

Bases moleculares del melanoma uveal

Molecular bases of uveal melanoma

E. Cabré Estivill, À. Fabra Fres

Resumen

El 40% de los pacientes con melanoma uveal (UM) desarrollan metástasis hepáticas, que son refractarias a las terapias convencionales y causan la muerte del paciente. Por este motivo, es importante identificar a los pacientes con alto riesgo de recurrencia o metástasis y aplicar las terapias más adecuadas. Las alteraciones genéticas secundarias a la activación de las proteínas $G_{\alpha_{q/11}}$ permiten estratificar a los melanomas uveales en cuatro subtipos distintos que se correlacionan con el riesgo de sufrir metástasis. Los casos de peor pronóstico son los asociados a la monosomía del cromosoma 3 (M3), la pérdida del gen supresor de tumores *BAP-1* y la sobreexpresión de receptores de tirosina quinasa (RTK). Los pacientes cuyos tumores mantienen la disomía del cromosoma 3 (D3-UM) tienen mejor pronóstico, y únicamente los que presentan mutaciones en *SF3B1* y sobreexpresan *PRAME* podrían desarrollar metástasis hepáticas a largo plazo.

El organotropismo metastásico de las células del melanoma uveal por el hígado está mediado por exosomas liberados desde el tumor primario, los cuales son captados por los ligandos de los RTK del hígado y preparan el nicho pre-metastásico, antes de la llegada de las células tumorales con fenotipo *stem-cell like*, que desarrollarán la metástasis.

Resum

El 40% dels pacients amb melanoma uveal (UM) desenvolupen metàstasis hepàtiques que són refractàries a les teràpies convencionals i causen la mort del pacient. Per això és important identificar als pacients amb alt risc de recurrència o metàstasis i aplicar-hi les teràpies més idònies. Les alteracions genètiques secundàries a la activació de les proteïnes $G_{\alpha_{q/11}}$ permeten estratificar els UM en quatre grups diferents que es correlacionen amb el risc de metàstasis. Els de pitjor pronòstic són els associats a la monosomia del cromosoma 3 (M3), la pèrdua del gen supressor de tumors *BAP-1* i la sobreexpressió de receptors de tirosina quinases (RTK). Els pacients amb tumors que mantenen la disomia en el cromosoma 3 (D3-UM) tenen un millor pronòstic i tan sols els que presenten mutacions a *SF3B1* i sobreexpressen *PRAME* poden arribar a desenvolupar metàstasis hepàtiques a llarg termini. Aquest organotropisme metastàtic de les cèl·lules de UM pel fetge està dirigit pels exosomes alliberats pel tumor primari que són captats pels lligands dels RTK del fetge i preparen el nínxol pre-metastàtic abans de l'arribada de les cèl·lules tumorals amb fenotip *stem-cell like* que desenvoluparan la metàstasis.

Abstract

40% of uveal melanoma (UM) patients develop liver metastasis that are refractory to conventional therapies and lead to patient's death. For this reason, it is important to identify patients with high risk of tumor relapse or metastasis and apply them the most effective therapies. Some genetic alterations occurring after the activation of the $G_{\alpha_{q/11}}$ proteins allow us to stratify UMs in four different subtypes that correlate with the metastatic risk. Tumors associated with the worst prognosis are those presenting monosomy of chromosome 3 (M3), loss of the tumor suppressor gene *BAP-1* and overexpression of tyrosine kinase receptors (RTK). However, patients whose tumors maintain chromosome 3 disomy (D3-UM) have a better prognosis and only those with mutations in *SF3B1* and overexpressing *PRAME* may develop long-term liver metastases.

Metastatic organotropism of UM cells to the liver is mediated by exosomes released from the primary tumor which are taken up by liver RTKs ligands and prepare the pre-metastatic niche before the arrival of Stem-cell like tumor cells that finally develop metastasis.

4.1. Bases moleculares del melanoma uveal

Molecular bases of uveal melanoma

E. Cabré Estivill, À. Fabra Fres

ONCOBELL-IDIBELL. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Correspondencia:

Eduard Cabré Estivill

E-mail: ecabre@idibell.cat

Melanoma uveal y metástasis

El melanoma uveal (UM) es un tumor maligno derivado de los melanocitos del tracto uveal, cuyo origen embrionario es la cresta neural. La incidencia del melanoma uveal se estima en un 0,6 por cada 100.000 individuos, pero constituye un 80% de todos los tumores oculares en adultos¹. Se trata de una enfermedad con un alto potencial metastásico, ya que por lo menos el 40% de los pacientes desarrollan metástasis hepáticas que conllevan su muerte, situación que no ha cambiado en los últimos años. Además, estas metástasis son resistentes a los tratamientos disponibles, como es el caso de la quimioterapia^{2,3}.

Los estudios recientes que integran la patobiología de estos tumores con las alteraciones genéticas y cromosómicas, los perfiles de expresión génica o las vías de señalización activas y la clínica de los pacientes, permiten la estratificación de los melanomas uveales en grupos con distinto riesgo de desarrollar metástasis, lo cual permite establecer un pronóstico individualizado para cada paciente, con el fin de aplicar terapias adecuadas ante el riesgo de metástasis.

Alteraciones moleculares asociadas al riesgo de metástasis

El melanoma uveal es el resultado de una proliferación clonal y descontrolada de los melanocitos que residen en el tracto uveal,

en su mayoría los de coroides, y en menor proporción, los del iris o del cuerpo ciliar (Figura 1), que después de sufrir una transformación oncogénica adquieren la capacidad de invadir los tejidos circundantes e incluso se diseminan a distancia^{4,6}.

En el melanoma uveal la frecuencia de mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores, la densidad media de mutaciones somáticas (1,1 por Mb), el grado de aneuploidia o la inestabilidad genómica son muy inferiores en comparación con otros tumores^{7,8}. Las alteraciones genéticas y cromosómicas de

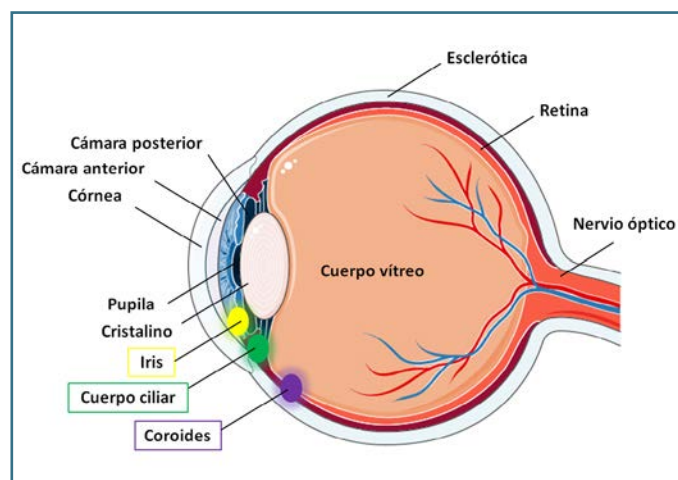


Figura 1. Tipos de melanoma uveal. Corte transversal donde se observa la anatomía ocular con tres posibles focos de crecimiento del tumor uveal. El iris aparece en color amarillo; el cuerpo ciliar, en verde; y la coroides, en morado.

dichos melanomas son singulares con respecto a otros tumores y se han identificado tanto aquellas que juegan un papel relevante en estadios tempranos de la transformación oncogénica como las que tienen lugar durante la progresión hacia la adquisición de capacidades metastásicas^{5,6}. Los pronósticos establecidos basados en la patobiología de los melanomas uveales⁹ han sido superados por los estudios de Robertson *et al.*¹⁰, que nos permiten su estratificación en cuatro subtipos con distinto riesgo metastásico, según el conjunto de alteraciones moleculares que presenten.

En el proceso de transformación de los melanocitos uveales, las mutaciones en los receptores transmembrana ligados a proteínas G (GPCR, *G protein-coupled receptors*), como GNAQ, GNA¹¹ o CYSLTR2 (*Cysteinyl Leukotriene Receptor 2*) y PLCB4 (fosfolipasa C-beta-4), son eventos tempranos y están consideradas como *driver mutations* de la tumorigénesis.

Las mutaciones más frecuentes ocurren en los genes GNAQ y GNA¹¹, que codifican las subunidades G α de las proteínas G. Éstas están presentes en las lesiones premalignas, como los nevus coroideos, y en el 83-92% de los melanomas uveales primarios y las metástasis^{11,12}. Ambas mutaciones son mutuamente excluyentes y consisten en la sustitución del aminoácido Gln209 o, con menor frecuencia, del Arg183, que son imprescindibles para la GTPasa, la cual en condiciones normales se encarga de inactivar la subunidad G α .

Como resultado, hay una activación constitutiva de las subunidades G $\alpha_{q/11}$ con propiedades pro oncogénicas, aunque insuficientes para la adquisición de la capacidad metastásica, ya que para ello son necesarias determinadas mutaciones en otros genes y algunas aberraciones cromosómicas⁷. Estas mutaciones ocurren en los genes *SF3B1*, *EIF1AX*, *BAP1*, *SRFF2* y *MAPKAPK5* y son también mutuamente excluyentes.

Por otra parte, las aberraciones cromosómicas recurrentes en estos tumores son las pérdidas de los cromosomas 3, 1p, 6q, 8p y 16q y la amplificación de los brazos cromosómicos 6p y 8q, que contribuyen con mayor o menor grado a su progresión^{6,10,13}. Así, se han podido estratificar las alteraciones genéticas de los tumores basadas en el riesgo de desarrollar metástasis¹⁰ (Figura 2).

Melanomas uveales con monosomía del cromosoma 3 (clase 2)

La pérdida de una copia del cromosoma 3 ocurre en aproximadamente la mitad de los melanomas uveales, y es el factor de mal

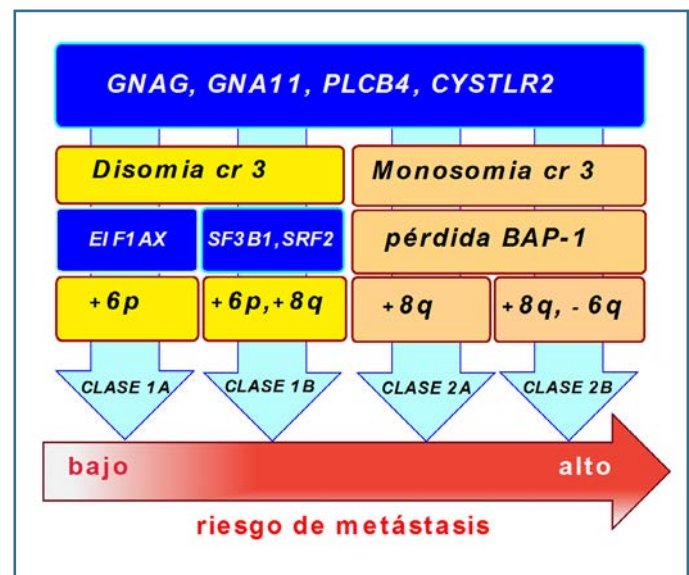


Figura 2. Adaptado de Robertson *et al. Cancer Cell*, 2017; Park *et al. Pigment Cell Melanoma Res.* 2018. Adquisición de alteraciones genéticas tempranas y tardías para la progresión del melanoma uveal. La adquisición secuencial de los cambios genéticos resulta en diferentes perfiles génicos (flechas verticales) que corresponden a un distinto riesgo de desarrollar metástasis del melanoma uveal (flecha horizontal).

pronóstico por excelencia entre ellos (clase 2A). La monosomía 3 y la adquisición de mutaciones en el gen supresor de tumores *BAP-1* (*BRCA1 associated protein-1*), que precisamente se encuentra en la región 3p21.1, cumple los requisitos del modelo *two-hit* (inactivación de uno de los dos alelos seguido de una mutación en el otro) establecido para genes recesivos. Esta concurrencia de ambas alteraciones tiene lugar casi de forma exclusiva en los tumores metastásicos⁷.

El *BAP-1* codifica una ubiquitina hidrolasa nuclear con múltiples sustratos nucleares y citoplasmáticos (como *BRCA1-associated RING domain protein-1* (*BARD1*), *histone H2A* y factores de transcripción como Yin-Yang1 e IP3R3), implicados en la reparación del DNA, la transcripción, la estructura de la cromatina, la diferenciación y la muerte celular.

Precisamente como consecuencia de su papel en la reparación del DNA, la pérdida de expresión y función del *BAP-1* favorece la adquisición de nuevas aberraciones citogenéticas, como las ganancias de 8q23-24→qter (presentes en el 40% de los tumores) o la formación de un isocromosoma 8.

Asimismo, se asocia con amplificaciones de los oncogenes *MYC* y *ASAP1* (este último codifica un factor de activación de la GTPasa),

que se encuentran en la región 8q24⁷. En conjunto, los melanomas uveales con monosomía del cromosoma 3 con alteraciones en *BAP-1* y ganancias de 8q muestran un patrón específico de metilación que se asocian estrechamente al desarrollo de metástasis y confieren, por tanto, el peor de los pronósticos para los pacientes (clase 2B)¹⁰.

Melanomas uveales con disomía del cromosoma 3 (clase 1)

Los pacientes cuyos tumores primarios de melanoma uveal no presentan pérdida del cromosoma 3 tienen una menor probabilidad de desarrollar metástasis en comparación con los anteriores. Son frecuentes las ganancias en la región 6pter-6p21, que contiene el gen relacionado con los canales de sodio CNKSR3 (en inglés, *membrane-associated guanylate kinase-interacting protein-like 1*), lo cual se correlaciona con una evolución clínica favorable libre de la enfermedad metastásica.

Estos tumores se denominan de *clase 1* y a su vez incluyen dos subgrupos con distintos perfiles de metilación, pero que comparten las mutaciones en *GNAQ/GNA11* y la ausencia de alteraciones en *BAP-1*¹⁰.

Melanomas uveales con mutaciones en EIF1AX (clase 1A)

Los tumores que presentan mutaciones en los exones 1 y 2 del gen *EIF1AX* (en inglés, *eucaryotic intitiation factor 1A*) representan un 18% de los melanomas uveales. El *EIF1AX*, ligado al cromosoma X, está involucrado en la iniciación de la traducción de las proteínas y, como consecuencia de estas mutaciones, pueden aparecer cambios en la regulación de la traducción proteica y en determinados ARN mensajeros (mRNA)¹⁴. En los melanomas uveales, las mutaciones en *EIF1AX* nunca concurren con pérdidas del cromosoma 3 y ganancias en el 8q. Los pacientes de este subgrupo tienen una buena supervivencia, libre de enfermedad metastásica¹⁰.

Melanomas uveales con mutaciones en SF3B1 (clase 1B)

Los tumores de este subgrupo tienen mutaciones en genes de *splicing*, encargados del procesamiento de los mRNA, precursor-

res a transcritos maduros, como son el *SF3B1* y *SRSF2* (en inglés, *splicing factor 3b subunit 1* y *serine arginine-rich splicing factor 2*, respectivamente).

Estas mutaciones son mutuamente excluyentes con respecto a las del gen *EIF1AX*. A diferencia de los tumores de clase 1A, algunos de los pacientes con mutaciones en *SF3B1* pueden desarrollar metástasis tardías con respecto a la detección del tumor y por una vía alternativa a la que lo hacen los de clase 2, con alteraciones en *BAP-1*. Las mutaciones en *SF3B1* se detectan en el 15% de los melanomas uveales. Se trata de mutaciones sin sentido que afectan a los residuos K666/R625 y provocan la inclusión o exclusión de exones alternativos o la retención de intrones de genes codificantes como *ABCG5* (implicado en la resistencia a fármacos), la metaloproteinas *ADAM12*, el factor VIII de la coagulación o el *GAS8* (en inglés, *growth arrest-specific 8*)^{10,15}.

Melanomas uveales con sobreexpresión de PRAME

El PRAME (en inglés, *preferentially expressed antigen in melanoma*) fue descubierto en principio como antígeno tumoral asociado a la progresión del melanoma cutáneo. Entre los melanomas uveales de clase 1, la sobreexpresión de PRAME es un factor pronóstico independiente de metástasis¹⁶. Este antígeno no se expresa en la mayoría de las células y tejidos, a excepción de los testes. Sin embargo, se expresa en distintos tipos de tumores a consecuencia de la hipometilación de las regiones de su promotor, y su expresión en el melanoma uveal se asocia de manera directa a las mutaciones en *SF3B1* e inversamente con las de *EIF1AX*.

La mayoría de melanomas de clase 2 también sobreexpresan PRAME, lo cual se correlaciona con el diámetro del tumor, y predice el desarrollo de metástasis a corto término y la mortalidad por esa causa¹⁷. Los trabajos recientes de Field *et al*^{16,17}, indican que la expresión de PRAME induce una vía de progresión alternativa para la adquisición de la capacidad metastásica en los tumores de clase 1, gracias a su interacción directa o indirecta con los promotores de los genes implicados en la inestabilidad cromosómica (a través de los elementos NFY o el receptor del ácido retinoico). De este modo, PRAME induciría un mecanismo *feed-forward* (de refuerzo mutuo) con un incremento progresivo de su expresión y de ganancias cromosómicas, lo cual favorece la progresión metastásica.

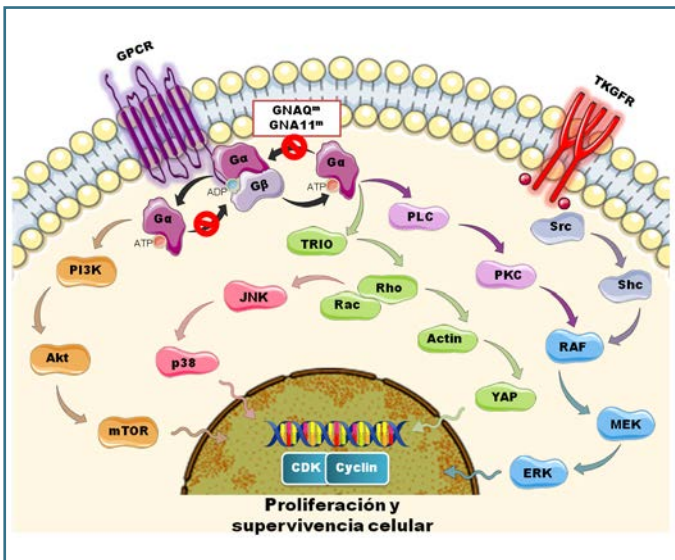


Figura 3. Vías de señalización en el melanoma uveal. Las mutaciones en las proteínas G alfa GNAQ y GNA11 resultan en un envío constante de señales proliferativas y de supervivencia celular en el melanoma uveal mediante las vías de MAPK (en azul), YAP (en verde), JNK (en rojo) y PI3K (en naranja).

Vías de señalización alteradas en el melanoma uveal

La primera de las vías de señalización que se activa en el melanoma uveal es precisamente consecuencia de las alteraciones genéticas primarias en el melanocito uveal (Figura 3). Es la que transfiere las señales desde las GPCR activadas ($G_{\alpha_{q/11}}$) a sus efectores, la fosfolipasa C- β (PLC β), la proteína quinasa C (PKC), ARF6 y la β -catenina. Estos, a su vez, activan a otras vías de señalización, como las MAPK (en inglés, *mitogen-activated protein quinase*) y Rho GTPasa¹⁸.

La activación de las MAPK subsidiarias a las mutaciones $G_{\alpha_{q/11}}$ es transitoria y rápida, como lo es la activación de PLC en los eventos iniciales. Pero la activación sostenida de las MAPK es consecuencia de alteraciones secundarias, como la mososomía del cromosoma 3 y la pérdida de función de BAP-1, que median su activación a través de PKC¹⁰. De hecho, las MAPK están activadas en un 45-86% de los melanomas uveales, por lo que los niveles de las proteínas ERK1/2 fosforiladas son elevados en los tumores de clase 2.

Las proteínas $G_{\alpha_{q/11}}$ mutadas inducen también la activación de las Rho GTPasas, RhoA y Rac1, lo cual implica cambios en la expresión génica, la remodelación del citoesqueleto de actina y la proliferación celular. Dicha activación es consecuencia de la unión

de $G_{\alpha_{q/11}}$ a diferentes miembros de la familia RhoGEF, incluyendo a TRIO (en inglés, *Trio Rho guanine nucleotide exchange factor*). La posterior activación y translocación al núcleo de coactivadores transcripcionales de TRIO, como TAZ (en inglés, *PDZ-binding motif*) y YAP (en inglés, *Yes-associated protein*), induce la transcripción de factores de transcripción que intervienen en la señalización por TGF- β ¹⁹. La misma vía de señalización mediada por TRIO induce por otra parte la activación de JNK y p38 que a su vez activan los factores de transcripción c-Jun y c-Fos, para que se unan a las regiones promotoras de diversos genes implicados en la proliferación celular.

Los receptores de tirosina quinasa están sobreexpresados en los melanomas uveales metastásicos: c-KIT, en el 63-75% de los tumores; c-MET, en el 90-98%; IGF-1R, en el 90%; y VEGF, solo en el 32% de los primarios²⁰. Estos contribuyen directamente a la proliferación, supervivencia, migración e invasión de las células de melanoma uveal, a la vez que su activación autocrina provoca la activación de diversas cascadas de señalización celular como MAPK y PI3K/AKT¹⁸. La vía de PI3K/AKT, implicada principalmente en la supervivencia celular, está activada en por lo menos el 50% de los melanomas uveales y, con frecuencia, coincide con la hiperactivación de las MAPK. La cascada de PI3K/AKT no se estimula por la activación de $G_{\alpha_{q/11}}$, sino por la sobreexpresión de los receptores de tirosina quinasa y por la pérdida de función de PTEN (en inglés, *phosphatase and tensin homolog protein*), debido a la sobreexpresión de microRNAs como miR-367 y miR-454. De esta manera, la pérdida de PTEN favorece la acumulación de PIP3 y, en consecuencia, la activación de AKT/mTOR²¹.

La inhibición de las mencionadas vías de señalización, que incluyen también las de Rb, p53 y la ciclina D1 activas también en los melanomas uveales⁵, abre nuevas perspectivas y oportunidades terapéuticas para los pacientes que sufren dicha enfermedad^{21,22}.

Expresión génica asociada al riesgo de metástasis

En los últimos años, diversos estudios de expresión génica (*GEP, gene expression profiling*) en melanomas uveales y líneas celulares permitieron identificar dos perfiles bien definidos y más robustos en cuanto al pronóstico que la detección de monosomía 3:

- Los tumores GEP-clase 1, con bajo riesgo de metástasis, que expresan los genes específicos de diferenciación melanocítica (MITF, TYR, DCT y TRPM1).

- Los tumores GEP-clase 2, de mal pronóstico, con baja expresión de los genes melanocíticos y cuyo transcrito recuerda al de las células primitivas de la cresta neural con un fenotipo desdiferenciado^{23,24}.

Adicionalmente, un estudio integrativo del TCGA dataset¹⁰ atribuye un perfil transcripcional específico a cada uno de los cuatro subtipos de melanomas uveales establecidos según las alteraciones genéticas, cromosómicas y los patrones de metilación.

Los microRNAs han emergido como importantes reguladores negativos de la expresión génica y, en el melanoma uveal, su expresión diferencial se asocia al pronóstico y riesgo metastásico^{25,26}. En este sentido, los UM de la clase 2A sobreexpresan miR-199a-3p/5p y miR-199b-3p y let-7b, cuyas dianas son genes relevantes en la progresión de dicho melanoma; mientras que la sobreexpresión de miR-142, -150, -21, -29b, -146b y -155 propios de la clase 2B se asocian incluso a un mayor riesgo de metástasis¹⁰. Del mismo modo, la expresión reducida de miR-34b, miR-34c y miR-199a, entre cuyas dianas se encuentra el c-MET, favorece el desarrollo de las metástasis hepáticas²⁷.

Mecanismos moleculares y celulares de la diseminación metastásica en el hígado

La diseminación preferencial del melanoma uveal en el hígado ocurre por vía hematológica, a causa de la ausencia de vasos linfáticos en el ojo. Como se indica en la Figura 4, el proceso metastásico pasa por una serie de etapas que incluyen el crecimiento del tumor, la invasión local del estroma y los capilares, y la entrada de melanocitos tumorales en el torrente sanguíneo²⁸.

Sin embargo, no todas las células tumorales son capaces de sobrevivir libres de anclaje y combatir la respuesta inmune, por lo que muchas de ellas son destruidas en este proceso. Tan solo algunas células sobreviven y consiguen extravasarse y colonizar e invadir un órgano distante, en este caso, el hígado. Una vez allí, si las interacciones con el microentorno son favorables, se desarrollará una metástasis. La sobreexpresión de receptores de tirosina quinasas en los melanocitos tumorales (como son c-KIT, c-MET, IGF-1R, VEGF) y de citocinas (como CXCR4) favorecen la migración y el crecimiento de estas células en el hígado, ya que este produce algunos de sus ligandos (HGF, IGF1 y CXCL12, respectivamente)²⁰.

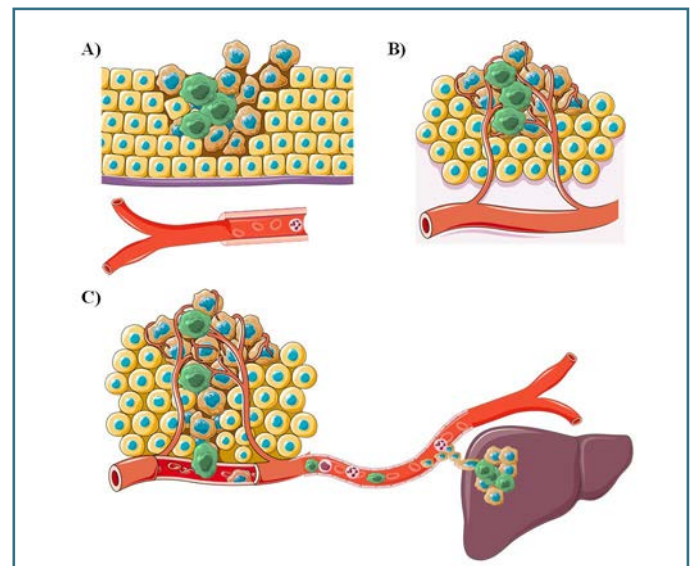


Figura 4. Modelo de diseminación por vía hematológica en el melanoma uveal. **(A)** La presencia de células madre tumorales (en verde) en el tumor primario de úvea le permite mantener un crecimiento celular prolongado. **(B)** Mediante el envío de señales del tumor a su entorno, se induce una vascularización del tumor en la úvea, que permite la invasión tisular. **(C)** Finalmente, algunas células tumorales entran en el torrente sanguíneo, hasta alcanzar el órgano secundario (el hígado) y metastatizan. Para el crecimiento de este nuevo tumor en el hígado, es indispensable la llegada de algunas células madre tumorales a este nuevo órgano.

Células madre tumorales

Como ocurre en otros tumores, en el melanoma uveal se han detectado subpoblaciones celulares con características de células madre (CSC, en inglés, *cancer stem cells*), pluripotentes, con divisiones celulares asimétricas y capaces de renovarse ellas mismas, por lo que son esenciales para iniciar la formación de tumores y metástasis^{29,30}.

Las células madre contribuyen a mantener la heterogeneidad tumoral, son resistentes a las terapias y se cree que son las responsables de la recurrencia³¹. Además, las CSC tienen la capacidad de sobrevivir en circulación. Así pues, a pesar de la falta de experimentos concluyentes que demuestren que son exclusivamente las causantes de las metástasis, las terapias dirigidas contra estas células son, sin duda, una interesante opción terapéutica³¹.

El papel de los exosomas en el organotropismo al hígado

La prevalencia del melanoma uveal para desarrollar metástasis en el hígado sobre los otros órganos no puede ser explicada por la

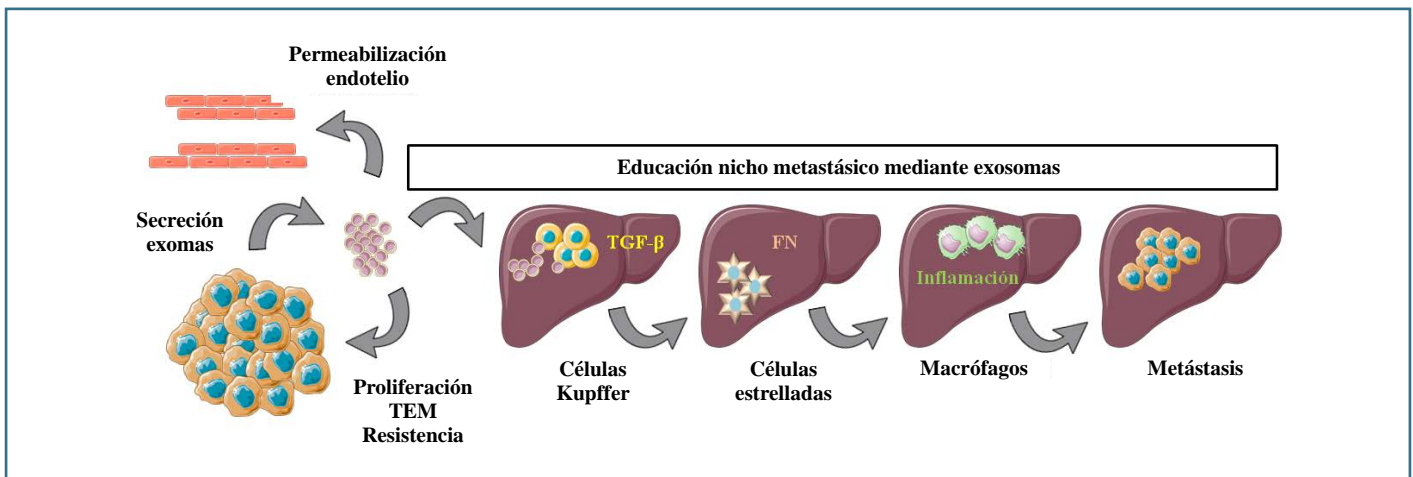


Figura 5. Adaptado de Zhang & Wang. *Nature Cell Biology*. 2015; Zhao et al. *BBA Reviews on Cancer*. 2018. Educación del nicho metastásico mediante exosomas derivados del tumor primario. Las células del tumor primario secretan microvesículas, llamadas exosomas, que participan en el crecimiento tumoral mantenido. Inducen un fenotipo más migratorio a las células mediante la transición epitelial-mesenquimal (TEM) y proporcionan resistencia contra los fármacos. A la vez, incrementan la permeabilización del endotelio y facilitan la incorporación de las células tumorales en el torrente sanguíneo. Además, los exosomas participan en la adaptación del hígado antes de la llegada de las células tumorales, al ser captados por las células Kupffer del hígado, e inducen la secreción del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). Dicho TGF- β actúa sobre las células hepáticas estrelladas, que a su vez secretan fibronectina (FN) y crean un entorno fibroso. Esto induce la captación de macrófagos y se traduce en una inflamación hepática que favorece el crecimiento de un nuevo tumor en el hígado.

diseminación hematológica, ya que el primer órgano que encontrarían los melanocitos malignos serían los pulmones. Así pues, tiene que haber un mecanismo mediante el cual estas células son dirigidas al hígado^{28,32}.

La organoespecificidad de las metástasis, según la *teoría del seed and soil* de Steven Paget's (1989), ha sido argumentada en el ámbito celular y molecular por el grupo de Lyden y Peinado et al.³³, entre otros. Estos trabajos demuestran que mediante el intercambio de señales celulares se educa de manera específica el nicho premetastásico antes de la llegada de las células tumorales. Así facilitan su adaptación, favorecen su supervivencia y la proliferación en un órgano concreto. Este intercambio de información entre el tumor primario y el órgano diana se realiza mediante los exosomas secretados por el tumor primario y liberados a la circulación.

Los exosomas son vesículas de entre 30-100 nm de diámetro que contienen determinados ADN, lípidos, RNA mensajero, microRNAs y proteínas³⁴. Precisamente es el repertorio de integrinas presente en los exosomas el responsable de la fusión de estos con las células receptoras del órgano concreto donde se formarán los nuevos focos metastásicos³⁵. Un estudio reciente demuestra que los exosomas secretados por tumores pancreáticos son captados por las células de Kupffer del hígado, causando la secreción de

TGF- β , que a su vez induce la expresión de fibronectina por parte de las células estrelladas en el hígado.

Este microentorno facilita el reclutamiento de macrófagos procedentes de la médula ósea, que favorecerán la colonización metastásica en el hígado³⁶. Es probable que este u otro escenario parecido sea el de la colonización del hígado por parte de los melanocitos de los tumores uveales, y a ello se dirige en la actualidad esta investigación (Figura 5).

Conclusiones

Las alteraciones genéticas y moleculares presentes en los melanomas uveales permiten establecer el riesgo de recurrencia o metástasis y, en consecuencia, tomar las decisiones terapéuticas más apropiadas y beneficiosas para cada paciente.

La activación de las vías de señalización de las GPCR ocurre en estadios tempranos de la transformación oncogénica de los melanocitos del tracto uveal por mutaciones somáticas, mutuamente excluyentes en los genes *GNAQ*, *GNA11*, *CYSLTR2* y *PLCB4*.

Pero otras alteraciones más tardías permiten la estratificación de los pacientes de melanomas uveales en cuatro subtipos que se correlacionan con el riesgo de padecer metástasis hepáticas: los

dos subtipos asociados a la monosomía del cromosoma 3 tienen un alto riesgo de desarrollar metástasis. A ello contribuye también la pérdida del gen supresor de tumores *BAP-1* y la sobreexpresión de receptores de tirosina quinasas, como c-KIT, c-MET, IGF-1R y VEGFR, que activan diversas vías de señalización intracelular. Por el contrario, los subtipos asociados a la disomía del cromosoma 3 presentan un buen pronóstico. Las mutaciones en los genes *EIF1AX* y *SRSF2* no aumentan el riesgo metastásico, y tan solo las mutaciones en *SF3B1* concomitantes con la sobreexpresión de PRAME podrían inducir las metástasis hepáticas a largo plazo. Así, con unos perfiles claros de expresión génica y unas vías de señalización diferenciales entre los UM, se podrían identificar nuevas dianas terapéuticas cuya inhibición combinada puede ser beneficiosa para estos pacientes.

Las células de melanoma uveal se diseminan exclusivamente por vía hematogena y metastatizan preferencialmente en el hígado. El organotropismo metastásico hepático se atribuye, en parte, a los exosomas liberados desde el tumor primario, que interaccionan específicamente con la matriz extracelular y las células hepáticas, e inducen el nicho premetastásico gracias a los ligandos de los receptores de tirosina quinasas y las citocinas presentes en el hígado, contribuyendo así al desarrollo metastásico.

Agradecimientos

A las agencias que han financiado los proyectos Fundació La Marató de TV3 (201331-32 a A Fabra (AFF)), la Asociación Española Contra el Cáncer (GCB15152978SOEN a AFF), el Instituto de Salud Carlos III (PI13/2272 a AFF y PI 15/01461 a JM Caminal (JMC)) y a ServierMedicalArt®, por su uso como fuente de información en la creación de las figuras.

Bibliografía

- Rand Simpson E, Gallie BL, Saakyan S, Amiryian A, Finger PT, Chin KJ, *et al.* International validation of the American Joint Committee on Cancer's 7th Edition Classification of Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol.* 2015;133(4):376-83.
- Caminal JM, Ribes J, Clèries R, Ibáñez N, Arias L, Piulats JM, *et al.* Relative survival of patients with uveal melanoma managed in a single center. *Melanoma Res.* 2012;22(3):271-7.
- Pons F, Plana M, Caminal JM, Pera J, Fernandes I, Perez J, *et al.* Metastatic uveal melanoma: Is there a role for conventional chemotherapy? - A single center study based on 58 patients. *Melanoma Res.* 2011;21(3):217-22.
- Lorenzo D, Caminal J. Genética del melanoma de úvea. *Ann d'Oftalmologia.* 2016;24(2):59-66.
- Coupland SE, Lake SL, Zeschnigk M, Damato BE. Molecular pathology of uveal melanoma. *Eye (Lond).* 2013;27(2):230-42.
- Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, Angelini G, Barisione G, Ferrini S, *et al.* The biology of uveal melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36:109-40.
- Harbour JW. The genetics of uveal melanoma: an emerging framework for targeted therapy. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2012;25(2):171-81.
- Chattopadhyay C, Kim DW, Gombos DS, Oba J, Qin Y, Williams MD, *et al.* Uveal melanoma: From diagnosis to treatment and the science in between. *Cancer.* 2016;2299-312.
- Shields CL, Kaliki S, Furuta M, Fulco E, Alarcon C, Shields JA. American Joint Committee on Cancer Classification of Uveal Melanoma (Anatomic Stage) Predicts Prognosis in 7731 Patients: The 2013 Zimmerman Lecture. *Ophthalmology.* 2015;122(6):1180-6.
- Robertson AG, Shih J, Yau C, Gibb EA, Oba J, Mungall KL, *et al.* Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):204-20.
- Vader MJC, Madigan MC, Versluis M, Suleiman HM, Gezgin G, Gruis NA, *et al.* GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *Br J Cancer.* 2017;117(6):884-7.
- Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, *et al.* Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature.* 2009;457(7229):599-602.
- Yavuziyigitoglu S, Drabarek W, Smit KN, van Poppel N, Koopmans AE, Vaarwater J, *et al.* Correlation of Gene Mutation Status with Copy Number Profile in Uveal Melanoma. *Ophthalmology.* 2017;124(4):573-5.
- Johnson CP, Kim IK, Esmaeli B, Amin-Mansour A, Treacy DJ, Carter SL, *et al.* Systematic genomic and translational efficiency studies of uveal melanoma. *PLoS One.* 2017;12(6):1-17.
- Furney SJ, Pedersen M, Gentien D, Dumont AG, Rapinat A, Desjardins L, *et al.* SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma. *Cancer Discov.* 2013;3(10):1122-9.
- Field MG, Decatur CL, Kurtenbach S, Gezgin G, van der Velden PA, Jager MJ, *et al.* PRAME as an independent biomarker for metastasis in uveal melanoma. *Clin Cancer Res.* 2016;22(5):1234-42.
- Field MG, Durante MA, Decatur CL, Tarlan B, Oelschlager KM, Stone JF, *et al.* Epigenetic reprogramming and aberrant expression of PRAME are associated with increased metastatic risk in Class 1 and Class 2 uveal melanomas. *Oncotarget.* 2016;7(37):59209-19.
- Park JJ, Diefenbach RJ, Joshua AM, Kefford RF, Carlino MS, Rizos H. Oncogenic signaling in uveal melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018;1-12.
- Feng X, Chen Q, Gutkind JS. Oncotargeting G proteins: The Hippo in the room. *Oncotarget.* 2014;5(22):10997-9.
- Wu X, Zhou J, Rogers AM, Jänne PA, Benedettini E, Loda M, *et al.* C-Met, epidermal growth factor receptor, and insulin-like growth factor-1 receptor are important for growth in uveal melanoma and independently contribute to migration and metastatic potential. *Melanoma Res.* 2012;22(2):123-32.

21. Amirouchene-Angelozzi N, Frisch-Dit-Leitz E, Carita G, Dahmani A, Raymondie C, Liot G, *et al.* The mTOR inhibitor Everolimus synergizes with the PI3K inhibitor GDC0941 to enhance anti-tumor efficacy in uveal melanoma. *Oncotarget*. 2016;7(17):23633-46.
22. Luke JJ, Triozzi PL, McKenna KC, Van Meir EG, Gershenwald JE, Bastian BC, *et al.* Biology of advanced uveal melanoma and next steps for clinical therapeutics. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2014;28(2):135-47.
23. Onken MD, Worley LA, Dávila RM, Char DH, Harbour JW. Prognostic testing in uveal melanoma by transcriptomic profiling of fine needle biopsy specimens. *J Mol Diagnostics*. 2006;8(5):567-73.
24. Bergeron M-A, Champagne S, Gaudreault M, Deschambeault A, Landreville S. Repression of genes involved in melanocyte differentiation in uveal melanoma. *Mol Vis*. 2012;18:1813-22.
25. Li Y, Jia R, Ge S. Role of epigenetics in uveal melanoma. *Int J Biol Sci*. 2017;13(4):426-33.
26. Achberger S, Aldrich W, Tubbs R, Crabb JW, Singh AD, Triozzi PL. Circulating immune cell and microRNA in patients with uveal melanoma developing metastatic disease. *Mol Immunol*. 2014;58(2):182-6.
27. Migliore C, Petrelli A, Ghiso E, Corso S, Capparuccia L, Eramo A, *et al.* MicroRNAs impair MET-mediated invasive growth. *Cancer Res*. 2008;68(24):10128-36.
28. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):453-8.
29. Kalirai H, Damato BE, Coupland SE. Uveal melanoma cell lines contain stem-like cells that self-renew, produce differentiated progeny, and survive chemotherapy. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(11):8458-66.
30. Ness C, Garred Ø, Eide NA, Kumar T, Olstad OK, Bærlund TP, *et al.* Multicellular tumor spheroids of human uveal melanoma induce genes associated with anoikis resistance, lipogenesis, and SSXs. *Mol Vis*. 2017;23:680-94.
31. Ayob AZ, Ramasamy TS. Cancer stem cells as key drivers of tumour progression. *J Biomed Sci*. 2018;25(20).
32. Bakalian S, Marshall J-C, Logan P, Faingold D, Maloney S, Di Cesare S, *et al.* Molecular pathways mediating liver metastasis in patients with uveal melanoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(4):951-6.
33. Peinado H, Alečković M, Lavotshkin S, Matei I, Costa-Silva B, Moreno-Bueno G, *et al.* Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat Med*. 2012;18(6):883-91.
34. Zhao H, Achreja A, Iessi E, Logozzi M, Mizzoni D, Di Raimo R, *et al.* The key role of extracellular vesicles in the metastatic process. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2018;1869:64-77.
35. 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(7578):329-35.
36. Costa-Silva B, Aiello NM, Ocean AJ, Singh S, Zhang H, Thakur BK, *et al.* Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver. *Nat Cell Biol*. 2015;17(6):816-26.