Artículo de revisión

Las vesículas extracelulares y su papel en la salud y el cáncer.

Extracellular vesicles and their role in health and cancer

Sandoval Montiel Alvaro Adrian[1]
Hernández Cortés Paulina[2]
Guerrero Reyes Jonathan[1,2]
Anaya Ruiz Maricruz[2]
Rosas Murrieta Nora Hilda[1]

[1]Centro de Química, ICUAP, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

[2]Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS

Sandoval-Montiel, A. A., Hernández-Cortés, P., Guerrero-Reyez, J., Anaya-Ruiz, M., y Rosas-Murrieta, N. H.
Las vesículas extracelulares y su papel en la salud y el cáncer.
Alianzas y Tendencias. 2017, 2 (2): 29-32.
Recibido: 10 julio 2017. Aceptado: 9 agosto 2017.

La comunicación entre células es esencial para la homeostasis de los organismos. Existen al menos cinco tipos de comunicación celular (Tabla 1) que en su mayoría ocurren cuando algunas células liberan moléculas llamadas ligandos que actúan sobre los receptores proteicos de otras células, (blanco o diana). A pesar de los diversos estudios sobre este mecanismo, quedan algunas dudas por responder. ¿Cómo logran llegar con especificidad las moléculas a su destino celular al ser liberadas las moléculas al torrente sanguíneo y linfático? ¿cómo evaden al sistema inmunológico y a enzimas degradadoras como proteasas? Este paradigma está siendo abordado con el estudio de estructuras derivadas de los sistemas celulares, denominadas vesículas extracelulares.

Tabla 1. Vías canónicas de comunicación celular

Tipo de comunicación celular	Origen-blanco de la señal	tipo de moléculas segregadas
Endócrina	Células de glándulas endócrinas-células somáticas	Hormonas que viajan por la sangre
Parácrina	Células locales-células locales	Proteínas, factores de crecimiento
Autócrina	Las mismas células originan y responden a la señal	Proteínas, factores de crecimiento
Yuxtácrina	Células adyacentes se comunican mediante uniones gap	Proteínas, factores de crecimiento
Nerviosa	Célula nerviosa-célula nerviosa o músculo	Neurotransmisores

Las vesículas extracelulares son estructuras evolutivamente conservadas, y son aquellos fragmentos rodeados de membrana celular que son secretados de manera controlada por las células vivas. Estas vesículas participan en la comunicación intercelular sin necesidad de contacto directo entre células, gracias a que su contenido recorre largas distancias a través del torrente sanguíneo, linfa u otros fluidos. La célula emisora "carga" de información (lípidos, proteína, glicoproteínas y pequeños RNAs) a las vesículas extracelulares, que posteriormente son excretadas al medio extracelular y, al ser captadas por la célula diana, producirán un efecto específico a través de la información que portan.

Las vesículas celulares pueden, por ejemplo, transmitir señales entre neuronas o entre células del sistema neuroendócrino (vesículas sinápticas). También se conocen vesículas que pueden degradar intracelularmente macromoléculas (sistema lisosomal). Sin embargo, en el pasado no se considero que todas las vesículas extracelulares tuvieran un papel fisiológico, en especial las vesículas de tamaños más pequeños -exosomas- (50 a 100 nm) las cuales son producidas por la mayoría de las células. Sólo recientemente se ha reconocido su papel en la fisiología y en enfermedades [1-6].

Las vesículas extracelulares son diversas y han sido clasificadas por sus características físicas de tamaño, índice de sedimentación, contenido, etc. También

pueden clasificarse según su origen, ya que pueden surgir a partir de células normales, cancerosas, apoptóticas, etc. En la Tabla 2 se pueden observar ejemplos de los tipos de vesículas que se conocen en la actualidad. Dos principales tipos de vesículas son producidas por las células normales: los exosomas (50 a 100 nm) y las microvesículas en células normales (100 a 1000 nm) [6], y células cancerosas (0.5 a 10 µm).

Tabla 2. Principales características morfológicas y marcadores moleculares en vesículas extracelulares de células normales y células cencerígenas.

Tipos de vesículas extracelulares	Tamaño	Densidad en sacarosa	Sedimentación	Apariencia por microscopía electrónica	Composición lipídica	Principales marcadores proteínicos
Exosomas	50-100 nm	1.13-1.10 g/ml	100,000 x g	Forma de copa	Fosfatidil serina expuesta, enriquecida en colesterol, esfingomielina y ceramidas	Tetraspaninas (63, CD9), alix y TSG101
Microvesículas	100-1,000 nm	No determinado	100,000 x g	Forma irregular	Fosfatidil serina expuesta	Integrinas, selectinas y ligando CD40
Vesículas apoptóticas	50-500 nm	1.16-1.28 g/ml	1,200 x g 10,000 x g 100,000 x g	heterogénea	No determinado	Histonas
Oncosomas	500 nm	No determinado	10,000 x g	Forma irregular	Fosfatidil serina expuesta, enriquecida en colesterol, esfingomielina y ceramidas	EGFRvIII
Oncosomas grandes	1-10 µm	1.10-1.15 g/ml	10,000 x g	Forma irregular	Fosfatidil serina expuesta, enriquecida en colesterol, esfingomielina y ceramidas	HDSP1, HSPA9, H2AFX, SLC25A6, CK18, Cav-1

Los mecanismos involucrados en la formación de las vesículas extracelulares son diversos también. Por ejemplo, los exosomas y las microvesículas se forman de manera dramáticamente distintas, ya que mientras los exosomas maduran a partir de sistemas membranales llamados cuerpos multivesiculares (Figura 1A), las microvesículas se forman mediante evaginaciones de la membrana plasmática (Figura 1A). En el otro extremo, los cuerpos apoptóticos se forman en el proceso de destrucción de células apoptóticas (Figura 1B), y se diferencian de las vesículas extracelulares provenientes de células normales en su contenido, ya que los primeros pueden contener organelos mientras que las segundas no [6].

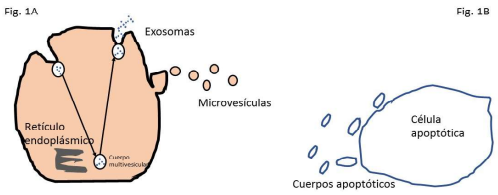

Figura 1. Algunos tipos de vesículas extracelulares y su procedencia. A) Los exosomas (representados por los pequeños círculos azules) se forman y maduran dentro de la célula en sistemas membranosos, mientras que las microvesículas se forman como evaginaciones de la membrana plasmática. B) Los cuerpos apoptóticos son más grandes y se forman durante la destrucción de células que entran en el proceso de apoptósis

Las vesículas extracelulares cumplen múltiples funciones como acarreadores de información de célula a célula. Acarrean macromoléculas como proteínas, DNA y RNA; especialmente un tipo de RNA llamado microRNA (miRNA) que es responsable de inhibir la expresión de proteínas (Figura 2). El miRNA se acopla al RNA mensajero (mRNA) de manera específica y evita su unión con los ribosomas. El destino celular de las vesículas depende de las proteínas que tengan en sus membranas. Así mismo, la carga vesicular es muy variada y específica para cada destino celular. Constantemente se descubren nuevas moléculas en las microvesículas, tanto de células normales como provenientes de células cancerosas, por lo que para tener una noción actualizada del contenido vesicular se han creado dos bases de datos de libre acceso: Vesiclepedia y Evpedia[7].

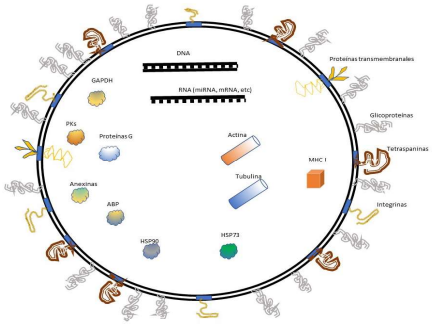

Figura 2. Vesícula extracelular. Se representan algunas de las moléculas descritas en las vesículas extracelulares. Se sugiere que las proteínas en las membranas de estas vesículas, como las tetraspaninas y las integrinas pudieran ser las encargadas de definir su destino celular. Además, las vesículas incluyen moléculas transmembranales, glicoproteínas, así como moléculas citosólicas encargadas del transporte molecular y chaperonas. Así mismo, se transportan ácidos nucleicos como DNA y RNAs.

Las vesículas extracelulares provenientes de células normales cumplen diversas funciones fisiológicas, como por ejemplo, estimular la maduración de los espermatozoides al acarrear factores de las células del epidídimo [6]. La presencia de vesículas en el tracto genital femenino facilita al espermatozoide su encuentro con el ovocito [8]. Otra función que cumplen las vesículas extracelulares provenientes de células normales es la de acarrear miR-143, un miRNA, que inhibe el crecimiento de células tumorales [9] (Figura 3A). Condiciones como el tabaquismo pueden inhibir la secreción de vesículas con miR-143, por lo que el tumor puede crecer.

En modelos animales se han utilizado vesículas extracelulares provenientes de células madre, para reparar condiciones experimentales de daño en órganos y tejidos. Se han observado mejorías en

ataques cardiacos [10-12], quemaduras [13,14], daño al riñon[15], daño al hígado [16-18], daño al pulmón [19-21], etc. Esto abre las puertas a la posibilidad de que en el futuro se implementen terapias con medios de células madre ricos en vesículas extracelulares y libres de células [22].

La otra cara que hemos comenzado a reconocer de las vesículas extracelulares es su papel en favorecer el cáncer. Existen evidencias de que las vesículas extracelulares provenientes de células cancerosas contienen factores de crecimiento que utilizan tanto para su autoconsumo (ruta autócrina) como para comunicarse con otras células (ruta parácrina) (Tabla1) para su desarrollo y crecimiento [23] (Figura 3A). Las células tumorales secretan vesículas para reclutar otras estirpes celulares que favorecen su desarrollo, su escape del tumor primario y la inhibición a la respuesta inmunológica [24]. Para lograr esto, las vesículas extracelulares provenientes de células cancerígenas modifican a las células endoteliales (CE) circundantes y promueven el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) para alimentar al tumor en crecimiento [25]. Las vesículas extracelulares de células cancerígenas también modifican la conducta de fibroblastos convirtiéndolos en fibroblastos asociados a células tumorales [26]. Los fibroblastos les ayudan a degradar la matriz extracelular (MEC) para entrar a la corriente sanguínea o a los vasos linfáticos, en camino a invadir otros órganos blanco (metástasis) [27]. Estas vesículas extracelulares también son capaces de regular la respuesta inmune ya que reclutan células inmunológicas que secretan inhibidores de la respuesta inmune, ocultándolas de células que pueden eliminarlas, como las células NK (Natural Killers, por sus siglas en inglés) (Figura 3B) [23]. Así mismo, las vesículas extracelulares provenientes de células cancerígenas pueden modificar el microambiente donde iniciarán una metástasis. Esto lo hacen a través de la modificación epigenética de células del nuevo ambiente, mediante proteínas y miRNAs [28].

Las células tumorales son capaces de penetrar en la médula ósea (MO) (Figura 3C), donde podrán tomar al menos dos caminos. Por una parte, mediante vesículas extracelulares modificarán a células madre que se trasladarán a los sitios de metástasis para ayudar a las células tumorales a invadir [29]. Otro camino que pueden tomar las células tumorales es aprovechar a las vesículas extracelulares provenientes de células madre, para adquirir un fenotipo durmiente o de latencia; es decir, entrarán en una fase G0 donde ya no se dividirán y permanecerán por años o incluso décadas, en pequeños cúmulos o microtumores dentro de la médula ósea [30]. Estas células eventualmente podrán reactivarse y volver a ser metastásicas. Por su estado de latencia serán difíciles de eliminar con los tratamientos anticancerígenos sistémicos [31].

Para migrar fuera del tumor primario, las células tumorales adquieren un fenotipo que les confiere movilidad, mediante un proceso llamado transición epitelio-mesenquima (EMT, por sus siglas en inglés), que les facilitará invadir otros órganos y tejidos [32]. En este estado, las células tumorales comienzan a secretar un nuevo tipo de microvesículas de gran tamaño (0.5-10 µm) llamadas oncosomas y oncosomas grandes (Figura 3D y Tabla 2) [33, 34]. Este tipo de vesículas son indicativas de estadíos avanzados de cáncer y se propone que contribuyen a modificar el microambiente del sitio de metástasis [24].

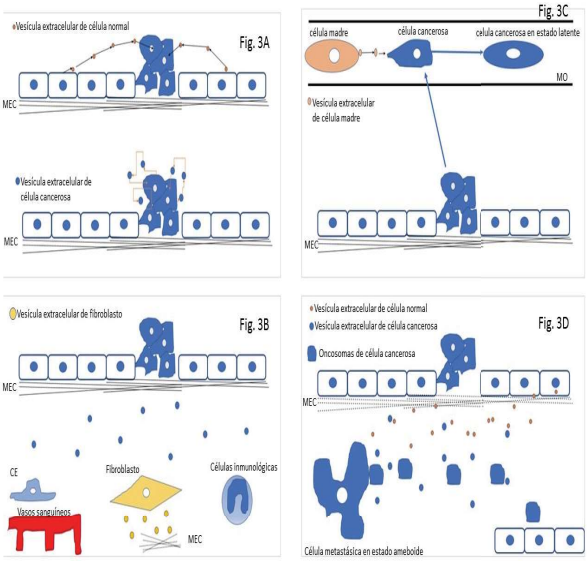

Figura 3. Formas en las que las microvesículas extracelulares influyen en el desarrollo tumoral: A) Las vesículas extracelulares (círculos anaranjados) provenientes de células normales (blancas con núcleo azul) pueden regular a las células del tumor (azules con núcleo blanco) por vías parácrinas. Las células tumorales a su vez responden a sus propias vesículas extracelulares (círculos azules) (señales autócrinas). B) Las vesículas extracelulares del tumor (circulos azules) pueden incidir sobre células endoteliales (CE) provocando angiogénesis, al actuar sobre los fibroblastos provocando la degradación de la matriz extracelular y al actuar sobre las células del sistema inmune modulando su respuesta. C) Las células cancerosas son capaces de entrar a la médula ósea (MO) y adquirir un fenotipo latente, al absorber las vesículas extracelulares de células madre (CM) presentes en la médula ósea. D) Las células tumorales capaces de invadir han pasado por la transición epitelio-mesenquima (EMT) y liberan un nuevo tipo de vesículas extracelulares llamadas oncosomas y oncosomas grandes (círculos azules grandes) que se mezclan con otras vesículas provenientes del tumor (círculos azules pequeños) o de células normales (círculos anaranjados). Esta mezcla de vesículas puede afectar células de otros tejidos y contribuir a formar el nicho premetastásico.

Las vesículas extracelulares pueden encontrarse en todos los fluidos del cuerpo, incluyendo sangre, linfa, semen, lágrimas, saliva, orina, líquido cefalorraquídeo [6]. Estos fluidos contienen una mezcla heterogénea de vesículas extracelulares de diversos orígenes que hasta el día de hoy ha sido difícil separar y clasificar [35, 36]. Las vesículas extracelulares derivadas de células cancerosas tienden a presentar moléculas sobreexpresadas en los tumores y su contenido ayuda a la metástasis. Por ello, son una fuente interesante de biomarcadores para diagnóstico y seguimiento. Además existen al menos tres formas de usar estos procesos en el tratamiento contra el cáncer: 1) mediante la inhibición de la producción de vesículas extracelulares derivadas de células cancerosas, 2) evitando que las vesículas extracelulares derivadas de células cancerosas sean tomadas por otras células y 3) eliminando a las vesículas extracelulares derivadas de células cancerosas que se encuentran en circulación. Esto podría reducir la angiogénesis tumoral, conducir a un fallo en la formación del nicho metastásico y aumentar la respuesta inmunológica contra el tumor.

En la actualidad, se esta analizando el papel clave que tienen las vesículas extracelulares en la homeostasis celular y orgánica, así como el papel de las vesículas extracelulares derivadas de células tumorales en el desarrollo del cáncer. Mientras más se conozca sobre los mecanismos implicados en la producción de las vesículas, su destino celular y las formas de modificarlas, se podrá avanzar en el tratamiento eficiente de diversas enfermedades incluyendo, por supuesto, el cáncer.

Bibliografía

[1] Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. J Neurooncol 2013;113:1-11.

[2] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. Annu Rev Cell Dev Biol 2014;30:255-89.

[3] Dreyer F, Baur A. Biogenesis and Functions of Exosomes and Extracellular Vesicles. Methods Mol Biol 2016;1448:201-16.

[4] Kalra H, Drummen GP, Mathivanan S. Focus on Extracellular Vesicles: Introducing the Next Small Big Thing. Int J Mol Sci 2016;17:170.

[5] Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. Immunol Lett 2006;107:102-8.

[6] Yanez-Mo M, Siljander PR, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. J Extracell Vesicles 2015;4:27066.

[7] Kim DK, Lee J, Kim SR, et al. EVpedia: a community web portal for extracellular vesicles research. Bioinformatics 2015;31:933-9.

[8] Girouard J, Frenette G, Sullivan R. Comparative proteome and lipid profiles of bovine epididymosomes collected in the intraluminal compartment of the caput and cauda epididymidis. Int J Androl 2011;34:e475-86.

[9] Clape C, Fritz V, Henriquet C, et al. miR-143 interferes with ERK5 signaling, and abrogates prostate cancer progression in mice. PLoS One 2009;4:e7542.

[10] Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury. Stem Cell Res 2013;10:301-12.

[11] Bian S, Zhang L, Duan L, Wang X, Min Y, Yu H. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model. J Mol Med (Berl) 2014;92:387-97.

[12] Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. Stem Cell Res 2010;4:214-22.

[13] Zhang B, Shi Y, Gong A, et al. HucMSC Exosome-Delivered 14-3-3zeta Orchestrates Self-Control of the Wnt Response via Modulation of YAP During Cutaneous Regeneration. Stem Cells 2016;34:2485-500.

[14] Zhang B, Wang M, Gong A, et al. HucMSC-Exosome Mediated-Wnt4 Signaling Is Required for Cutaneous Wound Healing. Stem Cells 2015;33:2158-68.

[15] Gatti S, Bruno S, Deregibus MC, et al. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. Nephrol Dial Transplant 2011;26:1474-83.

[16] Kanazawa H, Fujimoto Y, Teratani T, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate hepatic ischemia reperfusion injury in a rat model. PLoS One 2011;6:e19195.

[17] Li T, Yan Y, Wang B, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. Stem Cells Dev 2013;22:845-54.

[18] Tan CY, Lai RC, Wong W, Dan YY, Lim SK, Ho HK. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. Stem Cell Res Ther 2014;5:76.
[19] Lee C, Mitsialis SA, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension. Circulation 2012;126:2601-11.
[20] Lee JW, Fang X, Gupta N, Serikov V, Matthay MA. Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of E. coli endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung. Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106:16357-62.
[21] Zhu YG, Feng XM, Abbott J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of Escherichia coli endotoxin-induced acute lung injury in mice. Stem Cells 2014;32:116-25.
[22] Kislinger T. Analysis of extracellular vesicles: new avenues for signaling biology and biomarker discovery. Proteomics 2013;13:1551-3.
[23] Zhang HG, Grizzle WE. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions. Am J Pathol 2014;184:28-41.
[24] Minciacchi VR, Freeman MR, Di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. Semin Cell Dev Biol 2015;40:41-51.
[25] Hong BS, Cho JH, Kim H, et al. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. BMC Genomics 2009;10:556.
[26] Kreger BT, Dougherty AL, Greene KS, Cerione RA, Antonyak MA. Microvesicle Cargo and Function Changes upon Induction of Cellular Transformation. J Biol Chem 2016;291:19774-85.
[27] Santi A, Caselli A, Ranaldi F, et al. Cancer associated fibroblasts transfer lipids and proteins to cancer cells through cargo vesicles supporting tumor growth. Biochim Biophys Acta 2015;1853:3211-23.
[28] Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Hagiwara K, Takeshita F, Ochiya T. Competitive interactions of cancer cells and normal cells via secretory microRNAs. J Biol Chem 2012;287:1397-405.
[29] Ohyashiki JH, Umezu T, Ohyashiki K. Exosomes promote bone marrow angiogenesis in hematologic neoplasia: the role of hypoxia. Curr Opin Hematol 2016;23:268-73.
[30] Ono M, Kosaka N, Tominaga N, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. Sci Signal 2014;7:ra63.
[31] Shiozawa Y, Berry JE, Eber MR, et al. The marrow niche controls the cancer stem cell phenotype of disseminated prostate cancer. Oncotarget 2016;7:41217-32.
[32] Gopal SK, Greening DW, Rai A, et al. Extracellular vesicles: their role in cancer biology and epithelial-mesenchymal transition. Biochem J 2017;474:21-45.
[33] Di Vizio D, Morello M, Dudley AC, et al. Large oncosomes in human prostate cancer tissues and in the circulation of mice with metastatic disease. Am J Pathol 2012;181:1573-84.
[34] Minciacchi VR, You S, Spinelli C, et al. Large oncosomes contain distinct protein cargo and represent a separate functional class of tumor-derived extracellular vesicles. Oncotarget 2015;6:11327-41.
[35] Whiteside TL. Extracellular vesicles isolation and their biomarker potential: are we ready for testing? Ann Transl Med 2017;5:54.
[36] Nakai W, Yoshida T, Diez D, et al. A novel affinity-based method for the isolation of highly purified extracellular vesicles. Sci Rep 2016;6:33935.