

Trabajo Fin de Grado
Grado en Biología

Relación de la pigmentación con la inmunidad

Autora:

Eva María Sáenz Rodríguez

Directoras:

Isabel Smith Zubiaga

María Alicia García de Galdeano Zaldivar



Índice

1. Resumen.....	3
2. Introducción	4
3. Metodología	5
4. Melanocitos y melanina	6
4.1 Síntesis de melanina	7
4.2 Maduración y transporte de melanosomas	9
5. Regulación de la pigmentación	11
6. Funciones de la pigmentación.....	15
7. Pigmentación e inmunidad.....	16
8. Discusión.....	19
9. Conclusión	21
10. Agradecimientos	21
11. Bibliografía	22



Relación de la pigmentación con la inmunidad

1. Resumen

La variación del grado de pigmentación de la piel es uno de los rasgos polimórficos más evidentes de nuestra especie. La principal función de la pigmentación es la protección de la piel frente a la radiación solar, como sugieren diferentes estudios epidemiológicos. La pigmentación es el resultado de la presencia de melanina en la piel, un pigmento sintetizado en los melanosomas, orgánulos especializados de los melanocitos. Los melanosomas se transfieren posteriormente a los queratinocitos, donde se distribuyen, creando una capa protectora en la epidermis. Los mecanismos de regulación son complejos y dependen de factores genéticos y ambientales. Recientemente se ha descubierto un mecanismo que relaciona el grado de pigmentación con péptidos del sistema inmune de la piel. Los péptidos descritos pertenecen a la familia de las β -defensinas, destacando en concreto a la β -defensina 103 presente en perros que puede unirse al receptor de la melanocortina 1 (MC1R) interfiriendo en los procesos biosintéticos de la melanina. En este estudio se ha analizado la relación propuesta entre la pigmentación y la inmunidad y se han descrito posibles líneas de investigación.

Variation in the degree of skin pigmentation is one of the most obvious polymorphic aspects of our species. The main function of pigmentation is the protection of the skin against solar radiation, as many epidemiological studies suggested. Pigmentation is the result of the presence of melanin in the skin, a pigment synthesized in melanosomes, specialized cellular organelles of melanocytes. Melanosomes are subsequently transferred to keratinocytes, where are distributed, creating a protective layer on the skin. Regulatory mechanisms are complex and depend on both genetic and environmental factors. Recently some research groups proposed a new mechanism that relate pigmentation with peptides of the skin immune system. These peptides belong to the family of the β -defensins, in particular the β -defensin103 of domestic dogs, that binds to the melanocortin receptor 1 (MC1R) interfering with the melanin biosynthetic processes. This study has analyzed the proposed relation between pigmentation and immunity and described possible future research lines.



2. Introducción

La piel humana puede encontrarse en un amplio rango de coloración, siendo éste uno de los polimorfismos más evidentes de nuestra especie, y dando lugar a una reconocible variabilidad geográfica¹. La pigmentación de la piel, el pelo y los ojos depende principalmente de la presencia de melanina en estos tejidos. La melanina se produce en los melanocitos, siendo el resultado de una ruta bioquímica denominada melanogénesis, producida en los melanosomas, unos orgánulos membranosos propios de estas células². Durante el proceso de síntesis pueden producirse dos tipos de melaninas diferentes: eumelanina, de color negro o marrón, y feomelanina, de color amarillo o rojizo³. Una vez sintetizada la melanina, los melanosomas que la contienen son transferidos a los queratinocitos vecinos.

La función principal de la melanina es proteger al organismo de la radiación ultravioleta (UV), absorbiéndola y convirtiéndola en calor. El nivel de protección está relacionado con el grado de pigmentación. De hecho, diferentes estudios epidemiológicos muestran menor incidencia de melanomas en individuos de pieles oscuras en comparación con aquellos de pieles claras⁴.

Recientemente se ha propuesto una posible relación entre la pigmentación y la inmunidad de la piel, atribuida tras el descubrimiento de un péptido de actividad inmunológica que puede influir en el grado de pigmentación del individuo⁵. El péptido estudiado pertenece a la familia de las defensinas epidérmicas, común en la mayoría de los mamíferos.

Los objetivos de este trabajo son realizar una revisión bibliográfica sobre la pigmentación, identificando los aspectos más relevantes que se conocen, así como analizar las posibles relaciones entre los procesos inmunitarios y la pigmentación de la piel.



3. Metodología

Dado el carácter bibliográfico del estudio realizado nos hemos basado en la lectura de publicaciones actuales que abarcaban tanto aspectos inmunitarios como de pigmentación. Las fuentes bibliográficas consultadas pueden dividirse en dos categorías: libros de consulta académica y artículos científicos.

En primer lugar, se utilizaron libros de referencia académica para estructurar el trabajo desde un punto de vista más general. Para ello se consultaron libros sobre Histología y Dermatología, ampliando así los conocimientos sobre los componentes histológicos y celulares que se encuentran relacionados con la pigmentación. Además, fue necesario dar una visión general sobre los procesos inmunológicos relacionados con la piel, por lo que se utilizaron libros de consulta académica, como *Inmunología-Fundamentos* de Riott.

El segundo recurso bibliográfico utilizado se compone de artículos de revistas especializadas de la base de datos del NCBI. Entre las revistas con bibliografía que más se ajustaba a las necesidades de esta revisión se pueden destacar: *Pigment Cell & Melanoma Research* y *The Journal of Dermatology*, para los aspectos relacionados con la pigmentación, y *Journal of Innate Immunity*, para los aspectos inmunitarios. Se buscaron artículos de revisiones bibliográficas generales y otros más específicos. Para ello fue necesario hacer filtros de búsqueda con palabras clave como “melanocyte”, “melanogenesis”, “melanin”, “UV radiation” y “defensin”. Entre los seleccionados se priorizaron los artículos más actuales, ya que se trata de una línea de investigación novedosa que continúa en constante cambio.

Por último, para analizar las relaciones existentes entre la pigmentación y la inmunidad de la piel, se revisaron artículos experimentales realizados desde el 2007, año en el que se propuso por primera vez. Para dar una idea general sobre la relación entre la pigmentación y la inmunidad, en este trabajo se ha realizado una síntesis de los resultados obtenidos en diferentes especies y se han propuesto posibles líneas de investigación en relación a esta hipótesis.



4. Melanocitos y melanina

La pigmentación de la piel es el resultado de la presencia de melanina en la epidermis, producida en los melanocitos de las capas basales epidérmicas, que mediante su posterior transporte, llega a los queratinocitos de las capas superiores.

Los melanocitos son células especializadas en sintetizar melanina. Pueden encontrarse en diferentes puntos anatómicos, como en la piel, en el oído interno, en sistema nervioso y en el corazón, entre otros lugares. Los melanocitos proceden de los melanoblastos que, a su vez, derivan de la cresta neural, un conjunto celular multipotente que da lugar a diferentes líneas celulares, incluyendo neuronas, células de la glía y células de la médula suprarrenal. Durante la embriogénesis, los melanoblastos migran hasta la piel, donde proliferan y se diferencian en dos poblaciones de melanocitos: los melanocitos epidérmicos y los melanocitos del folículo piloso ⁶. Una vez allí, comienzan a madurar sintetizando melanosomas, orgánulos específicos productores del pigmento, y formando las prolongaciones dendríticas características del tipo celular.

Las observaciones microscópicas indican que los melanocitos maduros son ovales o fusiformes, con prolongaciones dendríticas, y en general de menor tamaño que los queratinocitos vecinos. Independientemente del grupo étnico humano, existen unos 1200 melanocitos por cada mm² de la piel⁷. Se encuentran localizados en la capa basal de la epidermis donde forman una unidad funcional con los queratinocitos denominada “unidad melánica epidérmica”, que surge de la asociación de un melanocito con unos 30-40 queratinocitos ¹. Los melanocitos se encuentran en estrecho contacto con cada queratinocito mediante sus prolongaciones dendríticas. Se han encontrado moléculas de adhesión que participan en la construcción de estructuras de contacto celular, como las cadherinas E y P ⁸. Estos contactos son necesarios para la transferencia de melanina hacia los queratinocitos.



4.1 Síntesis de melanina

La síntesis de melanina se produce en los melanosomas, unos orgánulos de membrana única propios de los melanocitos. Sus elementos enzimáticos y estructurales están organizados y ensamblados de forma separada, siguiendo un patrón similar al de los lisosomas^{9 10}. De hecho, los melanosomas pertenecen a la familia de orgánulos específicos denominados orgánulos relacionados con lisosomas (LROs). Algunas proteínas comunes incluyen las proteínas de membrana asociadas a lisosomas (LAMPs), que participan en la regulación del pH interno, muy importante en las rutas de biosíntesis de melanina¹¹.

La melanina se puede presentar en dos formas diferentes en mamíferos y aves: como eumelanina, de color negro o marrón; y como feomelanina, de color amarillo rojizo^{2 3}. La eumelanina es un polímero heterogéneo compuesto por unidades de 5,6-dihidroindol (DHI) y de ácido 5,6- dihidroindol-2-carboxílico (DHICA)². Por otro lado, la feomelanina es un polímero heterogéneo compuesto por intermediarios de bentoianina¹². Cada uno de los polímeros se sintetiza mediante rutas específicas, aunque comparten algunos pasos, como la oxidación del aminoácido L-tirosina para obtener DOPAquinona (DQ), mediante la acción de la tirosinasa (TYR), enzima principal de la ruta.

Una vez que comienza la síntesis de eumelanina, y tras la oxidación común de L-tirosina a DQ, el primer paso específico es una adición de un grupo amino, produciendo cicloDOPA^{13 14}. Este proceso es relativamente lento, aunque una vez obtenido el intermediario cicloDOPA se oxida rápidamente a DOPAcromo, mediante una reacción redox con otra DQ. A partir de DOPAcromo, se producen las dos unidades que componen el polímero de eumelanina: DHI y DHICA, mediante una descarboxilación². Sin embargo, se ha comprobado que en presencia de DOPAcromo tautomerasa (DCT o TYRP-2), DOPAcromo se tautomeriza preferentemente hacia DHICA¹⁵. Para producir, por último, la eumelanina, tienen lugar dos reacciones, dependiendo del monómero precursor: la oxidación de DHI a partir de una reacción redox con DQ¹⁶; o la oxidación directa de DHICA mediante la acción de TYR o de la proteína relacionada con la tirosinasa 1 (TYRP-1)¹⁷. Las reacciones descritas aparecen reflejadas en la figura 1.

La actividad de TYR, TYRP1 y DCT afectan a la cantidad y calidad del ratio DHI:DHICA, además del grado de polimerización de las eumelaninas¹⁸. De hecho, la función

de TYRP1 en la eumelanogénesis parece controlar el peso molecular y color de la eumelanina sintetizada, que variará dependiendo del ratio DHI:DHICA encontrado en el polímero. Si existe mayor cantidad de DHICA, cuyo peso molecular es mayor, el pigmento será más oscuro que si hay más cantidad de DHI¹⁹.

La ruta de la feomelanogénesis, reflejada en la figura 1, parte de la reacción común con la eumelanogénesis. Sin embargo, el camino se bifurca a partir de este punto, ya que para sintetizar feomelanina es necesaria la adición reductiva de cisteína, y así producir cisteinilDOPA (CD). A partir de CD se sintetiza cisteinilDOPAquinona (CDQ) y DOPA, mediante una reacción redox con DQ presente en el medio. La deshidratación y ciclación de CDQ produce ortoquinomina (QI)²⁰, y esta se convierte en diferentes intermediarios de benzoquinina. La feomelanina resultante estará compuesta por la combinación de estos intermediarios¹².

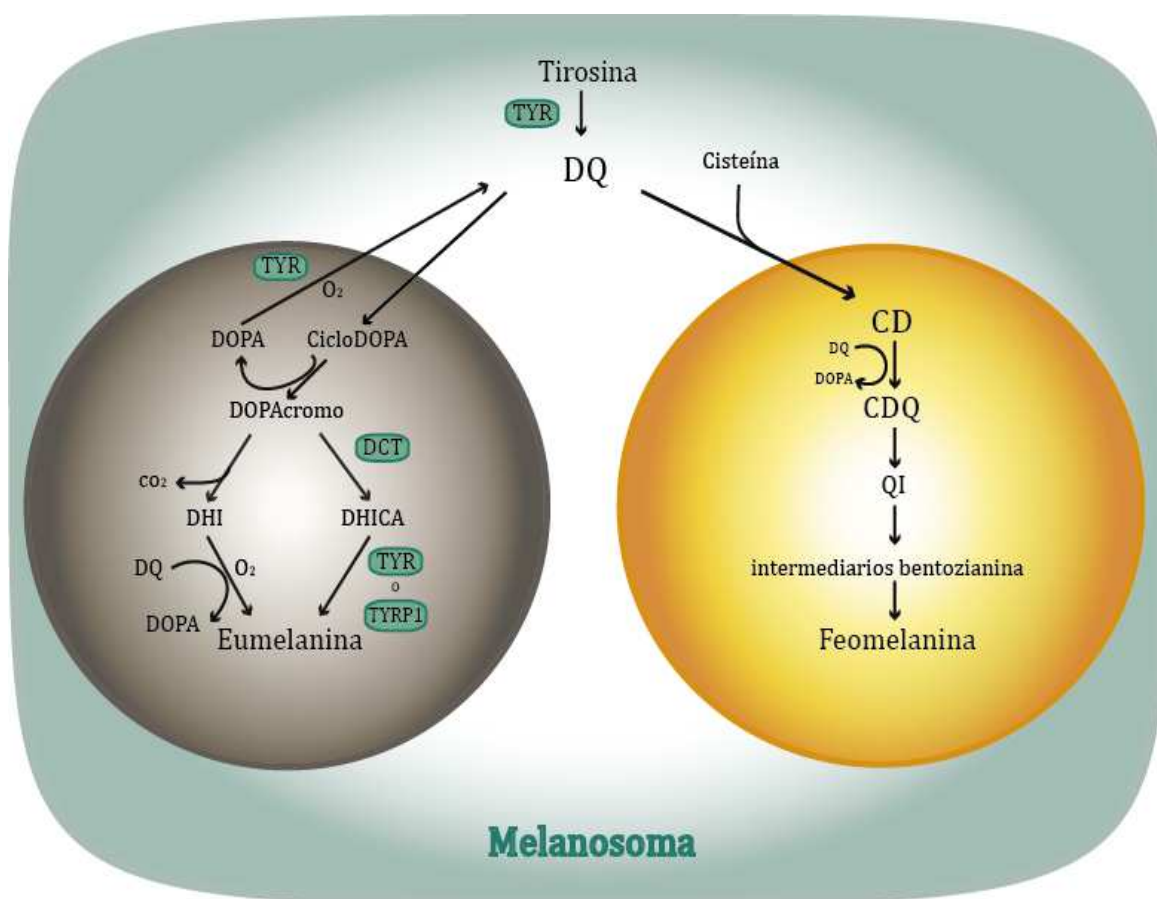


Figura 1. Rutas biosintéticas de la eumelanina, pigmento negro, y la feomelanina, pigmento amarillo, dentro del melanosoma. [TYR (tirosinasa); DQ (DOPAquinona); DHI (5,6-dihidroindol); DHICA (5,6- dihidroindol-2- carboxílico); DCT (DOPAcromo tautomerasa); TYRP1 (proteína relacionada con la tirosinasa 1); CD (cisteinilDOPA); CDQ (cisteinilDOPAquinona), QI (ortonquinomina)]



Comparando las dos rutas puede comprobarse que un punto clave es la vía de síntesis que tomará DQ, pudiéndose oxidar a DOPAcromo y convertirse en eumelanina, o pudiendo unirse con una cisteína y reducirse a CD. Las enzimas claves en esta elección de ruta serán, por un lado TYR, TYRP1 y DCT para eumelanogénesis; y TYR, junto con los niveles de cisteína disponibles, que si son relativamente elevados el proceso tiende a sintetizar feomelanina.

4.2 Maduración y transporte de melanosomas

La síntesis de melanina está ligada a la maduración de los melanosomas²¹. Durante la maduración, los melanosomas adquieren las enzimas encargadas de la síntesis de melanina, como TYR, TYRP1 y DCT. Estas enzimas se sitúan en la membrana del orgánulo, con dominios catalíticos internos, y dominios receptores externos, que servirán para su correcta distribución. Además, para el buen funcionamiento de TYR son necesarias condiciones específicas dentro del melanosoma. Por ejemplo, la acidificación del medio está relacionada con el aumento de su actividad. El bombeo de protones e iones necesarios para conseguir un pH ácido viene dado por las ATPasas vacuolares, situadas en la membrana del orgánulo, que bombean protones hacia el interior del melanosoma²². El pH de los melanosomas también se ve influenciado por los canales membranosos intercambiadores de iones de potasio, sodio y cloro²³. Una de las familias más representativa de canales en los melanosomas es *solute carriers* (SLC). Las mutaciones en sus genes codificantes están relacionados con diferentes tipos de albinismo (OCA 2 y 4)²⁴. Además del pH, otra de las condiciones necesarias es la disposición de iones cobre en el melanosoma. TYR es dependiente de estos iones, que se sitúan en sus dominios catalíticos, por lo que son necesarios para su funcionamiento²⁵. Para la entrada de iones de cobre y la de otros sustratos, tales como tirosina y cisteína, son necesarios los canales específicos en las membranas del melanosoma. El número de estos canales, así como el nivel de transporte, influyen en el pigmento resultante.

Como se representa en la figura 2, la maduración de los melanosomas se puede dividir en cuatro fases (I-IV). En la fase I, los melanosomas o premelanosomas surgen del aparato de Golgi. En la fase II, los premelanosomas reciben las enzimas necesarias para la síntesis de melanina, anteriormente descritas. Después de esto, comienza la síntesis de melanina, depositándose uniformemente en las fibras internas del orgánulo, por lo que se trataría de la

fase III. A continuación, entraría en una fase IV en la que los melanosomas son elípticos o elipsoidales, y la actividad enzimática es mínima por el alto contenido de melanina en el orgánulo²⁶.

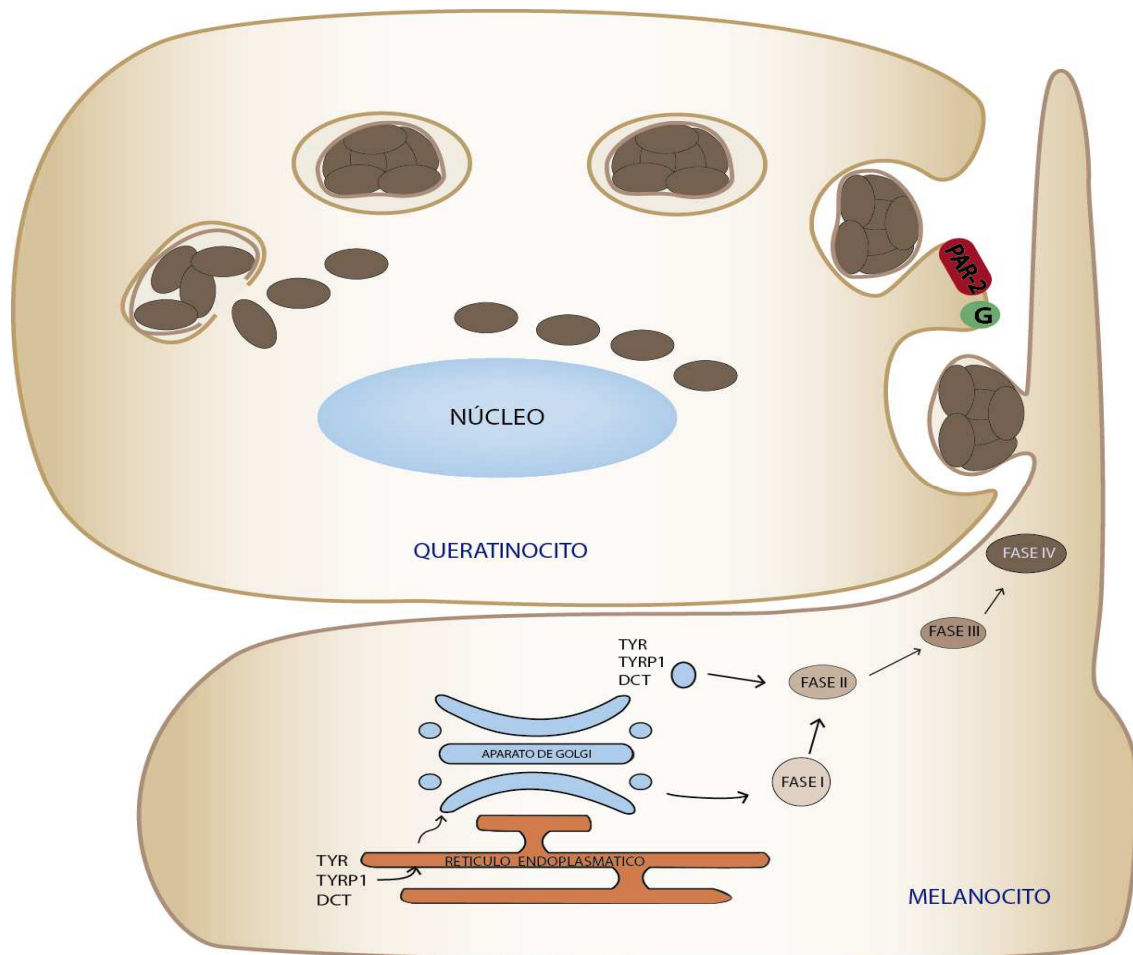


Figura 2. Maduración de los melanosomas y transferencia de los mismos mediante glóbulos de pigmento, que son secretados por los melanocitos y fagocitados por los queratinocitos.

Una vez sintetizada la melanina se transfieren los melanosomas a su destino final: los queratinocitos. Para ello es necesario el transporte hasta las bases de las dendritas del melanocito, que se produce mediante los microtúbulos del citoesqueleto junto con proteínas motoras asociadas, que actúan de anclaje entre el melanosoma y los microtúbulos. Para la transferencia de los melanosomas se han propuesto 4 formas: exocitosis, citofagocitosis, fusión de las membranas plasmáticas y transferencia mediante vesículas²⁷. En primer lugar, la vía de la exocitosis implicaría la fusión entre las membranas del melanosoma y del melanocito, lo que produciría una descarga del material contenido al espacio intercelular. Después, el queratinocito sería el encargado de fagocitarlo. La vía de la citofagocitosis propone la fagocitosis del ápice de la dendrita, donde se encuentran los melanosomas, por el



queratinocito receptor. Con una posterior fusión con lisosomas, se produciría un fagolisosoma, con la melanina en su interior. Por otro lado, la vía de fusión de membranas propone una fusión de las membranas citoplasmáticas de ambos tipos celulares, melanocitos y queratinocitos, dando lugar a estructuras filiformes entre el ápice de la dendrita y el queratinocito²⁸. Por último, la vía de transferencia de vesículas membranosas, propuesto por Ando et al.²⁹ defiende la transferencia de agrupaciones de melanosomas cubiertos por membrana del melanocito, que posteriormente fagocitan los queratinocitos. La agrupación de melanosomas, denominada glóbulo de pigmento, se fagocita mediante la acción de unos receptores de membrana, acoplados a proteínas G, denominados “receptor 2 de la proteasa activa” (PAR-2). Una vez dentro, y tras la degradación de las membranas que recubren al glóbulo, los melanosomas se dispersan por el citosol del queratinocito, tal y como se representa en la figura 2.

Precisamente el tamaño y la distribución de los melanosomas en los queratinocitos, entre otras características, hace que la pigmentación difiera entre individuos. En la piel oscura, los melanosomas se distribuyen individualmente y de forma homogénea por el citosol del queratinocito, mientras que los de piel clara lo hacen en agrupaciones³⁰. A su vez los melanosomas presentan diferencias en cuanto a tamaño, ya que en las pieles oscuras son más grandes y ovalados que los de piel clara³¹. Además, los melanosomas de la piel oscura son más resistentes a la degradación lisosómica, por lo que permanecen más tiempo en la epidermis, mientras que los melanosomas de la piel clara son degradados con mayor antelación³¹. Existen otras características de las que depende el grado de pigmentación final, como la capacidad de transferencia de los melanosomas y el tipo de melanina sintetizada, es decir, eumelanina o feomelanina. Por último, al contrario de lo que se cabría esperar, el número de melanocitos no interfiere en el grado de pigmentación, siendo constante en personas de pieles claras y oscuras.

5. Regulación de la pigmentación

Los mecanismos de regulación de la pigmentación de la piel son complejos y todavía no están completamente dilucidados. Uno de los motivos de su complejidad es que el grado de pigmentación de la piel está controlado por más de 120 genes. Constitutivamente, los individuos presentan una pigmentación independiente a factores inductores denominada



pigmentación constitutiva. Diversos estudios han asociado la pigmentación constitutiva con los polimorfismos del receptor de melanocortina 1 (MC1R) encontrados en diferentes grupos étnicos humanos³². El mantenimiento de la pigmentación constitutiva no está bien definido todavía. Por otro lado, la pigmentación resultante tras la llegada de factores externos e internos se denomina pigmentación facultativa. Entre los factores inductores, la radiación solar es la que más influye en las variaciones de la pigmentación facultativa.

Dentro del espectro de la radiación solar, el rango que más efectos produce sobre la pigmentación es el de la radiación ultravioleta (UV). Este rango comprende una longitud de onda desde los 100 nm hasta los 400, dividiéndose en tres tipos de radiación UV: UVA (320-400nm); UVB (280-320nm) y UVC (100-280 nm). Normalmente, las radiaciones de longitud de onda menos a 310 nm son absorbidas por la atmósfera, por lo que la incidencia de UVC suele ser mínima. En cuanto a los otros dos tipos aproximadamente un 90-95% de UVA y un 5-10% de UVB llega hasta nuestra piel³³. Existen diferencias en cuanto al efecto que provocan sobre la pigmentación, ya que UVB induce el aumento de la melanogénesis y la proliferación de los melanocitos, mientras que UVA provoca la oxidación y el reordenamiento de la melanina existente³⁴.

La radiación UV regula directa o indirectamente a los melanocitos dando lugar a rutas de regulación paracrina y autocrina. Tras la exposición a la radiación UV, y de forma directa sobre el melanocito, se produce la generación de fotoproductos del ADN, como dímeros de pirimidin ciclobutano, y otras especies reactivas de oxígeno. Estos compuestos activan a la proteína supresora de tumores p53, que funciona como un factor de transcripción para TYR y TYRP-1³⁵.

Por otro lado, la regulación indirecta involucra a los queratinocitos de la unidad melánica epidérmica. Tras la exposición a la radiación UV, los queratinocitos sintetizan una serie de moléculas que estimulan la melanogénesis y la supervivencia y proliferación de los melanocitos. Como ocurría en el caso de los melanocitos, la llegada de radiación solar provoca la activación de p53, que promueve la síntesis de proopiomelanocortina (POMPC) en los queratinocitos, cuyos derivados funcionan como estímulos para el aumento del nivel de melanogénesis. Los péptidos derivados de POMPC más característicos son la hormona estimulante de la melanogénesis (α -MSH), junto con la hormona adrenocorticotrópica

(ACTH). Aunque ambos pueden unirse al receptor de melanocortina 1 (MC1R), situado en la membrana de los melanocitos, el más habitual de los dos es α -MSH.

Cuando se produce la unión de α -MSH con MC1R comienza una cascada de señales, tal y como se representa en la figura 3. En primer lugar, se activa la adenilato ciclasa mediante la fosforilación de esta enzima por la proteína G que se asocia al receptor. Esto da lugar a una cascada de AMPc, que a su vez activa la kinasa dependiente de AMPc (PKA). PKA fosforila, y por lo tanto activa, a la proteína de unión CREB, que estimula al elemento de respuesta CRE, situado en el promotor del factor de transcripción asociado a la microftalmia (MITF)³⁶³⁷. MITF se une con los promotores de los genes que transcriben para TYR, TYRP-1 y DCT. Además de promover la melanogénesis, MITF promueve la diferenciación, el aumento de dendritas, y la proliferación de melanocitos y queratinocitos³⁸.

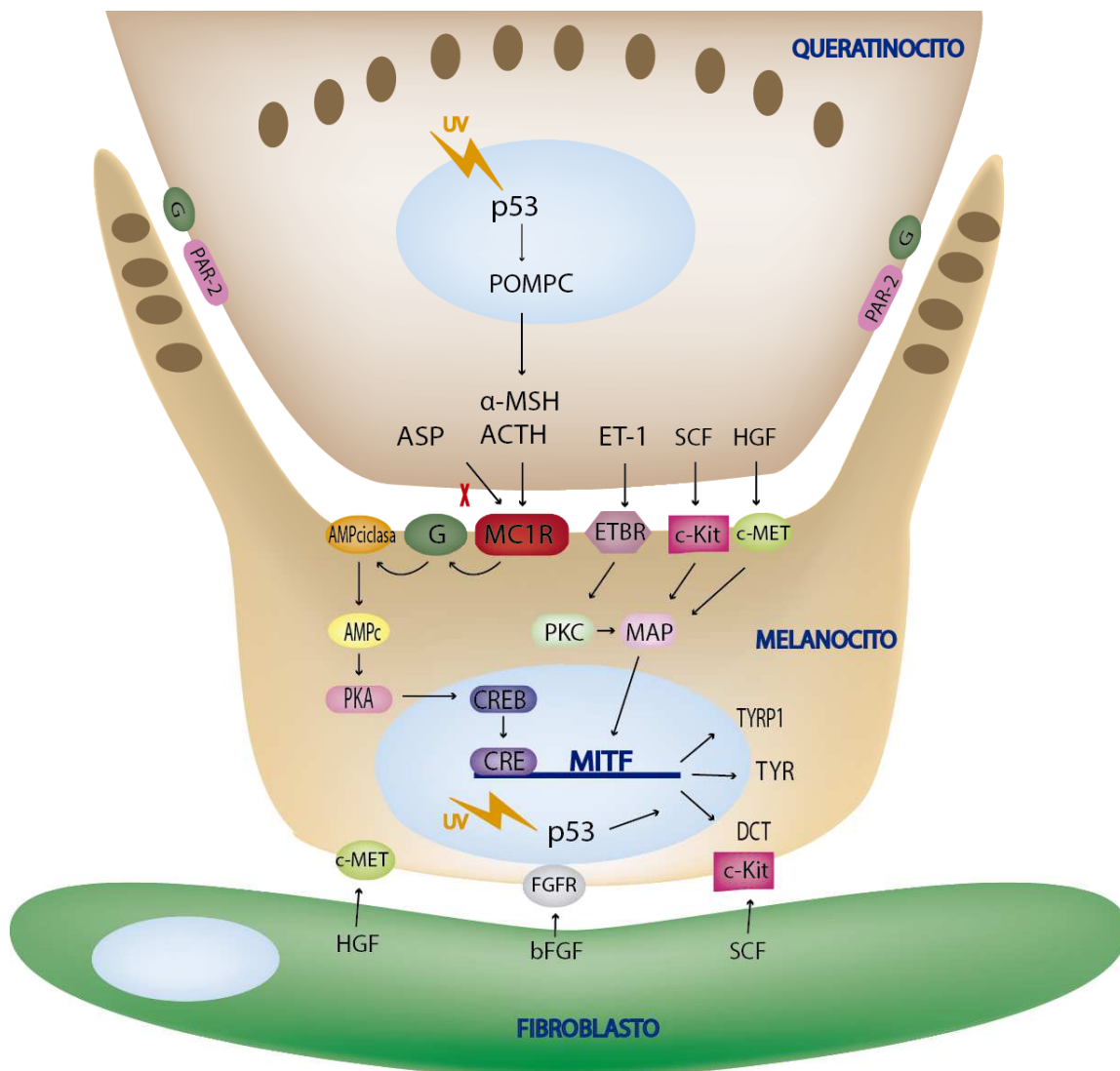


Figura 3. Representación de las rutas de regulación paracrina y autocrina que suceden tras la llegada de irradiación UV.



La regulación hormonal puede no solo modificar los niveles de melanogénesis, sino también el tipo de pigmento sintetizado. El proceso que desencadena α -MSH es inhibido por la proteína señal agouti (ASP o ASIP), que compite con α -MSH por el sitio de unión de MC1R, como se representa en la figura 3. Altas expresiones de ASP están asociadas con la pigmentación amarilla en ratones, lo que podría indicar una preferencia por la feomelanogénesis cuando se une esta proteína señal. De hecho, se ha comprobado que ASP reduce los niveles de transcripción de MITF, lo que favorece la síntesis de feomelanina en lugar de eumelanina³⁹. Por ello, MC1R y sus ligandos, α -MSH y ACTH, junto con ASP activan melanogénesis y regulan el tipo de pigmento sintetizado⁴⁰.

Además de los derivados de POMPC existen otros factores reguladores secretados por los queratinocitos tras la llegada de radiación UV, representados en la figura 3. Entre ellos destacan el stem cell factor (SCF); el factor de crecimiento del hepatocito (HGF) y la endotelina 1 (ET-1), entre otros. SCF actúa activando a MITF mediante la unión al receptor de tirosinasa c-Kit, que fosforila a la kinasa activa mitogénica (MAP), y ésta activa a MITF. De esta manera también actúa HGF, que al unirse con su receptor en el melanocito (c-Met) activa a MAP. A su vez, ET-1 se une con su receptor melánico específico (ETBR) activando una kinasa (PKC) que activa a MAP. Por todo ello, se puede concluir que los factores secretados por los queratinocitos producen, en última instancia, un aumento de la expresión de MITF, y por lo tanto, de la síntesis de enzimas melanogénicas. Además, a ET-1 se le atribuye el aumento del número de dendritas y la proliferación de melanocitos⁴¹.

Además, la radiación UV puede afectar a otras células de la piel que no se encuentran englobadas en el marco de la unidad melánica epidérmica. Es el caso del fibroblasto de la dermis, que tras la exposición a la radiación también secreta factores de regulación paracrina que estimulan la pigmentación, como se refleja en la figura 3. Entre ellos se encuentran SCF y HGF, producidos también por los queratinocitos, y el factor de crecimiento básico del fibroblasto (bFGF).

Por último, una vez que los melanocitos reciben las señales y actúan en consecuencia, los queratinocitos deben ser capaces de recibir los melanosomas. De hecho, tras la exposición de radiación UV, se aumenta la expresión y actividad de los receptores de membrana PAR-2 de los queratinocitos, aumentando la actividad fagocítica de la célula.⁴²



6. Funciones de la pigmentación

La pigmentación tiene importantes implicaciones fisiológicas y evolutivas en el ser humano, ya que el grado de pigmentación de la piel está estrechamente relacionado con el origen de nuestra especie. Los niveles más altos de pigmentación están asociados a las regiones de baja latitud y mayor exposición solar, mientras que los niveles más bajos de pigmentación están asociados a latitudes más altas con mejor exposición solar, por lo que es asumible una función protectora frente a la radiación solar. Sin embargo, esta conexión sólo puede considerarse como una reciente adaptación humana. Los primeros homínidos estuvieron recubiertos de un denso vello oscuro que protegía a la piel de la exposición solar, por lo que no era necesario pigmentarla. De hecho, la mayoría de los primates actuales mantiene esta relación, recubriendo su piel levemente pigmentada con denso vello protector. Curiosamente, los chimpancés tienen melanocitos activos sólo en la epidermis de las áreas directamente expuesta a la radiación UV, como por ejemplo, la cara y superficies de fricción⁴⁰.

La tendencia a la pérdida del vello corporal de los seres humanos ha sucedido por la necesidad de mantener el equilibrio térmico bajo un progresivo aumento de la demanda de la disipación del calor. Sin embargo, la pérdida de la cobertura de vello corporal en los primeros homínidos pudo llevar asociado un aumento de los efectos nocivos de la radiación UV, entre los que se incluyen quemaduras solares, daños a las glándulas sudoríparas, fotólisis de nutrientes como el ácido fólico y aumento de la carcinogénesis, entre otros⁴³. De esta forma, para proteger y neutralizar los efectos de la radiación solar fue necesario la activación de otros mecanismos protectores, como la pigmentación de la piel.

Posteriormente, tras los movimientos migratorios, las poblaciones que se asentaron en zonas con niveles de radiación UV más bajos se adaptaron a pieles con pigmentación más clara, ya que el riesgo de sufrir estos efectos nocivos es menor. Además, una pigmentación elevada en zonas con poca exposición solar puede ser un inconveniente puesto que la radiación estimula a los precursores de algunas moléculas, como la vitamina D⁴⁴. Existen diferentes estudios epidemiológicos que avalan esta relación, como la mayor incidencia de patologías asociadas a la falta de vitamina D en asiáticos del sur que viven en zonas del norte de Europa⁴⁵. Por lo tanto, se considera que una menor pigmentación es más eficiente en zonas de latitudes más cercanas a los polos.



El papel protector de la pigmentación está avalado por la diferencia de incidencia de melanomas, y otros carcinomas asociados a la piel, entre individuos con pigmentación clara y oscura. Los grupos étnicos con pigmentación clara tienen aproximadamente 10 veces más riesgo de desarrollar melanomas cutáneos que grupos étnicos de pigmentación oscura⁴⁶. Sin embargo, el riesgo es igual en melanomas plantares, es decir, melanomas desarrollados en las plantas de los pies, zonas menos pigmentadas incluso en individuos de piel oscura.

Estas evidencias respaldan la idea de que la principal función de la pigmentación, y por ende, de la melanina, es la protección del organismo contra las radiaciones solares. De hecho, y como se ha mencionado anteriormente, la radiación UV es el factor externo más importante en la inducción de la melanogénesis. Los fotones de dicha radiación producen daño en el ADN celular de dos formas: indirectamente, con la producción de ROS que, en última instancia, pueden dañar el DNA; o directamente mediante la producción de dímeros de pirimidina. En ambos casos, los daños pueden ser letales, mutagénicos y carcinogénicos. Precisamente, son los compuestos derivados de la exposición a la radiación los que activan las rutas de melanogénesis. Para evitar que se produzcan más daños se sintetiza melanina, capaz de absorber estos fotones, convirtiéndolos en calor u otros tipos de energía inocua⁴.

La melanina además de proteger contra la radiación UV puede neutralizar sus efectos dañinos, eliminando las especies reactivas de oxígeno producidas. De esta forma, la melanina puede actuar como una superóxido dismutasa neutralizando estos compuestos hacia peróxido de hidrógeno⁴.

7. Pigmentación e inmunidad

Recientemente se ha relacionado la pigmentación con el sistema inmune de la piel. Al tratarse de una novedosa línea de investigación, este apartado se desarrollará más detalladamente a continuación.

La piel es un órgano complejo que realiza diversas funciones entre las que se encuentra servir como barrera ante el medio interno y externo, dotando al organismo de protección contra agresiones físicas, químicas y microbiológicas. Los componentes de la piel pueden dividirse en componentes residentes, formado por células entre las que se encuentran los



queratinocitos y los fibroblastos, y también de componentes migratorios, como los leucocitos y las células presentadoras de antígeno.

El mecanismo de defensa puede dividirse en dos tipos de respuesta inmunitaria: la innata y la adaptativa. La inmunidad innata se considera la primera línea de defensa y está compuesta por células que reaccionan inespecíficamente contra ciertos antígenos. En la respuesta innata, los sistemas de reconocimiento de microorganismos presentes en las células de la epidermis pueden producir o activar varios agentes antiinfecciosos, como péptidos antimicrobianos, citocinas y quimiocinas. Por otro lado, en la inmunidad adaptativa de la piel se encuentran una serie de mecanismos antígeno-específicos realizados por varios componentes celulares de la epidermis y la dermis, también utilizados por el sistema inmunitario en otros órganos y sistemas, y cuyas características clave son la especificidad y la memoria⁴⁷.

Los queratinocitos son las células más abundantes en la epidermis y durante algún tiempo se consideró que no participaban en la respuesta inmunitaria cutánea. Ahora se sabe que tienen una función activa en las reacciones inmunológicas e inflamatorias y son una fuente importante de citocinas y otros péptidos antimicrobianos (AMPs)⁴⁸. Los AMPs son agentes inmunológicos que desarrollan sus funciones en la respuesta innata contra bacterias, virus, parásitos y células tumorales⁴⁹. En la piel humana, los mayores productores de AMPs son los queratinocitos del estrato granuloso. Pueden sintetizarse de forma constitutiva o a partir de la interacción con antígenos microbianos. Existen diferentes tipos de AMPs producidos en la piel, por lo que el rango de funciones que realizan es bastante amplio, cubriendo desde la señalización celular y proliferación de agentes inmunitarios hasta la inhibición del crecimiento de patógenos.

Entre los AMPs más conocidos se puede destacar a las defensinas. Las defensinas son pequeños péptidos ricos en cisteína que pueden dividirse en dos clases: α -defensinas y β -defensinas. Las α -defensinas están relacionadas con los neutrófilos y las mucosas intestinales, mientras que las β -defensinas están relacionadas con los queratinocitos de la epidermis. Se han encontrado en diferentes mamíferos, como humanos (hBD 1, 2 y 3), bovinos, porcinos, equinos y caninos (cDB 1, 2, 3, 102, 103, 122 y 127)⁵⁰.

Además de las funciones relacionadas con la inmunidad innata, las β -defensinas pueden actuar como agentes reguladores de la pigmentación de la piel. Esta nueva función se les atribuye tras la demostración de la unión de estos péptidos con MC1R, lo que relaciona la inmunidad con los procesos melanogénicos.

En un estudio realizado por Candille et al.⁵, se demostró que el gen que codifica para la β -defensina 103 está involucrado en la pigmentación negra dominante de algunos perros, como se muestra en la figura 4. El gen, denominado CBD103, presenta tres alelos, de los cuales el alelo mutado K^B es el que produce la defensina relacionada con la pigmentación negra. K^B es el resultado de una delección de un residuo de glicina en el segundo exón del gen. Se ha encontrado en 38 razas diferentes de perros, por lo que está claramente conservado. La mutación en el gen CBD103, denominada $\Delta G23$, hace que la β -defensina del perro tenga gran afinidad por MC1R, funcionando como un agonista muy potente. Sin embargo, y pese a lo que cabría esperar, los otros alelos salvajes de este gen (k^{br} y k^y) actúan como la proteína agouti (ASP), que inhibe la síntesis de eumelanina. De hecho, la unión de la β -defensina salvaje compite directamente con α -MSH, lo que disminuye notablemente la síntesis de MITF y, en consecuencia, las enzimas TYR, TYRP-1 y DCT, involucradas en la eumelanogénesis.

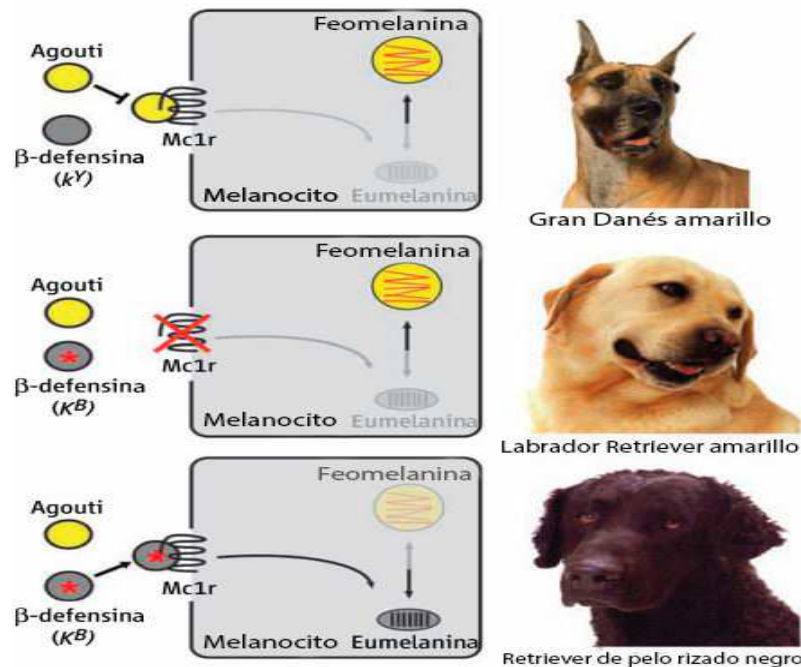


Figura 4. Producción de feomelanina o eumelanina controlado por tres genes: MC1R, Agouti y CBD103. En el caso del Gran Danés amarillo, los tres genes se presentan en forma salvaje y funcional, por lo que la unión con Agouti (ASP) estimula la producción de feomelanina. Por otro lado, el Labrador Retriever amarillo presenta CBD103 mutado pero MC1R disfuncional, lo que imposibilita la unión de ambos ligandos, estimulando la producción de feomelanina. Por último, el Retriever de pelo rizado negro presenta CBD103 mutado y MC1R funcional, por lo que tras su unión se estimula la biosíntesis de eumelanina. Adaptado de Candille et al. 2007 Science.



CDB103 es un gen ortólogo de HBD3, el gen que codifica para la β -defensina 3 en humanos. Por ello, otros grupos de investigación han buscado la misma relación encontrada en el perro entre la pigmentación y la inmunidad. Swope et al.⁵¹ han estudiado la repuesta tras la unión de la β -defensina 3 humana con MC1R. En este caso no se ha encontrado mutación en ningún alelo, por lo que la β -defensina 3 actúa como un antagonista de MC1R, funcionando como ASP, de la misma forma que ocurría con las β -defensinas salvajes de perro.

Al comprobarse diferentes comportamientos de las β -defensinas respecto a la pigmentación, se puede cuestionar si también presentan diferentes comportamientos en la defensa inmunitaria. Con este planteamiento, Leonard et al.⁵² realizaron una investigación sobre la actividad de estos péptidos frente a diferentes patógenos. Su conclusión final fue que las β -defensinas codificadas por ambos alelos, CDB103 y CDB103 Δ G23, mantienen una expresión y actividad inmunológica semejante, tanto de forma constitutiva como en presencia de patógenos.

8. Discusión

La pigmentación de la piel varía drásticamente entre poblaciones humanas geográfica y temporalmente separadas. Durante mucho tiempo se ha especulado que esta diversidad fenotípica se debe a cambios adaptativos, aunque las causas genéticas y las presiones selectivas que han producido esta variación en la pigmentación continúan cuestionándose⁵³. Datos epidemiológicos y fisiológicos recientes indican que la distribución mundial de grupos étnicos humanos con diferentes grados de pigmentación se correlaciona con la exposición a la radiación UV, lo que sugiere que la pigmentación cumple una función protectora frente a la radiación solar.

Tras la llegada de la radiación UV a las células epidérmicas se produce una cascada de señales que inducen la síntesis de melanina, el pigmento protector de nuestra piel. La regulación de la biosíntesis resultante engloba una gran cantidad de moléculas señal y receptores celulares, como se puede apreciar en la figura 3. Además de los mecanismos descritos, existen otras rutas que todavía no están bien definidas. Conforme se van estudiando



estos procesos, surgen nuevos mecanismos, lo que aumenta la complejidad de la regulación de la pigmentación³⁵.

Uno de los nuevos mecanismos descritos relaciona la pigmentación con péptidos de carácter inmunitario. Estos péptidos de la familia de las β -defensinas actúan como ligandos para MC1R en perros, ratones y humanos⁵¹. En el caso de los perros, se ha encontrado un alelo mutado, $\Delta G23$, que actúa como un potente inductor para la eumelanogénesis, siendo responsable del pelo negro de muchas de las razas estudiadas⁵. Sin embargo, no se ha detectado el polimorfismo $\Delta G23$ en la defensina 3 de humanos, por lo que no se puede extrapolar el resultado del alelo mutado a nuestra especie. No obstante, que no se haya encontrado el alelo puede deberse a que detectar variantes es más complicado por la naturaleza del grupo de genes que codifican para las defensinas en humanos⁵³.

Las β -defensinas mutadas presentes en perros actúan como agonistas del receptor MC1R, induciendo pigmentación oscura, mientras que las β -defensinas salvajes actúan como antagonistas, inhibiéndola. Por ello, se ha planteado que pueden producir diferentes resultados también en sus funciones inmunitarias. El estudio realizado Leonard et al.⁵² demuestra que tanto el péptido mutado como el salvaje presentan niveles de expresión y actividad semejantes, tanto de forma constitutiva como en presencia de patógenos comunes del perro.

La similitud entre la actividad de estos péptidos sugiere que la conservación de esta mutación no se debe a su función inmunitaria, sino a las necesidades de camuflaje y protección que surgieron durante la evolución de los vertebrados.

Los estudios realizados hasta el momento aportan datos interesantes pero también dejan abiertas muchas incógnitas. Desde un punto de vista antropológico sería interesante descubrir si los individuos que pertenecen a grupos étnicos con piel oscura poseen el polimorfismo $\Delta G23$ en su genoma, y si éste es responsable del grado de pigmentación. A su vez, como se ha mencionado anteriormente, la β -defensina salvaje estudiada funciona como una proteína agouti, inhibiendo la eumelanogénesis. De esta forma, la interacción de la β -defensina salvaje podría haber estado implicada en la despigmentación que se produjo durante los movimientos migratorios de nuestra especie. Un futuro estudio sobre los niveles de β -defensina salvaje en



diferentes grupos étnicos humanos podría ayudarnos a entender estas interacciones y sus posibles efectos.

Los genes que codifican para las β -defensinas en humanos son altamente polimórficos en secuencia y en número de copias, por lo que sería interesante investigar la posible interacción de otros péptidos de la familia de las defensinas con MC1R, así como la posible interacción con otros receptores de melanocortina cuyos ligandos no han sido descritos todavía⁵.

9. Conclusión

El grado de pigmentación de la piel depende de diferentes factores, tanto genéticos como ambientales. En la actualidad, se conocen gran variedad de procesos reguladores del grado de pigmentación, aunque se continúan proponiendo nuevos mecanismos. Recientemente se ha sugerido una posible relación entre la pigmentación y la inmunidad de la piel, lo que supone la conexión de dos sistemas que hasta la actualidad no se habían relacionado. El estudio que hemos realizado ha examinado y analizado los aspectos que se conocen hasta ahora. Sin embargo, todavía quedan muchos conceptos y mecanismos por dilucidar.

10. Agradecimientos

Me gustaría dar las gracias a mis tutoras por su paciencia, por el constante apoyo y por las soluciones que me daban cuando surgían problemas.



11. Bibliografía

1. Costin, G.-E. & Hearing, V. J. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J.* **21**, 976–994 (2007).
2. Simon, J. D., Peles, D., Wakamatsu, K. & Ito, S. Current challenges in understanding melanogenesis: bridging chemistry, biological control, morphology, and function. *Pigment Cell Melanoma Res.* **22**, 563–579 (2009).
3. Ito, S. & Wakamatsu, K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review. *Pigment Cell Res.* **16**, 523–531 (2003).
4. Brenner, M. & Hearing, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem. Photobiol.* **84**, 539–549 (2008).
5. Candille, S. I. *et al.* A α -defensin mutation causes black coat color in domestic dogs. *Science* **318**, 1418–1423 (2007).
6. Cichorek, M., Wachulska, M., Stasiewicz, A. & Tymińska, A. Skin melanocytes: biology and development. *Postępy dermatologii i Alergol.* **30**, 30–41 (2013).
7. Miot, L. D. B., Miot, H. A., Silva, M. G. da & Marques, M. E. A. Physiopathology of melasma. *An. Bras. Dermatol.* **84**, 623–635 (2009).
8. Haass, N. K., Smalley, K. S. M., Li, L. & Herlyn, M. Adhesion, migration and communication in melanocytes and melanoma. *Pigment Cell Res.* **18**, 150–159 (2005).
9. Jimbow, K. *et al.* Intracellular vesicular trafficking of tyrosinase gene family protein in eu- and pheomelanosome biogenesis. *Pigment Cell Res.* **13 Suppl 8**, 110–117 (2000).
10. Jimbow, K. *et al.* Assembly, target-signaling and intracellular transport of tyrosinase gene family proteins in the initial stage of melanosome biogenesis. *Pigment Cell Res.* **13**, 222–229 (2000).
11. Raposo, G. & Marks, M. S. The dark side of lysosome-related organelles: specialization of the endocytic pathway for melanosome biogenesis. *Traffic* **3**, 237–248 (2002).
12. Wakamatsu, K., Ohtara, K. & Ito, S. Chemical analysis of late stages of pheomelanogenesis: Conversion of dihydrobenzothiazine to a benzothiazole structure. *Pigment Cell Melanoma Res.* **22**, 474–486 (2009).
13. Land, E. J. & Riley, P. A. Spontaneous redox reactions of dopaquinone and the balance between the eumelanin and pheomelanin pathways. *Pigment Cell Res.* **13**, 273–277 (2000).
14. Land, E. J., Ito, S., Wakamatsu, K. & Riley, P. A. Rate constants for the first two chemical steps of eumelanogenesis. *Pigment Cell Res.* **16**, 487–493 (2003).
15. Palumbo, A. *et al.* Comparative action of dopachrome tautomerase and metal ions on the rearrangement of dopachrome. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1115**, 1–5 (1991).
16. Edge, R. *et al.* Dopaquinone redox exchange with dihydroxyindole and dihydroxyindole carboxylic acid. *Pigment Cell Res.* **19**, 443–450 (2006).



17. Olivares, C., Jiménez-Cervantes, C., Lozano, J. A., Solano, F. & García-Borrón, J. C. The 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) oxidase activity of human tyrosinase. *Biochem. J.* **354**, 131–139 (2001).
18. Lamoreux, M. L., Wakamatsu, K. & Ito, S. Interaction of major coat color gene functions in mice as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin. *Pigment Cell Res.* **14**, 23–31 (2001).
19. Ozeki, H., Ito, S. & Wakamatsu, K. Chemical characterization of melanins in sheep wool and human hair. *Pigment Cell Res.* **9**, 51–57 (1996).
20. Napolitano, A., Di Donato, P. & Prota, G. New regulatory mechanisms in the biosynthesis of pheomelanins: Rearrangement vs. redox exchange reaction routes of a transient 2H-1,4-benzothiazine-o-quinonimine intermediate. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1475**, 47–54 (2000).
21. Kushimoto, T. *et al.* A model for melanosome biogenesis based on the purification and analysis of early melanosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 10698–10703 (2001).
22. Cheli, Y. *et al.* α MSH and Cyclic AMP elevating agents control melanosome pH through a protein kinase A-independent mechanism. *J. Biol. Chem.* **284**, 18699–18706 (2009).
23. Forgac, M. Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 917–929 (2007).
24. Newton, J. M. *et al.* Mutations in the human orthologue of the mouse underwhite gene (uw) underlie a new form of oculocutaneous albinism, OCA4. *Am. J. Hum. Genet.* **69**, 981–988 (2001).
25. Sulaimon, S. S. & Kitchell, B. E. Review article The biology of melanocytes. 57–65 (2003).
26. Hearing, V. J. Biogenesis of pigment granules: A sensitive way to regulate melanocyte function. in *J. Dermatol. Sci.* **37**, 3–14 (2005).
27. Van Den Bossche, K., Naeyaert, J. M. & Lambert, J. The quest for the mechanism of melanin transfer. *Traffic* **7**, 769–778 (2006).
28. Scott, G., Leopardi, S., Printup, S. & Madden, B. C. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes. *J. Cell Sci.* **115**, 1441–1451 (2002).
29. Ando, H. *et al.* Melanosomes Are Transferred from Melanocytes to Keratinocytes through the Processes of Packaging, Release, Uptake, and Dispersion. *J. Invest. Dermatol.* **132**, 1222–1229 (2012).
30. Kollias, N., Sayre, R. M., Zeise, L. & Chedekel, M. R. Photoprotection by melanin. *J. Photochem. Photobiol. B.* **9**, 135–160 (1991).
31. Szabo, G. Racial difference in the fate of melanosomes in human epidermis. *Nature* **222**, 1081–1082 (1969).
32. Ha, T. *et al.* Defining the quantitative contribution of the melanocortin 1 receptor (MC1R) to variation in pigimentary phenotype. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **994**, 339–347 (2003).



33. Maddodi, N., Jayanthi, A. & Setaluri, V. Shining light on skin pigmentation: the darker and the brighter side of effects of UV radiation. *Photochem. Photobiol.* **88**, 1075–82 (2012).
34. Wolber, R. *et al.* Pigmentation effects of solar-simulated radiation as compared with UVA and UVB radiation. *Pigment Cell Melanoma Res.* **21**, 487–491 (2008).
35. Kondo, T. & Hearing, V. J. Update on the regulation of mammalian melanocyte function and skin pigmentation. *Expert Rev. Dermatol.* **6**, 97–108 (2011).
36. Buscà, R. & Ballotti, R. Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin pigmentation. *Pigment Cell Res.* **13**, 60–69 (2000).
37. Tachibana, M. MITF: a stream flowing for pigment cells. *Pigment Cell Res.* **13**, 230–240 (2000).
38. Yamaguchi, Y., Brenner, M. & Hearing, V. J. The regulation of skin pigmentation. *J. Biol. Chem.* **282**, 27557–27561 (2007).
39. Aberdam, E. *et al.* Involvement of microphthalmia in the inhibition of melanocyte lineage differentiation and of melanogenesis by agouti signal protein. *J. Biol. Chem.* **273**, 19560–19565 (1998).
40. Slominski, A., Tobin, D. J., Shibahara, S. & Wortsman, J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol. Rev.* **84**, 1155–1228 (2004).
41. Hara, M., Yaar, M. & Gilchrist, B. A. Endothelin-1 of keratinocyte origin is a mediator of melanocyte dendricity. *J. Invest. Dermatol.* **105**, 744–748 (1995).
42. Scott, G. *et al.* Protease-activated receptor 2, a receptor involved in melanosome transfer, is upregulated in human skin by ultraviolet irradiation. *J. Invest. Dermatol.* **117**, 1412–1420 (2001).
43. Branda, R. F. & Eaton, J. W. Skin color and nutrient photolysis: an evolutionary hypothesis. *Science* **201**, 625–626 (1978).
44. Clemens, T. L., Adams, J. S., Henderson, S. L. & Holick, M. F. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet* **1**, 74–76 (1982).
45. Henderson, J. B. *et al.* The importance of limited exposure to ultraviolet radiation and dietary factors in the aetiology of Asian rickets: a risk-factor model. *Q. J. Med.* **63**, 413–425 (1987).
46. Markovic, S. N. *et al.* Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin. Proc.* **82**, 364–80 (2007).
47. Meyer, T., Stockfleth, E. & Christophers, E. Immune response profiles in human skin. *Br. J. Dermatol.* **157 Suppl** , 1–7 (2007).
48. Gläser, R. *et al.* UV-B radiation induces the expression of antimicrobial peptides in human keratinocytes in vitro and in vivo. *J. Allergy Clin. Immunol.* **123**, 1117–23 (2009).
49. Bals, R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir. Res.* **1**, 141–150 (2000).



50. Afshar, M. & Gallo, R. L. Innate immune defense system of the skin. *Vet. Dermatol.* **24**, 32–8.e8–9 (2013).
51. Swope, V. B. *et al.* Defining MC1R Regulation in Human Melanocytes by Its Agonist α -Melanocortin and Antagonists Agouti Signaling Protein and β -Defensin 3. *J. Invest. Dermatol.* **132**, 2255–2262 (2012).
52. Leonard, B. C. *et al.* Activity, expression and genetic variation of canine β -defensin 103: a multifunctional antimicrobial peptide in the skin of domestic dogs. *J. Innate Immun.* **4**, 248–59 (2012).
53. Sturm, R. a & Duffy, D. L. Human pigmentation genes under environmental selection. *Genome Biol.* **13**, 248 (2012).