

Relación de las vesículas extracelulares con la propagación del cáncer

Relationship of extracellular vesicles with the spread of cancer

Felipe de Jesús López Catá ^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7300-4692>

José Sabourín Divé ² <https://orcid.org/0000-0002-8146-8865>

Miguel Alfredo Matos Santisteban ³ <https://orcid.org/0000-0002-8373-2594>

Odalys Lucila Castillo Miranda ⁴ <https://orcid.org/0000-0001-8364-8846>

¹ Estudiante de 3er año de Medicina. Alumno ayudante de Neurocirugía. Facultad de Medicina. Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey, Cuba.

² Estudiante de 3er año de Medicina. Alumno ayudante de Cirugía General. Facultad de Medicina. Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey, Cuba.

³ Estudiante de 4to año de Medicina. Alumno ayudante de Cirugía Máxilo-Facial. Facultad de Ciencias Médicas Celia Sánchez Manduley. Universidad de Ciencias Médicas de Granma. Granma, Cuba.

⁴ Especialista de Primer Grado en Bioquímica Clínica. Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey, Cuba.

* Correspondencia. Correo electrónico: felipelopez.cata@gmail.com

RESUMEN

Fundamento: las vesículas extracelulares son estructuras esenciales en la comunicación intercelular, que viajan en fluidos corporales y entregan mensajes a células del organismo. Esta transmisión ocurre por medio de la liberación de sustancias por la célula emisora y se asocia a condiciones fisiológicas normales y anormales como el cáncer. El cáncer es una enfermedad multifactorial de elevada incidencia y mortalidad, que constituye un serio problema de salud, por lo que se hace imprescindible realizar estudios para buscar alternativas diagnósticas y terapéuticas.

Objetivo: fundamentar la relación existente entre la propagación del cáncer y las vesículas extracelulares.

Métodos: se realizó una revisión bibliográfica donde se emplearon recursos disponibles de

Infomed, se consultaron 25 artículos, 72 % enmarcados en los últimos cinco años. Los métodos utilizados fueron análisis-síntesis, inducción-deducción e histórico-lógico.

Resultados: se fundamentó la relación existente entre las vesículas extracelulares y la propagación del cáncer mediante la descripción de sus características estructurales y funcionales y de su contenido molecular bioactivo, además se analizó la utilización de las vesículas extracelulares derivadas de células tumorales como biomarcadores.

Conclusiones: se identificó a las vesículas extracelulares como vehículos versátiles que poseen un contenido rico en diversas sustancias. Se constató que las células tumorales secretan vesículas para reclutar otras estirpes celulares y favorecer su desarrollo, y que los microARN son parte del contenido molecular bioactivo a los cuales se les atribuye un rol esencial en todas las etapas del desarrollo del cáncer, además de que estas vesículas se consideran biomarcadores ideales para el diagnóstico, evaluación y tratamiento del cáncer.

DeCS: VESÍCULAS EXTRACELULARES/fisiología; NEOPLASIAS/diagnóstico; BIOMARCADORES DE TUMOR/uso terapéutico; MicroARNs; EXOSOMAS.

ABSTRACT

Background: extracellular vesicles are essential membranous structures for intercellular communication; they travel in body fluids and deliver messages to cells of the organism. This transmission occurs through the release of different substances and it is associated with different normal and pathological physiological conditions such as cancer. Cancer is a disease with a multifactorial cause of high incidence and mortality, which constitutes a serious health problem and a challenge for health services, making it essential to carry out studies related to the search of diagnostic and therapeutic alternatives.

Objective: to substantiate the relationship between the spread of cancer and extracellular vesicles.

Methods: an updated bibliographic review was carried out using the resources available in Infomed. 25 articles were consulted, of which 72 % is of the last 5 years. The methods used were analysis-synthesis, induction-deduction and historical-logical.

Results: the relationship between extracellular vesicles and cancer spread was based on the description of their structural and functional characteristics and their bioactive molecules' content. In addition, the use of extracellular vesicles derived from tumor cells as biomarkers was analyzed.

Conclusions: extracellular vesicles were identified as versatile vehicles that have a content rich in various substances. It was found that tumor cells secrete vesicles to recruit other cell lines and promote their development, and that microRNA are part of the bioactive molecular content, which is

attributed an essential role in all stages of cancer development, in addition to these vesicles are considered ideal biomarkers for cancer diagnosis, evaluation and treatment.

DeCS: EXTRACELLULAR VESICLES/physiology; NEOPLASMS/diagnosis; BIOMARKERS, TUMOR/therapeutic use; MicroRNAs; EXOSOMES.

INTRODUCCIÓN

La mayor parte de las vesículas como sistema de comunicación y transporte funcionan en el interior celular formando parte del tráfico vesicular. Desde los años 60 del siglo XX se describieron vesículas extracelulares (VEC) en tejidos sólidos y fluidos corporales. Se pensaba que estas VEC eran consecuencia de roturas de células o artefactos producidos tras manipulación experimental. La emisión de vesículas por células parece ser un mecanismo conservado, incluso al estar presente en células procariontas. La mayoría de las células son capaces de liberar VEC. ¹ En animales se han aislado VEC en la sangre, saliva, leche, fluido amniótico y otros fluidos biológicos. ²

Según Akers JC et al. ¹ el estudio sobre VEC tuvo génesis en 1946 cuando el Dr. Chargaff, Universidad de Columbia, observó que los precipitados de plasma libre de plaquetas obtenidos tras una centrifugación a alta velocidad, mantenían actividad procoagulante, y cerca de 20 años después, en 1967, el Dr. Wolf distinguió en imágenes de microscopía electrónica que el plasma depletado de células aún conservaba estructuras densas denominadas polvo

de plaquetas, responsables de la actividad procoagulante descrita por Chargaff. Hasta entonces, además de la búsqueda de funciones procoagulantes, no se había profundizado en otras características funcionales, donde son consideradas las encargadas de eliminar el material de desecho de las células. ¹

Según Akers JC et al. ¹ en la década del 80 el Dr. Trams denominó exosomas a vesículas derivadas de líneas tumorales con enzimas que tenían capacidad 5' nucleotidasa y dos años más tarde, el Dr. Johnstone describió la formación de cuerpos multivesiculares, que contenían receptores de transferrina y su capacidad de unirse a la membrana celular.

Según Nakai W et al. ³ en 1987 el mismo grupo de Johnstone hace referencia a la posibilidad de aislar vesículas mediante ultracentrifugación. Una posterior revolución en este campo fue gracias al aporte de Colombo M et al. ² quienes describieron la capacidad de dichos exosomas de presentar antígenos y activar linfocitos T a través de moléculas de antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés *Human leukocyte antigen*) presentes en su superficie.

Diez años más tarde el grupo liderado por Jan Lötvall descubrió el contenido de microARN (miARN) en las VEC y la posibilidad de que este miARN fuera captado por la célula diana, donde abría un nuevo horizonte en el campo de la comunicación celular. ⁴

A lo largo de los últimos 20 años se disparó el interés científico por el estudio de las VEC, dado su papel crucial en muchos procesos fisiológicos, se desarrollaron herramientas con el objetivo de aprovechar sus posibilidades de aplicación clínica, diagnóstica y terapéutica. Muchos grupos de investigación se dedican desde hace años al estudio de las VEC con importantes contribuciones. Estudios recientes sobre el papel de los exosomas en cáncer han revelado que éstos promueven modificaciones en el microambiente metastásico y contribuyen a la formación del nicho premetastásico y se han dedicado también importantes esfuerzos a la clarificación del papel de las VEC no sólo en progresión tumoral, sino también, en la comunicación entre los tumores y el sistema inmune. ^{5,6}

Desde hace más de tres décadas, el cáncer constituye la segunda causa de muerte más frecuente en Cuba y primera en personas de 15-49 años. La quinta parte de defunciones registradas entre 1990-2017 fue por cáncer. En la provincia Camagüey se calcula que en los últimos cinco años se han diagnosticado 12 011 casos nuevos de cáncer. Según datos del Departamento de Estadísticas de la Dirección Provincial de Salud de Camagüey, se registraron en 2014 un total de 2 185 nuevos casos

de cáncer, 2 780 en 2015, 2 748 casos en 2016, 2 619 en 2017 y 1 679 en 2018. ⁷

En este contexto internacional se creó en el 2012 el Grupo Español de Innovación e Investigación en Vesículas Extracelulares (GEIVEX) para promover el intercambio en el campo de las VEC y la Red de Excelencia en Investigación e Innovación en Exosomas (REDIEX). En el Tercer Simposio Internacional de GEIVEX en San Sebastián enfocado en la posible aplicación terapéutica de las VEC, se discutió su uso como vehículos para transferir fármacos o utilizarlos como biomarcadores en diagnóstico de enfermedades, así como su papel en mecanismos de infección e inmunidad. ⁸

En Cuba no existen precedentes de investigaciones sobre la utilización de las VEC como biomarcadores ni de su implicación en procesos patológicos, lo cual motivó a los autores de la revisión a la búsqueda de información relacionada con el tema, con el objetivo de fundamentar la relación existente entre las VEC y la propagación del cáncer, mediante la descripción de sus características estructurales y funcionales y de su contenido molecular bioactivo que le permite participar en el desarrollo de esta enfermedad y ser usadas como biomarcadores.

Los descubrimientos de la ciencia relacionados con las nuevas atribuciones a las VEC no pueden ser dejados de lado constituyen un paso más para vislumbrar novedosas formas de diagnóstico, tratamiento y prevención de una enfermedad tan terrible y mortal como el cáncer. Pero, ¿cuál es el mecanismo mediante el

cual las VEC participan en la propagación del cáncer? Esta interrogante fue la fuerza motriz de la investigación, cuyo tema es motivo de polémica en la comunidad científica a nivel mundial.

MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica con búsqueda de información entre los meses de enero y febrero de 2019 mediante el empleo de los recursos disponibles de Infomed, en las bases de datos SciELO Cuba, PubMed y Medline. Los descriptores utilizados fueron: vesículas extracelulares, exosomas, miARN y biomarcadores. Se escogieron 25 artículos para consultar, 72 % estuvieron enmarcados en los últimos cinco años y el 56 % en los últimos tres (enero 2017 hasta enero 2020). Los métodos utilizados para la realización del trabajo fueron análisis-síntesis, inducción-deducción e histórico-lógico.

DESARROLLO

La comunicación entre células es esencial para la homeostasis del organismo. Existen al menos cinco tipos de comunicación celular, que en su mayoría ocurren cuando algunas células liberan moléculas llamadas ligandos que actúan sobre receptores de otras células blanco o diana. A pesar de los diversos estudios sobre este mecanismo quedan algunas dudas por responder, relacionadas con la especificidad de las moléculas para llegar a su destino al ser

liberadas y con su capacidad para evadir al sistema inmunológico y a enzimas degradadoras como proteasas. Este tema es abordado con el estudio de estructuras derivadas de los sistemas celulares denominadas VEC.

Existen muchas definiciones sobre estas estructuras, como las aportadas por Akers JC et al.¹ Bebelman MP,⁵ Colombo M et al.⁹ y Kalra H et al.¹⁰ sin embargo, los autores de la revisión se afilian al criterio de Sandoval Montiel AA,⁸ de 2017 que afirma que las VEC son aquellos fragmentos rodeados de membrana celular secretados de manera controlada por células vivas, esferas lipídicas que contienen un lumen acuoso y están rodeadas por una bicapa lipídica que participan en la comunicación intercelular sin necesidad de contacto directo entre células, gracias a que su contenido recorre largas distancias a través del torrente sanguíneo, linfa u otros fluidos. El autor también refiere que la célula emisora carga información (lípidos, proteínas, glicoproteínas, como factores de transcripción, ADN y pequeños ARN) a las VEC, que son secretadas al medio extracelular y al ser captadas por la célula diana, producen un efecto específico. En relación a su biogénesis las VEC se clasifican en exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos.⁸ Es un criterio compartido por Yanez-Mo M,¹¹ que las VEC pueden transmitir señales entre neuronas o entre células del sistema neuroendocrino, un ejemplo son las vesículas sinápticas. Sin embargo, en el pasado no se consideró que todas las VEC tuvieran un papel fisiológico en especial las vesículas de tamaños más

pequeños, los exosomas, con un tamaño de 50 a 100 nm, las cuales son producidas por la mayoría de las células. Solo ahora se ha reconocido su papel en la fisiología y en enfermedades.⁹

Las VEC son diversas y han sido clasificadas por sus características físicas de tamaño, índice de sedimentación y contenido. También pueden clasificarse según su origen, ya que pueden surgir a partir de células normales, cancerosas, apoptóticas.⁸

Yanez-Mo M,¹¹ afirma que los mecanismos involucrados en la formación de las VEC son diversos. Los exosomas y las microvesículas se forman de manera distinta, ya que mientras los exosomas maduran a partir de sistemas membranales llamados cuerpos multivesiculares que se forman a partir del sistema discreto de endomembranas, las microvesículas se forman mediante evaginaciones de la membrana plasmática. Los cuerpos apoptóticos con un tamaño de 40-5000 nm se forman en el proceso de apoptosis y se diferencian de las VEC provenientes de células normales en su contenido, ya que los primeros pueden contener organelos completos o restos de los mismos mientras que las segundas no.^{1,12}

Después de un profundo análisis por parte de investigadores como Arslan F et al.¹³ y Bian et al.¹⁴ encontraron que las VEC cumplen múltiples funciones como transportadores de información de célula a célula, un ejemplo lo constituye el hecho de que las VEC acarrean macromoléculas como proteínas, ADN y ARN; en

lo especial miARN, reguladores de la expresión genética.

El destino celular de las vesículas depende de proteínas de membrana. La carga vesicular es variada y específica para cada destino celular. Con frecuencia se descubren nuevas moléculas en microvesículas, tanto de células normales como provenientes de células cancerosas, por lo que para tener una noción actualizada del contenido vesicular se crearon bases de datos de libre acceso: Vesiclepedia y Evpedia.¹⁵ Las proteínas en las membranas de estas vesículas, como las tetraspaninas e integrinas pudieran ser las encargadas de definir su destino celular. Las vesículas incluyen proteínas transmembranales, glicoproteínas y moléculas citosólicas encargadas del transporte molecular y chaperonas. Así mismo, se transportan ácidos nucleicos como ADN y ARN.¹⁵

Las VEC provenientes de células normales cumplen diversas funciones fisiológicas, como por ejemplo, estimular la maduración de los espermatozoides al acarrear factores de las células del epidídimo.⁹ La presencia de vesículas en el tracto genital femenino facilita al espermatozoide su encuentro con el ovocito.¹¹ Otra función que cumplen las VEC provenientes de células normales es la de acarrear miR-143, un miARN que inhibe el crecimiento de células tumorales.¹⁶ Condiciones como el tabaquismo pueden inhibir la secreción de vesículas con miR-143, por lo que el tumor puede crecer.¹⁷ En modelos animales se han utilizado VEC provenientes de células madre (CM)

para reparar condiciones experimentales el daño a órganos durante ataques cardíacos, quemaduras,¹¹ daño al hígado, al pulmón y renal.¹⁸ Esto abre puertas a la posibilidad de que en el futuro se implementen terapias con CM ricas en VEC y libres de células.¹³

No obstante, estas estructuras poseen otra cara que los autores del trabajo trataron de revelar a partir de los escritos de Zhang HG et al.¹⁶ Shurtleff MJ et al.¹⁹ y Hong BS et al.²⁰ la cual consiste en que se ha comenzado a reconocer su papel para favorecer el cáncer. Como parte del contenido molecular bioactivo, son los ARN un factor humoral esencial en la comunicación intercelular, por lo que la mayoría de las investigaciones realizadas centran su atención en ellos, pero fundamental en los miARN transportados por las VEC, a los cuales se les atribuye un rol esencial en todas las etapas del desarrollo del cáncer al incluir la recurrencia de la enfermedad.

Existen evidencias de que las VEC provenientes de células cancerosas contienen factores de crecimiento que utilizan para su autoconsumo, ruta autocrina y para comunicarse con otras células, ruta paracrina para su desarrollo y crecimiento.¹⁶ Las células tumorales secretan vesículas para reclutar otras estirpes celulares que favorecen su desarrollo, su escape del tumor primario e inhibición de la respuesta inmunológica.^{6,16} Para lograrlo las VEC provenientes de células cancerígenas modifican a las células endoteliales circundantes,²¹ y promueven el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos

es decir, la angiogénesis, para alimentar al tumor en crecimiento.¹⁴

Las VEC de células cancerígenas modifican la conducta de los fibroblastos los convierten en fibroblastos asociados a células tumorales. Estos fibroblastos les ayudan a degradar la matriz extracelular (MEC) para entrar a la corriente sanguínea o a vasos linfáticos, en camino a invadir otros órganos blancos.^{17,22} Estas VEC son capaces de regular la respuesta inmune, ya que reclutan células inmunológicas que secretan inhibidores de la respuesta inmune, las ocultan de células que pueden eliminarlas, como los linfocitos citolíticos naturales (NK, del inglés natural killer cells).⁶ Las VEC de células cancerígenas pueden modificar el microambiente donde iniciarán una metástasis a través de la modificación epigenética de células del nuevo ambiente mediante la acción de determinadas proteínas y miARN que transportan.^{20,23}

Hong BS et al.²⁰ y Donnarumma E et al.¹⁷ fueron los autores que más relevancia concedieron al papel de los miARN en el desarrollo del cáncer. Muchos genes blancos de miARN están implicados en la regulación transcripcional, la proliferación celular y la apoptosis, por lo que la expresión aberrante de miARN podría contribuir al inicio y progresión del cáncer y otras enfermedades.²⁰ Los primeros miARN asociados al cáncer fueron miR15 y miR16. Estos miARN en células normales, tienen como gen blanco al factor anti apoptótico Bcl-2 que se encuentra localizado en el cromosoma 18,

locus 21.33 (18q21.33), ausente en la mayoría de los pacientes con leucemia linfocítica crónica.¹⁴

De esta forma los miARN miR15 y miR16 que presentan como genes blancos proto oncogenes y que tienen efectos importantes en el silenciamiento de un oncogén, se comportan como supresores tumorales. Asimismo los miARN que regulan la expresión de genes supresores de tumores se encuentran, por lo general, sobre expresados en células tumorales y se comportan como oncogenes.²³ Por consiguiente una alteración en la expresión de miARN puede provocar la sobreexpresión de un oncogén o el silenciamiento de un gen supresor tumoral y así contribuir al desarrollo o el mantenimiento de la progresión tumoral. De hecho hay evidencias de que distintos miARN pueden actuar en las distintas etapas de la carcinogénesis: desarrollo, invasión, metástasis y resistencia a tratamientos como quimioterapia y radioterapia.²³

La expresión aberrante de miARN es un hecho frecuente en el cáncer, tan así que estudios donde se comparan la expresión de diferentes miARN entre tejidos cancerosos y normales demuestran una disminución global en la expresión de estos miARN en tejidos tumorales con respecto a aquellos normales. Además, existe una relación directa entre la expresión de miARN y el tejido de origen, de modo que cada tipo de cáncer presenta un perfil de expresión específico. Como consecuencia distintos tipos de cáncer humanos pueden ser clasi-

ficados por medio de sus perfiles de miARN.^{2,23}

Diferentes fenómenos pueden atribuirse como causas de alteración de la expresión de miARN tales como, un cambio numeral de copias del gen, mutaciones o polimorfismos del miARN o del sitio de unión del mismo en el ARNm o modificaciones epigenéticas. Dentro de estas últimas, el silenciamiento de miARN que actúan como supresores tumorales mediante hipermetilación del ADN es un hecho frecuente en células tumorales al igual que la hipometilación de miARN que actúan como oncogenes, al resultar una sobreexpresión de los mismos. Por ejemplo, el promotor del gen let-7a se encuentra desmetilado en cáncer de pulmón y metilado en células normales.²⁴

Las células tumorales pueden penetrar en la médula ósea y toma dos caminos. Mediante VEC se modifican CM que se trasladan a sitios de metástasis para ayudar a las células tumorales a invadir. Otro camino que pueden tomar las células tumorales es aprovechar las VEC provenientes de CM, al adquirir un fenotipo durmiente o de latencia; es decir, entrarán en fase G0 del ciclo celular, donde no se dividirán y permanecerán por años o décadas en pequeños cúmulos o microtumores dentro de la médula ósea. Estas células podrán reactivarse y volver a ser metastásicas. Por su estado de latencia serán difíciles de eliminar con los tratamientos anticancerígenos sistémicos.^{14,17}

Para migrar fuera del tumor primario las células tumorales adquieren un fenotipo que les

confiere movilidad, mediante un proceso llamado transición epitelio-mesénquima, que les facilitará invadir otros órganos y tejidos.²¹ En este estado, las células tumorales secretan un nuevo tipo de microvesículas de gran tamaño, de 0,5 a 10 μm , llamadas oncosomas,¹ indicativas de estadios avanzados de cáncer y se propone que contribuyen a modificar el microambiente del sitio de metástasis.²³

Los exosomas tumorales pueden desencadenar el desarrollo de metástasis.²⁴ En lo referente al estroma pueden inducir metástasis de forma directa por aumento de agresividad tumoral. Es el caso de fibroblastos asociados a tumor en cáncer de mama, cuyos exosomas contienen miARN que aumentan la agresividad de las células tumorales.¹⁷ En fibroblastos asociados a tumores se ha visto que pueden favorecer la progresión tumoral por liberación de exosomas, que tienen nutrientes y capacidad de generar adaptación metabólica en el tumor. En el caso de la leucemia de linfocitos T del adulto, son los propios linfocitos infectados por el virus HTLV1 los que liberan exosomas y generan un fenotipo protumoral en CM mesenquimales de la médula. La metástasis se puede inducir de forma indirecta lo que favorece la generación del nicho pre metastásico, basado en la modelación de la MEC, así como la expresión en el nicho de proteínas de adhesión. También se modifica la arquitectura vascular y se polarizan células inmunes, además de reclutar células de la médula ósea con capacidad inmunosupresora.^{6,17}

En el caso de los exosomas producidas por

células ascíticas cancerígenas, estos generan la transición de células de mesotelio a fibroblastos asociados a tumores, e inducen así la metástasis de forma indirecta.²² Los exosomas producidos por células de cáncer de páncreas hacen que se exprese el factor de crecimiento tumoral beta ($\text{TGF}\beta$) en el estroma del hígado y hacen que se exprese fibronectina, por lo que se reclutan macrófagos que favorecerán la metástasis.²⁴ Los exosomas no solo son capaces de promover la metástasis, hecho al que ayuda la remodelación vascular que permite a las células desprenderse del tumor y entrar en la circulación, sino que también son capaces de dirigir al sitio en el que se dé, lo que recibe el nombre de organotropismo. Ello se debe a la expresión de integrinas en exosomas que determinan su captación por células del estroma de determinados órganos; ITGalfa6 con ITGbeta1 e ITGbeta4 en pulmón, que los captan fibroblastos y células epiteliales; ITGbeta5 e ITGalfaV en hígado, que los captan células de Kuppfer y la ITGbeta3 indica que causa organotropismo en neuronas del sistema nervioso central.^{17,22}

El efecto protumoral de los exosomas puede ser directo: en el caso del glioblastoma se vio que los exosomas derivados de células tumorales transportaban receptor del factor neurotrófico derivado del cerebro, neurotrofina tres o tirosina quinasa neurotrófica (TrkB), receptor para el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, en inglés *brain-derived neurotrophic factor*) que está implicado en varios trastornos neurodegenerativos, psiquiátricos y

proliferativos que aumentan la agresividad y proliferación de otras células.²¹

Otro ejemplo es la transferencia del receptor de crecimiento epidérmico variante III (EGFR III) por los exosomas derivados de glioblastoma. El EGFR III es una oncoproteína que favorece la transformación celular de células sanas.⁸ Dos de los mecanismos por los que los exosomas pueden ser protumorales de forma indirecta es por medio de la alteración del sistema inmune o por conferir resistencia a la quimioterapia.⁸ Sin embargo, gran parte de la contribución a la progresión tumoral o la metástasis por parte de los exosomas, se debe a su interacción con las células inmunes del estroma o del resto del cuerpo, la capacidad de las Biomoléculas que contienen para inhibir a las células dendríticas, desencadenar la apoptosis de algunos linfocitos T, generar linfocitos T reguladores, provocar el cambio a fenotipo protumoral en macrófagos, activar las células supresoras derivadas de linaje mieloide y suprimir a las NK, aunque sus acciones dependen del tipo de tumor y del paciente.⁶

Así el contenido de las VEC derivadas de células tumorales pueden regular diversos procesos clave en la progresión tumoral tales como la proliferación, supervivencia, desdiferenciación, invasión/migración de las células cancerígenas, así como la modulación del estroma para la producción de factores inflamatorios,⁸ remodelación de la MEC,¹⁷ neovascularización o angiogénesis,¹⁴ procesos de quimio resistencia celular,⁶ preparación del nicho metas-

tásico en otros órganos,²³ o la inhibición de la respuesta inmune anti-tumoral.⁶

Una de las preguntas en el campo de la medicina cuestiona si es posible la detección temprana de diversas enfermedades, para potenciar la efectividad de los tratamientos y mejorar la calidad de vida de los pacientes. La respuesta de la mayoría de los grupos de investigación enfocados en este tema es afirmativa y se concentran en el estudio del contenido de VEC en diversos tejidos. Resulta interesante que ciertas enfermedades se relacionan con cambios moleculares tanto al interior como exterior de las células. De esta forma la detección temprana de esos cambios puede revelar la presencia de enfermedades, por lo que esas moléculas sirven como marcadores biológicos de cada condición.

Después de analizar la bibliografía sobre biomarcadores, los autores concluyen que es un tema de actualidad en la investigación aplicada a la biomedicina, sin embargo, también existen discrepancias en la posibilidad de su utilización entre investigadores como Whiteside TL,² Nakai W et al.³ y Ogata-Kawata H et al.⁴ Los autores del trabajo se afilian a los criterios de Arbelaiz Cossío A.²⁵ en cuanto a que por sus características y contenido, los exosomas aparecen como interesantes candidatos de investigación, estudiados por muchos equipos científicos a nivel mundial. Pero ¿por qué son tan apetecidos?

Las VEC pueden encontrarse en todos los fluidos del cuerpo, en la sangre, linfa, semen,

lágrimas, saliva, orina, líquido cefalorraquídeo. Estos fluidos contienen mezclas heterogéneas de VEC de diversos orígenes difíciles de separar y clasificar.² Por ello, son fuente interesante de biomarcadores para diagnóstico y seguimiento. Arbelaiz Cossío A,²⁵ expone que existen al menos tres formas de usar las VEC en el tratamiento del cáncer:

- 1) inhibición de producción de VEC derivadas de células cancerosas,
- 2) evitar que VEC derivadas de células cancerosas sean tomadas por otras células y
- 3) eliminar VEC derivadas de células cancerosas que se encuentran circulando.

Esto podría reducir la angiogénesis tumoral, conducir a fallos en la formación del nicho metastásico y aumentar la respuesta inmune contra tumores.^{6,14,23,25}

El estudio de los ARN circulantes en particular aquellos asociados a VEC, se ha incrementado en los últimos tiempos debido a su gran potencial como biomarcadores para la detección y caracterización de enfermedades como el cáncer.² Esto es debido a propiedades que presentan los exosomas que los hacen propicios para el uso como biomarcadores: vectores estables para el transporte de moléculas como los pequeños ARN, pueden aislarse a partir de la sangre de los pacientes y lo más importante, reflejan las propiedades de las células cancerosas.^{2,25}

Un estudio reciente demostró que niveles de siete miARN (let-7a, miR-1229, miR-1246, miR-150, miR-21, miR-223, miR-23a) presentes en exosomas extraídos del suero de pa-

cientes con cáncer colorrectal eran de manera sustancial mayores con respecto a niveles presentes en individuos en estadios tempranos de la enfermedad e individuos sanos, además, estos miARN eran secretados por líneas celulares de cáncer de colon que por líneas celulares normales del colon. Los perfiles de ARN pequeños de exosomas proveen información del estado y avance de la enfermedad. Al asociarse estos biomarcadores con características moleculares y parámetros clínicos, se habla de exosomas circulantes como una forma de biopsia líquida.²⁵

De todos modos uno de los mayores inconvenientes que tiene el uso de VEC como biomarcadores es que estas no solo son secretadas por las células cancerosas, sino que por otros tipos celulares asociados a la sangre periférica, como son los linfocitos, plaquetas y células endoteliales, por lo que su uso como biomarcadores ya implica el aislamiento de poblaciones vesiculares específicas a partir del plasma sanguíneo.³

Existen diferentes métodos para el aislamiento de las VEC, aunque el más extendido es la ultracentrifugación. Existen otros métodos que incluyen la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, sus siglas en inglés), ultrafiltración, precipitación con polímeros e inmunoseparación basada en partículas magnéticas.^{2,3}

En 2018 se celebró la segunda reunión del proyecto europeo *Exploration of Extracellular Vesicles for Precision Diagnostics of Prostate Cancer* (PROSCANEXO), coordinado por el grupo de investigación del CIBER-BBN (Consortio

Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina) en el Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón. El proyecto estudia el uso de VEC como biomarcadores para el diagnóstico preciso del cáncer prostático y pretende establecer herramientas técnicas y clínicamente validadas para el diagnóstico y pronóstico de este tipo de cáncer, basadas en análisis de VEC y su composición molecular en muestras de sangre y orina.^{23,25} Los investigadores lograron desarrollar metodologías de extracción de VEC en muestras biológicas, así como un biosensor de flujo lateral para el diagnóstico del cáncer de próstata.²³

En la actualidad se analiza el papel clave de las VEC en la homeostasis y el papel de las derivadas de células tumorales durante el cáncer. Mientras más se conozca sobre los mecanismos implicados en la producción de vesículas, su destino celular y formas de modificarlas, se podrá avanzar en el tratamiento eficiente de diversas enfermedades.

CONCLUSIONES

Las vesículas extracelulares constituyen vehículos versátiles en la comunicación intercelular que son secretados de manera controlada por las células vivas, que poseen un contenido rico en diferentes sustancias. Las células tumorales secretan vesículas extracelulares para reclutar otras estirpes celulares que favorecen su desarrollo, su escape del

tumor primario, la inhibición a la respuesta inmunológica y la angiogénesis local.

Como parte del contenido molecular bioactivo, son los ARN un factor humoral esencial y es a los microARN a los que se atribuye un rol esencial en todas las etapas del desarrollo del cáncer, inclusive la recurrencia de la enfermedad. Las vesículas extracelulares que median las diferentes etapas en el desarrollo del cáncer se consideran biomarcadores ideales para el diagnóstico, evaluación, seguimiento y tratamiento del cáncer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neuro Oncol* [Internet]. 2013 [citado 15 Feb 2019];113(1):1-11. Disponible en: <https://scholar.harvard.edu/bobcarter/publications/biogenesis-extracellular-vesicles-ev-exosomes-microvesicles-retrovirus> DOI: 10.1007/s11060-013-1084-8
2. Whiteside TL. Extracellular vesicles isolation and their biomarker potential: are we ready for testing? *Ann Transl Med* [Internet]. 2017 Feb [citado 20 Feb 2019];5(3):54. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5326637/>. DOI: 10.21037/atm.2017.01.62
3. Nakai W, Yoshida T, Diez D. A novel affinity-based method for the isolation of highly puri

purified extracellular vesicles. *Sci Rep* [Internet]. 2016 [citado 20 Feb 2019];6 (33935):[aprox. 11 p.]. Disponible en:

<https://www.nature.com/articles/srep33935>
DOI: 10.1038/srep33935

4. Ogata Kawata H. Circulating exosomal microRNA as biomarkers of colon cancer. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Apr [citado 20 Feb 2019];9(4):[aprox. 9 p.]. Disponible en:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0092921> DOI: 10.1371/journal.pone.0092921

5. Bebelman MP. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Science Direct* [Internet]. 2018 [citado 24 Ene 2019];188 (1):1-11. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016372581830038X> DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.02.013

6. Maravillas Montero JL, Martínez Cortés I. Los exosomas de las células presentadoras de antígenos y su papel en la regulación de las respuestas inmunológicas. *Rev Alerg Méx* [Internet]. Dic 2017 [citado 24 Ene 2019];64 (4):463-476. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-91907017000400463&Ing=es DOI: 10.29262/ram.v64i4.285

7. Ministerio de Salud Pública. Informe de Morbilidad por Cáncer. Camagüey: Dirección Provincial de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2018.

8. Sandoval Montiel AA, Hernández Cortés P, Guerrero Reyes J, Anaya Ruiz M, Rosas Mu-

rrieta NH. Las vesículas extracelulares y su papel en la salud y el cáncer. *AyTBUAP* [Internet]. 2017 [citado 15 Feb 2019];2(7): [aprox. 5 p.]. Disponible en:

http://www.ditco.buap.mx/recursos/documentos/revista/anio2_no7_2017/vesiculas.pdf

9. Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* [Internet]. 2014 [citado 15 Feb 2019];30(1):255-89. Disponible en:

<https://www.annualreviews.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326> DOI: 10.1146/annurev-cellbio.101512-122326

10. Kalra H, Drummen GP, Mathivanan S. Focus on Extracellular Vesicles: Introducing the Next Small Big Thing. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 [citado 15 Feb 2019];17(2):170. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/17/2/170> DOI: 10.3390/ijms17020170

11. Yanez-Mo M, Siljander PR, Andreu Z, Bedina Zavec A, Borrás FE, Buzas EI, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* [Internet]. 2015 [citado 15 Feb 2019];4 (1):[aprox. 26 p.]. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3402/jev.v4.27066> DOI: 10.3402/jev.v4.27066

12. Sadgwick AE, D´Souza Schorey C. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic* [Internet]. 2018 [citado 22 Ene 2019];19(1): 1-29. Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tra.12558> DOI: 10.1111/tra.12558

13. Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res* [Internet]. 2013 [citado 15 Feb 2019];10(3):301-12. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1873506113000032> DOI: [10.1016/j.scr.2013.01.002](https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.01.002)

14. Bian S, Zhang L, Duan L, Wang X, Min Y, Yu H. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model. *J Mol Med (Berl)* [Internet]. 2013 [citado 15 Feb 2019];92(4):1839-46. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/259321911> [Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model](https://doi.org/10.1007/s00109-013-1110-5) DOI: [10.1007/s00109-013-1110-5](https://doi.org/10.1007/s00109-013-1110-5)

15. Kim DK, Lee J, Kim SR, Choi DS, Jin Yoon Y, Hyun Kim J, et al. EVpedia: a community web portal for extracellular vesicles research. *Bioinformatics* [Internet]. 2015 [citado 15 Feb 2019];31(6):933-9. Disponible en: <https://researchportal.helsinki.fi/en/publications/evpedia-a-community-web-portal-for-extracellular-vesicles-research> DOI: [10.1093/bioinformatics/btu741](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu741)

16. Zhang HG, Grizzle WE. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular com-

munication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions. *TAm J Pathol* [Internet]. 2014 [citado 15 Feb 2019];184(1):28-41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/article/pii/S0002944013007384> DOI: [10.1016/j.ajpath.2013.09.027](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.09.027)

17. Donnarumma E, Fiore D, Nappa M, Roscigno G, Adamo A, Iaboni M. Cancer associated fibroblasts release exosomal microRNAs that dictate an aggressive phenotype in breast cancer. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Jul [citado 20 Feb 2019];77(13):5933. Disponible en: <https://www.oncotarget.com/article/14752/text/> DOI: [10.18632/oncotarget.14752](https://doi.org/10.18632/oncotarget.14752)

18. Rovira J, Diekmann F, Campistol JM, Ramírez-Bajo MJ. Uso terapéutico de las vesículas extracelulares en la insuficiencia renal aguda y crónica. *Nefrología (Madr)* [Internet]. Abr 2017 [citado 24 Ene 2019];37(2):126-137. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sciarttext&pid=S021169952017000200126&Ing=es> DOI: [10.1016/j.nefro.2016.04.006](https://doi.org/10.1016/j.nefro.2016.04.006)

19. Shurtleff MJ, Temoche-Díaz MM, Schemman R. Extracellular vesicles and cancer: Caveat Lector. *Ann Rev Cancer Biol* [Internet]. 2017 Dic [citado 15 Feb 2019];2(1):395-411. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-cancerbio-030617-050519> DOI: [10.1146/annurev-cancerbio-030617-050519](https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-030617-050519)

20. Hong BS, Cho JH, Kim H. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell

cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. BMC Genomics [Internet]. 2009 [citado 20 Feb 2019];10 (556):[aprox. 13 p.]. Disponible en:

<https://www.biomedcentral.com/1471-2164/10/556> DOI: 10.1186/1471-2164-10-556

21. Gopal SK, Greening DW, Rai A. Extracellular vesicles: their role in cancer biology and epithelial-mesenchymal transition. Biochem J [Internet]. 2017 Jan [citado 20 Feb 2019];474 (1):21-45. Disponible en: [https://](https://www.researchgate.net/publication/312042506)

www.researchgate.net/publication/312042506 [Extracellular vesicles Their role in cancer biology and epithelial-mesenchymal transition](#) DOI: 10.1042/BCJ20160006

22. Wei M, Yang T, Chen X, Wu Y, Deng X, He W. Malignant ascites-derived exosomes promote proliferation and induce carcinoma-associated fibroblasts transition in peritoneal mesothelial cells. Oncotarget [Internet]. 2017 Feb [citado 20 Feb 2019];8(26):42262-71. Disponible en: <https://www.oncotarget.com/article/15040/text/> DOI: 10.18632/oncotarget.15040

23. Shiozawa Y, Berry JE, Eber MR. The marrow niche controls the cancer stem cell phenotype of disseminated prostate cancer. Oncotarget [Internet]. 2017 May [citado 20 Feb 2019];7(27):41217-32. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/303085939> [The marrow niche controls the cancer stem cell phenotype of disseminated prostate cancer](#) DOI: 10.18632/oncotarget.9251

24. Heath A, Yibin Kang S. Determinants of Organotropic Metastasis. Annu Rev Cancer Biol [Internet]. 2017 Mar [citado 20 Feb 2019];1 (1):403-23. Disponible en:

<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-cancerbio-041916-064715> DOI: 10.2246/annurev-cancerbio-041916-064715

25. Arbelaiz Cossío A. Papel de las vesículas extracelulares en el diagnóstico y patogenia del colangiocarcinoma [Tesis Doctoral]. Donostia: Universidad del País Vasco. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología; 2017 [citado 20 Feb 2019]:

[aprox. 11 p.]. Disponible en: https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/26887/TESIS_ARBELAIZ_COSSIO_ANDER.pdf?sequence=1&isAllowed=y

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

I. Felipe de Jesús López Catá (Concepción y diseño de la investigación. Recolección de la información. Redacción y revisión del trabajo. Aprobación de su versión final).

II. José Sabourín Divé (Redacción, revisión del trabajo y aprobación de su versión final).

III. Miguel Alfredo Matos Santisteban (Redacción y revisión del trabajo. Aprobación de su versión final).

IV. Odalys Lucila Castillo Miranda (Concepción y diseño de la investigación. Recolección de la información. Redacción y revisión del trabajo y aprobación de su versión final).

Recibido: 03/04/2020

Aprobado: 05/06/2020