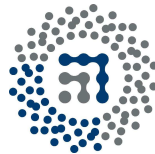


# Iniciación a la experimentación en el ámbito de la Biología Celular, Molecular, Genética y Evolutiva

## Tema 2. Presentación del caso



OCW  
OpenCourseWare



ZTF-FCT  
Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
Facultad de Ciencia y Tecnología

eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

NAZIOARTEKO  
BIKAINASUN  
CAMPUSA  
CAMPUS DE  
EXCELENCIA  
INTERNACIONAL

## PLANTEAMIENTO DEL TEMA

- Para realizar adecuadamente una investigación, se requiere **conocer el estado del tema y plantear una pregunta** de interés, para la cual no se conoce aún la respuesta.
- En este curso, algunas de las respuestas que se obtienen son actualmente conocidas por la ciencia. No obstante, el tema se ha elegido por su valor formativo en cuanto al proceso de realización de una investigación y no tanto porque las respuestas que se alcancen sean científicamente novedosas.
- El tema elegido como hilo conductor del curso está relacionado con el planteamiento de una investigación que permita conocer el efecto fenotípico de una mutación en uno de los genes implicados en el funcionamiento y regulación de la **ruta de producción de melanina** en mamíferos: el gen *MC1R*.
- A continuación se presentan los antecedentes de conocimiento de los que se parte para la realización de la investigación.



## ¿QUÉ ES LA MELANINA?

- La **melanina** es el pigmento que sintetizan los **melanocitos** y que contribuye a determinar la **pigmentación** de la piel y del pelo, así como el color de los ojos.
- Los **melanocitos** son un tipo de células que se encuentran en la epidermis y en el folículo piloso, cuya principal función es la de producir melanina.
- Los melanocitos producen 2 formas de melanina: la **eumelanina** (de color negro o marrón) y la **feomelanina** (de color amarillo o rojo); el color del pigmento de un tejido depende de la cantidad relativa de cada uno de estos pigmentos producidos por sus melanocitos.
- La **eumelanina protege** la piel del daño causado por las **radiaciones ultravioleta**, mientras que la feomelanina no, por lo que las personas con más feomelanina tienen mayor riesgo de daño en la piel por radiación solar que las personas con mayor proporción de eumelanina.



## EL FENOTIPO PIGMENTARIO

- La pigmentación de la piel, ojos y pelo es uno de los rasgos morfológicos humanos más evidentes y más interesantes tanto desde el punto de vista evolutivo como biomédico.
- Evolutivamente, el fenotipo pigmentario en europeos se ha interpretado como la consecuencia de la necesidad de sintetizar vitamina D. La vitamina D se sintetiza en la piel tras su irradiación con luz UV. En latitudes con escasa radiación solar, una piel oscura dificultaría la síntesis de vitamina D, lo que a su vez ocasionaría una mala formación del esqueleto, resistencia a la insulina, alta presión sanguínea y defectos en la función inmune (Robins, 1991).



## LA DESPIGMENTACIÓN Y EL RIESGO A MELANOMA CUTÁNEO

- Una consecuencia negativa de la despigmentación es el aumento del riesgo de padecer melanoma cutáneo, un tipo de cáncer de piel que surge a consecuencia de una radiación solar excesiva que origina una transformación maligna de los melanocitos (Robins, 1991).



## ¿CÓMO SE SINTETIZA LA MELANINA?

- La producción de melanina es el paso final de una compleja ruta de **señalización intracelular**, en la que intervienen diversas proteínas (y genes). El gen principal en la síntesis de melanina es el gen que codifica el **receptor 1 de la melanocortina (MC1R)**.
- MC1R es una proteína que se encuentra en la **membrana de los melanocitos** y que controla el tipo de melanina que producen. Cuando el receptor es **activado**, se inicia una cascada de reacciones químicas en el interior del melanocito que se concretan en la estimulación de la producción de **eumelanina** en esa célula. En cambio, si el receptor no está activado o está **bloqueado**, los melanocitos elaboran feomelanina en lugar de **eumelanina** (García-Borrón *et al.*, 2014).



# Síntesis de Eumelanina y Feomelanina por los melanocitos

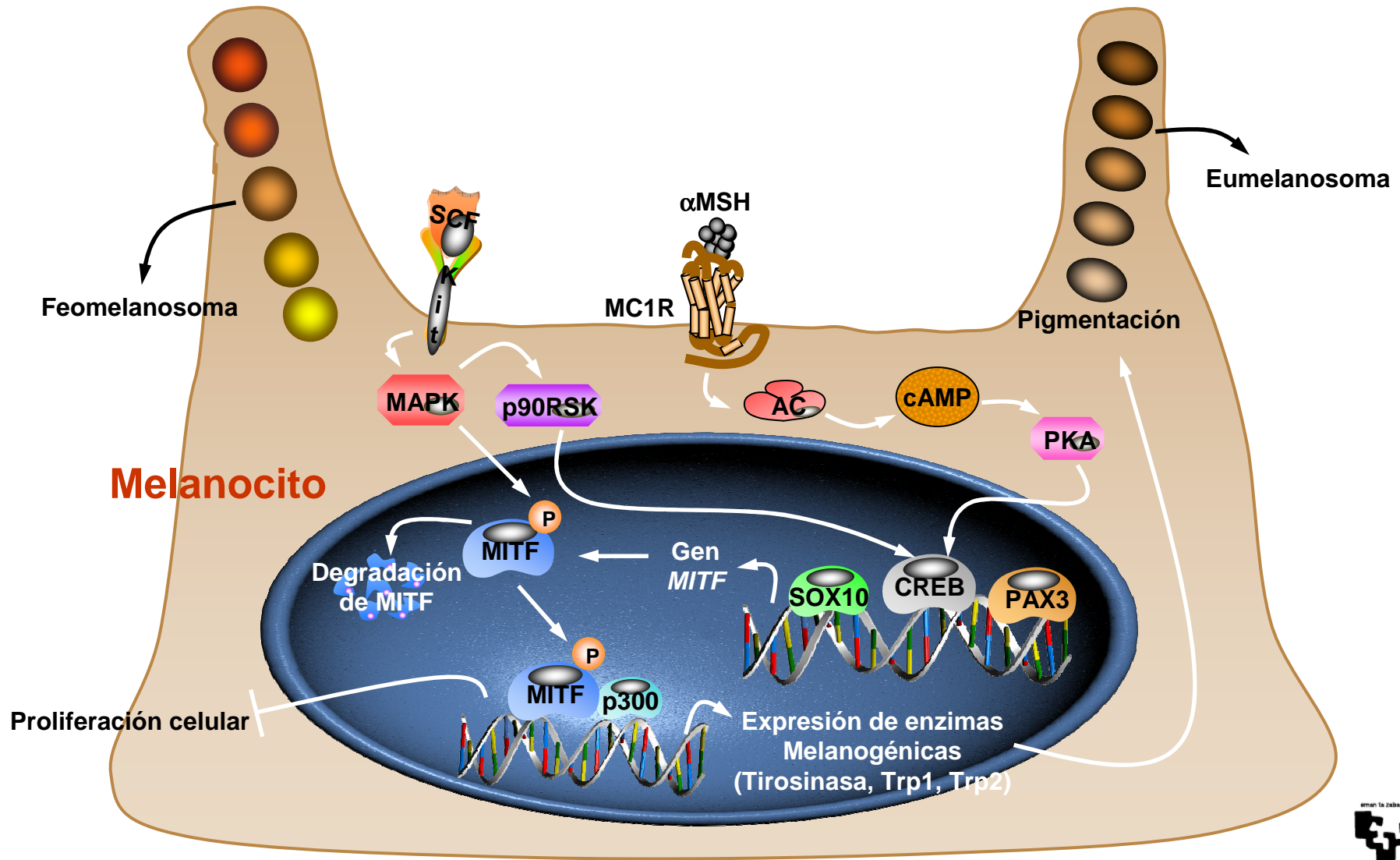
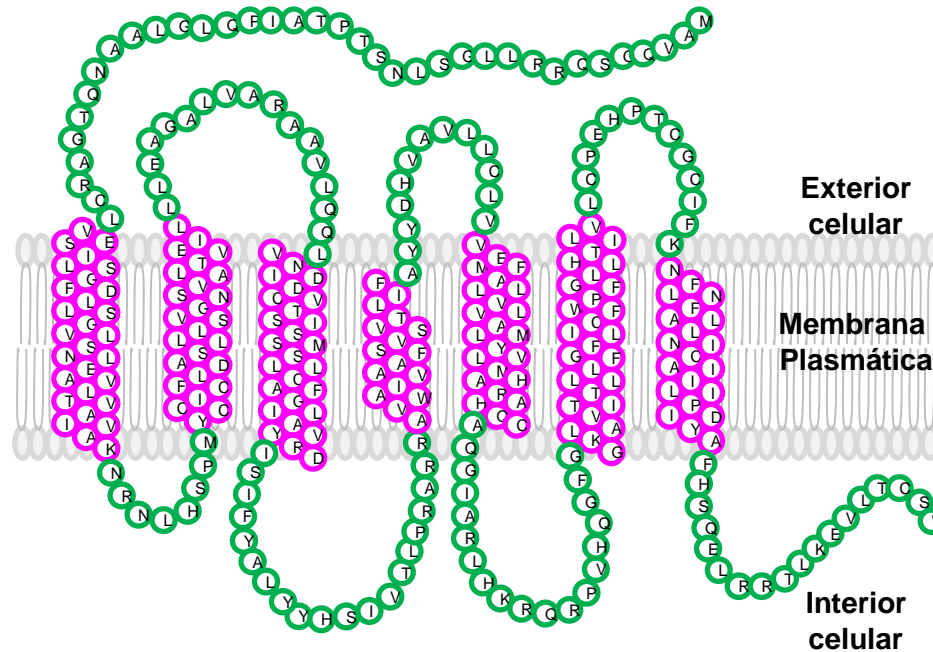


Figura realizada a partir de <https://www.qiagen.com/es/shop/genes-and-pathways/pathway-details>

## PROTEÍNA MC1R

- MC1R es un receptor de membrana con 7 dominios de transmembrana que tras enlazar a su agonista, la hormona  $\alpha$ -MSH (melanocyte stimulating hormone), desencadena la síntesis de eumelanina (García-Borrón *et al.*, 2014).



La proteína receptora de membrana MC1R





## ESTÍMULOS QUE ACTIVAN LA VIA DE MC1R

La activación de MC1R y de la vía regulada por este receptor puede inducirse mediante:

- hormona estimulante de melanocitos (melanotropina,  $\alpha$ -MSH)
- hormona adrenocorticotrópica (ACTH)
- luz ultravioleta (UVB)



## RESPUESTA A LA ACTIVACIÓN DE MC1R

- La estimulación de MC1R resulta en la activación de proteína G, la cual, mediante el enzima Adenil ciclasa (AC), estimula el incremento en los niveles de AMPc intracelular, estimulando, a su vez, el factor de transcripción microphthalmia (MITF), cuya expresión conduce a la activación de los genes de tirosinasa *Tyr* y finalmente a la síntesis de eumelanina. (Sánchez Más *et al.*, 2002).
- Habitualmente la inducción de melanogénesis viene acompañada de una inhibición de la proliferación celular. Así, se ha observado que la activación de MC1R inhibe la proliferación celular de los melanocitos (Smalley & Eisen, 2000).



## El fototipo como factor de riesgo a melanoma

- El fototipo (nivel de pigmentación corporal) está asociado al riesgo a melanoma. Las personas de piel clara, ojos claros (azules/verdes) y pelo claro (rubio/rojo) son las que más riesgo presentan de desarrollar un melanoma cutáneo (Duffy *et al.*, 2010).

	Melanoma Cases		Controls	
	N_inds	%	N_inds	%
Light hair	1265	72.8	2177	53
Dark hair	473	27.2	1931	47
	1738	100.00	4108	100.00

Fisher exact test p-value < 2.2e-16



## El gen *MC1R* y el fototipo pigmentario

- En humanos se han detectado más de 100 variaciones genéticas comunes (polimorfismos) en el gen *MC1R*.
- Varios de estos polimorfismos están asociados al fototipo pigmentario y son, por ejemplo, más frecuentes en personas pelirrojas, con piel clara, pecas, y mayor sensibilidad a la exposición solar.
- Ejemplos típicos de variantes alélicas asociadas al fenotipo “pelirrojo” son, por ejemplo, las mutaciones R151C, R160W y D294H, las cuales aparecen en el 60% de las personas pelirrojas que hay en el mundo.



## El gen *MC1R* y el fototipo pigmentario

aa variant	rs ID	ODD RATIOS <sup>1</sup>		
		pale vs dark skin (p-val)	blue eyes (p-val)	<sup>2</sup> light vs dark hair (p-val)
V60L	rs1805005	1.01 (0.85)	1 (0.8)	1.13 (0.008)
D84E	rs1805006	5.19 (<1.0e-5)	1.23 (0.61)	1.74 (0.041)
V92M	rs2228479	1.38 (0.024)	1.06 (0.61)	1.17 (0.016)
R142H	rs11547464	1.31 (0.54)	1.03 (0.71)	1.28 (0.74)
R151C	rs1805007	2.57 (<1.0e-5)	1.09 (0.94)	2.13 (<1.0e-5)
R160W	rs1805008	1.72 (<1.0e-5)	1.12 (0.17)	1.82 (<1.0e-5)
R163Q	rs885479	1.1 (0.53)	1.21 (0.15)	1.12 (-0.014)
D294H	rs1805009	2.88 (<1.0e-5)	1.16 (0.74)	1.68 (<1.0e-5)
<sup>3</sup> “R”		3.7 (<1.0e-5)	1.09 (0.43)	2.3 (<1.0e-5)
<sup>4</sup> “r”		1.84	1.1	1.26

<sup>1</sup> Odds ratio = indica la proporción relativa de dos proporciones: la de individuos con el fototipo y con el alelo mutado frente a individuos con un fototipo dado (i.e. pale skin) sin el alelo mutado (en este caso) con respecto a la proporción equivalente para individuos controles (i.e. dark skin). Aproximadamente: cuántas veces es más probable que tengas (por ejemplo) piel clara si tienes la mutación que que tengas piel oscura si tienes la misma mutación.

<sup>2</sup> Light hair=blond, light brown, red.

<sup>3</sup> R = High-penetrance red hair color MC1R haplotype: variant at D84E, R142H, R151C, R160W, or D294H.

<sup>4</sup> r = Low-penetrance red hair color MC1R haplotype: variant at V60L, V92M, or R163Q.

Datos de Duffy et al (2010) *Journal of Investigative Dermatology* 130:520–528



## El gen *MC1R* y el riesgo a melanoma cutáneo

- Estas 3 variantes alélicas además están también asociadas a un mayor riesgo de melanoma y de otros tipos de cánceres de piel.

aa variant	rs ID	ODD RATIOS for CMM <sup>1</sup> (p-val)
V60L	rs1805005	1.01 (0.80)
D84E	rs1805006	1.61 (0.013)
V92M	rs2228479	1.07 (0.53)
R142H	rs11547464	2.25 (0.055)
R151C	rs1805007	1.58 (7.0e-4)
R160W	rs1805008	1.68 (<1.0e-4)
R163Q	rs885479	1.15 (0.54)
D294H	rs1805009	1.42 (0.019)
<sup>2</sup> “R”		1.65 (<1.0e-5)
<sup>3</sup> “r”		1.10

<sup>1</sup> CMM = Cutaneous Malignant Melanoma

<sup>2</sup> R = High-penetrance red hair color *MC1R* haplotype: variant at D84E, R142H, R151C, R160W, or D294H.

<sup>3</sup> r = Low-penetrance red hair color *MC1R* haplotype: variant at V60L, V92M, or R163Q.



## El gen *MC1R* y el riesgo a melanoma cutáneo

- Aunque la relación entre estas variantes con el melanoma, y en especial la mutación R151C, están bastante asumidas, el mecanismo molecular que subyace a esta relación es complejo y no está completamente esclarecido.
- Es posible que modificaciones que alteran la conformación de la proteína MC1R, y especialmente aquellas que afectan a los residuos de aminoácidos y que están evolutivamente muy conservados, como el 151, afecten a la función melanogénica.
- De ser así, este tipo de mutaciones afectarían a la producción de melanina y alterarían la protección pigmento-dependiente. Así, una menor acumulación de melanina resultaría en una menor fotoprotección, lo que resultaría en inestabilidad genómica (Sánchez Más *et al.* 2002).

## Diapositiva 15

---

**A2**

**COMPROBAR**  
ANA; 07/05/2016



## El gen *MC1R* y el riesgo a melanoma cutáneo

- Además, es posible que estas mutaciones bloqueen a su vez los mecanismos de protección pigmento-independientes regulados por *MC1R*. Así, melanocitos portando estas mutaciones podrían ser refractarios al estímulo antiproliferativo que supone la activación de *MC1R* (Smalley *et al.* 2000).

A1

## Diapositiva 16

---

**A1**

COMPROBAR  
ANA; 07/05/2016

## HIPÓTESIS

- Existe diversidad génica en el gen *MC1R* en las poblaciones humanas
- La secuencia ancestral del gen *MC1R* codifica una proteína funcional que permite la activación de la ruta de señalización que culmina en la síntesis de eumelanina.

La **hipótesis** que se plantea en este trabajo es que modificaciones que alteran la conformación de la proteína *MC1R*, y especialmente aquellas que afectan a los residuos de aminoácidos que están evolutivamente muy conservados, afectan a su función.



## OBJETIVOS GENERALES

1. Averiguar si la presencia de una de las variantes alélicas descritas en las poblaciones humanas que afecta a una de esas regiones conservadas, concretamente la mutación denominada R151C, provoca modificaciones en la proteína MC1R que puedan afectar a la capacidad de los melanocitos de sintetizar eumelanina y de bloquear la proliferación.
2. Si eso fuese así, y dado que la variante alélica tiene una amplia distribución entre las poblaciones humanas actuales y en otros grupos *Homo* ya extintos, el siguiente objetivo tiene que ver con analizar las implicaciones evolutivas y médicas que podría tener la distribución poblacional de esta variante, en relación a su capacidad de síntesis de eumelanina y de otras funciones en las que podría estar funcionalmente implicada la proteína MC1R.



## BIBLIOGRAFÍA

- Duffy DL, Zhao ZZ, Sturm RA, Hayward NK, Martin NG, Montgomery GW. Multiple pigmentation gene polymorphisms account for a substantial proportion of risk of cutaneous malignant melanoma. *J Invest Dermatol.* 2010; 130(2):520-8.
- García-Borrón JC, Abdel-Malek Z, Jiménez-Cervantes C. MC1R, the cAMP pathway, and the response to solar UV: extending the horizon beyond pigmentation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014; 27(5):699-720.
- Robins AH. (1991). Biological perspectives in human pigmentation. Cambridge University Press. ISBN-9780521365147.
- Sánchez Más J, Olivares Sánchez C, Ghanem G, Haycock J, Lozano Teruel JA, García-Borrón JC, Jiménez-Cervantes C. Loss-of-function variants of the human melanocortin-1 receptor gene in melanoma cells define structural determinants of receptor function. *Eur J Biochem.* 2002; 269(24):6133-41.
- Smalley K, Eisen T. The involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in the alpha-melanocyte stimulating hormone (alpha-MSH)-induced melanogenic and anti-proliferative effects in B16 murine melanoma cells. *FEBS Lett.* 2000;476(3):198-202.



## LECTURAS RECOMENDADAS

- Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, Tymińska A. Skin melanocytes: biology and development. *Postep Derm Alergol* 2013; 1: 30-41.
- Maresca V, Flori E, Picardo M. Skin phototype: a new perspective. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 2015; 28 (4): 378–389.
- Nasti TH, Timares L. MC1R, eumelanin and pheomelanin: their role in determining the susceptibility to skin cancer. *Photochem Photobiol*. 2015; 91 (1):188-200.
- Sturm RA. Molecular genetics of human pigmentation diversity. *Human Molecular Genetics*, 2009;18: 9-17.
- Yamaguchi Y, Brenner M, Hearing VJ. The Regulation of Skin Pigmentation. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007. 282, 27557-27561.

