



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ D.C**

2024

Proyecto

*Vesículas extracelulares como biomarcadores y agentes terapéuticos en el cáncer de ovario:
una revisión sistemática*

APROBADA: _____

JURADOS: _____

ASESOR: _____



Vesículas extracelulares como biomarcadores y agentes terapéuticos en el cáncer de ovario: una revisión sistemática

Autor:

Natalia Alexandra Benito Sarmiento

Asesor:

Jonathan André Mora Quimbayo

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C. NOVIEMBRE DE 2024

Dedicatoria

Desde lo más profundo de mi amor, esto es para mis padres Fanny Sarmiento Plazas y Cesar Alexander Benito Moreno; cada esfuerzo y cada momento de amor se ve reflejado en la calidad de persona en la que me han enseñado a ser. A mis gatas que estuvieron cada noche acompañándome en el desarrollo de este proyecto. A mis amigos por su voz de aliento y apoyo que me dieron durante mi proceso en la universidad y en la elaboración de este trabajo. Y a cada persona que brindo luz y sabiduría a partir de las experiencias adquiridas por mí y para mí, por la perseverancia, compromiso, dedicación y responsabilidad con la que me propuse terminar este proceso por todo lo alto.

Agradecimientos

A mis padres y su gran amor hacia mí, son sin lugar a duda el amor más puro que tendré y son el motivo por el que este documento existe. A la UCMC por la oportunidad de pertenecer y ser en un lugar poco conocido. A mi asesor que desde un principio me apoyo y fue la guía para el desarrollo de este proyecto, por sus enseñanzas, tiempo y dedicación. Finalmente, a todos los que de una u otra manera me permitieron edificarme para llegar hasta aquí. Y gracias a mi fuerza de voluntad, disciplina y perseverancia, he demostrado que soy capaz de lograr grandes cosas. A pesar de las adversidades y los momentos difíciles, he descubierto que mi fuerza interior es inquebrantable y que siempre hay luz al final del túnel.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. ANTECEDENTES	12
3. MARCO TEÓRICO	15
3.1. Definición del cáncer	15
3.2. Patogénesis del cáncer	15
3.3 Cáncer de Ovario y su clasificación	19
3.3.1 Tumores serosos	20
3.3.2 Tumores mucinosos	21
3.3.3 Carcinoma de células claras	22
3.3.4 Carcinoma endometroide	22
3.3.5 Tumores de Brenner	23
3.4 Clasificación FIGO (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia)	23
3.5 Diagnóstico	23
3.6 Tratamiento	25
3.7 Vesículas extracelulares en condiciones fisiológicas normales.	25
3.8 Vesículas extracelulares en cáncer	26
4. DISEÑO METODOLÓGICO	27
4.1 Tipo de estudio y alcance	27
4.2 Universo y población	27
4.3 Muestra	27
4.4. Criterios de elegibilidad	27
4.4.1. Criterios de inclusión	27
4.4.2. Criterios de exclusión	28
4.5. Instrumento de recolección de la información	28
4.7. Motor de búsqueda	29
4.8. Cronograma de actividades	30
4.9. Presupuesto y fuentes de financiación	30
6. RESULTADOS	31
6.1. Vesículas extracelulares y su clasificación	31
5.1.1. Biogénesis	31
5.1.2. Funciones fisiológicas	32
5.1.3. Composición de las vesículas extracelulares	33
5.2. Métodos de aislamiento y caracterización de las vesículas extracelulares.	34

5.2.1. Métodos de aislamiento de vesículas extracelulares.	34
6.1 Aplicaciones de vesículas extracelulares en el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y quimiorresistencia del cáncer de ovario.	40
6.1.1 Vesículas Extracelulares: Herramientas Potenciales en el Diagnóstico Temprano del Cáncer de Ovario	41
5.3.2 Análisis de pronóstico del Cáncer de Ovario mediante vesículas extracelulares.	42
5.3.4. EV 's en quimiorresistencia al tratamiento de cáncer de ovario	44
7. DISCUSIÓN	45
8. CONCLUSIONES	49
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
10. ANEXOS.....	60

Índice de figuras

Figura 1. Resumen de los Hallmarks del cáncer.....	17
Figura 2. Ejemplos de la histología de los 6 tipos de cáncer de ovario.....	60
Figura 3. Algoritmo del manejo de masa anexial sospechosa/indeterminada. RMN: Resonancia Magnética. *Criterios ecográficos IOTA.)	63
Figura 4. Clasificación y manejo del tumor cáncer de ovario	63
Figura 5. Diagrama de flujo PRISMA.....	29
Figura 6. Esquema de la formación de exosomas	64
Figura 7. Representación gráfica de la estructura de los exosomas muestra una envoltura formada por una bicapa lipídica, dentro de la cual se encuentran RNA, DNA, proteínas y metabolitos	34
Figura 8. Representación gráfica de los Métodos de extracción de vesículas extracelulares.....	36
Figura 9. Métodos de aislamiento primario (% de encuestados)	37
Figura 10. Métodos de caracterización primario (% de encuestados)	40
Figura 11. Número de métodos usados para la caracterización.....	41

Índice de tablas

Tabla 1. Perfiles inmunohistoquímicos y mutaciones genéticas más comunes en subtipos histológicos de cáncer de ovario.	61
Tabla 2. Clasificación FIGO según el estadio de evolución del CO.	62
Tabla 3. Comparación de los tipos de vesículas extracelulares.	64
Tabla 4. Comparación de métodos de extracción de vesículas extracelulares.	65
Tabla 5. Comparación de métodos de caracterización de vesículas extracelulares.	66

Glosario

CO: Cáncer de Ovario

sE-cad: E-cadherina soluble

GD3: Gangliósido 3

LT: Linfocitos T

TCR: Receptor de Linfocito T

EVs: Vesículas extracelulares

CAF: Fibroblastos asociados al Cáncer
CAA: Adipocitos asociados al Cáncer
APAF1: Factor Activador de Peptidasa Apoptótica 1
LTc: Linfocitos T citotóxicos
NK: Natural Killer
PD-L1: Ligando de Muerte Programada 1
LTr: Linfocitos T regulador
TME: Microambiente tumoral
VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular
TP53: Proteína Tumoral 53
FIGO: Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
HGSOC: Carcinoma de Ovario Seroso de Alto Grado
LGSOC: Carcinoma de Ovario Seroso de Bajo Grado
mEOC: Cáncer de Ovario Epitelial mucinoso
EOVC: Cáncer Endometroide de Ovario
CEA: Antígeno Carcinoembrionario
HE4: Proteína Epididimal Humana 4 (HE4)
EMT: Transición Epitelial-Mesenquimal
ILV: Vesículas Intraluminales
MVB: Cuerpos Multivesiculares
TDE: Exosomas derivados de Tumores
miRNA: MicroRNA
UC: Ultracentrifugación
SEC: Cromatografía por exclusión de tamaño

Resumen

Las vesículas son nanovesículas que se originan de diversas células y tienen la capacidad de transportar ácidos nucleicos, proteínas y lípidos facilitando la comunicación entre células. En

el cáncer, estas vesículas participan en el crecimiento y metástasis de tumores al inhibir la respuesta inmune, promover la angiogénesis y alterar el microambiente tumoral. Además, están implicadas en la quimiorresistencia.

Ante la necesidad de encontrar nuevas alternativas para el diagnóstico y tratamiento de este tipo de cáncer tan letal, se ha intensificado la investigación de las vesículas extracelulares, lo que ha dado lugar a diversas aplicaciones terapéuticas. Este trabajo se centra en explorar el papel de las vesículas extracelulares en el cáncer de ovario, subrayando su potencial como biomarcadores para el diagnóstico temprano, monitoreo de la enfermedad y tratamiento.

Palabras clave: vesículas extracelulares, exosoma, cáncer de ovario, terapia basada en exosomas, diagnóstico de cáncer, metástasis, quimiorresistencia, biomarcadores.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de ovario (CO) afecta a más de 240.000 mujeres anualmente en todo el mundo, y presenta un alto índice de mortalidad, en gran parte debido a que el 50% de las pacientes no sobreviven más de cinco años. Esto se debe principalmente a un diagnóstico tardío, cuando la enfermedad ya ha alcanzado etapas avanzadas y ha dado lugar a metástasis, acompañadas de una diseminación peritoneal extensa con ascitis masiva y quimiorresistencia adquirida durante el tratamiento (1). La elevada mortalidad de este cáncer se atribuye a que, en sus

primeras etapas, generalmente es asintomático. Cuando los síntomas finalmente aparecen, suelen ser inespecíficos, como dolor lumbar, fatiga y distensión abdominal, los cuales, en la mayoría de los casos, se manifiestan sólo unos tres meses antes del diagnóstico (2).

Además, los métodos diagnósticos actuales, como el biomarcador CA125, presentan limitaciones significativas, ya que su elevación no es exclusiva del CO. Este marcador también puede aumentar en una variedad de condiciones fisiológicas y patológicas, como la menstruación, el embarazo, la endometriosis y otros tipos de cáncer, lo que reduce su fiabilidad y precisión como herramienta de diagnóstico (3).

Las vesículas extracelulares (EVs) son liberadas por múltiples células, estas vesículas varían de tamaño, propiedades y vías de secreción. Los exosomas, que son un subgrupo de EVs de aproximadamente 100 nm, se secretan en el microambiente extracelular para facilitar la comunicación celular mediante la transferencia de RNA mensajero, miRNA, DNA y proteínas a sus células objetivo. Las EVs han demostrado desempeñar un papel fundamental en el desarrollo y progresión del cáncer. Actúan como vehículos para la transferencia de biomoléculas que promueven la proliferación tumoral, la metástasis y la resistencia a medicamentos. Además, modulan la respuesta inmune en el microambiente tumoral, favoreciendo el avance de la enfermedad (2,4).

Debido a su papel clave en la progresión y metástasis del cáncer, las EVs han captado el interés de la comunidad científica. Su implicación en la patogénesis tumoral las posiciona como elementos prometedores para el diagnóstico, pronóstico y desarrollo de estrategias terapéuticas innovadoras. Esta revisión sistemática tiene como objetivo analizar la evidencia existente sobre las EVs en el CO, evaluando su relevancia tanto en el diagnóstico temprano como en su posible utilización como opciones de tratamiento dirigido como la inmunoterapia, esto es de gran importancia en la actualidad por la innovación de la medicina personalizada.

2. ANTECEDENTES

A nivel mundial, el CO tiene una incidencia de 10 casos por cada 100.000 mujeres entre 20 y 74 años. Esta enfermedad presenta una tasa de mortalidad del 8,4%, lo que se traduce en aproximadamente 168.752 muertes anuales a nivel global. En Latinoamérica, la incidencia es de 9,2 casos y la tasa de mortalidad de 7,3 por cada 100.000 mujeres, mientras que, en Estados Unidos, la incidencia asciende a 12.6 casos, con una tasa de la mortalidad de 8,8 (5).

En el contexto de Colombia, se reportan alrededor de 2.092 casos nuevos de CO cada año, con un total de 1.154 mujeres fallecidas entre los 30 y 84 años. Actualmente, la incidencia en Colombia es de 12,6 casos por cada 100.000 mujeres, con una tasa de mortalidad de 8.3 por cada 100.000 mujeres (6). Un estudio realizado en 2019, que analizó la prevalencia del CO en el país durante el período comprendido entre el 2009 y el 2016, reveló que, en promedio, se diagnosticaron 4.600 nuevos casos anuales, lo que equivale a una prevalencia de 31,98 por cada 100.000 mujeres. Durante este mismo periodo, la tasa de mortalidad asociada a esta enfermedad fue de 3,9 por cada 100,000 mujeres, resultando en un promedio de 925 fallecimientos anuales (7).

El CO se caracteriza por su detección tardía y su pronóstico desfavorable. Aproximadamente el 70% de los casos se diagnostican en etapas avanzadas, cuando el tumor se ha diseminado más allá de los ovarios, afectando otros órganos en la cavidad pélvica y el abdomen. Esta detección tardía, junto con la limitada efectividad de las opciones de tratamiento, contribuye a una tasa de supervivencia relativamente baja, con un promedio de cinco años o menos. Además, el cuadro clínico inespecífico del CO, que incluye síntomas como dolor abdominal, distensión y fatiga, a menudo conduce a un diagnóstico en etapas avanzadas, cuando ya existen metástasis en el área peritoneal (8).

Los métodos de diagnóstico actuales del CO carecen de la especificidad y sensibilidad necesarias para su detección temprana. Estos métodos suelen basarse en la historia clínica de la paciente y el análisis de biomarcadores como CA125. Sin embargo, el CA125 no es un marcador específico para el CO, ya que su elevación puede darse por procesos fisiológicos como el embarazo o el ciclo menstrual, así como en patologías como la endometriosis o en otros tipos de cáncer, como los de cuello uterino, mama, colon, pulmón, lo que limita su utilidad para un diagnóstico preciso (3).

En la literatura científica, se ha descrito que las EVs, incluidos los exosomas y otros subtipos, desempeñan un papel importante en la comunicación intercelular y en la progresión tumoral. Estas pequeñas vesículas secretadas por las células tumorales contienen proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes bioactivos que pueden ser transferidos a células vecinas e incluso a sitios distantes del cuerpo (9). Se ha demostrado que las EVs están involucradas en la promoción de la angiogénesis, la evasión del sistema inmunológico, la formación de metástasis en varios tipos de cáncer, incluido el CO y en el desarrollo de la quimiorresistencia. En 2018, a través de estudios *in vitro* e *in vivo* se demostró que los exosomas promueven la angiogénesis cuando contienen E-cadherina soluble (sE-cad), una proteína que actúa como un potente activador de la formación de nuevos vasos sanguíneos. Esta interacción facilita la permeabilidad vascular, lo que permite que las células tumorales migren y contribuyan a la formación del nicho metastásico (10,11). En relación con la evasión del sistema inmune mediada por los exosomas, una investigación del 2018 demostró que el gangliósido GD3, presente en la superficie exosomal, inhibe la actividad de los linfocitos T (LT) al interactuar con el receptor de LT (TCR). Esta interacción genera inmunosupresión bloqueando la respuesta defensiva de las células T (12).

A pesar de los avances en la comprensión de los mecanismos moleculares y las terapias dirigidas en el cáncer, el tratamiento del CO sigue siendo un desafío. La quimioterapia, con

agentes como el cisplatino y el paclitaxel, sigue siendo el tratamiento principal, pero muchos tumores desarrollan resistencia a estos medicamentos, lo que limita su eficacia a largo plazo. La literatura científica ha demostrado una relación entre las EVs y la quimiorresistencia, a través de diversos mecanismos descritos en estudios previos.

La quimiorresistencia es un fenómeno complejo y multifactorial que reduce la efectividad de los tratamientos convencionales utilizados en el CO. Las EVs han emergido como actores clave en este proceso, debido a su capacidad para facilitar la comunicación intercelular. Se ha sugerido que la glicoproteína P está involucrada en la quimiorresistencia en pacientes con CO, siendo transportada de célula en célula a través de exosomas, lo que incrementa hasta cinco veces la resistencia al paclitaxel (4). Además, los microRNA (miRNA) contenidos en las EVs también juegan un papel crucial en el desarrollo de la quimiorresistencia. Se ha evidenciado que las células tumorales desarrollan insensibilidad al paclitaxel a través de la transferencia exosomal del miR-21, proveniente de fibroblastos asociados al cáncer (CAF) y adipocitos asociados al cáncer (CAA). Este microRNA reduce la expresión del factor APAF-1 en las células tumorales de ovario, contribuyendo a la resistencia terapéutica (4)

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Definición del cáncer

El cáncer es una neoplasia caracterizada por la proliferación descontrolada de células humanas, lo que conduce a la formación de tumores malignos. En condiciones normales, las células del cuerpo humano se reproducen para reemplazar las células envejecidas o dañadas. Sin embargo, en el cáncer, este proceso regulado se ve alterado, y las células dañadas continúan multiplicándose de manera descontrolada, formando tumores malignos.

3.2. Patogénesis del cáncer

Las células sanas en el cuerpo humano están reguladas por un sistema de señalización celular que controla su ciclo de vida, asegurando que no se dividan de manera descontrolada. Estas señales, que pueden originarse en otras células, en factores de crecimiento o el entorno celular, activan vías de señalización específicas que indican cuándo dividirse, detenerse o someterse a la muerte programada, conocida como apoptosis (13). Sin embargo, las células tumorales adquieren varias características conocidas como Hallmarks del cáncer, lo que les permite evadir este control. Generan señales de crecimiento anormales que fomentan una proliferación descontrolada, resisten las señales que inducen la apoptosis y alteran su microambiente para promover su propia supervivencia y expansión (Figura 1) (9).

Además, las células tumorales adquieren la capacidad de alterar la diferenciación celular, un fenómeno conocido como plasticidad celular, que incluye la dediferenciación de células maduras a un estado progenitor, diferenciación bloqueada en la que las células progenitoras no se desarrollan completamente, y transdiferenciación, donde las células cambian su morfología para adquirir características de otro tipo de tejido (13).

Las células pueden evadir la vigilancia inmune debido a deficiencias funcionales en los linfocitos T citotóxicos (CTL) CD8+, las células T auxiliares Th1 CD4+ y las células Natural Killer (NK). Además, sobreexpresan proteínas de superficie antifagocíticas, como PDL-1, que interactúan con las células inmunitarias y bloquean su actividad. Por otro lado, la inestabilidad genómica de estas células les permite modificar continuamente su perfil antigénico. Esto, sumado a la producción de citocinas y quimiocinas inmunomoduladoras, crea un microambiente tumoral favorable para su crecimiento. Estas moléculas no solo promueven el reclutamiento de células inmunitarias, como monocitos y macrófagos, sino

también de células inflamatorias, las cuales, paradójicamente, contribuyen a suprimir la respuesta inmune antitumoral (8).

El microambiente tumoral (TME) está compuesto por diversos componentes celulares que desempeñan funciones clave en la progresión del cáncer. Las células endoteliales protegen a las células tumorales del sistema inmunológico, mientras que el macrófago asociado a tumores (MAT) facilita su diseminación hacia el sistema circulatorio, inhiben las respuestas inmunitarias dirigidas contra el tumor y pueden antagonizar la actividad antitumoral de los agentes citotóxicos. Por su parte, los CAF favorecen la migración de las células tumorales desde el tumor primario hacia los vasos sanguíneos, contribuyendo así a la formación de metástasis (14).

La metástasis es un proceso complejo en que las células tumorales se desprenden del tumor primario y se infiltran en los tejidos circundantes, formando asentamientos tumorales en sitios distantes. Este fenómeno comienza con la invasión local, donde las células tumorales se desprenden del tumor primario e infiltran los tejidos vecinos. Posteriormente, estas células penetran en los vasos sanguíneos y linfáticos cercanos en un proceso conocido como intravasación.

Una vez en el torrente sanguíneo, las células tumorales son transportadas a diferentes partes del cuerpo. Para colonizar nuevos tejidos, deben salir de los vasos sanguíneos o linfáticos mediante el proceso denominado extravasación. En los tejidos distantes, las células tumorales pueden establecer micrometástasis, pequeñas agrupaciones celulares. Con el tiempo, estas micrometástasis pueden crecer y evolucionar en tumores macroscópicos, marcando una fase avanzada del proceso metastásico (15,16).

La senescencia celular es un estado de detención del ciclo celular, resultado de influencias como el daño del DNA, el estrés oxidativo o el envejecimiento. Las células senescentes secretan factores bioactivos que afectan su entorno, presentan daño en macromoléculas y

experimentan cambios en su metabolismo. Este mecanismo evolucionó para inactivar y eliminar células dañadas o innecesarias, contribuyendo a mantener la homeostasis tisular y prevenir enfermedades (13,17). El fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP) puede potenciar aspectos de la tumorigénesis, incluidos la proliferación, la migración, la angiogénesis la invasión y la metástasis. Además, las células senescentes pueden experimentar una senescencia transitoria eludiendo el ataque de los agentes quimioterapéuticos y adquiriendo una resistencia a la terapia (18,19).

Las células senescentes, al ser incapaces de dividirse, no pueden generar clones de células inmortales y, por lo tanto, no pueden contribuir al desarrollo de células tumorales, incluso si tienen mutaciones genéticas preneoplásicas. La senescencia celular puede interpretarse como un mecanismo protector contra el desarrollo de tumores, que se ha desarrollado para salvaguardar a los organismos jóvenes de sufrir una muerte temprana debido a enfermedades malignas. La senescencia de las células tumorales puede ser inducida cuando se exponen a niveles de radiación ionizante o a múltiples rondas de quimioterapia en dosis clínicamente significativas (20).

En las lesiones proliferativas anormales, las células carecen inicialmente de la capacidad para generar vasos sanguíneos (angiogénica), lo que restringe su capacidad de crecimiento. Para poder aumentar su tamaño, las neoplasias en desarrollo necesitan poder estimular la formación de vasos sanguíneos (angiogénica). Las señales que desencadenan la angiogénesis incluyen factores como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y los factores de crecimiento de fibroblastos ácido y básico (FGF1/2), cada uno se une a los receptores de tirosina quinasa presentes membrana de las células endoteliales, activando vías de señalización que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos (12,17).

La capacidad de iniciar y mantener la angiogénesis parece adquirirse en etapas específicas durante la evolución del tumor, a través de lo que se podría llamar un "interruptor

angiogénico" inactivo en el entorno vascular. Los tumores parecen activar este interruptor angiogénico al alterar el equilibrio entre las señales inductoras de la angiogénesis y los factores inhibidores compensatorios (15,16).

La progresión tumoral se puede entender como una secuencia de expansiones clonales, donde cada una de ellas es desencadenada por la casual adquisición de un genotipo mutante que facilita el proceso, por ejemplo, la inactivación de supresores tumorales, y también la capacidad de mutabilidad por sensibilización a los agentes mutagénicos en los componentes de mantenimiento del DNA, un ejemplo, es el TP53 que tiene la función de detectar y reparar daños en el DNA y además de inactivar moléculas mutagénicas, sin embargo, esta actividad puede perderse mediante mutaciones inactivadoras o mutaciones directamente de TP53 (13,16). También la inestabilidad genómica se puede ver en la pérdida de DNA telomérico, en numerosos tumores conlleva inestabilidad cromosómica, lo que a su vez provoca la amplificación y eliminación de segmentos cromosómicos relacionados (21).

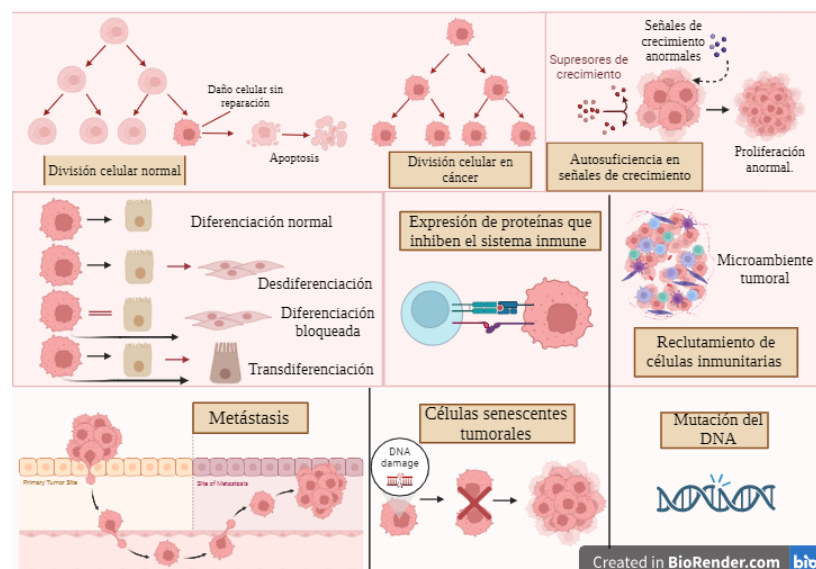


Figura 1. Resumen de los Hallmarks del cáncer. Imagen de elaboración propia basada en las fuentes (13,15,16)

3.3 Cáncer de Ovario y su clasificación

El CO se posiciona como el tercer tipo de cáncer ginecológico más común, y, se caracteriza por tener un pronóstico desfavorable debido a la detección tardía, ya que generalmente se

diagnostica en etapas avanzadas (22). Entre los factores de riesgo asociados al desarrollo de esta enfermedad se encuentran la menarquia temprana, el tabaquismo, la exposición al asbesto, la menopausia tardía, la nuliparidad, el uso de tratamientos hormonales como anticonceptivos orales, tratamientos para la fertilidad en más de una ocasión y antecedentes familiares de cáncer de ovario, mama o colon. Además, padecer endometriosis se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar ciertos subtipos de CO, en particular el cáncer de ovario endometriode, de células claras y seroso de bajo grado. También se han identificado factores genéticos relacionados con mutaciones en los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51C* y *RAD51D*, los cuales están asociados con funciones biológicas clave, como la reparación de daños en el DNA (23–25).

El CO engloba un grupo heterogéneo de tumores malignos y benignos que exhiben notables diferencias en cuanto a su etiología, patogénesis, pronóstico, características patológicas y aspectos moleculares, de la mano de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) se clasificó el CO histológicamente y según el estadio de evolución (26). Con relación a la clasificación histológica, se reportan 6 tipos: tumores serosos, tumores mucinosos, tumores mixtos, tumores endometrioides, tumores de células claras, tumores de Brenner, los cuales se detallan a continuación (26).

3.3.1 Tumores serosos

El cáncer seroso se subdivide en dos, seroso de alto grado y seroso de bajo grado; el carcinoma de ovario seroso de alto grado (HGSOC) se caracteriza por mutaciones de *TP53* y anomalías en *BRCA*. Por otro lado, el carcinoma seroso de bajo grado (LGSOC) se caracteriza por mutaciones del gen *KRAS* y *BRAF*, en menor grado con alteraciones de *TP53* ni con anomalías de *BRCA* (27).

Microscópicamente, en HGSOC se visualizan “patrones papilares complejos y atipia citológica: patrones en forma de laberinto con espacios como hendiduras, glandular, cribiforme (colador), se identifican células pleomorfas con atipia celular marcada (variación > 3:1 tamaño y forma nuclear) y recuento mitótico elevado” (27,28) como se observa en la Figura 2a (Ver Anexo B). En el caso de LGSOC, se observan al microscopio “pequeñas papilas de células tumorales que exhiben núcleos uniformes dentro de cantidades variables de estroma hialinizado, que a menudo contiene cuerpos de psammoma (Calcificaciones distróficas).” (27) (Figura 2b) (Anexo A).

Molecularmente, el HGSOC exhibe mutaciones genéticas en la línea germinal y somática de los genes *BRCA1* y *BRCA2* (21), se ha identificado que *BRCA1* es esencial en la reparación del DNA, la supervisión de los puntos de control en el ciclo celular, el proceso de mitosis, la modificación de la estructura de la cromatina y la regulación de la transcripción (29). Por otro lado, *BRCA2* tiene una función crucial en la recombinación homóloga y en la restauración del DNA. La alteración de estos genes facilita el crecimiento y la división descontrolada de las células, lo que propicia la formación de tumores (29–31).

La mutación de *TP53* (gen que codifica la proteína p53, un supresor de tumores) que puede ser mutación sin sentido dando como resultado la producción de la proteína p53 hiperestabilizado no funcional detectado por inmunohistoquímica y también la producción de la proteína p53 con características oncogénicas confiere la capacidad de actuar como un factor facilitador en la progresión y desarrollo del OC (29,32–34).

El LGSOC se caracteriza por la activación de la vía de señalización MAPK, la cual se ha observado en el 80% de los casos de este tipo de cáncer. Además, se ha identificado otras alteraciones genéticas en *NRAS*, *USP9X* y *EIF1AX*. En menor proporción, también se ha detectado la mutación en *TP53* en aproximadamente el 8% de los casos de LGSOC, en contraste con el HGSOC, donde la mutación en *TP53* se presenta en el 96% (27,35).

3.3.2 Tumores mucinosos

El carcinoma mucinoso constituye aproximadamente el 10-15% de todos los tumores primarios del CO; no obstante, el 80% de estos casos resultan ser benignos. Esta característica presenta un desafío en la práctica clínica, ya que el carcinoma mucinoso ovárico a menudo se confunde con metástasis de otros tipos de cáncer. Diferenciar con certeza entre un cáncer de ovario mucinoso primario y un cáncer metastásico en esta área anatómica puede ser un proceso complicado y requiere un enfoque cuidadoso y exhaustivo en términos de diagnóstico y evaluación clínica (27).

Histológicamente el cáncer de ovario epitelial mucinoso (mEOC) se observa al microscopio con un patrón papilar complejo, una superficie externa lisa y áreas dentro del tumor que presentan características benignas o límite. También se pueden identificar glándulas quísticas y restos luminales necróticos” (36) (Fig. 2c, Anexo A). Molecularmente, el mEOC presenta mutaciones el *TP53* en menor frecuencia en relación que el HGSOC, se han reportado el 40-50% de mutaciones en el gen *KRAS* (37,38), esta mutación promueve la proliferación y el crecimiento celular debido a la activación de la vía EGFR (39). También se ha reportado que el 20-30% del cáncer de ovario mucinoso tiene la mutación *HER2* (40), en menor frecuencia se ha reportado mutación en *BRAF*, *NRAS*, *RNF43*, *ELF3*, *ERBB3*, *KLF5*, *APC*, *PTEN* y *PI3KC* (39,41,42).

3.3.3 Carcinoma de células claras

El carcinoma de células claras se relaciona con antecedentes de endometriosis y presenta un pronóstico menos favorable en comparación con el EOVC (cáncer endometroide de ovario) y el HGSOC (carcinoma seroso de alto grado), principalmente debido a su menor respuesta al tratamiento con cisplatino (22,43). En la histología se observa tres tipos papilar, tubuloquístico y sólido, los espacios quísticos están recubiertos por células cúbicas a planas

con citoplasma claro que es rico en glucógeno, células rodeadas de secreciones eosinofílicas, el estroma puede presentar zonas edematosas, hialinizada y demuestra inflamación (44,45) (Fig. 2d, Anexo A). Las mutaciones en este tipo de cáncer son *PI3KCA* y pérdida de la expresión de BAF-250a estas mutaciones se observan morfológicamente en la endometriosis tanto típica como atípica que se asocia con el carcinoma, lo que sugiere que se producen en las etapas tempranas de la carcinogénesis (43). La mutación *ARID1A* coexiste con otras mutaciones, como la *PI3KCA*, lo que promueve la carcinogénesis de manera sinérgica y de igual manera, estas dos mutaciones se encuentran presentes en el inicio del evento de la tumorigénesis en el desarrollo del tumor. (46,47). Se han encontrado otras mutaciones: *TP53*, *BRAF*, *BRCA2*, *CTNNB1*, *ARID2*, *BCL1B*, entre otros (48,49).

3.3.4 Carcinoma endometroide

El cáncer endometroide de ovario (EOVC) es una variante sumamente inusual del cáncer de ovario epitelial, y está estrechamente relacionado con la endometriosis atípica, ya que es responsable de la lesión precursora de este tipo de cáncer (27,43,50).

Histológicamente, se visualiza “patrón de crecimiento infiltrativo con glándulas anguladas con espacios irregulares dentados a menudo asociadas con edema o inflamación,” (28,51) (Fig. 2e, Anexo A). Este tipo de cáncer de ovario se caracteriza por tener mutaciones en *CTNNB1*, *PTEN* y una mayor frecuencia en inestabilidad de microsatélites, *PIK3CA*, *ARID1A*, *PPP2R1A*, *TP53*, y deficiencia en la reparación de desajustes del DNA (52–54).

3.3.5 Tumores de Brenner

Los tumores de Brenner se caracterizan por estar formados por agrupaciones de células de transición rodeadas de un tejido fibroso denso que contiene calcificaciones en forma de espículas, una luz central de tamaño reducido y quistes revestidos por un epitelio plano atenuado, este tejido se asemeja al carcinoma urotelial (55,56) (Fig. 2f, Anexo A). Además,

es importante destacar que estos tumores pueden presentar distintos grados de malignidad, pudiendo ser benignos, de límite o malignos, lo cual está relacionado con su capacidad de proliferación e invasión (57,58).

En la tabla 1 (Ver Anexo B) se describen los perfiles inmunohistoquímicos y mutaciones genéticas más comunes en subtipos histológicos de cáncer de ovario.

3.4 Clasificación FIGO (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia)

La clasificación FIGO se fundamenta en los hallazgos obtenidos a través de la exploración quirúrgica. En la tabla 2 (Anexo C) se presenta la clasificación FIGO 2014 para el cáncer que afecta los ovarios, las trompas de Falopio y el peritoneo (22,59).

3.5 Diagnóstico

En el proceso de diagnóstico del CO, se comienza por considerar la sintomatología, la cual, es inespecífica o incluso inexistente. Los síntomas que con mayor frecuencia se presentan incluyen dolor abdominal, distensión abdominal, alteraciones en el ciclo menstrual, dispareunia (dolor durante las relaciones sexuales), pérdida de apetito, molestias en la zona lumbar y episodios de náuseas. Incluso en etapas avanzadas de la enfermedad, es posible que aparezcan complicaciones como ascitis (acumulación de líquido en la cavidad abdominal) y derrame pleural (acumulación de líquido en la cavidad que rodea los pulmones) (60).

Además, durante el examen físico, el profesional de la salud puede identificar la presencia de una masa pélvica al palpar la región abdominal, lo que constituye un signo de alarma. Ante este hallazgo, se requieren pruebas diagnósticas más específicas para confirmar la existencia de la enfermedad. Entre las pruebas diagnósticas que se emplean en la detección de esta patología se incluyen la ecografía ginecológica transvaginal y la tomografía computarizada en búsqueda de masas pélvicas (61). En la Figura 3 (Anexo D) y Figura 4 (Anexo E) se observan los algoritmos del manejo de la masa pélvica sospechosa durante el diagnóstico de

cáncer de ovario y la clasificación del CO una vez estudiada por imagenología y marcadores tumorales.

En cuanto a los análisis de laboratorio, se realiza la medición del marcador tumoral CA125, un resultado elevado puede generar sospechas sobre la presencia del CO. Por otro lado, en el caso del carcinoma mucinoso, se observa un aumento en el marcador tumoral CA 19.9, y también incremento en los niveles del antígeno carcinoembrionario (CEA) (59,60). El cáncer de ovario seroso y endometroides se sobreexpresa la proteína epididimal humana 4 (HE4) (59).

Para la identificación del CO, se realiza una estadificación por medio de visualización microscópica de histerectomía, biopsias, lavados intraperitoneales, anexectomía bilateral y, análisis retroperitoneales, de esta manera, se realiza la clasificación según su tipo histológico, estadio según clasificación FIGO (Tabla 2, Anexo C) y, basado en estudios moleculares e inmunohistoquímicos (Tabla 1, anexo B).

3.6 Tratamiento

Después de haber sido diagnosticada esta patología, el tratamiento depende de la estadificación FIGO que se encuentre, en estadios iniciales, consiste en quimioterapia con agentes de platino, como el cisplatino o el carboplatino, junto con un taxano, como el paclitaxel o el docetaxel. La duración y el número de ciclos de quimioterapia variarán y serán determinados por el médico tratante, quien considerará factores individuales como la etapa de la enfermedad, la respuesta del paciente al tratamiento y otros aspectos clínicos (3,62). Para estadio avanzado se recomienda (3):

1. Cirugía citorreductora seguida de quimioterapia intravenosa con platino/taxano.
2. Cirugía citorreductora seguida de quimioterapia intraperitoneal e intravenosa.

3. Cirugía citorreductora seguida de quimioterapia intravenosa con platino/taxano combinado con bevacizumab.
4. Quimioterapia neoadyuvante con cirugía citorreductora de intervalo entre los ciclos 3 y 6, seguida de quimioterapia con consideración de terapia regional dirigida intraabdominalmente para pacientes con una citorreducción óptima (quimioterapia intraperitoneal calentada en tiempo de la cirugía o IP después de la cirugía).
5. Quimioterapia para pacientes que no puedan ser intervenidos quirúrgicamente o que no progresan bajo la quimioterapia neoadyuvante (3).

3.7 Vesículas extracelulares en condiciones fisiológicas normales.

Las EVs son partículas rodeadas por una membrana plasmática y contienen diversas biomoléculas. Investigaciones recientes han evidenciado que las EVs, como los exosomas, tienen un papel fundamental en la regulación de la homeostasis y se liberan mediante procesos biológicos generalizados. Se pueden encontrar en diversos fluidos biológicos, como la orina, la sangre, la leche materna, el líquido de lavado broncoalveolar, la saliva y el líquido amniótico, entre otros (63). Entre las EVs, los exosomas han sido objeto de un estudio más exhaustivo en términos de su función en la fisiología normal y la homeostasis (64)

También se sabe que las EVs transportan una amplia gama de biomoléculas en su carga, como RNA, proteínas, lípidos y otras sustancias, algunas de las cuales funcionan como "etiquetas" para guiar a las vesículas extracelulares a su destino específico (64,65). Un aspecto interesante es que las EVs promueven la diferenciación de células madre, facilitan la comunicación entre células y contribuyen a la cicatrización de heridas (66).

Las EVs también se han visto involucradas en la evolución de la enfermedad por ejemplo en enfermedades neurodegenerativas, autoinmunes y en el cáncer (67).

3.8 Vesículas extracelulares en cáncer

Las EVs, como los exosomas, poseen la capacidad de influir en la progresión del cáncer al modificar el microambiente tumoral (TME) con el fin de facilitar el crecimiento y la supervivencia del tumor, además de preparar sitios a distancia, conocidos como nichos metastásicos, antes de la llegada de las células tumorales metastásicas (68).

En 2011, se evidenció que los exosomas secretados por macrófagos transportan miR-223, el cual facilita la invasión de las células de cáncer de mama, promoviendo así su progresión tumoral (69).

Se ha comprobado que los pacientes con cáncer presentan niveles más elevados de vesículas circulantes en su sistema, aproximadamente el doble en comparación con individuos sanos (70).

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio y alcance

La investigación propuesta se basó en una revisión sistemática de la literatura basada en una búsqueda estructurada en base de datos, revistas científicas, libros y artículos de revisión, seguido a esto, se realizó una aplicación de criterios de selección de artículos y clasificación de la información para la construcción del producto; con el fin de obtener información significativa que contribuyan al conocimiento, al avance científico y medicinal.

4.2 Universo y población

Para este fin, se realizó una revisión de la bibliografía en PubMed, revistas científicas, Elsevier y libros que brinden información sobre la implicación de las vesículas extracelulares en cáncer de ovario, avances terapéuticos con el uso de vesículas extracelulares en cáncer de ovario metastásico. La información se obtuvo individualmente y se correlacionó sobre los posibles efectos que puede ofrecer a favor de la medicina y el avance de la ciencia.

4.3 Muestra

Esta investigación se realizó haciendo uso de 315 artículos, de literatura científica publicados entre los últimos 10 años antes del año vigente que contuvieran información de cáncer, cáncer de ovario, vesículas extracelulares y la implicación de vesículas extracelulares en cáncer de ovario.

4.4. Criterios de elegibilidad

4.4.1. Criterios de inclusión

Literatura aplicable al motor de búsqueda propuesto; los artículos estén en idioma español e inglés, además del tiempo de vigencia de la literatura que es 10 años antes del año vigente (2023-2013). Se pretendió incluir información obtenida de las siguientes bases de datos como PubMed, SpringerLink, SciELO, ScienceDirect.

4.4.2. Criterios de exclusión

No se incluyó en esta revisión de la literatura, artículos con métodos aplicados en animales tales como: perros, cerdos, caballos, además de literatura que menciona temas tales como: cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de seno o cáncer gástrico, enfermedades neurodegenerativas. Literatura gris tales como: cartas científicas, notas al editor, documentos comerciales y notas de congresos.

4.5. Instrumento de recolección de la información

Uso de “Rayyan” para identificar cada artículo seleccionado, la aplicabilidad de este en las variables a tratar en el artículo. Seguido de una checklist en formato de búsqueda sistemática PRISMA

4.6. Diagrama PRISMA

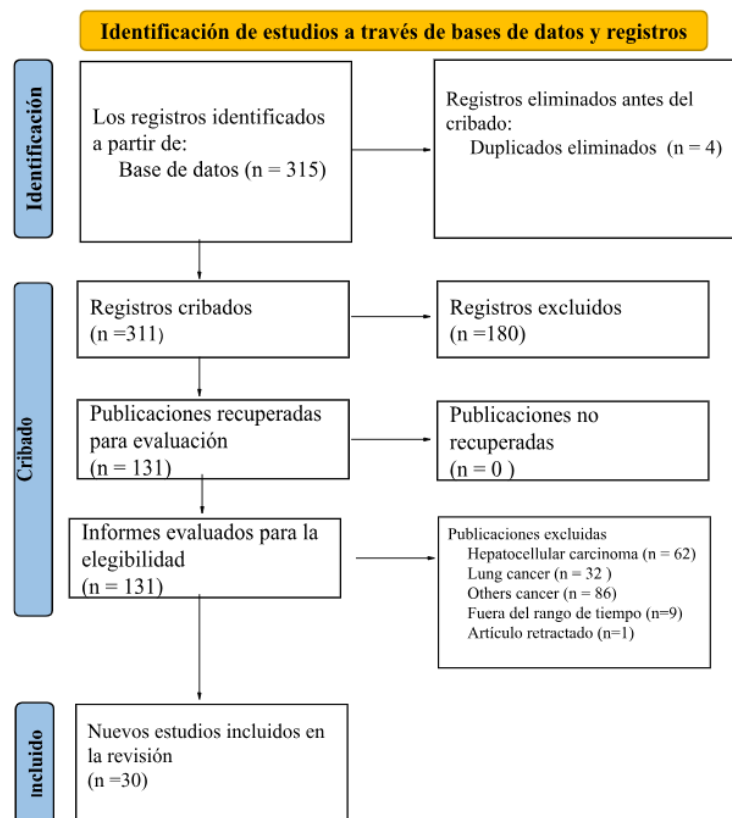


Figura 5. Diagrama de flujo PRISMA

Teniendo en cuenta los criterios establecidos, y solo la lectura de títulos, se consideraron 311 artículos (tras eliminar 4 artículos duplicados). Se procedió a leer títulos y, resúmenes, a partir de esa lectura, se descartaron 135 artículos principalmente por información respecto a otros tipos de cáncer como hepático (n=62), pulmonar (n= 32), entre otros (n=86), por salirse del rango de tiempo de búsqueda a pesar de la discriminación del tiempo (n=9) y otro que al buscarlo aparecía como artículo retractado (n=1) por ende no era confiable para esta revisión sistemática.

Finalmente, se obtuvieron 131 artículos que cumplían los criterios y los cuales fueron seleccionados para realizar esta revisión sistemática. Todos ellos mencionaban información enriquecedora respecto a estudios realizados con vesículas extracelulares y fuentes que apoyaban cada uno de estos hallazgos encontrados.

Por último, se realizó una búsqueda en Google Scholar haciendo uso del motor de búsqueda y se encontraron 30 artículos nuevos que cumplieran con los criterios de inclusión.

4.7. Motor de búsqueda

De acuerdo a la base de datos de consulta se empleó un motor de búsqueda adaptado a los requerimientos del portal web, sin embargo, como estrategia genérica de búsqueda de la información se empleó: Falopian tube cancer OR Epithelial carcinoma OR Ovarian neoplasms AND (Extracellular vesicles OR Exosomes OR Microvesicles OR Nanovesicles) AND ((Biological markers OR Biomarkers OR Diagnosis) AND (Treatment OR Therapeutics OR Chemoresistance) AND (metastatic niche OR Cancer metastasis OR Pro-metastatic).

4.8. Cronograma de actividades

4.9. Presupuesto y fuentes de financiación

La fuente de financiación para la propuesta de investigación proviene de recursos propios del investigador.

PRESUPUESTO			FUENTES DE FINANCIACIÓN
BIENES			
MUEBLES Y ENSERES	\$ 2.000.000,00		PROPIA
COMPUTADORES	\$ 3.000.000,00		PROPIA
TOTAL BIENES		\$ 5.000.000,00	
SERVICIOS	\$ 700.000,00		
RED INTERNET	500.000,00		PROPIA
TOTAL PRESUPUESTO		\$ 6.200.000,00	

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Analizar la importancia de las vesículas extracelulares en el cáncer de ovario, centrándose en sus métodos de obtención, detección y aplicaciones clínicas.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar las características generales y los diferentes tipos de vesículas extracelulares involucradas en el cáncer de ovario.
- Comparar los métodos utilizados para obtener, detectar y caracterizar las vesículas extracelulares en el contexto del cáncer de ovario.
- Describir las aplicaciones clínicas de las vesículas extracelulares en el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y quimiorresistencia del cáncer de ovario.

6. RESULTADOS

6.1. Vesículas extracelulares y su clasificación

El término "vesículas extracelulares" se refiere a un conjunto diverso de partículas liberadas de manera natural por las células. Las vesículas están rodeadas por una membrana lipídica y no pueden replicarse, no contienen núcleo funcional. Se usan otros términos para hacer referencia a las vesículas "exosomas", "microvesículas" y "cuerpos apoptóticos", en la siguiente tabla 4 se describen algunas diferencias entre ellas (Anexo F) (71).

5.1.1. Biogénesis

La formación de exosomas comienza por la vía endocítica en la superficie de la membrana celular con la formación de endosomas tempranos que maduran a endosomas tardíos que encapsulan proteínas específicas, ácidos nucleicos y otras sustancias para formar múltiples vesículas intraluminales (ILV), que son precursores de los exosomas. Los endosomas tardíos contienen múltiples ILV y se desarrollan en cuerpos multivesiculares (MVB), estos son impulsados por la maquinaria ESCRT (Complejo de Clasificación Endosómica Requerido para el Transporte) que permite la remodelación de la membrana de la vesícula intraluminal, lo que permite la gemación y la clasificación de carga en cuerpos multivesiculares, posteriormente las vesículas intraluminales se secretan tras la fusión de los MVB con la membrana plasmática, liberando las EV en el espacio extracelular. Estas vesículas pueden ser liberadas por diferentes células: epiteliales, células del sistema inmunitario, neuronas, células tumorales, etc (72,73). Los ectosomas se forman por medio de gemación de la membrana plasmática, este proceso involucra la formación de una protuberancia que posteriormente se escinde y se da la liberación de estos ectosomas, de igual manera, se forman los oncosomas, estos provenientes de células cancerosas (Figura 6, Anexo G).

5.1.2. Funciones fisiológicas

Las EVs pueden comunicarse intercelulares al transportar información mediante proteínas, ácidos nucleicos y lípidos de una célula a otra. Además de desempeñar funciones inmunorreguladoras en relación con la presentación de antígenos y a la tolerancia inmune. En la literatura, se ha descrito que los exosomas promueven la tumorigénesis, la metástasis y la relación a la adquisición de resistencia al cáncer, los cuales se denominan exosomas derivados de tumores (TDE), tienen la capacidad de inducir la angiogénesis, promoviendo la migración e invasión de células cancerosas para el desarrollo de un nicho premetastásico y de igual manera, favorecen la regulación de este por medio de proteínas y miRNA (4,10,74). Además, estos exosomas derivados de tumores, durante el tratamiento de quimioterapia, encapsulan el agente químico y lo eliminan como una sustancia perjudicial, protegiendo así a las células tumorales del ataque del medicamento. Otro mecanismo de resistencia implica el intercambio de carga exosomal que contiene miRNA, RNAm y proteínas asociadas a la resistencia a los fármacos tumorales. Asimismo, aprovechan esta ventaja al secuestrar este mecanismo de resistencia para transferirlo a las células sensibles (75,76).

5.1.3. Composición de las vesículas extracelulares

Las vesículas contienen una membrana fosfolipídica cuyo grosor depende de la cantidad de proteínas. Además, comprenden una región intraluminal compuesta por agua, proteínas, biomoléculas como DNA, RNA, iones y lípidos, entre los componentes lipídicos de los exosomas están: esfingomielina (SM), fosfatidilserina (PS), ácido fosfatídico (PA), fosfatidilinositol (PI), ceramida y colesterol (70). Las EVs contienen abundantes proteínas, entre ellas proteínas citosólicas como Alix (implicada en la biogénesis de las EV), tetraspaninas como CD9, CD81 y CD63 (Biogénesis, selección de carga de los exosomas, unión y captación de exosomas por células diana, presentación de antígeno en una respuesta inmune) proteínas de choque térmico como HSP70 y HSP90, proteínas de transporte como RAB GTPasa, anexinas, además contienen pequeñas moléculas como miRNA, RNAm,

tRNA, circRNA, lncRNA, snRNA, snoRNA los cuales modulan la expresión génica y han sido consideradas en estudios como biomarcadores (77,78).

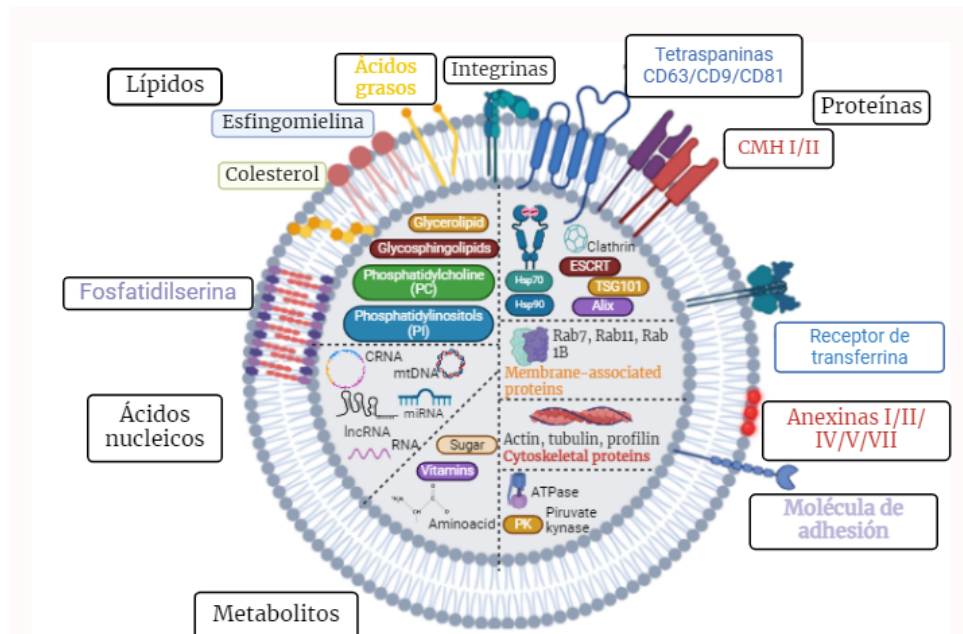


Figura 7. Representación gráfica de la estructura de los exosomas muestra una envoltura formada por una bicapa lipídica, dentro de la cual se encuentran RNA, DNA, proteínas y metabolitos. Figura de elaboración propia basada en las fuentes (9,71,75,79)

5.2. Métodos de aislamiento y caracterización de las vesículas extracelulares.

5.2.1. Métodos de aislamiento de vesículas extracelulares.

La separación de EVs se fundamenta en cuatro principios físicos y químicos: tamaño, densidad, carga y composición molecular. Actualmente, los métodos más empleados para su aislamiento incluyen la ultra centrifugación diferencial (UC), la centrifugación por gradiente de densidad (DGC) y la cromatografía de exclusión de tamaño (SEC), los cuales también se combinan entre sí para optimizar los resultados (80). A continuación, se presenta una tabla comparativa que resume las características clave de estos métodos.

Como se refleja en la tabla 5 (Anexo H), la ultracentrifugación diferencial, considerada el estándar de oro, ofrece una alta recuperación de vesículas; sin embargo, presenta el desafío de

co-aislar material no exosómico, lo que puede comprometer la pureza de la muestra. A pesar de esta limitación, sigue siendo la técnica más utilizada por los investigadores para la extracción de EVs (81). En contraste, la centrifugación por gradiente de densidad proporciona mayor pureza al separar los contaminantes de la muestra, mejorando así la calidad del análisis de las EVs. Sin embargo, uno de los principales retos es la co-aislación de lipoproteínas de alta densidad (HDL) ya que tanto las HDL como las EVs comparten un rango de densidad similar, lo que resulta en una contaminación común en las muestras aisladas (82).

La SEC se muestra efectiva para separar moléculas según su tamaño, eliminando lipoproteínas más grandes como HDL, aunque persiste el riesgo de aislar lipoproteínas más pequeñas, como los quilomicrones. Aunque la SEC mejora la pureza al reducir la presencia de HDL, la co-aislación de lipoproteínas más pequeñas sigue siendo un reto para la obtención de muestras altamente puras (82–84).

Por otro lado, la captura por inmunoadherencia se distingue por su alta especificidad, permitiendo el aislamiento de subconjuntos específicos de exosomas, aunque su eficacia está condicionada por la presencia de antígenos en la superficie de las vesículas (85,86).

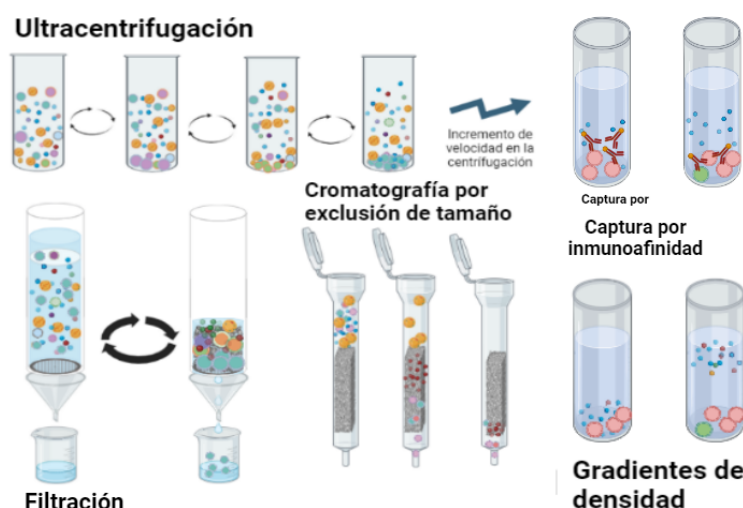


Figura 8. Representación gráfica de los Métodos de extracción de vesículas extracelulares. Imagen de elaboración propia basada en las fuentes (81,86)

En un estudio de ACS Publications en 2018, se comparó tres métodos: la UC, la SEC y la combinación de ambos, que consistía en un ciclo de UC seguido de purificación por SEC. Utilizando suero humano, se evidenció que la UC presenta un bajo rendimiento en muestras altamente viscosas, lo que requiere una reducción de la viscosidad y un aumento en el tiempo de UC para mejorar la recuperación de exosomas (87). En este ensayo, se optimizó la técnica de UC alcanzando recuperaciones de $1,5 \times 10^9$ exosomas/mL en el primer ciclo y $1,0 \times 10^9$ exosomas/mL en el quinto ciclo. En comparación, la metodología de SEC y la combinación de técnicas obtuvieron $1,3 \times 10^9$ exosomas/mL y $1,2 \times 10^9$ exosomas/mL, respectivamente, destacando que la SEC mostró mayor contaminación por proteínas, mientras que la UC optimizada evidenció menor contaminación. La elección del método se debe considerar en función del tipo de análisis, ya que la SEC es más adecuada para el análisis de RNA, mientras que la UC optimizada es preferible para estudios del proteómicos (84).

En 2015, el Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV) llevó a cabo un cuestionario a 196 investigadores de diversos países para identificar los métodos de aislamiento y caracterización de vesículas más utilizados. Los resultados revelaron que la ultracentrifugación era el método primario de aislamiento para el 81% de los encuestados, seguida de la combinación de técnicas de aislamiento con un 59%, la centrifugación en gradiente de densidad (20%), la filtración (18%), la cromatografía de exclusión de tamaño (15%), precipitación (14%) y con menor frecuencia el uso de perlas magnéticas (3%) (Figura) (88).

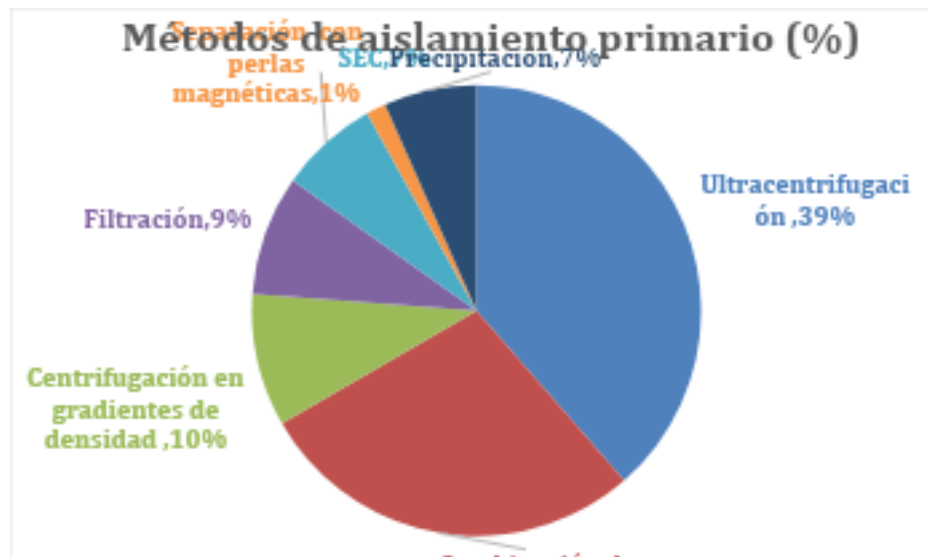


Figura 9. Métodos de aislamiento primario (% de encuestados). Adaptada de “Técnicas utilizadas para el aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares: resultados de una encuesta mundial.” (88)

El documento MISEV2018 de la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares sugiere métodos basados en la recuperación y especificidad. Se propone la ultracentrifugación prolongada para alta recuperación y baja especificidad, la ultracentrifugación diferencial para recuperación y especificidad intermedias, y métodos como la filtración combinada con SEC y el aislamiento por densidad mediante flotación o gradientes de separación para lograr alta especificidad (86,89).

Para abordar los desafíos en el aislamiento de vesículas extracelulares, es fundamental considerar las directrices establecidas por el ISEV en su documento MISEV2018, que ofrecen un marco sólido para la selección de métodos de aislamiento, enfatizando el equilibrio entre la recuperación y la especificidad. Aunque la UC es la técnica más utilizada, su aplicación debe contextualizarse según las recomendaciones del MISEV. Asimismo, la combinación de técnicas ha demostrado ser efectiva para mejorar la calidad de las vesículas, asegurando la ausencia de proteínas no vesiculares y evitando la agregación de vesículas, lo que contribuye al aislamiento de vesículas biofísicamente intactas (90). Al seguir las pautas del MISEV2018, los investigadores pueden establecer enfoques más rigurosos y reproducibles, optimizando así la aplicabilidad clínica de las vesículas extracelulares.

5.2.3 Métodos para la caracterización de las vesículas extracelulares

La caracterización de EVs implica estimar la cantidad de vesículas presentes, confirmar su existencia y evaluar las contribuciones de componentes no vesiculares. Sin embargo, esta caracterización se ve dificultada por el tamaño reducido de las vesículas.

Posterior al aislamiento de las vesículas, se realiza un análisis de las partículas obtenidas, lo que se realiza es un análisis físico o composicional. El análisis físico proporciona información respecto al tamaño y la concentración de las partículas, este procedimiento se realiza por medio del análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA), dispersión dinámica de la luz (DLS), microscopía electrónica y detección de pulso resistivo sintonizable (tRPS) (63,85). En la Tabla 6 (anexo I) se evidencia el principio de algunas técnicas, las ventajas y desventajas de su uso.

Con relación al análisis composicional generalmente se realiza mediante tinción, inmunotransferencia o análisis proteómico y este procedimiento se realiza para brindar información sobre el contenido de las vesículas aisladas.

A raíz del reconocimiento de la diversidad de subgrupos de vesículas, con distintos tamaños y orígenes celulares, hace crucial analizar los resultados de los métodos de separación y determinar la posibilidad de que los biomarcadores o funciones estén vinculados con los vehículos extracelulares en lugar de otros materiales coaislados. En respuesta a esta necesidad, el MISEV2018 establece una clasificación de proteínas para ser evaluadas en muestras de EVs: 1) marcadores proteicos positivos asociados tanto a la membrana como al citosol de las vesículas, 2) marcadores proteicos negativos como referencia de pureza, 3) marcadores específicos de subtipos particulares de vesículas extracelulares, y 4) proteínas extracelulares solubles con funciones activas (Tabla 7, Anexo J). Y al igual, se recomienda realizar una cuantificación de vesículas recolectadas durante el aislamiento, de esta manera comprobar la pureza de lo extraído.

En la caracterización de vesículas individuales, se emplean diversas técnicas que proporcionan una imagen detallada, como la microscopía electrónica y técnicas relacionadas con la microscopía de barrido por sonda. Además, se utiliza el análisis de partículas individuales para estimar características biofísicas, como el tamaño, mediante sensores de fuerza resistiva o dispersión de luz. También se examinan las propiedades de fluorescencia mediante citometría de flujo de alta resolución. Sin embargo, estas técnicas tienen limitaciones, ya que las vesículas extracelulares varían en tamaño y las más pequeñas pueden no ser detectadas mediante citometría de flujo. Además de las limitaciones de tamaño, pueden surgir otras limitaciones, como la presencia de agregados de proteínas que pueden confundirse con vesículas durante el análisis. Para abordar estas limitaciones, se ha desarrollado la proteómica, que utiliza proteínas marcadoras para detectar vesículas extracelulares. Varios autores han propuesto el uso de tetraspaninas, como CD63, CD81 y CD9, así como proteínas como Alix y HSP70. Se ha demostrado que, al marcar estas proteínas con fluorescencia, se puede determinar la heterogeneidad de las vesículas extracelulares y los exosomas (63,89)

En 2015, el ISEV realizó un cuestionario a 196 investigadores de diversos países para identificar los métodos de aislamiento y caracterización de vesículas más utilizados. En cuanto a las técnicas empleadas para la caracterización, los resultados arrojaron que el Western Blot fue utilizado por el 74%, el seguimiento de partículas individuales (SPT) por el 72%, y la microscopía electrónica por el 60%. Entre aquellos que emplearon SPT, el 80% utilizó el seguimiento de nanopartículas (NTA), el 18% empleó detección de pulsos resistivos sintonizables (TRPS) y el 12% optó por dispersión de luz dinámica (DLS). Además, el 41% de los investigadores reportó el uso de citometría de flujo, de los cuales el 61% aplicó citometría directa para analizar EVs mayores de 200 nm de diámetro y EVs más pequeñas

según el citómetro que se use. Asimismo, el 49% utilizó citometría de flujo después de la captura con microesferas, y solo el 10% empleó ambas técnicas (88).

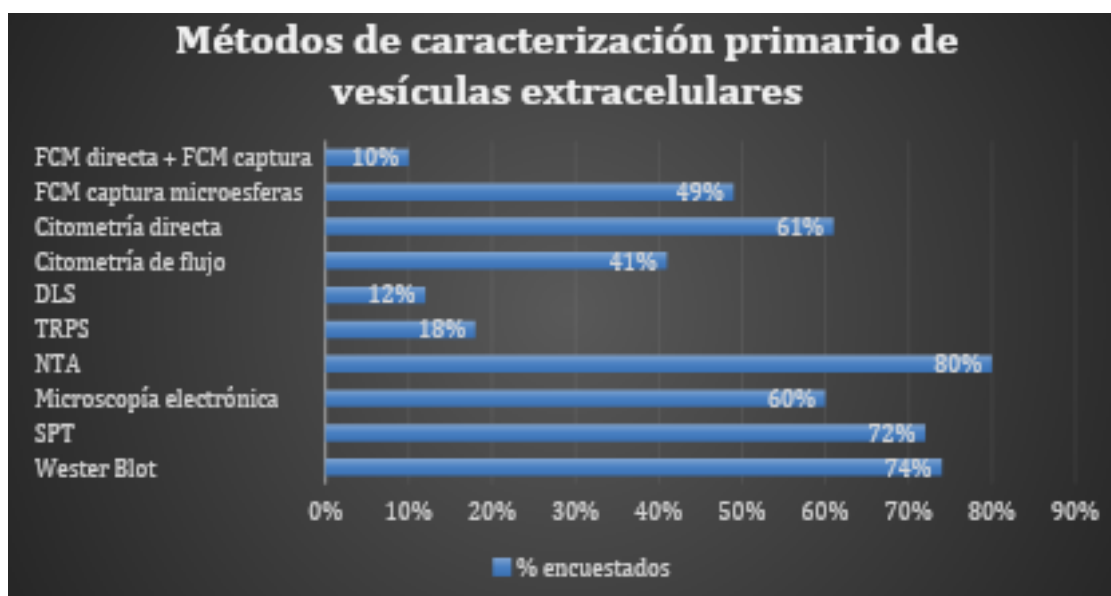


Figura 10. Métodos de caracterización primario (% de encuestados). Adaptada de “Técnicas utilizadas para el aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares: resultados de una encuesta mundial.” (88)

Además, se destacó que la mayoría de los encuestados utilizaban 2 o más métodos para la caracterización de EVs, como recomienda MISEV.

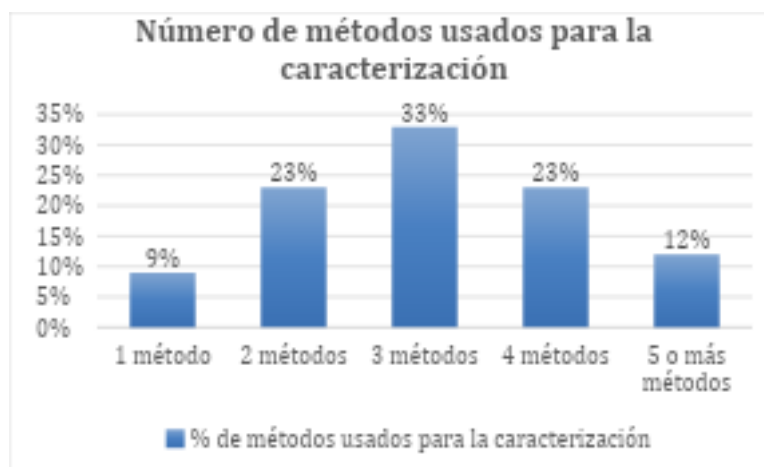


Figura 11. Número de métodos usados para la caracterización. Adaptada de “Técnicas utilizadas para el aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares: resultados de una encuesta mundial.” (88). En este gráfico se describe el % de los encuestados que usan 1 o más métodos para la caracterización de vesículas extracelulares.

6.1 Aplicaciones de vesículas extracelulares en el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y quimiorresistencia del cáncer de ovario.

6.1.1 Vesículas Extracelulares: Herramientas Potenciales en el Diagnóstico Temprano del Cáncer de Ovario

Los primeros intentos para identificar biomarcadores en los exosomas involucraron el recuento de EVs en el suero como indicadores diagnósticos del CO. Esto se basó en la observación de que las células cancerosas secretaban una cantidad significativamente mayor de EVs en comparación con las células sanas. Esta estrategia también permitía determinar la etapa de la enfermedad, ya que el aumento en la cantidad de vesículas circulantes correlacionaba con la progresión de la enfermedad (97).

Tras diversos estudios, se ha establecido que la firma de miRNA puede distinguir entre pacientes con CO y mujeres sanas debido a la sobreexpresión y subexpresión de ciertos miARN. Estos niveles séricos se correlacionan positivamente con la etapa del tumor (95,98–100). En 2016 estableció que miR-200a/b/c, miR21 y miR373 están elevados en pacientes con CO en comparación con controles sanos (99). En 2018, se observó un aumento significativo del miR-200b en pacientes con CO que en los exosomas de mujeres sanas. Además, se descubrió que este miR-200b desempeña un papel dual, actuando como promotor de la apoptosis de las células de CO. Sin embargo, cuando el miR-200 está disminuido, se correlaciona a la recurrencia del cáncer y a una menor supervivencia a esta enfermedad (101).

Las proteínas presentes en las EVs se consideran una fuente prometedora de biomarcadores para el diagnóstico de CO. En un estudio realizado en 2020, se investigó la viabilidad de un nuevo biomarcador al buscar el antígeno CA125 dentro de estas vesículas. Los resultados revelaron que los niveles de CA125 en las EVs eran superiores a los niveles séricos de

CA125. Este hallazgo sugiere que el CA125 contenido en las EVs podría ser un biomarcador prometedor para el diagnóstico temprano del CO; en este estudio, se destacó que los niveles de HE4 en suero y los niveles exosomales de CA125 podría mejorar la eficacia del diagnóstico temprano de CO (102,103). En 2014, se demostró el potencial de la proteína de choque térmico 27 (HSP27) como biomarcador para identificar cáncer de ovario, en este estudio, se describe que los niveles séricos de esta proteína están elevados en pacientes con metástasis peritoneal (5.475 ng/mL) en comparación con pacientes sin metástasis peritoneal (3.276 ng/ml) y mujeres sanas (2.46 ng/mL) (104).

En 2019, se demostró que la molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM) es un biomarcador prometedor para el diagnóstico de CO debido a que esta sobreexpresada en presencia de esta enfermedad junto con otras proteínas como claudina 3, ácido graso sintasa (FASN), cadena beta-3 de tubulina (TUBB3) (105).

5.3.2 Análisis de pronóstico del Cáncer de Ovario mediante vesículas extracelulares.

En enero de 2024, se llevó a cabo una investigación para evaluar la predicción del pronóstico en el CO mediante proteínas asociados a vesículas. Los resultados revelaron que el Claudin-4 (CLDN4) una proteína cuya sobreexpresión se asocia con un mal pronóstico en esta enfermedad, desempeña un papel clave en la angiogénesis y la resistencia a la quimioterapia (10 8). Otro biomarcador considerado para determinar el pronóstico es la metaloproteinasa de matriz 1 (MMP1), que se transporta en forma de RNAm dentro de las EVs. La MMP1 desempeña un papel crucial en la diseminación peritoneal del CO. Su detección se asocia con un pronóstico desfavorable, ya que indica la progresión del cáncer hacia el peritoneo, favoreciendo así la metástasis (109). En 2019, se identificaron biomarcadores de pronóstico desfavorable en la ascitis maligna, como EpCAM, CD171 y metaloproteinasas MMP-1, 2 y 9, que están relacionados con la invasión, migración y diseminación metastásica (110). Por otro lado, MALAT1, un RNA largo no codificante, estimula la angiogénesis y la

diseminación metastásica en el cáncer de ovario epitelial. Los niveles de MALAT1 derivados de EVs en suero, son indicativos de etapas avanzadas y metastásicas de la enfermedad. Además, los exosomas derivados de ascitis maligna CO muestran una carga de proteínas relacionadas con la progresión tumoral, como L1CAM, CD24, ADAM10 y EMMPRIN, correlacionadas con un peor pronóstico (100,111).

Otro biomarcador potencial es el CD24, ya que se ha observado que su presencia está asociada con un mal pronóstico. Además, cuando se combina con EpCAM, puede ayudar a distinguir si un paciente responderá o no a la terapia. El líquido peritoneal es el sitio donde se espera encontrar una mayor concentración de EVs que contienen CD24, por ende, se recomienda realizar medición por medio de biopsia líquida (106,107).

5.3.3 Aplicaciones Terapéuticas de las Vesículas Extracelulares en el Cáncer de Ovario.

En los últimos años, las EVs han emergido como elementos clave tanto en la progresión del CO como en el desarrollo de enfoques terapéuticos innovadores. Al ser componentes endógenos del organismo, presentan propiedades únicas, como la estabilidad en el medio extracelular y baja inmunogenicidad, lo que los posiciona como herramientas prometedoras para el diseño de terapias dirigidas. Además, su capacidad para interactuar específicamente con células tumorales mediante receptores como las tetraspaninas permite su uso como vehículos naturales para la administración de agentes terapéuticos. Diversos enfoques terapéuticos han sido explorados, incluyendo el uso de exosomas como vehículos de entrega de fármacos, la inhibición de la biogénesis de los exosomas, inmunoterapia basada en exosomas, con esta última destacando la posibilidad de desarrollar vacunas tumorales.

El objetivo es la encapsulación de agentes terapéuticos, como el paclitaxel, en estas vesículas para atacar las células tumorales e inhibir el crecimiento tumoral (94,100). Esta estrategia mejora la terapéutica al dirigirse específicamente a las células tumorales y al reducir efectos

secundarios no deseados. Además, se ha evidenciado una mayor citotoxicidad en células tumorales *in vivo*, así como el aumento de citotoxicidad en células resistentes a los fármacos (112). Lo cual sugiere que esta terapéutica puede servir como una alternativa novedosa y prometedora para el tratamiento del CO resistente a la quimioterapia estándar.

Dado que los exosomas están involucrados en la progresión del cáncer, se ha investigado la inhibición de su biogénesis y secreción de exosomas como una estrategia terapéutica, enfocándose en los exosomas como diana. En un estudio del 2018, se identificaron cinco potentes inhibidores de exosomas: tipifarnib, neticonazol, climbingazol, ketoconazol y triadimenol. Se describió que estos inhibidores actúan bloqueando las vías de biogénesis exosomal, específicamente las vías dependientes de ESCRT, y además inhiben la actividad de proteínas clave de los exosomas, como Alix y Rab27a; sin embargo, requiere más estudios para comprobar su efectividad de manera *in vivo* (113,114). Por otro lado, en otro estudio del 2017, se identificó el GW4869, como un inhibidor de la biogénesis de los exosomas, reduce la secreción de exosomas derivados del cáncer de ovario y limita su invasión (115).

Otra alternativa evaluada es la inmunoterapia basada en exosomas derivados de tumores y de células dendríticas. En 2018, se demostró que estos exosomas tienen una importante función en la inmunidad antitumoral. Por un lado, los exosomas derivados de células dendríticas, pueden activar a las NK a través del ligando NKG2D y citocinas como IL-15, facilitando así actividad antitumoral. Además, estos exosomas expresan el factor de necrosis tumoral (TNF), que induce la producción de interferón gamma mediante células dendríticas, lo que potencia la capacidad de las NK para lisar células tumorales. También, se observó que los exosomas expresan la proteína BAG6, la cual incrementa la actividad citotóxica de las NK (116,117). Por otro lado, los exosomas derivados de tumores tienen la capacidad de evadir la vigilancia inmunológica, promover la metástasis y aumentar la invasividad de las células tumorales, lo que los convierte en un objetivo para bloquear su actividad. A partir de estas evidencias, estos

exosomas tanto los derivados de las células dendríticas como los de tumores representan objetivos prometedores para la inmunoterapia, tanto en el desarrollo de vacunas como en su uso como puntos diana para estrategias terapéuticas enfocadas en la eliminación del cáncer (117).

5.3.4. EV 's en quimiorresistencia al tratamiento de cáncer de ovario

La adquisición de quimiorresistencia en el CO es un fenómeno complejo que compromete la eficacia del tratamiento y contribuye al progreso de la enfermedad. Recientemente, se ha demostrado que los exosomas desempeñan un papel clave en este proceso al actuar como vehículos de transferencia de proteínas oncogénicas y material genético entre células sensibles al agente terapéutico.

Se ha descrito que los exosomas secretados por las células tumorales pueden transferir proteínas y miRNA que favorecen la resistencia a múltiples fármacos. Por ejemplo, el miR-433 se ha identificado como un factor clave en la resistencia al paclitaxel, ya que induce la senescencia en las células tumorales mediante la inactivación funcional de la proteína Rb y la interrupción del ciclo celular. Estas células senescentes adquieren un fenotipo resistente, lo que dificulta la eficacia del tratamiento (95).

Adicionalmente, otros miRNA transportados en exosomas, como miR-574-3p, miR-30a-5p, hsa-miR-183-5p, miR-760 y miR-162, están asociados con la resistencia en el cáncer de ovario, tanto a través de su transporte en vesículas exosomales como en forma no exosomal. Estos miRNA regulan genes específicos relacionados con la proliferación celular, como CUL2, MECP2 y TEAD3 (96).

Otro mecanismo relevante es la inducción de la transición epitelio-mesénquima (EMT) mediada por los exosomas. Las células de CO resistentes al cisplatino liberan exosomas que transfieren su fenotipo de resistencia a células sensibles. Este proceso se asocia con una

mayor inducción de la EMT y con mutaciones en el gen SMAD4, esencial para la transcripción de genes relacionados con la EMT a través de la vía de señalización SMAD4/SMAD3. La EMT no solo confiere resistencia, sino que también favorece a características invasivas y metastásicas (79).

7. DISCUSIÓN

Las EVs han ganado atención como herramientas prometedoras para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de diferentes tipos de cánceres, incluido el CO, que fue el enfoque en este estudio. Es crucial establecer y estandarizar los protocolos de aislamiento y caracterización de las EVs, ya que hasta la fecha no existe un método considerado como “*gold standard*” debido a que ninguna técnica logra un aislamiento completamente libre de contaminantes. Aunque la UC es el método más utilizado por la comunidad investigadora, presenta varias limitaciones como el consumo de tiempo, debido a que los múltiples pasos de centrifugación requieren horas. Además, la fuerza centrífuga es un factor crítico, ya que, si es demasiado alta y prolongada, puede causar la agregación de las vesículas, lo que interfiere en la caracterización y análisis de las EVs (86,118). Otra limitación, es la contaminación con lipoproteínas como el HDL, que tienen un tamaño similar a las vesículas y al sedimentarse, se aislarán conjuntamente (82).

Por otro lado, la SEC, que separa partículas según su tamaño, se considera una técnica eficaz para el aislamiento de EVs, ya que reduce significativamente la contaminación por lipoproteínas en comparación con otros métodos. Al comparar el rendimiento de UC y SEC, se ha demostrado que su combinación optimiza la pureza de EVs, superando el uso de las técnicas por separado. Un factor clave para seleccionar la técnica de aislamiento es el tipo de análisis que se va a hacer ya sea proteómico o análisis de RNA. La UC es preferida para

análisis proteómicos, mientras que la SEC se recomienda para el análisis de RNA. Además, se ha investigado un protocolo de UC optimizado que mejora la pureza de EVs, especialmente en muestras de alta complejidad como el suero humano (90,119).

En la literatura revisada, se observó que el método más común para la extracción de EVs es la UC, acompañada de un paso adicional de filtración o de SEC, con el objetivo de obtener una mayor purificación del pellet obtenido y realizar los respectivos estudios según sus objetivos (80,114–116,120).

La caracterización de EVs implica estimar su cantidad, confirmar presencia y evaluar contaminantes no vesiculares, lo cual es todo un reto debido a su reducido tamaño y a la similitud con otras partículas como lipoproteínas, agregados de proteínas y desechos (121). Posterior a al aislamiento, el análisis de las vesículas puede ser físico, evaluando su tamaño y concentración mediante técnicas como NTA, DLS, microscopía electrónica y tRPS, o composicional, por medio de métodos como la inmunotransferencia, tinción y análisis proteómico para examinar su contenido.

En la evaluación de las EVs, un buen aislamiento es crucial para el éxito del análisis. Un estudio realizado en 2018 demostró que, al utilizar DGC y SEC, se lograron reducir los contaminantes de manera efectiva. Esto permitió la identificación de EVs mediante microscopía electrónica y Western Blot, obteniendo un buen número de vesículas bien caracterizadas. Además, las directrices del MISEV recomiendan utilizar múltiples técnicas para caracterizar EV individuales. Inicialmente, se debe emplear alguna técnica de microscopía, ya sea electrónica de transmisión (EM de transmisión) o de fuerza atómica (AFM), seguida de la medición de distribución de tamaño mediante la dispersión de la luz dinámica (DLS), seguimiento de nanopartículas (NTA) o la detección de pulsos resistivos (tRPS). Esto permite obtener los diámetros de las vesículas, los cuales deben ser comparados

con los resultados microscópicos. La correlación de ambos resultados ayuda a distinguir las vesículas de otras partículas no membranosas co-aisladas de tamaño similar (86).

El CO en la mayoría de los casos tiene un mal pronóstico por su clínica asintomática y alta malignidad. De ahí la importancia de desarrollar nuevos biomarcadores para diagnosticarlo y proporcionar nuevos objetivos para la terapéutica. Actualmente, los biomarcadores más usados en la clínica para el diagnóstico de CO, son el CA125 y el HE4. Sin embargo, el CA125 no es completamente específico, ya que, aunque se eleva en etapas tempranas de la enfermedad, también se puede elevar en otros procesos biológicos y patológicos. Por otro lado, el HE4 ha demostrado mayor sensibilidad al distinguir pacientes con CO y aquellas con enfermedad ginecológica benigna, aunque también puede encontrarse elevado en situaciones como el embarazo (103).

Con el fin de mejorar la detección en etapas tempranas, se estudió la presencia de CA125, HE4 y C5a en EVs en suero. Los resultados indicaron que los niveles séricos de EVs con estos biomarcadores eran significativamente más altos en mujeres con CO en comparación con mujeres con enfermedad benigna. Este hallazgo propone un nuevo enfoque para el uso de CA125 y HE4 en EVs, como enfoque más efectivo para la identificación del cáncer de ovario en etapas tempranas (103).

Se ha evidenciado que los exosomas derivados del cáncer actúan como mediadores de la metástasis. Un mecanismo identificado es la transmisión de exosomas cargados con CD44 a las células mesoteliales peritoneales humanas (HPMC), las cuales son reprogramadas para facilitar la invasión del CO al peritoneo (115).

Un estudio inmunohistoquímico demostró que la expresión de CD44 en tumores de ovario tienen un fenotipo más agresivo y tiene relación con una mala supervivencia de la paciente. Además, CD44 recluta MMP9 a la superficie celular y media la invasión de células

tumorales. Dado su papel en la diseminación del cáncer, CD44 es considerado un objetivo terapéutico. La inhibición de los exosomas liberados por las células de CO mediante el uso de GW4869 ha demostrado reducir la adquisición de CD44 en HPMC, suprimiendo la invasión del CO (115).

Por otro lado, se creó un modelo de predicción del pronóstico con 9 genes relacionados a los exosomas derivados del cáncer de ovario entre ellos CLDN4, AKT2, CSPG5, ALDOC, LTA4H, PSMA2, TCIRG1, ANO6, PSMA5. Estos genes están implicados en el desarrollo y progresión del CO. Por ejemplo, CLDN4 se ha asociado con la angiogénesis y resistencia a la quimioterapia (122,123), mientras que el AKT2 involucrado en la regulación inmunológica y se ha correlacionado con promover la migración e invasión de células tumorales (123,124). El ALDOC, por su parte, se ha vinculado con un pronóstico clínico desfavorable (125), y los otros genes han sido implicados en la progresión tumoral en distintos tipos de cáncer que se podrían relacionar también en el CO. Este modelo genético representa una herramienta potencial para evaluar la progresión del CO (108).

Finalmente, se sugiere seguir las recomendaciones de MISEV para el estudio de EVs, así como continuar optimizando y estandarizando los protocolos de aislamiento y caracterización, de esta manera, permitan mayor rendimiento, pureza y especificidad, minimizando la contaminación con otros componentes celulares. El desarrollo de métodos reproducibles y aplicables en entornos clínicos es crucial, dado que las EVs han demostrado un gran potencial como biomarcadores no invasivos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del CO. Además, es necesario llevar a cabo estudios clínicos que exploren más a fondo la aplicabilidad de estos biomarcadores, allanado el camino hacia la implementación efectiva de las vesículas en la medicina personalizada.

8. CONCLUSIONES

A partir de la evidencia bibliográfica revisada, se concluye que las EVs juegan un papel fundamental en la progresión, la metástasis y la quimiorresistencia del CO, lo que las posiciona como biomarcadores prometedores. Estos pueden proporcionar información clave para el diagnóstico temprano del CO, así como el seguimiento en tiempo real de su progresión y eficacia del tratamiento. Su presencia en la mayoría de los líquidos corporales demuestra una estabilidad a largo plazo, junto con su origen endógeno que minimiza el riesgo de ser detectadas por el sistema inmune, las convierte en candidatos viables para futuras aplicaciones clínicas. No obstante, la aplicabilidad en la práctica clínica sigue siendo un desafío debido a las limitaciones actuales en las técnicas de aislamiento y caracterización de las vesículas. Aunque se han realizado avances significativos en los métodos, es imperativo desarrollar técnicas más precisas y reproducibles para evitar la pérdida de exosomas y la contaminación de otras partículas no vesiculares. Por lo tanto, se requiere realizar más investigaciones que se centren en resolver estos problemas y desarrollar las aplicaciones clínicas más efectivas, mediante estudios clínicos *in vivo*.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tan DS, Agarwal R, Kaye SB. Mechanisms of transcoelomic metastasis in ovarian cancer. *Lancet Oncol.* november 2006;7(11):925–34.
2. Filipazzi P, Bürdek M, Villa A, Rivoltini L, Huber V. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression. *Semin Cancer Biol.* augustus 2012;22(4):342–9.
3. Orr B, Edwards RP. Diagnosis and Treatment of Ovarian Cancer. T. 32, Hematology/Oncology Clinics of North America. 2018.
4. Tian W, Lei N, Zhou J, Chen M, Guo R, Qin B, et al. Extracellular vesicles in ovarian cancer chemoresistance, metastasis, and immune evasion. *Cell Death Dis.* 18 ianuaris 2022;13(1):64.
5. World Health Organization. Scientific Reports. 2018. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2018.
6. Globocan Project de la Organización Mundial de la Salud respecto. GLOBOCAN 2018: Incidencia, mortalidad y prevalencia estimadas del cáncer a nivel mundial en 2018 [Internet]. 2018.
7. Martínez-Ospina AP, Porras-Ramírez A, Rico-Mendoza A. Epidemiología de cáncer de ovario colombia 2009- 2016. *Rev Chil Obstet Ginecol.* december 2019;84(6):480–9.
8. Carollo E, Paris B, Samuel P, Pantazi P, Bartelli TF, Dias-Neto E, et al. Detecting ovarian cancer using extracellular vesicles: progress and possibilities. *Biochem Soc Trans.* 28 februarius 2019;47(1):295–304.
9. Dorayappan KDP, Wallbillich JJ, Cohn DE, Selvendiran K. The biological significance and clinical applications of exosomes in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* iulius 2016;142(1):199–205.
10. Feng W, Dean DC, Hornicek FJ, Shi H, Duan Z. Exosomes promote pre-metastatic niche formation in ovarian cancer. *Mol Cancer.* 13 december 2019;18(1):124.
11. Tang MKS, Yue PYK, Ip PP, Huang RL, Lai HC, Cheung ANY, et al. Soluble E-cadherin promotes tumor angiogenesis and localizes to exosome surface. *Nat Commun.* 11 iunius 2018;9(1):2270.
12. Shenoy GN, Loyall J, Berenson CS, Kelleher RJ, Iyer V, Balu-Iyer S V., et al. Sialic Acid-Dependent Inhibition of T Cells by Exosomal Ganglioside GD3 in Ovarian Tumor Microenvironments. *The Journal of Immunology.* 15 december 2018;201(12):3750–8.
13. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 1 ianuaris 2022;12(1):31–46.
14. Arneth B. Tumor Microenvironment. *Medicina (B Aires).* 30 december 2019;56(1):15.
15. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell.* ianuaris 2000;100(1):57–70.

16. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. martius 2011;144(5):646–74.
17. Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, et al. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell*. october 2019;179(4):813–27.
18. Lee S, Schmitt CA. The dynamic nature of senescence in cancer. *Nat Cell Biol*. 2 ianuaris 2019;21(1):94–101.
19. Wang B, Kohli J, Demaria M. Senescent Cells in Cancer Therapy: Friends or Foes? *Trends Cancer*. october 2020;6(10):838–57.
20. Książek K. Where does cellular senescence belong in the pathophysiology of ovarian cancer? *Semin Cancer Biol*. iunius 2022;81:14–23.
21. Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis*. 1 ianuaris 2010;31(1):9–18.
22. Araya Oviedo A, Paizano Vanega G. Cáncer de ovario. *Revista Medica Sinergia*. 1 iulius 2021;6(7):e690.
23. Van Gorp T, Amant F, Neven P, Vergote I, Moerman P. Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. aprilis 2004;18(2):349–71.
24. Bolton KL. Association Between *BRCA1* and *BRCA2* Mutations and Survival in Women With Invasive Epithelial Ovarian Cancer. *JAMA*. 25 ianuaris 2012;307(4):382.
25. Gates MA, Rosner BA, Hecht JL, Tworoger SS. Risk Factors for Epithelial Ovarian Cancer by Histologic Subtype. *Am J Epidemiol*. 1 ianuaris 2010;171(1):45–53.
26. Meinhold-Heerlein I, Fotopoulou C, Harter P, Kurzeder C, Mustea A, Wimberger P, et al. The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. *Arch Gynecol Obstet*. 19 aprilis 2016;293(4):695–700.
27. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Archiv*. 10 martius 2012;460(3):237–49.
28. Hernández D GYMCAACAAP. CARCINOMAS EPITELIALES DEL OVARIO DE ALTO Y BAJO GRADO. 26 februarius 2015;24(2):105–12.
29. Matulonis UA, Sood AK, Fallowfield L, Howitt BE, Sehouli J, Karlan BY. Ovarian cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 25 augustus 2016;2(1):16061.
30. Samuel D, Diaz-Barbe A, Pinto A, Schlumbrecht M, George S. Hereditary Ovarian Carcinoma: Cancer Pathogenesis Looking beyond BRCA1 and BRCA2. *Cells*. 4 februarius 2022;11(3):539.
31. O'Donovan PJ, Livingston DM. BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis*. 1 iunius 2010;31(6):961–7.

32. Ahmed AA, Etemadmoghadam D, Temple J, Lynch AG, Riad M, Sharma R, et al. Driver mutations in *TP53* are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. *J Pathol.* maius 2010;221(1):49–56.
33. Schuijjer M, Berns EMJJ. TP53 and ovarian cancer. *Hum Mutat.* martius 2003;21(3):285–91.
34. Brachova P, Thiel K, Leslie K. The Consequence of Oncomorphic TP53 Mutations in Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci.* 23 september 2013;14(9):19257–75.
35. Kaldawy A, Segev Y, Lavie O, Auslender R, Sopik V, Narod SA. Low-grade serous ovarian cancer: A review. *Gynecol Oncol.* november 2016;143(2):433–8.
36. Xu W, Rush J, Rickett K, Coward JIG. Mucinous ovarian cancer: A therapeutic review. *Crit Rev Oncol Hematol.* iunius 2016;102:26–36.
37. Kelemen LE, Köbel M. Mucinous carcinomas of the ovary and colorectum: different organ, same dilemma. *Lancet Oncol.* october 2011;12(11):1071–80.
38. Gemignani ML, Schlaerth AC, Bogomolny F, Barakat RR, Lin O, Soslow R, et al. Role of KRAS and BRAF gene mutations in mucinous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* augustus 2003;90(2):378–81.
39. Crane EK, Brown J. Early-stage mucinous ovarian cancer: A review. *Gynecol Oncol.* iunius 2018;149(3):598–604.
40. Anglesio MS, Kommoss S, Tolcher MC, Clarke B, Galletta L, Porter H, et al. Molecular characterization of mucinous ovarian tumours supports a stratified treatment approach with *HER2* targeting in 19% of carcinomas. *J Pathol.* 17 ianuaris 2013;229(1):111–20.
41. Ryland GL, Hunter SM, Doyle MA, Caramia F, Li J, Rowley SM, et al. Mutational landscape of mucinous ovarian carcinoma and its neoplastic precursors. *Genome Med.* 7 december 2015;7(1):87.
42. Chou Y, Jeng Y, Kao H, Chen TJ, Mao T, Lin M. Differentiation of ovarian mucinous carcinoma and metastatic colorectal adenocarcinoma by immunostaining with β -catenin. *Histopathology.* 24 augustus 2003;43(2):151–6.
43. Fadare O, Parkash V. Pathology of Endometrioid and Clear Cell Carcinoma of the Ovary. *Surg Pathol Clin.* iunius 2019;12(2):529–64.
44. Gadducci A, Multinu F, Cosio S, Carinelli S, Ghioni M, Aletti GD. Clear cell carcinoma of the ovary: Epidemiology, pathological and biological features, treatment options and clinical outcomes. *Gynecol Oncol.* september 2021;162(3):741–50.
45. Prat J, D'Angelo E, Espinosa I. Ovarian carcinomas: at least five different diseases with distinct histological features and molecular genetics. *Hum Pathol.* october 2018;80:11–27.
46. Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OM, Zhao Y, Tse K, Zeng T, et al. *ARID1A* Mutations in Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *New England Journal of Medicine.* 14 october 2010;363(16):1532–43.

47. Yamamoto S, Tsuda H, Takano M, Tamai S, Matsubara O. PIK3CA mutations and loss of ARID1A protein expression are early events in the development of cystic ovarian clear cell adenocarcinoma. *Virchows Archiv.* 26 ianuaris 2012;460(1):77–87.
48. Dinkelspiel HE, Matrai C, Pauk S, Pierre-Louis A, Chiu YL, Gupta D, et al. Does the Presence of Endometriosis Affect Prognosis of Ovarian Cancer? *Cancer Invest.* 15 martius 2016;34(3):148–54.
49. Kim SI, Lee JW, Lee M, Kim HS, Chung HH, Kim JW, et al. Genomic landscape of ovarian clear cell carcinoma via whole exome sequencing. *Gynecol Oncol.* februaris 2018;148(2):375–82.
50. Sainz de la Cuesta R, Eichhorn JH, Rice LW, Fuller JAF, Nikrui N, Goff BA. Histologic Transformation of Benign Endometriosis to Early Epithelial Ovarian Cancer. *Gynecol Oncol.* februaris 1996;60(2):238–44.
51. Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Recent Concepts of Ovarian Carcinogenesis: Type I and Type II. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1–11.
52. K Obata 1 SJMRHWAHGCTEJTIGC. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. *Cancer research- PubMed.* 18 maius 1998;58(10):2095–8.
53. Catasús L, Bussaglia E, Rodríguez I, Gallardo A, Pons C, Irving JA, et al. Molecular genetic alterations in endometrioid carcinomas of the ovary: Similar frequency of beta-catenin abnormalities but lower rate of microsatellite instability and PTEN alterations than in uterine endometrioid carcinomas. *Hum Pathol.* november 2004;35(11):1360–8.
54. Pierson WE, Peters PN, Chang MT, Chen L may, Quigley DA, Ashworth A, et al. An integrated molecular profile of endometrioid ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* aprilis 2020;157(1):55–61.
55. Roth LM, Gersell DJ, Ulbright TM. Ovarian Brenner Tumors and Transitional Cell Carcinoma. *International Journal of Gynecological Pathology.* aprilis 1993;12(2):128–33.
56. Roma AA, Masand RP. Ovarian Brenner tumors and Walthard nests: a histologic and immunohistochemical study. *Hum Pathol.* december 2014;45(12):2417–22.
57. Morales-Palacios E VPDQCJ. Borderline Brenner tumor. *T.* 42 (4). 2016. p. 530–6.
58. Costeira F de S, Félix A, Cunha TM. Brenner tumors. *Br J Radiol.* 1 februaris 2022;95(1130).
59. Berek JS, Renz M, Kehoe S, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 20 october 2021;155(S1):61–85.
60. Redondo Sánchez A, Castelo Fernández B, Gómez Raposo C, Cruz Castellanos P. Cáncer de ovario. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado.* maius 2017;12(34):2024–35.

61. Domingo Del Pozo S, Leal VL, Coronado Martín PJ, García ÁT, Moreno GM, Luis J, et al. Cáncer de ovario 2022. *Revista Oficial de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia*. 2022;
62. Lawrie TA, Winter-Roach BA, Heus P, Kitchener HC. Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 17 december 2015;2016(9).
63. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 23 december 2018;7(1).
64. Raposo G, Niel G, Stahl PD. Extracellular vesicles and homeostasis—An emerging field in bioscience research. *FASEB Bioadv*. 17 iunius 2021;3(6):456–8.
65. Iraci N, Leonardi T, Gessler F, Vega B, Pluchino S. Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signalling Properties of Extracellular Membrane Vesicles. *Int J Mol Sci*. 6 februarius 2016;17(2):171.
66. Yan C, Yu J. Noncoding RNA in Extracellular Vesicles Regulate Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Frontiers in Dental Medicine*. 8 martius 2022;2.
67. Stavrou A, Ortiz A. Extracellular Vesicles: A Novel Tool in Nanomedicine and Cancer Treatment. *Cancers (Basel)*. 14 september 2022;14(18):4450.
68. Sullivan R, Maresh G, Zhang X, Salomon C, Hooper J, Margolin D, et al. The Emerging Roles of Extracellular Vesicles As Communication Vehicles within the Tumor Microenvironment and Beyond. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 8 augustus 2017;8.
69. Yang M, Chen J, Su F, Yu B, Su F, Lin L, et al. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. *Mol Cancer*. 22 december 2011;10(1):117.
70. Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. *Journal of Clinical Investigation*. 1 aprilis 2016;126(4):1208–15.
71. Novoa-Herrán S. Retos y oportunidades en el estudio de vesículas extracelulares: contexto institucional a nivel mundial y situación actual en Colombia. *Biomédica*. 22 september 2021;41(3):555–89.
72. Amarasinghe I, Phillips W, Hill AF, Cheng L, Helbig KJ, Willms E, et al. Cellular communication through extracellular vesicles and lipid droplets. *Journal of Extracellular Biology*. martius 2023;2(3).
73. Abels ER, Breakefield XO. Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. *Cell Mol Neurobiol*. 6 aprilis 2016;36(3):301–12.
74. Pascual-Antón L, Cardeños B, Sainz de la Cuesta R, González-Cortijo L, López-Cabrera M, Cabañas C, et al. Mesothelial-to-Mesenchymal Transition and Exosomes in Peritoneal Metastasis of Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci*. 25 october 2021;22(21):11496.

75. Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, Ahadi A mohammad, Molaei F, Alahari SK. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. *Mol Cancer*. 2 december 2019;18(1):75.
76. Liu J, Ren L, Li S, Li W, Zheng X, Yang Y, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer. *Acta Pharm Sin B*. september 2021;11(9):2783–97.
77. Beach A, Zhang HG, Ratajczak MZ, Kakar SS. Exosomes: an overview of biogenesis, composition and role in ovarian cancer. *J Ovarian Res*. 25 december 2014;7(1):14.
78. Liu J, Ren L, Li S, Li W, Zheng X, Yang Y, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer. *Acta Pharm Sin B*. september 2021;11(9):2783–97.
79. Crow J, Atay S, Banskota S, Artale B, Schmitt S, Godwin AK. Exosomes as mediators of platinum resistance in ovarian cancer. *Oncotarget*. 14 februarius 2017;8(7):11917–36.
80. Nieuwland R, Siljander PR. A beginner's guide to study extracellular vesicles in human blood plasma and serum. *J Extracell Vesicles*. 9 ianuarus 2024;13(1).
81. Gandham S, Su X, Wood J, Nocera AL, Alli SC, Milane L, et al. Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles. *Trends Biotechnol*. october 2020;38(10):1066–98.
82. Yuana Y, Levels J, Grootemaat A, Sturk A, Nieuwland R. Co-isolation of extracellular vesicles and high-density lipoproteins using density gradient ultracentrifugation. *J Extracell Vesicles*. 8 ianuarus 2014;3(1).
83. Karimi N, Cvjetkovic A, Jang SC, Crescitelli R, Hosseinpour Feizi MA, Nieuwland R, et al. Detailed analysis of the plasma extracellular vesicle proteome after separation from lipoproteins. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 13 augustus 2018;75(15):2873–86.
84. An M, Wu J, Zhu J, Lubman DM. Comparison of an Optimized Ultracentrifugation Method versus Size-Exclusion Chromatography for Isolation of Exosomes from Human Serum. *J Proteome Res*. 5 october 2018;17(10):3599–605.
85. Liangsupree T, Multia E, Riekkola ML. Modern isolation and separation techniques for extracellular vesicles. *J Chromatogr A*. ianuarus 2021;1636:461773.
86. Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Bussolati B, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles*. 7 februarius 2024;13(2).
87. Shelke GV, Lässer C, Gho YS, Lötvall J. Importance of exosome depletion protocols to eliminate functional and RNA-containing extracellular vesicles from fetal bovine serum. *J Extracell Vesicles*. 30 ianuarus 2014;3(1).
88. Gardiner C, Di Vizio D, Sahoo S, Théry C, Witwer KW, Wauben M, et al. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: results of a worldwide survey. *J Extracell Vesicles*. 31 ianuarus 2016;5(1).
89. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzás EI, Di Vizio D, Gardiner C, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a

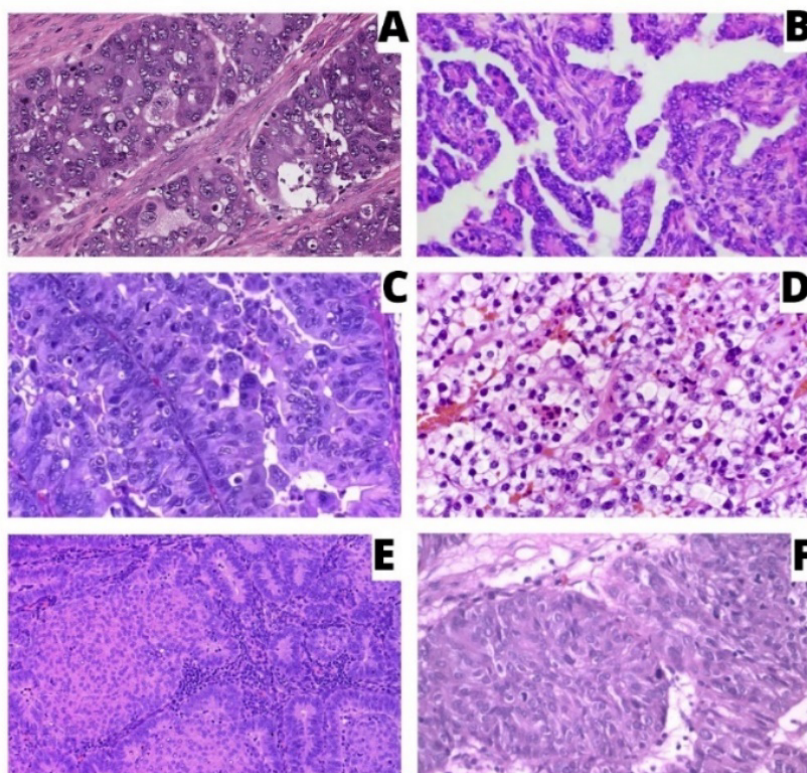
position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles*. 22 ianuaris 2014;3(1).

90. Nordin JZ, Lee Y, Vader P, Mäger I, Johansson HJ, Heusermann W, et al. Ultrafiltration with size-exclusion liquid chromatography for high yield isolation of extracellular vesicles preserving intact biophysical and functional properties. *Nanomedicine*. maius 2015;11(4):879–83.
91. Chen G, Huang AC, Zhang W, Zhang G, Wu M, Xu W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature*. 8 augustus 2018;560(7718):382–6.
92. Daassi D, Mahoney KM, Freeman GJ. The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion. *Nat Rev Immunol*. 21 aprilis 2020;20(4):209–15.
93. Feng W, Dean DC, Hornicek FJ, Shi H, Duan Z. Exosomes promote pre-metastatic niche formation in ovarian cancer. *Mol Cancer*. 13 december 2019;18(1):124.
94. Bhavsar D, Raguraman R, Kim D, Ren X, Munshi A, Moore K, et al. Exosomes in diagnostic and therapeutic applications of ovarian cancer. *J Ovarian Res*. 25 maius 2024;17(1):113.
95. Weiner-Gorzel K, Dempsey E, Milewska M, McGoldrick A, Toh V, Walsh A, et al. Overexpression of the microRNA miR-433 promotes resistance to paclitaxel through the induction of cellular senescence in ovarian cancer cells. *Cancer Med*. 15 maius 2015;4(5):745–58.
96. Feng Y, Hang W, Sang Z, Li S, Xu W, Miao Y, et al. Identification of exosomal and non-exosomal microRNAs associated with the drug resistance of ovarian cancer. *Mol Med Rep*. 5 martius 2019;
97. King HW, Michael MZ, Gleadle JM. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells. *BMC Cancer*. 24 december 2012;12(1):421.
98. Vaksman O, Tropé C, Davidson B, Reich R. Exosome-derived miRNAs and ovarian carcinoma progression. *Carcinogenesis*. september 2014;35(9):2113–20.
99. Meng X, Müller V, Milde-Langosch K, Trillsch F, Pantel K, Schwarzenbach H. Diagnostic and prognostic relevance of circulating exosomal miR-373, miR-200a, miR-200b and miR-200c in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 29 martius 2016;7(13):16923–35.
100. Shimizu A, Sawada K, Kimura T. Pathophysiological Role and Potential Therapeutic Exploitation of Exosomes in Ovarian Cancer. *Cells*. 27 martius 2020;9(4):814.
101. Pan C, Stevic I, Müller V, Ni Q, Oliveira-Ferrer L, Pantel K, et al. Exosomal microRNA s as tumor markers in epithelial ovarian cancer. *Mol Oncol*. 9 nouember 2018;12(11):1935–48.
102. Chen Z, Liang Q, Zeng H, Zhao Q, Guo Z, Zhong R, et al. Exosomal CA125 as A Promising Biomarker for Ovarian Cancer Diagnosis. *J Cancer*. 2020;11(21):6445–53.

103. Li P, Bai Y, Shan B, Zhang W, Liu Z, Zhu Y, et al. Exploration of Potential Diagnostic Value of Protein Content in Serum Small Extracellular Vesicles for Early-Stage Epithelial Ovarian Carcinoma. *Front Oncol.* 15 september 2021;11.
104. Zhao M, Ding JX, Zeng K, Zhao J, Shen F, Yin YX, et al. Heat shock protein 27: a potential biomarker of peritoneal metastasis in epithelial ovarian cancer? *Tumor Biology.* 6 februarius 2014;35(2):1051–6.
105. Zhang W, Peng P, Ou X, Shen K, Wu X. Ovarian cancer circulating extracellular vesicles promote coagulation and have a potential in diagnosis: an iTRAQ based proteomic analysis. *BMC Cancer.* 12 december 2019;19(1):1095.
106. Im H, Shao H, Park Y Il, Peterson VM, Castro CM, Weissleder R, et al. Label-free detection and molecular profiling of exosomes with a nano-plasmonic sensor. *Nat Biotechnol.* 20 maius 2014;32(5):490–5.
107. Carollo E, Paris B, Samuel P, Pantazi P, Bartelli TF, Dias-Neto E, et al. Detecting ovarian cancer using extracellular vesicles: progress and possibilities. *Biochem Soc Trans.* 28 februarius 2019;47(1):295–304.
108. Zhu K, Ma J, Tian Y, Liu Q, Zhang J. An immune-related exosome signature predicts the prognosis and immunotherapy response in ovarian cancer. *BMC Womens Health.* 18 ianuaris 2024;24(1):49.
109. Yokoi A, Yoshioka Y, Yamamoto Y, Ishikawa M, Ikeda S ichi, Kato T, et al. Malignant extracellular vesicles carrying MMP1 mRNA facilitate peritoneal dissemination in ovarian cancer. *Nat Commun.* 6 martius 2017;8(1):14470.
110. Dorayappan KDP, Wallbillich JJ, Cohn DE, Selvendiran K. The biological significance and clinical applications of exosomes in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* iulius 2016;142(1):199–205.
111. Keller S, König AK, Marmé F, Runz S, Wolterink S, Koensgen D, et al. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes. *Cancer Lett.* iunius 2009;278(1):73–81.
112. Zhang X, Liu L, Tang M, Li H, Guo X, Yang X. The effects of umbilical cord-derived macrophage exosomes loaded with cisplatin on the growth and drug resistance of ovarian cancer cells. *Drug Dev Ind Pharm.* 2 iulius 2020;46(7):1150–62.
113. Datta A, Kim H, McGee L, Johnson AE, Talwar S, Marugan J, et al. High-throughput screening identified selective inhibitors of exosome biogenesis and secretion: A drug repurposing strategy for advanced cancer. *Sci Rep.* 25 maius 2018;8(1):8161.
114. Datta A, Kim H, McGee L, Johnson AE, Talwar S, Marugan J, et al. High-throughput screening identified selective inhibitors of exosome biogenesis and secretion: A drug repurposing strategy for advanced cancer. *Sci Rep.* 25 maius 2018;8(1):8161.
115. Nakamura K, Sawada K, Kinose Y, Yoshimura A, Toda A, Nakatsuka E, et al. Exosomes Promote Ovarian Cancer Cell Invasion through Transfer of CD44 to Peritoneal Mesothelial Cells. *Molecular Cancer Research.* 1 ianuaris 2017;15(1):78–92.

116. Besse B, Charrier M, Lapierre V, Dansin E, Lantz O, Planchard D, et al. Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC. *Oncoimmunology*. 2 aprilis 2016;5(4):e1071008.
117. Gao D, Jiang L. Exosomes in cancer therapy: a novel experimental strategy. *Am J Cancer Res*. 2018;8(11):2165–75.
118. Linares R, Tan S, Gounou C, Arraud N, Brisson AR. High-speed centrifugation induces aggregation of extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*. 23 ianuaris 2015;4(1).
119. Wei R, Zhao L, Kong G, Liu X, Zhu S, Zhang S, et al. Combination of Size-Exclusion Chromatography and Ultracentrifugation Improves the Proteomic Profiling of Plasma-Derived Small Extracellular Vesicles. *Biol Proced Online*. 23 december 2020;22(1):12.
120. Shen S, Wang C, Gu J, Song F, Wu X, Qian F, et al. A Predictive Model for Initial Platinum-Based Chemotherapy Efficacy in Patients with Postoperative Epithelial Ovarian Cancer Using Tissue-Derived Small Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles*. 6 augustus 2024;13(8).
121. Buzás EI, Gardiner C, Lee C, Smith ZJ. Single particle analysis: Methods for detection of platelet extracellular vesicles in suspension (excluding flow cytometry). *Platelets*. 3 aprilis 2017;28(3):249–55.
122. Li J, Sherman-Baust CA, Tsai-Turton M, Bristow RE, Roden RB, Morin PJ. Claudin-containing exosomes in the peripheral circulation of women with ovarian cancer. *BMC Cancer*. 20 december 2009;9(1):244.
123. Li C, Wang S, Ma X, Wang T, Lu R, Jia X, et al. Ranitidine as an adjuvant regulates macrophage polarization and activates CTLs through the PI3K-Akt2 signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. martius 2023;116:109729.
124. Zheng B, Geng L, Zeng L, Liu F, Huang Q. AKT2 contributes to increase ovarian cancer cell migration and invasion through the AKT2-PKM2-STAT3/NF- κ B axis. *Cell Signal*. maius 2018;45:122–31.
125. Chang YC, Yang YC, Tien CP, Yang CJ, Hsiao M. Roles of Aldolase Family Genes in Human Cancers and Diseases. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. augustus 2018;29(8):549–59.
126. Pérez-Ortiz V RVE. Cistoadenocarcinoma mucinoso ovárico primario gigante. A propósito de un caso. *T. 8*. 2019. p. 30–4.
127. van der Pol E, Böing AN, Harrison P, Sturk A, Nieuwland R. Classification, Functions, and Clinical Relevance of Extracellular Vesicles. *Pharmacol Rev*. iulius 2012;64(3):676–705.

10. ANEXOS



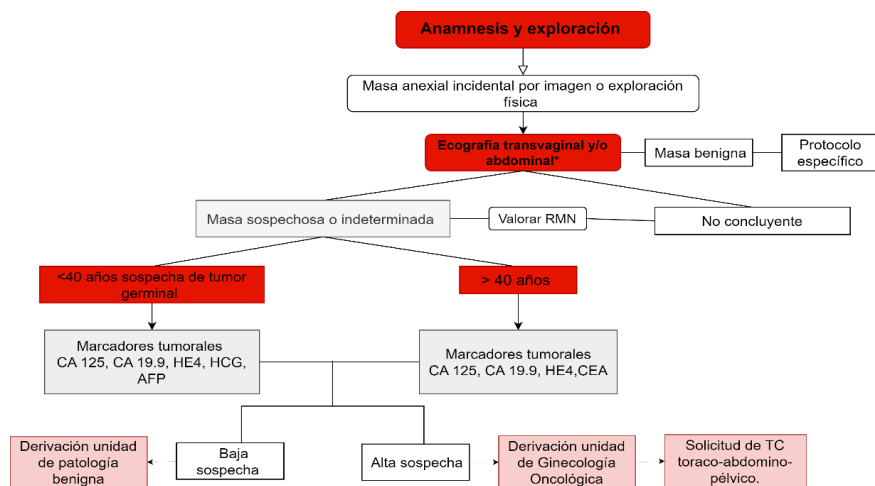
Anexo A. Figura 2. Ejemplos de la histología de los 6 tipos de CO: a. Carcinoma seroso de alto grado; b. Carcinoma seroso de bajo grado; c. Carcinoma mucinoso; d. Carcinoma de células claras; e. Carcinoma endometriode; f. Tumor de Brenner (27)

CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA	PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICA	MUTACIONES GENÉTICAS
Carcinoma seroso de alto grado (HGSC)	Ck7(+), reactividad en células tumorales: EMA, WT-1, BRCA1, p531, p161, calretinina positividad citoplasmática débil, BCL-2 + en 1/3 de los casos. Ki67 elevado Ck20 negativo	BRCA1 BRCA2 TP53
Carcinoma seroso de bajo grado (LGSC)	WT-1 + EMA + Ck7 + CA125 + PAX8 + ER + EP + p53 wild type p16 + patrón parcheado Ki67 bajo	KRAS BRAF ARID1A HER2 BRCA 1/2
Tumores mucinosos	p53 wild type p16 + patrón parcheado CK7+ CK20 -/+ focal PAX8 +/- focal, lev	KRAS HER2 PI3KCA
Carcinoma endometriode	Ck7 + EMA + receptores de estrógenos y progestágenos + PAX8 + p16 + patrón parcheado Ck 20 -, WT-1 -/+	PTEN CTNNB1 ARID1A PIK3CA KRAS BRAF Inestabilidad microsatélite
Células claras	Ck 7 + y Ck 20 - Receptores de estrógenos y progestágenos - WT-1 -, Napsina + Factor nuclear hepatocitario 1β + ER - EP -	ARID1A PIK3CA BRCA 1 / 2 HER2 KRAS
Tumores de Brenner	Ck7 +, reactividad WT-1, p16 y p53, marcación el estudio de EGFR, Ras y ciclina D1 p63 + GATA3+ Ck 20 -	Activación PI3K/AKT KRAS PIK3CA

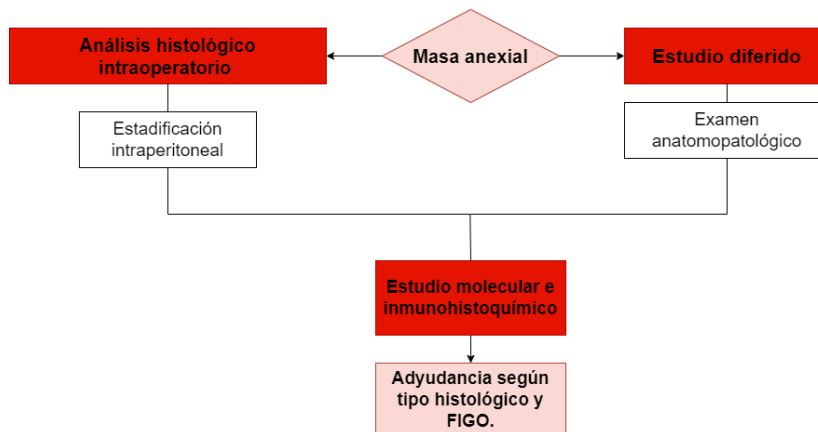
Anexo B.Tabla 1. Perfiles inmunohistoquímicos y mutaciones genéticas más comunes en subtipos histológicos de CO.
¹reacción fuerte y difusa para ser consideradas positivas (28,126). RE: Receptor de estrógenos. RP: Receptor de progesterona. Adaptada de "Cáncer de Ovario 2022, Revista Oficial de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia" (61).

FIGO	Descripción	TNM
Estadio I	Tumor confinado a los ovario o trompas de Falopio.	T1-N0-M0
IA	Tumor limitado a un ovario/trompa (No tumor en superficie, ni en ascitis o lavado peritoneal).	T1a-N0-M0
IB	Tumor limitado a ambos ovarios/trompas (No tumor en superficie, ni en ascitis o lavado peritoneal).	T1b-N0-M0
IC	Tumor limitado a uno o ambos ovarios/trompas y alguno de los siguientes:	T1c- N0-M0
IC1	Rotura quirúrgica de la cápsula.	T1c1-N0-M0
IC2	Rotura preoperatoria de la cápsula o implantes en superficie de ovario o trompa.	T1c2-N0-M0
IC3	Celularidad maligna en ascitis o lavado peritoneal.	T1c3-N0-M0
Estadio II	El tumor afecta uno o ambos ovarios o las trompas de Falopio con extensión pélvica (debajo del borde pélvico) o cáncer peritoneal.	T2-N0-M0
IIA	Afectación y/o en implantes en útero, ovarios y/o trompas de Falopio (según primario).	T2a-N0-M0
IIB	Afectación de otros órganos intraperitoneales.	T2b-N0-M0
Estadio III	Afectación más allá de la pelvis con/sin metástasis ganglionares.	T1-3/N0-1/M0
IIIA 1	Afectación ganglionar (sin afectación peritoneal).	T1-T2/N1/M0
IIIA 1 (i)	Metástasis ≤ 10 mm	
IIIA 1 (ii)	Metástasis > 10 mm	
IIIA 2	Afectación peritoneal microscópica (independientemente de afectación ganglionar).	T3a2-N0-1/M0
IIIB	Afectación peritoneal macroscópica, implantes de hasta 2 cm (independientemente de afectación ganglionar)	T3b-N0/N1-M0
IIIC	Afectación peritoneal macroscópica, implantes de > 2 cm (independientemente de afectación ganglionar).	T3c-N0/N1-M0
Estadio IV	Metástasis a distancia (excluyendo peritoneales).	Cualquier T, N-M1
IVA	Derrame pleural con citología positiva.	
IVB	Metástasis parenquimatosas o extra abdominales (incluida afectación ganglionar inguinal o más allá de la cavidad peritoneal).	

Anexo C. Tabla 2. Clasificación FIGO según el estadio de evolución del CO. T: Tumor; N: Nódulos linfáticos; M: Metástasis; T y N 1,2,3,4: El número indica el tamaño y la extensión del tumor. A medida que el número aumenta, el tumor generalmente es más grande o tiene una mayor invasión en los tejidos circundantes; N0: No hay evidencia de afectación en ganglios linfáticos (Nódulos); M0: No hay metástasis a distancia; N1: Metástasis ganglionares. M1: Metástasis a distancia. Adaptada de “Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update” (59)



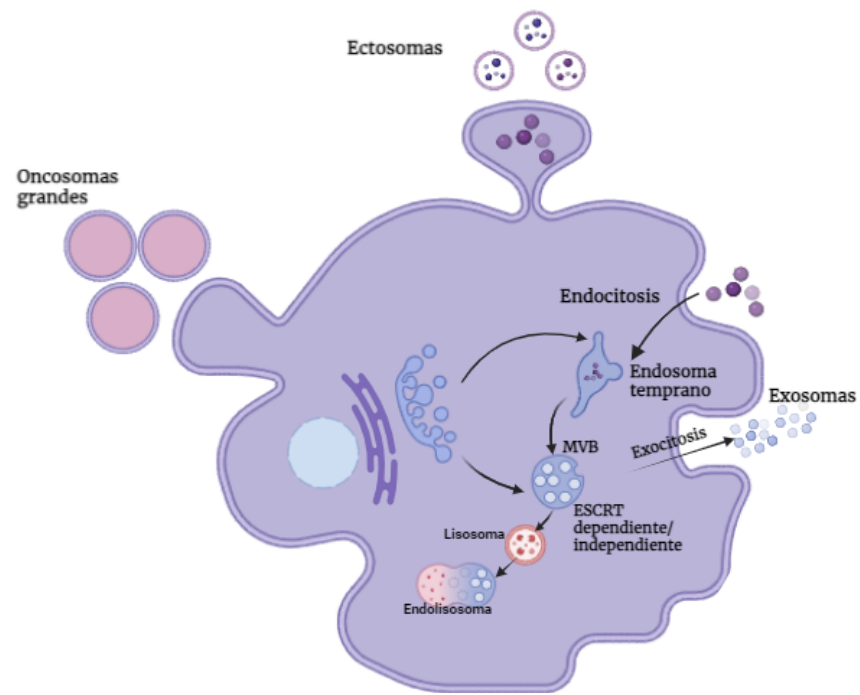
Anexo D. Figura 3. Algoritmo del manejo de masa anexial sospechosa/indeterminada. RMN: Resonancia Magnética.
 *Criterios ecográficos IOTA. Adaptada de "Cáncer de Ovario 2022, Revista Oficial de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia" (61).



Anexo E. Figura 4. Clasificación y manejo del tumor cáncer de ovario. Adaptada de "Cáncer de Ovario 2022, Revista Oficial de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia" (61).

Término	Mecanismo de generación	Tamaño	Composición lipídica	Marcadores proteicos
Exosoma	Exocitosis MVB	50-100 nm	Enriquecidas en colesterol, esfingomielina y ceramida; contienen balsas lipídicas; exponen fosfatidilserina ceramida grande.	Tetraspaninas (CD81, CD63, CD9, CD61), Alix, LAMP1 y Tsg101; unión a anexina V
Ectosoma	Brote de la membrana plasmática	100-500 nm	Enriquecidas en colesterol y diacilglicerol; exponen fosfatidilserina y ceramida.	CR1, TyA, C1q, enzimas proteolíticas. No CD63.
Microvesículas	Brote de la membrana plasmática	100-1000 nm	Exponen fosfatidilserina.	Integrinas, selectinas y ligando CD40; unión a anexina V, factores tisulares y marcadores específicos celulares
Cuerpos apoptóticos	Liberación de vesículas de una célula apoptótica	1 - 5 μ m / 50 -500 nm	No determinado	Unión a anexina V, contenido de ADN

Anexo F. Tabla 4. Comparación de los tipos de vesículas extracelulares. Tabla adaptada de “Retos y oportunidades en el estudio de vesículas extracelulares: contexto institucional a nivel mundial y situación actual en Colombia” (71)



Anexo G. Figura 6. Esquema de la formación de exosomas. Imagen de elaboración propia basada en fuentes (67,70,73,127)

Criterio	Ultrafiltración	Ultracentrifugación (UC)	Centrifugación por gradientes de densidad (CGD)	Cromatografía por exclusión de tamaño	Captura por inmunoadherencia
Principio	Técnica que utiliza matrices de celulosa para la separación por masa celular y exclusión de tamaño.	Método que aplica fuerzas centrifugas crecientes para la sedimentación de EV's	Separación de EV's según su densidad a partir de medios alta densidad.	Separa por volumen hidrodinámico.	Interacción específica antígeno-anticuerpo
Ventajas	Ofrece presión suave, eficiencia de tiempo, purificación efectiva y escalabilidad.	Separación de NVEP* y EV según su tamaño en función de sus densidades	Separa las EV's de NVEP y proteínas, o separar los subtipos de EV's. Mayor pureza	Es accesible y sin necesidad de equipos costosos, es eficiente para análisis proteómico.	Reduce los contaminantes y micropartículas, además, disminuye el tiempo de aislamiento y aumenta la especificidad de purificación.
Desventajas	Compromete la integridad de las EVs por extrusión y provoca pérdidas en la membrana. Ineficaz en fluidos complejos, con baja recuperación.	Coaisla NVEP tras centrifugación prolongada y alta velocidad, generando agregados vesiculares. Requiere purificación adicional.	Baja recuperación de material de alta pureza según la densidad.	Cantidad limitada de EV recuperada.	Es costoso y vulnerable a uniones no específicas, inhibición competitiva y reactividad cruzada de anticuerpos.
Aplicaciones	Se puede combinar con otras técnicas de concentración y extracción, pero no se recomienda para muestras fisiológicas de alta complejidad.	Obtención de EV's grandes y pequeñas teniendo en cuenta su densidad.	Se usa con otra técnica para separar vesículas de proteínas o NVEP y distinguir subtipos de EV.	Apropiado para aplicaciones terapéuticas al separar eficientemente las proteínas abundantes en muestras biológicas.	Eficaz para aislar vesículas de células presentadoras de antígenos y subconjuntos de EV.

Anexo H. Tabla 5. Comparación de métodos de extracción de vesículas extracelulares. Tabla adaptada de “Technologies and Standardization in Research o Extracellular Vesicles” (81)

Criterio	Microscopía electrónica de transmisión (MET)	DLS	NTA	FCM	RPS
Principio	Obtención de imágenes que identifica partículas en una muestra.	Determina la distribución del tamaño de partículas suspendidas en un medio fluido (movimiento browniano)	Mide la distribución y concentración del tamaño de partículas en una suspensión líquida (movimiento browniano).	Fluorescencia o dispersión de luz.	Mide tamaño, concentración y carga de partículas basado en el efecto Coulter
Ventajas	Se puede crear imágenes 2D y 3D. Observa la formación y desprendimiento de EV. Minimiza cambios morfológicos.	Técnica sencilla, proporciona información sobre el tamaño medio y la dispersión de la distribución del tamaño.	Proporciona mejor resolución para mezclas heterogéneas de partículas que varían de tamaño.	Identifica subpoblaciones de EV, tiempo de análisis rápido, reproducibilidad, resultado cuantitativo	Mide el tamaño hasta de 40nm, la concentración y el potencial Z a la vez.
Desventajas	Alta demanda de potencia computacional a convertir imágenes a 3D, alto costo. No es cuantitativamente confiable	Baja resolución.	Sesgado por partículas más pequeñas.	No detecta partículas debajo de 200 nm (depende del citómetro)	No puede determinar el tipo de partícula o la composición química de una muestra.

Anexo I. Tabla 6. Comparación de métodos de caracterización de vesículas extracelulares. Tabla adaptada de “Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles” (81)

1. Proteínas transmembranales o unidas a lípidos	2. Proteínas citosólicas	3. Proteínas intracelulares	4. Proteínas extracelulares
Expresados en la membrana de la EV (Tetraspaninas CD9, CD63, CD81)	Unión a membrana o receptor (TSG101, RAB)	Asociado con compartimientos diferentes a la membrana plasmática (calnexina, HSP9)	Se une de manera específica o no a las membranas, se coaislan con las EVs (citocinas, albúmina sérica)
Presente en exosomas/ EV	Presente en exosomas/ EV	Ausente o poco presente en EV/ exosomas, presente en subgrupos de vesículas	Asociación variable a vesículas extracelulares

Anexo J. Tabla 7. Clasificación de proteínas para la caracterización proteómica de las vesículas extracelulares. Adaptada de “Requisitos experimentales mínimos para la definición de vesículas extracelulares y sus funciones: declaración de posición de la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares” (89).