los genes S100, familia de genes que codifican proteínas S100, lo que lleva a un aumento de las moléculas S100, que tienen características pro-inflamatorias y pro-migratorias. Así, las integrinas favorecen la expresión de genes implicados en facilitar la metástasis tumoral (Hoshino et al., 2015).

En cuanto a la formación del nicho premetastásico, los ARNmi de exosomas tumorales han mostrado interferir con el perfil de ARNmi de las células diana, contribuyendo al establecimiento del nicho premetastásico (Wu et al., 2019).

Al transferir ARNmi o ARN largo no codificante (lncRNAs) a células del microambiente, como pueden ser las células endoteliales, los macrófagos o los fibroblastos, contribuyen a aumentar la inflamación de la zona y a la obtención de fenotipos celulares inflamatorios asociados a tumores (Tian et al., 2019).

Esta obtención de fenotipos inflamatorios, de las células epiteliales o de los macrófagos, es conseguido mediante la estimulación del receptor tipo toll-like (TLR) por parte de los ARNs, que llevan los exosomas (Tian et al., 2019). Igualmente, estos ARNs puede promover la progresión de la metástasis actuando sobre el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-KB) o sobre la vía de la proteína quinasas activada por mitógeno (MAPK) (Tian et al., 2019).

Una de las etapas claves para que la metástasis pueda suceder es la transición epitelio-mesénquima o EMT, por sus siglas en inglés *Epithelial to Mesenchymal Transition*, (Wu et al., 2019). Durante esta transición epitelio-mesénquima (EMT) las células epiteliales, pierden su funcionalidad epitelial y sus rasgos moleculares característicos, en favor del aumento de la capacidad migratoria e invasiva, propia de las células mesenquimales (Figura 8) (Nieszporek et al., 2019).

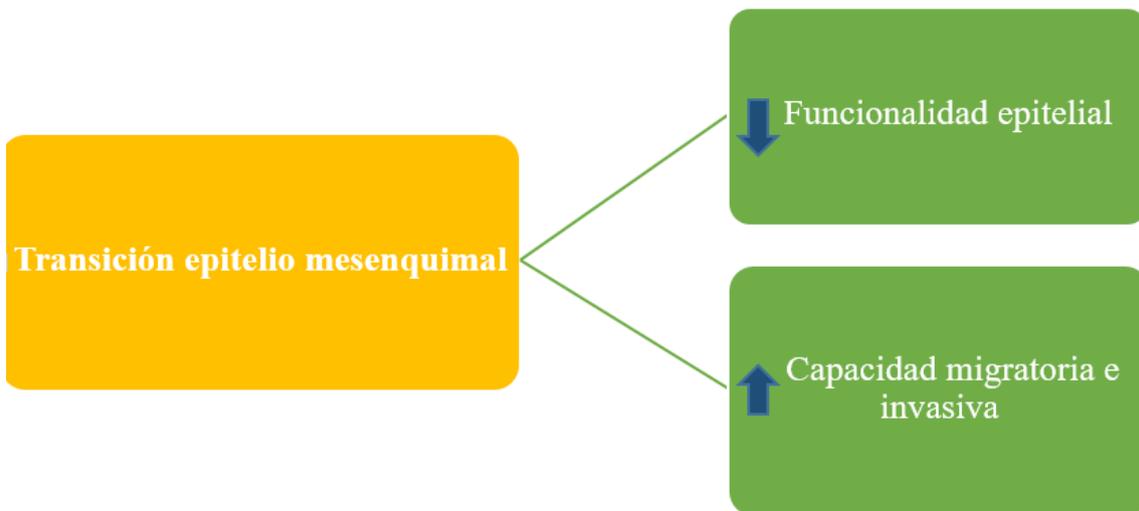


Figura 8. Características de la transición epitelio-mesenquimal.

Esto permite a las células cancerígenas diseminarse desde el lugar del tumor primario, invadir tejidos adyacentes y provocar metástasis al colonizar sitios distantes (Nieszporek et al., 2019).

Desde un punto de vista mecánico, los exosomas pueden desencadenar esta transición epitelio-mesénquima través de la ruta de señalización MAPK/ERK (Chen et al., 2018). En el trabajo llevado a cabo por Chen et al., 2018 se inhibió la liberación de exosomas de células de carcinoma hepatocelular con la eliminación de la proteína Rab27a. Al hacerlo, aumentó la expresión en estas células de los marcadores mesenquimales, como la cadherina-N o la vimentina, y disminuyó la de los marcadores epiteliales, como la cadherina-E, demostrando que los exosomas favorecían la EMT. Al mismo tiempo, observaron que la fosforilación de las quinasas ERK 1/2 aumentaba. Después, para poder comprobar que la EMT se llevaba a cabo a través de la ruta MAPK/ ERK, trataron a estas células con un inhibidor de ERK.

Tras esto, la fosforilación de las quinasas ERK 1/2 se anuló. Al no fosforilarse estas quinasas, la ruta MAPK/ERK no podía activarse. Esta inhibición de la ruta MAPK/ERK, provocaba a su vez un aumento de la expresión de marcadores epiteliales (cadherina-E), y una disminución de la de marcadores mesenquimales (vimentina) (Chen et al., 2018).

Además, los exosomas liberados por las células tumorales pueden promover esta transición epitelio-mesénquima al llevar en su interior moléculas de señalización transductoras de EMT, como pueden ser TGF $\beta$ , la caveolina-1, la  $\beta$ -catenina o HIF-1 $\alpha$ , aumentando la capacidad invasiva y migratoria de las células que las reciben. (Syn et al., 2016).

### Sistema inmune.

Una de las funciones fundamentales que llevan a cabo los exosomas de las células cancerígenas es el control del sistema inmune. Según el perfil fenotípico que lleven estos exosomas podrían tanto suprimir como estimular el sistema inmune (esto se comentará más adelante), dependiendo del entorno al que sean liberados por sus células parentales (Whiteside, 2016).

Los exosomas pueden provocar la supresión del sistema inmune directamente llevando señales supresoras, o inductoras de apoptosis, a las células inmunes activadas. La supresión del sistema inmune también pueden llevarla a cabo indirectamente induciendo la diferenciación de las células T reguladoras y de las células mieloides supresoras (MDSC, por sus siglas en inglés, *myeloid-derived suppressor cells*), y promoviendo su expansión (Whiteside, 2016).

Entre otros mecanismos mediados por exosomas para inhibir el sistema inmune, se encuentra la capacidad de inhibir las respuestas de las células T específicas de antígeno e inducir la apoptosis, mediante la activación de las vías extrínsecas e intrínsecas, de las células T CD8<sup>+</sup> activadas. Los exosomas derivados de tumores intervienen, además, inhibiendo la diferenciación de los monocitos (Whiteside, 2016).

Asimismo, se ha comprobado que los exosomas derivados de las células tumorales son capaces de suprimir la citotoxicidad de las células *natural killer* (NK). Esto lo hacen disminuyendo la expresión del receptor NKG2D, uno de los receptores activadores de las células NK. Esta disminución de la expresión de este receptor la consiguen los exosomas mediante el transporte de TGF- $\beta$ 1 a las células NK (Szczepanski et al., 2011).

Otro receptor activador de las células NK es DNAM-1 (en inglés *DNAX Accessory Molecule-1*). Este receptor también puede ver disminuida su expresión, en el microambiente tumoral. De esta manera la activación de estas células se ve aún más comprometida (Di Pace et al., 2020).

La implicación de los exosomas derivados de tumores es, por tanto, clave para el desarrollo del cáncer. Gracias a su intervención, el tumor ve favorecido su desarrollo, pues los exosomas ayudan a las células cancerígenas a evitar la apoptosis y a generar nuevos vasos sanguíneos que les aporte a estas células los nutrientes necesarios para continuar su crecimiento. Además, los exosomas también ayudan en procesos como la metástasis, y son capaces de inactivar al sistema inmune para proteger a las células cancerígenas.

## **Los exosomas como agentes contra el cáncer.**

Gracias a las características inherentes de los exosomas, como ser biocompatibles, no citotóxicos, y poco inmunogénicos, además de su facilidad de almacenamiento, su larga vida útil y su alta capacidad para llevar carga dentro de ellos, los exosomas se convierten en una diana muy interesante para las terapias anticancerígenas dirigidas (Wang et al., 2017).

Esto se ve potenciado cuando se compara la capacidad de los exosomas para ser internalizados en las células tumorales con otras vesículas de similar tamaño, como los liposomas, siendo en el caso de los exosomas hasta diez veces más efectivos, lo cual hace que tengan mayor especificidad para dirigirse al cáncer (Wang et al., 2017). Otra característica interesante es que los exosomas tienden a acumularse más en los tejidos tumorales, con vasos sanguíneos anormalmente formados, que en los tejidos normales, lo cual aumenta la eficacia en la administración de los fármacos (Wang et al., 2017).

Para que los exosomas puedan servir en la terapia anticancerígena, además de las propiedades ya mencionadas, se necesita que los exosomas sean capaces de dirigirse a la célula cancerígena. Esto se consigue modificando la membrana de los exosomas, para que expresen las proteínas o péptidos adecuados fusionados con proteínas propias de la membrana exosómica (Figura 10) (Wang et al., 2017).

Un ejemplo de esto fue logrado, en 2014, por el grupo de Tian et al., 2014 cuando trataron de diseñar exosomas que fueran capaces de administrar doxorubicina, un antibiótico utilizado como agente quimioterapéutico, al tejido tumoral. Para ello, a partir de células dendríticas inmaduras, produjeron los exosomas que iban a utilizar.

Estas células dendríticas inmaduras fueron diseñadas para que los exosomas que produjesen expresasen en su superficie dos proteínas fusionadas. La primera sería la glucoproteína de membrana asociada a lisosomas 2b, una proteína de la membrana exosómica bien conocida. Fusionado a esta proteína colocaron al péptido de direccionamiento iRGD, para la integrina  $\alpha v$ . Gracias a este péptido, los exosomas podrían dirigirse específicamente a células de cáncer de mama, positivas para integrina  $\alpha v$ .

En el experimento se demostró que estos exosomas, cargados con doxorubicina, eran capaces de llegar a estas células de cáncer de mama, inhibiendo así el crecimiento del tumor (Tian et al., 2014).

Otras maneras de conseguir dirigir a los exosomas a las células cancerígenas, puede ser diseñar exosomas magnéticos y posteriormente usar un imán externo en el sitio del tumor, o colocar anticuerpos específicos para el tumor en la membrana del exosoma (Figura 9) (Wang et al., 2017).

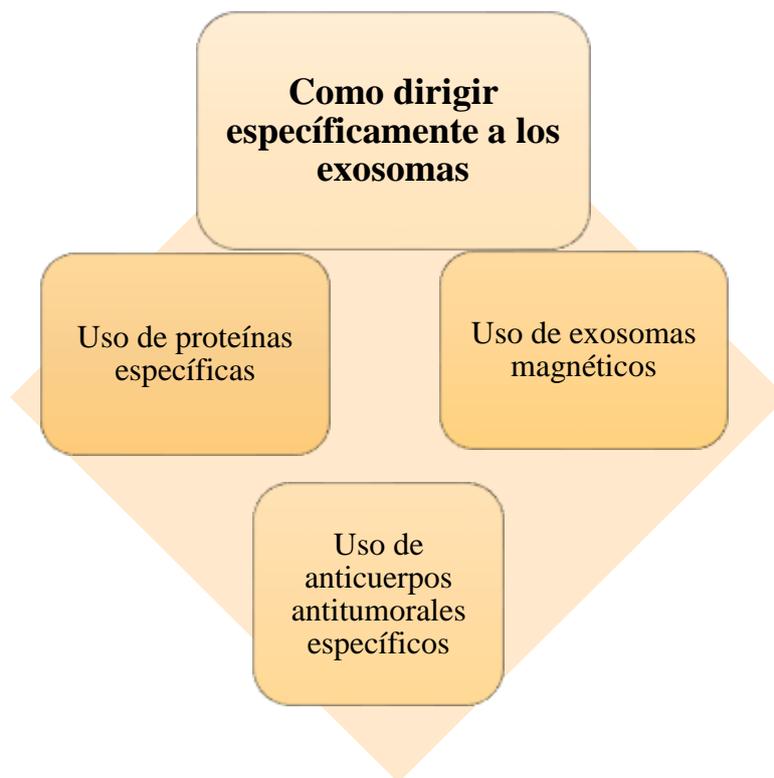


Figura 9. Formas de conseguir el direccionamiento específico de los exosomas.

Dentro de los exosomas pueden introducirse además agentes quimioterapéuticos, ARN o proteínas (Figura 10). En el cáncer de pulmón se ha comprobado que exosomas con paclitaxel, fármaco citotóxico empleado en el tratamiento anticancerígeno, eran capaces de reducir el crecimiento del tumor, mientras que los efectos secundarios tóxicos, propios del uso de este fármaco disminuían (Pullan et al., 2019).

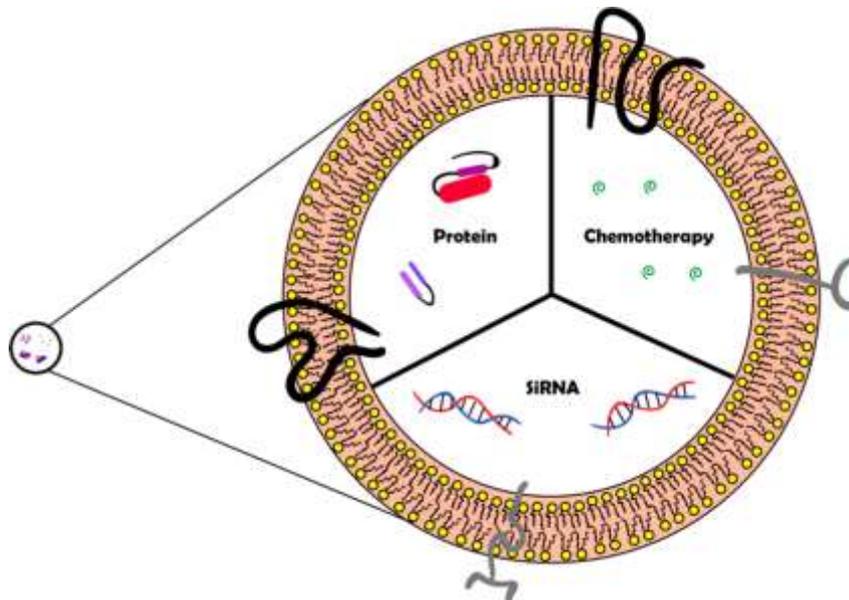


Figura 10. Distintos tipos de carga que pueden llevar los exosomas para la terapia anticancerígena (Pullan et al., 2019).

En un estudio sobre el cáncer de páncreas, se introdujo dentro de los exosomas ARN interferente pequeño (ARNip), para silenciar a la proteína oncogénica KRAS, la cual favorece la formación de este cáncer. Esto resultó en una regresión del tumor, lo cual indica que los exosomas pueden ser una buena herramienta para el tratamiento del cáncer de páncreas (Pullan et al., 2019).

En cuanto al uso de proteínas, la introducción de survivina inactivada (proteína que cuando esta activada inhibe la apoptosis), dentro de los exosomas, promueve la apoptosis en células del adenocarcinoma pancreático (Wang et al., 2017).

Igualmente, los exosomas de las células del sistema inmune también pueden servir para activa. Se ha demostrado que los exosomas procedentes de células dendríticas (células presentadoras de antígenos) conservan las propiedades inmunoestimuladoras de estas y son más resistentes a la inhibición inmunosupresora por parte del microambiente tumoral que las propias células dendríticas (Gao and Jiang, 2018).

Estos exosomas de las células dendríticas poseen en su superficie ligandos de NKG2D que pueden interactuar con las células NK y activarlas (Gao and Jiang, 2018). A su vez, los exosomas de las células NK pueden ser internalizados rápidamente en el interior de las células cancerígenas y ejercer efectos citotóxicos, incluso a baja concentración. Esto hace que el uso de ambos tipos de exosomas, pueda ser útil en la inmunoterapia (Di Pace et al., 2020).

Además, como se mencionó anteriormente, los exosomas de células cancerígenas pueden estimular al sistema inmune, al llevar antígenos en su interior. Los exosomas provenientes de células tumorales pueden desencadenar respuestas antitumorales más efectivas al llevar dentro moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I), importantes para la presentación de antígenos, la proteína Hsp70 o antígenos tumorales (Gao and Jiang, 2018). Por lo que los exosomas de células cancerígenas podrían ser utilizados como componentes de vacunas antitumorales (Whiteside, 2016)

Estos exosomas de células cancerígenas pueden ser usados también como biomarcadores, es decir, como indicadores para ver el estado de la enfermedad, la respuesta al tratamiento o para observar la aparición de resistencias (Li and Nabet, 2019).

## CONCLUSIONES

1. Los exosomas procedentes de células cancerígenas, a través de la transferencia de distintos tipos de moléculas son capaces de modular distintas vías, regulando la activación de diferentes genes. Esto permite que las células cancerígenas que reciben a estas vesículas sean capaces de continuar su desarrollo.
2. En el caso de la angiogénesis, la transmisión de ARNm, ARNmi o de proteínas, mediante los exosomas, permiten un aumento de factores pro-angiogénicos, como VEGF, lo que lleva a un aumento en la formación de nuevos vasos sanguíneos.
3. Los exosomas son importantes en la metástasis para determinar la organotropidad mediante la transferencia de integrinas. También son capaces, gracias a la transferencia de ARNmi o ARNlnc, de promover fenotipos inflamatorios, lo cual ayuda a la formación del nicho premetastásico. Además ayudan a la transición epitelio-mesénquima mediante la transferencia de diversas moléculas.
4. Los exosomas interactúan con el sistema inmune. Por un lado, los exosomas de las células cancerígenas pueden bloquear la respuesta del sistema inmune frente al tumor mediante la transmisión de señales supresoras a células del sistema inmune o inhibiendo la activación de receptores activadores de estas células. Por otro lado, los exosomas de las células del sistema inmune pueden ser utilizados como terapias anticancerígenas activando la respuesta de éste frente al tumor.
5. Los exosomas pueden ser utilizados como vehículos en las terapias anticancerígenas. Son capaces de llevar en su interior ARN, agentes quimioterapéuticos o proteínas y pueden ser dirigidos específicamente a las células cancerígenas. En estas células, las moléculas que llevaban los exosomas en su interior son capaces de ejercer su acción, inhibiendo su crecimiento.

6. Los exosomas tienen por tanto un papel muy importante en el cáncer, tanto por contribuir a su desarrollo como por ser útiles en las terapias anticancerígenas. Aunque en los últimos años se ha avanzado mucho en el conocimiento de estas vesículas y su intervención en el cáncer, todavía se necesita conocer mejor la implicación de los exosomas en el desarrollo de esta enfermedad. Esto podría permitir una mejora en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico del cáncer.

7. Asimismo para poder incluir a los exosomas en las terapias anticancerígenas, se deben realizar un mayor número de ensayos clínicos que permitan poder cuantificar el éxito real que puede tener su uso en el tratamiento del tumor, así como poder comparar las ventajas y desventajas que tiene su utilización, con respecto a otros tipos de tratamiento ya disponibles.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aslan C, Maralbashi S, Salari F, Kahroba H, Sigaroodi F, Kazemi T, et al. Tumor-derived exosomes: Implication in angiogenesis and antiangiogenesis cancer therapy. *J Cell Physiol* 2019;234:16885–903. <https://doi.org/10.1002/jcp.28374>.
- Baixauli F, López-Otín C, Mittelbrunn M. Exosomes and autophagy: Coordinated mechanisms for the maintenance of cellular fitness. *Front Immunol* 2014;5:1–6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00403>.
- Chen Lu, Guo P, He Y, Chen Z, Chen Liwei, Luo Y, et al. HCC-derived exosomes elicit HCC progression and recurrence by epithelial-mesenchymal transition through MAPK/ERK signalling pathway. *Cell Death Dis* 2018;9:513. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0534-9>.
- Gao D, Jiang L. Exosomes in cancer therapy: a novel experimental strategy. *Am J Cancer Res* 2018;8:2165–75.
- Gopal SK, Greening DW, Hanssen EG, Zhu HJ, Simpson RJ, Mathias RA. Oncogenic epithelial cell-derived exosomes containing Rac1 and PAK2 induce angiogenesis in recipient endothelial cells. *Oncotarget* 2016;7:19709–22. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7573>.
- Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci* 2018;75:193–208. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>.
- Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature* 2015;527:329–35. <https://doi.org/10.1038/nature15756>.
- Huotari J, Helenius A. Endosome maturation. *EMBO J* 2011;30:3481–500. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>.
- Jella KK, Nasti TH, Li Z, Malla SR, Buchwald ZS, Khan MK. Exosomes, their biogenesis and role in inter-cellular communication, tumor microenvironment and cancer immunotherapy. *Vaccines* 2018;6. <https://doi.org/10.3390/vaccines6040069>.
- Li I, Nabet BY. Exosomes in the tumor microenvironment as mediators of cancer therapy resistance. *Mol Cancer* 2019;18:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0975-5>.
- Lorenzo Corchón A. Transporte de membrana. *Macromoléculas* 2014. <https://www.asturnatura.com/articulos/envoltura-celular/membrana-plasmatica->

endocytosis-fagocytosis-pinocytosis.php (accessed June 2, 2020).

- Ludwig N, Whiteside TL. Potential roles of tumor-derived exosomes in angiogenesis. *Expert Opin Ther Targets* 2018;22:409–17. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1464141>.
- Maji S, Chaudhary P, Akopova I, Nguyen PM, Hare RJ, Gryczynski I, et al. Exosomal annexin II promotes angiogenesis and breast cancer metastasis. *Mol Cancer Res* 2017;15:93–105. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-16-0163>.
- Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, Ahadi AM, Molaei F, Alahari SK. Exosomes: Composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. *Mol Cancer* 2019;18:1–14. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0991-5>.
- Nieszporek A, Skrzypek K, Adamek G, Majka M. Molecular mechanisms of epithelial to mesenchymal transition in tumor metastasis. *Acta Biochim Pol* 2019;66:509–20. [https://doi.org/10.18388/abp.2019\\_2899](https://doi.org/10.18388/abp.2019_2899).
- OMS. Temas de salud. Cáncer. 2009;<https://www.who.int/topics/cancer/es/>.
- Di Pace AL, Tumino N, Besi F, Alicata C, Conti LA, Munari E, et al. Characterization of Human NK Cell-Derived Exosomes: Role of DNAM1 Receptor in Exosome-Mediated Cytotoxicity against Tumor 2020;1:1–16.
- Pazo Cid RA, Álvarez Alejandro M, Cebollero de Miguel A, Agustín MJ, Martínez Lostao L, Anel Bernal A, et al. Apoptosis, cáncer & Co. *Rev Int Grup Investig En Oncol* 2012;1:52–9.
- Pullan JE, Confeld MI, Osborn JK, Kim J, Sarkar K, Mallik S. Exosomes as Drug Carriers for Cancer Therapy. *Mol Pharm* 2019;16:1789–98. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00104>.
- Raimondo S, Saieva L, Corrado C, Fontana S, Flugy A, Rizzo A, et al. Chronic myeloid leukemia-derived exosomes promote tumor growth through an autocrine mechanism. *Cell Commun Signal* 2015;13:1–12. <https://doi.org/10.1186/s12964-015-0086-x>.
- Sadava D, Heller G, Orians G, Purves W, Hillis D. *Life - The Science of Biology* Seventh Edition Gordonsville (VA) W. H. FREEMAN. 2004.
- Section S, Epidemic TO. Estimated number of new cancer cases, all EU countries, 2018 2018. [https://doi.org/10.1787/health\\_glance\\_eur-2018-graph47-en](https://doi.org/10.1787/health_glance_eur-2018-graph47-en).
- Shao C, Yang F, Miao S, Liu W, Wang C, Shu Y, et al. Role of hypoxia-induced exosomes in tumor biology. *Mol Cancer* 2018;17. <https://doi.org/10.1186/s12943->

018-0869-y.

- Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Ober CE, Imaglizzo A, Silverthorn AC. Fisiología Humana Un enfoque integrado Octava Edición Ciudad de México Editorial Médica Panamericana 2019. <http://www.medicapanamericana.com.us.debiblio.com/visorebookv2/ebook/9786078546237#%7B%22Pagina%22:%22Cover%22,%22Vista%22:%22Indice%22,%22Busqueda%22:%22%22%7D> (accessed May 16, 2020).
- Skog J, Wurdinger T, Van Rijn S, Meijer D, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers 2008. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>.
- Stanfield CL. PRINCIPIOS DE FISIOLÓGÍA HUMANA Cuarta Edición Madrid Pearson Educación S.A. 2011. [http://www.ingebook.com.us.debiblio.com/ib/NPcd/IB\\_Escritorio\\_Visualizar?cod\\_primaria=1000193&libro=4643](http://www.ingebook.com.us.debiblio.com/ib/NPcd/IB_Escritorio_Visualizar?cod_primaria=1000193&libro=4643) (accessed May 16, 2020).
- Steeg PS. Targeting metastasis. Nat Rev Cancer 2016;16:201–18. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.25>.
- Subramanian A, Gupta V, Sarkar S, Maity G, Banerjee S, Ghosh A, et al. Exosomes in carcinogenesis: molecular palkis carry signals for the regulation of cancer progression and metastasis. J Cell Commun Signal 2016;10:241–9. <https://doi.org/10.1007/s12079-016-0338-6>.
- Syn N, Wang L, Sethi G, Thiery JP, Goh BC. Exosome-Mediated Metastasis: From Epithelial-Mesenchymal Transition to Escape from Immunosurveillance. Trends Pharmacol Sci 2016;37:606–17. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.04.006>.
- Szczepanski MJ, Szajnik M, Welsh A, Whiteside TL, Boyiadzis M. Blast-derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function via membrane-associated transforming growth factor- $\beta$ 1. Haematologica 2011;96:1302–9. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.039743>.
- Tadokoro H, Umezu T, Ohyashiki K, Hirano T, Ohyashiki JH. Exosomes derived from hypoxic leukemia cells enhance tube formation in endothelial cells. J Biol Chem 2013;288:34343–51. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.480822>.
- Tai YL, Chen KC, Hsieh JT, Shen TL. Exosomes in cancer development and clinical applications. Cancer Sci 2018;109:2364–74.

<https://doi.org/10.1111/cas.13697>.

- Tian W, Liu S, Li B. Potential Role of Exosomes in Cancer Metastasis. *Biomed Res Int* 2019;2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4649705>.
- Tian Y, Li S, Song J, Ji T, Zhu M, Anderson GJ, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials* 2014;35:2383–90. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.083>.
- Wang J, Zheng Y, Zhao M. Exosome-based cancer therapy: Implication for targeting cancer stem cells. *Front Pharmacol* 2017;7:1–11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00533>.
- Whiteside TL. Exosomes and tumor-mediated immune suppression Find the latest version: Exosomes and tumor-mediated immune suppression. *J Clin Invest* 2016;126:1216–23. <https://doi.org/10.1172/JCI81136.vesicular>.
- Wu M, Wang G, Hu W, Yao Y, Yu XF. Emerging roles and therapeutic value of exosomes in cancer metastasis. *Mol Cancer* 2019;18:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0964-8>.
- Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* 2019;1871:455–68. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.04.004>.
- Zhang Y, Liu Y, Liu H, Tang WH. Exosomes: Biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci* 2019;9:1–18. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0282-2>.