

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER”

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Modalidad: Artículo Científico

Autora: Campoverde Ortega, Gabriela Noemi

Tutora: Ph.D. Proaño Pérez, María Elizabeth

Ambato – Ecuador

Febrero 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Artículo Científico sobre el tema:

"**CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER**" desarrollado por Campoverde Ortega, Gabriela Noemi, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos técnicos, científicos y corresponden a lo establecido en las normas legales para el proceso de graduación de la Institución; por lo mencionado autorizo la presentación de la investigación ante el organismo pertinente, para que sea sometido a la evaluación de docentes calificadores designados por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, febrero 2025

LA TUTORA



Proaño Pérez, María Elizabeth

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Los criterios emitidos en el Artículo de Revisión "**CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER**", como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones, son de autoría y exclusiva responsabilidad de la compareciente, los fundamentos de la investigación se han realizado en base a recopilación bibliográfica y antecedentes investigativos

Ambato, febrero 2025

LA AUTORA



Campoverde Ortega, Gabriela Noemi

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Ph.D. Proaño Pérez, María Elizabeth con CC: 1803000569 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **"CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER"**, Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, febrero 2025



.....

Proaño Pérez, María Elizabeth

CC: 1803000569

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Campoverde Ortega, Gabriela Noemi con CC: 1850460690 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER”**, Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, febrero 2025



Firmado electrónicamente por:
GABRIELA NOEMI
CAMPOVERDE ORTEGA

.....

Campoverde Ortega, Gabriela Noemi

C.C: 1850460690

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador, aprueban en el informe del Proyecto de Investigación: "**CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER**", de Campoverde Ortega Gabriela Noemi, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, febrero 2025

Parar su constancia firma

……

Presidente

.....…… .....……

1er Vocal 2 do Vocal

Bionatura Journal
Ibero-American Journal of Biotechnology and Life Sciences

Acceptance Letter and Publication Certificate

December 23, 2024

Dear Authors:

We are pleased to inform you that your article, " Carga exosomal: Biomarcadores en el diagnóstico del cáncer " has been accepted for publication in the Bionatura Journal.

Experts in the field have carefully reviewed their article, which has been considered a valuable contribution to the scientific literature. We thank you for your hard work and dedication.

The expected publication date for their article is March 15, 2025, and will be available online.

To celebrate this achievement, we proudly award them this Certificate of Publication:

Gabriela Campoverde Ortega, *Elizabeth Proaño-Pérez*: Carga exosomal: Biomarcadores en el diagnóstico del cáncer. Date of publication: March 15, 2025 DOI: http://dx.doi.org/10.70099/BJ/2025.02.012.

This certificate confirms that the article has been reviewed and accepted by a committee of experts and meets the quality standards of the Bionatura Journal.

We are honored to publish your work and hope this recognition will encourage you to continue conducting high-quality research.

Sincerely yours,

Bionatura Journal Editorial Team

55104442F NELSON FRANCISCO SANTIAGO (R: B56379233)

Firmado digitalmente por 55104442F NELSON FRANCISCO SANTIAGO (R: B56379233)
Fecha: 2024.12.22 14:57:06 +01'00'

Profesor Nelson Santiago Vispo, Ph.D.
Editor in Chief Bionatura Journal
editor@bionaturajournal.com
Editorial Clinical Biotec SL,
santiago@clinicalbiotec.com

clinicalBiotec

DEDICATORIA

A mis padres, Cristina Ortega y Miguel Campoverde, quienes con su apoyo y amor han sabido guiarme, inspirarme y darme la fuerza necesaria para esforzarme cada día y llegar a ser la persona que soy. También a mi hermana Sofía, quien ha sido incondicional en cada momento de mi vida, gracias por alentarme a salir adelante cada día.

A mi más grande inspiración, Omar, quien con su amor y apoyo constante me ha motivado a seguir adelante. Siempre estaré agradecida por hacer cada momento especial y por tenerte como mi compañero de vida.

Campoverde Ortega, Gabriela Noemi

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco primero a Dios por bendecirme con el apoyo de mis familiares y amigos, así como, darme la sabiduría y fortaleza para seguir adelante. También a mis padres y hermana, por ser incondicionales y pacientes en cada momento de mi vida, estoy infinitamente agradecida por sus consejos y por siempre creer en mí.

Mis más sinceros agradecimientos a la Universidad Técnica de Ambato por abrirme sus puertas y permitirme cumplir esta meta. Especialmente a cada docente de la Carrera de Laboratorio Clínico por su dedicación y compromiso al compartir sus conocimientos, fueron fundamentales en mi desarrollo profesional.

A mi tutora la PhD. María Elizabeth Proaño, por su paciencia y orientación durante el desarrollo de este proyecto. Gracias por su apoyo y consejos que permitieron que este artículo sea exitoso.

Por último, a mis amigas y amigos, quienes han sido una fuente de apoyo invaluable, gracias por acompañarme y motivarme en este largo proceso.

Campoverde Ortega, Gabriela Noemi

“CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER”

RESUMEN

El cáncer es un problema de salud a nivel mundial, siendo una de sus principales problemáticas la detección a tiempo. Es por eso, que se ha propuesto la determinación de biomarcadores exosomales como posible herramienta al momento de diagnosticar esta patología, ya que, además de ser elementos importantes en la comunicación intracelular al transportar biomoléculas celulares como lípidos, ácidos nucleicos, proteínas y metabolitos asociados a su célula productora, actúan como principales reguladores del microambiente tumoral, encargado de la angiogénesis, progresión y desarrollo de metástasis. Para su aislamiento, existen diversas técnicas relacionadas con la ultracentrifugación, ultrafiltración e inmunoafinidad que permiten su separación de diferentes fuentes, ya sean, fluidos biológicos o medios de cultivo, facilitando su estudio en el contexto del cáncer.

PALABRAS CLAVES: EXOSOMAS; BIOMARCADORES DE TUMOR; CÁNCER, DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

“CARGA EXOSOMAL: BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER”

ABSTRACT

Cancer is a global health problem, and one of its main challenges is timely detection. Therefore, the determination of exosomal biomarkers has been proposed as a possible tool when diagnosing this pathology. In addition to being important elements in intracellular communication by transporting cellular biomolecules such as lipids, nucleic acids, proteins, and metabolites associated with their producer cell, they act as main regulators of the tumor microenvironment, responsible for angiogenesis, progression, and development of metastasis. For their isolation, there are various techniques related to ultracentrifugation, ultrafiltration, and immunoaffinity that allow their separation from different sources, whether biological fluids or culture media, facilitating their study in the context of cancer.

KEYWORDS: EXOSOMES; TUMOR BIOMARKERS; CANCER, CLINICAL DIAGNOSIS.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es un problema de salud a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), durante el año 2019, representó una de las principales causas de muerte en 135 países. Además, la carga de cáncer a nivel global aumenta anualmente, lo que se evidencia en las estimaciones realizadas por el GLOBOCAN: en el año 2020 se produjeron 19,3 millones de casos nuevos[1], mientras que para el año 2022, existieron 20,0 millones de casos nuevos[2]. Del total de casos de cáncer del año 2022, el 60% se asocian a 10 tipos de cáncer en específico: pulmón, mama, colorrectal, próstata, estómago, hígado, tiroides, cuello uterino, vejiga y Linfoma no Hodking[2].

Se estima que durante los siguiente 42 años, el cáncer sea una de las principales enfermedades malignas no transmisibles, es así, que surge la necesidad de establecer y reforzar los métodos para la detección y diagnóstico temprano[3]. Actualmente, la detección del cáncer se basa en pruebas de imagen y de laboratorio, así como, pruebas confirmatorias realizadas mediante biopsias[4]. Gracias a rigurosos estudios sobre los exosomas, se reconoce que estas vesículas juegan un papel importante dentro del microambiente tumoral y representan una fuente de biomarcadores de diagnóstico[5,6]. Para comprender su potencial como biomarcadores se debe tomar en cuenta los genes que propician el origen tumoral, ya que estos, determinarán la carga y función de los exosomas, es así, que aumenta la posibilidad de identificar biomarcadores con mayor especificidad y sensibilidad al momento de diagnosticar[4].

Algunas ventajas de los biomarcadores exosomales sobre los biomarcadores tumorales tradicionales, son su presencia en la mayoría de los fluidos corporales como: sangre, orina, saliva, leche, líquido cefalorraquídeo, entre otros[6,7]. Además, su carga muestra una heterogeneidad alta, siendo los principales protagonistas, como herramientas de diagnóstico, las proteínas y ácidos nucleicos, principalmente los microARN (miARN), debido a su elevada concentración y su participación en la regulación de procesos patológicos[7]. En esta revisión se analizarán varios biomarcadores identificados como posibles herramientas para la detección de diferentes tipos de cáncer.

DESARROLLO

Vesículas extracelulares: Exosomas

Las vesículas extracelulares son fragmentos de membrana con contenido citosólico, son secretadas por diversas células, ya sean eucariotas o procariotas, siendo su función principal, la comunicación intercelular. Estas vesículas se clasifican de acuerdo con su morfología, origen y composición en: exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos[8]. Hoy en día, los exosomas son el grupo más estudiado referente a temas oncológicos, pues han demostrado su participación sobre el microambiente tumoral representando piezas útiles al momento de diagnosticar y pronosticar estadios de esta afección[5,8].

En un inicio, los exosomas eran considerados bolsas portadoras de productos desecho de las células, sin embargo, se ha demostrado su amplia participación en procesos biológicos como en la respuesta inmunitaria y la reparación de tejidos[8]. En procesos patológicos, como es el caso del cáncer, los exosomas son reguladores fundamentales del microambiente tumoral, ya que permiten la interacción de células cancerosas y estromales determinando así, la proliferación tumoral, angiogénesis e inhibición de la apoptosis, propiciando un microambiente protumoral[9].

Composición de los exosomas:

Los exosomas son vesículas de origen endocítico, esto quiere decir que, se forman a partir de cuerpos multivesiculares (MVB)[8]. Para su correcta identificación es importante conocer sus características estructurales, en primer lugar, presentan un diámetro aproximado entre 30-100nm, se encuentran recubiertos por una membrana fosfolipídica rica en colesterol, enfingomielina y ceramidas, eficaces no únicamente para su protección, si no también durante su conformación[9]. En segundo lugar, se deben tomar en cuenta las proteínas, mismas que pueden ser comunes en todos los exosomas, tal es el caso de las tetraspaninas (CD9, CD63, CD81, CD82), proteínas de choque térmico, Alix, Tsg101 y flotillinas principalmente[10]. Por otro lado, se encuentran las proteínas específicas dependientes de la célula de origen como MHC I y II, proteínas de adhesión CAM e integrinas[8,10].

En cuanto a su contenido intraluminal, se encuentra altamente relacionado con la célula productora del exosoma, así como, con su estado fisiológico, en este contexto, se pueden encontrar proteínas y ácidos nucleicos como ADN, ARN no codificante, ARN ribosomal (ARNr), ARN de transferencia (ARNt), ARN nuclear pequeño (ARNsn) y microARN (miARN o miR)[8], siendo estos últimos de secreción activa en los exosomas y los de mayor importancia al momento de identificar o detectar la presencia de células cancerígenas[7].

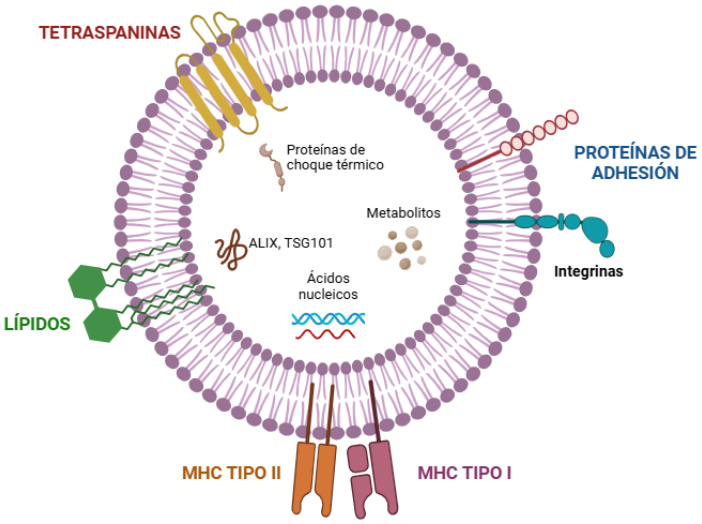


Figura 1. Composición superficial e interna de un exosoma.

Biogénesis de los exosomas:

La formación de los exosomas puede darse como resultado de múltiples factores como la presencia de citocinas y factores de crecimiento, clasificación de proteínas y el tipo de célula de origen[10]. En general, la biogénesis de estas vesículas inicia por la activación de receptores dando paso a las vías de señalización de forma regulada, estos procesos promueven la endocitosis en la célula formando un endosoma temprano, con el objetivo de realizar una clasificación primaria del contenido endocitado, a partir de este momento existen dos posibles vías para la carga endosomal, que se explicarán a continuación: [8,10]

En primer lugar, el endosoma temprano puede liberar su contenido hacia la membrana celular o fusionarse con la membrana del aparato de Golgi, con el propósito de reciclar aquellas moléculas útiles para la célula[9]. Por otro lado, la carga que no necesite ser reciclada se ubicará en vacuolas al interior del endosoma temprano, preparado para su maduración, dando lugar a la formación del endosoma tardío, mismo que puede tener dos destinos, ya sea su fusión con un lisosoma que provocará su degradación, o finalmente, tranformarse en un exosoma[8,9].

Para la formación como tal del exosoma, primero se lleva a cabo la invaginación por parte de la membrana del endosoma tardío, formando vesículas intraluminales (ILV) que al agruparse conforman un cuerpo multivesicular (MVB), estos deben fusionarse con la membrana celular para liberar los exosomas al espacio extracelular[10]. Se debe tener en cuenta que el origen de las vesículas intraluminales (ILV) puede ocurrir mediante dos mecanismos, que se clasifican dependiendo de la participación o no del complejo ESCRT (complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte)[9,10].

Biogénesis dependiente de ESCRT: Esta maquinaria multiproteica está conformada por ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II y ESCRT-III y proteínas accesorias, mismas que llevan a cabo un proceso ordenado que permite recolectar el contenido de las vesículas intraluminales (generalmente proteínas ubiquitinadas) mediante la gemación interna de la membrana de los endosomas tardíos formando vesículas intraluminales[10,7].

Biogénesis independiente de ESCRT: Además de la maquinaria ESCRT, existen componentes propios de los exosomas que juegan un papel importante en su formación, por ejemplo, las tetraspaninas participan en el transporte vesicular y de la carga exosomal, los lípidos como ceramidas y esfingolípidos permiten la deformación de la membrana endosomal para la formación de vesículas intraluminales, entre otras proteínas útiles en la maduración y secreción final de los exosomas[11].

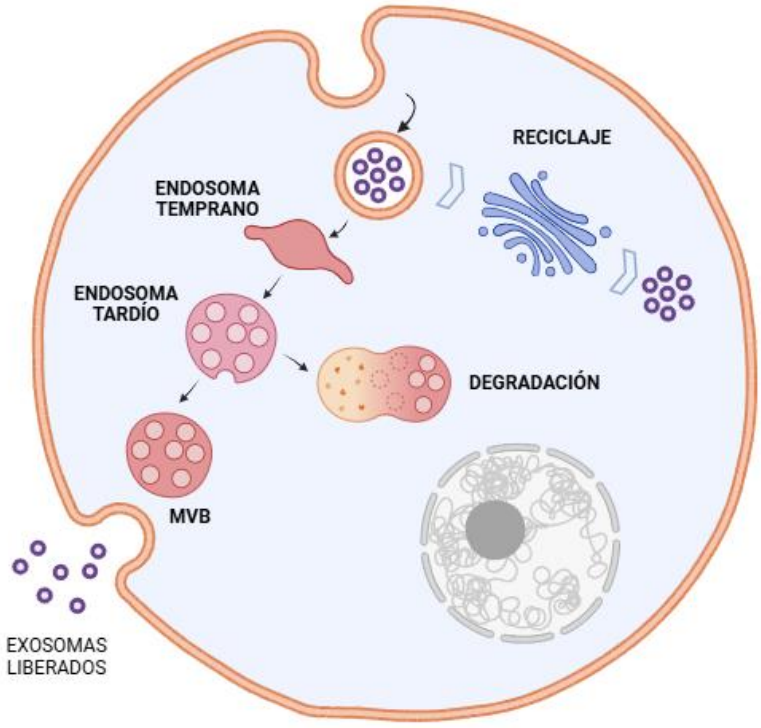


Figura 2. Proceso de biogénesis de los exosomas

Papel de los exosomas en el desarrollo de cáncer

El microambiente tumoral (TME) hace referencia al entorno que rodea a las células cancerosas, en esto se incluye células inmunitarias e inflamatorias circundantes, matriz extracelular, fibroblastos y moléculas de señalización[10], así como, la interacción entre cada elemento ya sean de tipo maligno o no maligno que impulsan el desarrollo de esta patología, se ha observado que las células no

tumorales estimulan la proliferación descontrolada, mientras las células tumorales son las encargadas de afectar los tejidos sanos y diseminarse a través del sistema sanguíneo y linfático[9].

La interacción y comportamiento del microambiente tumoral está regulado gracias a la presencia de los exosomas, ya que, de acuerdo con su contenido pueden cambiar el comportamiento de células tumorales y estromales[10]. Por ejemplo, se ha observado que la presencia de TGFB1 en los exosomas promueve el crecimiento tumoral de células leucémicas e inhibe las vías apoptóticas[9]. Igualmente, Células Madre Cancerosas liberan una concentración elevada de vesículas exosomales, contribuyendo a la plasticidad tumoral y promoviendo la metástasis mediante procesos autocrinos, paracrinos y endocrinos[12].

Identificación y aislamiento de exosomas:

Para la identificación de los exosomas, así como, de las biomoléculas que los conforman, es necesario realizar una serie de procesos que van desde su aislamiento hasta su caracterización física y enriquecimiento[13]. Una de las limitaciones al momento de su identificación precisa, es la producción de otras vesículas extracelulares, por lo que, se han desarrollado técnicas que permiten el uso de anticuerpos contra marcadores de superficie, como las tetraspaninas (CD9, CD63, CD81, CD82), al igual, que marcadores tumorales, por ejemplo, EGFR, EpCAM, entre otros[13,14]. Además, evitan los inconvenientes en cuanto a la superposición de tamaños entre exosomas y otras vesículas extracelulares[14].

Algunas estrategias utilizadas para el aislamiento de exosomas en relación con otros componentes presentes en la muestra o cultivos celulares, son la ultracentrifugación, filtración, cromatografía de exclusión por tamaño y técnicas basadas en microchip[14]. Con referencia al reconocimiento de proteínas o ácidos nucleicos presentes en su estructura, estos se pueden detectar mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), PCR, secuenciación de ADN o microarrays[15].

Siendo el aislamiento, uno de los primeros pasos para el estudio de los exosomas, es fundamental su adecuado procesamiento, ya que, contribuye al nivel de pureza y funcionalidad de las vesículas extracelulares obtenidas. Un método ideal para realizarlo es la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), que además de asegurar la integridad de los exosomas, permite la modificación y escalabilidad de volúmenes, así como, el uso de distintas fuentes: fluidos biológicos, cultivos celulares y medios condicionados[16]. Como se describe, la ultracentrifugación forma parte del procedimiento, esta técnica es la más utilizada debido a su utilidad en la eliminación eficiente de restos celulares y cuerpos apoptóticos[14]. Sin embargo, esto no asegura la eliminación completa de otras partículas, por lo que, SEC ayuda a separar moléculas restantes de la muestra[16].

Como se mencionó anteriormente, existen técnicas relacionadas con la inmunoafinidad, mismas que se basan en la captura de exosomas asegurando la pureza al momento de separarlos del medio. Una herramienta novedosa son las perlas magnéticas, ya que, pueden modificarse para unirse específicamente a las proteínas de superficie de membrana[15]. Otra técnica importante es el inmunoensayo ELISA, aunque principalmente es utilizada para detectar la carga exosomal como tal, además, existen modificaciones como ELISA digital de gotas (ddELISA) que ha revolucionado la cuantificación de proteínas y ácidos nucleicos[14].

Limitaciones metodológicas en el aislamiento de exosomas:

Pese a la actualización y adaptación constante de los métodos utilizados para aislar exosomas, aún existen limitaciones en cuanto a la pureza final de los mismos. Tomando en cuenta la diversidad de fuentes que contienen estas vesículas, es posible encontrar moléculas que causen interferencia al momento de estudiarlas, por ejemplo, las lipoproteínas en plasma, proteínas en suero y uromodulina en muestras de orina[17]. Como se describe a continuación en la Tabla 1, cada método presenta ventajas que pueden aprovecharse de acuerdo con las necesidades y objetivos del estudio, además, combinarlos puede mejorar su eficiencia y los resultados obtenidos.

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Ultracentrifugación diferencial	Es una técnica relativamente sencilla de bajo costo, muestra una alta eficiencia cuando se utilizan muestras grandes. Además, al aislar exosomas de muestras plasmáticas muestran una pureza alta[17].	Los exosomas pueden perder su integridad por la fuerza externa de rotación. En cuanto a sus resultados, suelen ser difíciles de controlar y reproducir, además, puede verse mayor contaminación al asilar exosomas derivados de otros líquidos biológicos[17].
Centrifugación en gradiente de densidad	Gracias a la adición de un medio de gradiente de densidad, se asegura la eliminación de varias impurezas en comparación con la ultracentrifugación. Los exosomas obtenidos muestran una mejor integridad física[17].	Su operación es relativamente complicada, además, es necesario el uso de equipos costosos [17].

Cromatografía por exclusión de tamaño	Su rendimiento es alto, ya que, permite el uso de muestras relativamente pequeñas. Igualmente, los exosomas resultantes muestran una estructura física y funciones biológicas más completas [17].	No suele ser reproducible con muestras de gran tamaño. Además, suele dificultarse la eliminación de lipoproteínas, especialmente cuando presentan tamaños superpuestos [17].
Precipitación	Permite la eliminación de contaminantes grandes y mantiene la integridad física de los exosomas, y puede ser aplicable para volúmenes desde 100 µL hasta varios mililitros [17].	Los polímeros utilizados para el procesamiento de las muestras suelen crear sustancias coprecipitadas difíciles de eliminar. De igual forma, los exosomas separados pueden estar contaminados con lipoproteínas [17].
Ultrafiltración	Se utilizan equipos de manejo sencillo y de alta eficiencia. Su procesamiento permite el aislamiento de exosomas con un tamaño inferior a 100nm [17].	La pureza final es relativamente baja, principalmente por el daño de los poros de las membranas utilizadas, además, es común que la integridad de los exosomas se vea afectada [17].
Captura por inmunoafinidad	Este método es útil y eficiente para obtener exosomas con una pureza alta porque permite la eliminación de contaminantes y de subpoblaciones específicas. Es recomendable utilizarlos después de procesos de ultracentrifugación y SEC [17].	El rendimiento de exosomas totales es relativamente bajo, además, la inmovilización de estas vesículas es irreversible. Igualmente, la funcionalidad biológica puede alterarse [17].

Tabla 1. Ventajas y desventajas metodológicas del aislamiento de exosomas

RESULTADOS

CÁNCER	ESTUDIO	BIOMARCADORES	MUESTRA UTILIZADA	CONCLUSIONES
Cáncer de pulmón	24 personas sanas (Grupo control) 24 pacientes con Cáncer de Pulmón de Células	**F13A1** **CFHR4**	Plasma sanguíneo	La identificación de estos posibles biomarcadores hasta el momento del estudio, han sido únicamente detectados en CPCP. Además de ayudar a su identificación diferencial son

	Pequeñas (CPCP).			útiles para comprender las complicaciones de la coagulación sanguínea (F13A1) y el crecimiento tumoral mediante la activación del complemento (CFHR4). [18]
	Grupo control: Personas sanas entre 19 a 79 años (30 personas). 44 pacientes con Cáncer de pulmón.	**WASL** **STK10** **WNK1**	Orina	WASL se encuentra en concentraciones bajas en pacientes con cáncer pulmonar, mientras STK10 y WNK1, se elevan progresivamente. Han demostrado regular de manera negativa y positiva respectivamente la migración de linfocitos, sin embargo, no se demostró que participen en la migración de células tumorales. [19]
Cáncer de mama	**Líneas celulares:** MDA-MB-231 (Cáncer metastásico triple negativo) **Control:** MCF-10a (Tejido mamario epitelial inmortalizado)	**GPC-1** **GLUT-1** **ADAM10**	Plasma sanguíneo	Las proteínas se expresaron únicamente en la línea celular MDA-MB-231. Estos biomarcadores están relacionados a mal pronóstico, mayor actividad proliferativa y tumores de alto grado. [20]
Cáncer de próstata	63 pacientes con cáncer de próstata. **Grupo control:** 61 personas sanas entre 45 y 83 años.	**ERG** **PSMA** **PCA3**	Orina	La expresión de ERG, PSMA y PCA3 mostraron diferencias significativas entre pacientes con cáncer de próstata y personas sanas. Además, se propuso la combinación de PSMA+PCA3 para mejorar la sensibilidad diagnóstica. [21]
Cáncer hepático	Línea celular SK-Hep1	**tRNA-ValTAC-3** **tRNA-GlyTCC-5**	Plasma sanguíneo	Los exosomas pequeños derivados de ARNt demuestran una alta expresión en pacientes con cáncer de hígado. Además,

	Pacientes y Grupo control	**tRNA-ValAAC-5** **tRNA-GluCTC-5**		han demostrado estar ampliamente regulados por los por procesos cancerígenos. [22]
Cáncer pancreático	191 pacientes con Cáncer pancreático 95 pacientes con enfermedad pancreática benigna **Grupo control:** 90 personas saludables	**miR-451a**	Suero sanguíneo	El miR-451a mostró una expresión diferencial entre pacientes con cáncer pancreático y los controles sanos, así como, aquellos con enfermedad pancreática benigna, por lo que, no representa una interferencia. De igual forma, sus concentraciones altas, se asociaron a metástasis del ganglio tumoral y a distancia. [23]
Cáncer colorrectal	112 pacientes con cáncer colorrectal 28 pacientes con pólipos **Grupo control:** 60 personas sanas	**circPAR1**	Plasma sanguíneo	Este ARN se encuentra regulado negativamente, por lo que, su concentración fue negativa en pacientes con cáncer colorrectal en relación con aquellos controles sanos. Se observó un aumento significativo de circPAR1 después de la resección de tumores. [24]
Carcinoma endometrial	25 pacientes con Carcinoma Endometrial. **Grupo Control:** 31 personas	**miR-15a-5p** **miR-106b-50** **miR-107**	Plasma sanguíneo	Los exomiRs se consideran como biomarcadores útiles debido a su alta expresión en el plasma de pacientes con Carcinoma Endometrial. miR-15a-5p mostró mayor especificidad en relación con otros tipos de cáncer, así como, predictor de agresividad y estado de la mutación p53. [25]
Cáncer gástrico	**Cultivos celulares:** **HPSEC** (Células epiteliales	**lncUEGC1**	Plasma sanguíneo	Este ARN largo no codificante muestra una alta estabilidad en el plasma y frente a ARNasas, además, se encuentra altamente enriquecido en

	primarias de estómago humano) **GCC** (Células de cáncer gástrico) **PACIENTES:** 10 pacientes con cáncer gástrico. **Grupo Control:** 5 personas sanas:			plasma sanguíneo de pacientes con cáncer gástrico en etapa temprana, así como, en cultivos celulares. [26]
	70 pacientes con cáncer gástrico. **Grupo Control:** 60 personas sanas.	**miR-1307-3p** **piR-019308** **piR-004918** **piR-018569**	Plasma sanguíneo	Se demostró que los ARN pequeños y relacionados con PIWI son potenciales biomarcadores de diagnóstico en comparación con marcadores tradicionales como CEA, CA19-9 y AFP. En cuanto a piR-004918, piR-018569, han mostrado su importancia para determinar estado metastásico. [27]
Neuroblastoma	24 pacientes con neuroblastoma de alto riesgo 24 pacientes con neuroblastoma de bajo riesgo **Grupo control:** 24 personas sanas	**NCAM, NCL, LUM, VASP**	Plasma sanguíneo	De acuerdo con el análisis ROC demostraron ser herramientas útiles para el diagnóstico diferencial entre personas con Neuroblastomas y personas sanas. Además, NCAM y NCL se asocian a un mal pronóstico. [28]
		MYH9, FN1, CALR, AKAP12, LTBP1		Permiten la discriminación entre neuroblastoma de alto y bajo riesgo. En neuroblastoma de alto riesgo se observa la regulación positiva de migración celular y metástasis por parte de MYH9, FN1 y LTBP1, mientras AKAP12 y

				CALR, se asocian a efectos antitumorales. [28]
Cáncer epitelial de ovario	166 pacientes con cáncer epitelial de ovario. 34 pacientes con enfermedades benignas. **Grupo control:** 173 personas sanas.	**miR-320d** **miR-4479** **miR-6763-5p**	Plasma sanguíneo	Estos tres miARN demostraron una regulación negativa, al igual que concentraciones diferenciales en comparación con el grupo control y pacientes con enfermedades benignas. Además, al combinar miR-320d con CA125y HE4 se obtuvo una sensibilidad de 53,8% y una especificidad de 85,2%. [29]
Carcinoma de células escamosas de esófago	**Cohorte piloto** 3 pacientes con carcinoma de células escamosas de esófago **Grupo control:** 3 personas sanas **Cohorte de descubrimiento** 33 pacientes con carcinoma de células escamosas de esófago **Grupo control:** 33 personas sanas	**ARNt-GlyGCC-5** **sRESE**	Saliva	Estos ARN no codificantes son útiles para la detección de este carcinoma, ya que, permite diferenciarlas de personas sanas. Además, se encontró que están correlacionados a procesos de progresión e invasión tumoral. Sus niveles de predicción fueron de 79% y 77% respectivamente en la cohorte de descubrimiento. [30]
Tumor del estroma gastrointestinal (GIST)	**Líneas celulares:** GIST-T1 (KIT sensible a imatinib) GIST882 (GIST primario con	**SPRY4** **PDE2A** **PROM1** **SURF4**	Cultivo celular	Estas proteínas presentan una alta concentración en tejido de pacientes con GIST, sobre todo en aquellos que mostraron positividad para KIT oncológico. Además, son útiles para la

	mutación en exón 13)			valoración del tratamiento con Imatinib. [31]
Carcinoma papilar de tiroides	100 pacientes con carcinoma papilar de tiroides **Grupo control:** 96 personas sanas	**miR-25-3p** **miR-296-5p** **miR-92a-3p**	Suero sanguíneo	Estas moléculas de micro ARN se encuentran regulados positivamente, mismos que demostraron ser útiles en la diferenciación entre pacientes con cáncer y controles sanos, así como, mostraron la capacidad de diferenciarlos de aquellos pacientes con bocio benigno. [32]

Tabla 2. Biomarcadores exosomales para el diagnóstico de cáncer

DISCUSIÓN

Actualmente, existen diversas técnicas sofisticadas que permiten el aislamiento de vesículas extracelulares facilitando su estudio. No obstante, limitaciones como la heterogeneidad de su tamaño disminuyen su eficacia, es así que, durante un estudio de comparación de exosomas obtenidos mediante ultracentrifugación y utilizando un kit comercial, este último mostró exosomas de un tamaño mayor, además de una concentración menor de los mismos[33]. Otro factor que considerar, de acuerdo con Tian y colaboradores, es la preparación y tratamiento inicial de la muestra, tomando en cuenta si proviene de un fluido biológico o de un cultivo celular, ya que, cada componente extracelular puede representar una interferencia para su pureza y composición final[34].

En el caso de cultivos celulares, la cantidad y calidad de nutrientes, la presencia de microorganismos y la cantidad de oxígeno en el medio, influyen en la concentración de exosomas producidos, así como, en su composición[35]. Un ejemplo claro es el experimento de Palviainen et al., quienes compararon los exosomas derivados de células de cáncer de próstata entre un cultivo celular tradicional y un biorreactor, en este último, se vio una disminución en la expresión de ciertos metabolitos de la vía de los lípidos, probablemente por la presencia de una membrana que permitía únicamente el paso de nutrientes con un peso menor a 10kDa[36]. Por el contrario, en fuentes biológicas como muestras sanguíneas, orina, líquido cefalorraquídeo, saliva, entre otras, es importante la eliminación de materiales no vesiculares como proteínas, lípidos y metabolitos celulares, para esto, generalmente se utiliza la ultracentrifugación o distintos métodos basados en la filtración y espectrometría de masas[13,35].

Además, durante su procesamiento es importante tomar en cuenta la concentración de los reactivos utilizados, principalmente de aquellos que pueden alterar la estructura de estas vesículas, como los detergentes, ya que, una concentración inadecuada puede destruir la membrana externa de los exosomas[34]. Estos inconvenientes hacen necesaria la estandarización y mejora de los procesos actuales, así como, la búsqueda de nuevas técnicas, por ejemplo, la microfluídica[37], aplicación de modelos de deconvolución de pureza[38] o métodos de secado por congelación[39], mismas que han demostrado su funcionalidad para aislar y caracterizar moléculas con utilidad diagnóstica, sin embargo, ampliar la investigación en cuanto a su reproducibilidad y efectividad en diferentes tipos de muestras y volúmenes es fundamental para su aplicación clínica.

Como se observa en la Tabla 2, las moléculas más prometedoras al momento de identificar células tumorales son las proteínas y ácidos nucleicos presentes en los exosomas. Todas estas biomoléculas han demostrado una amplia utilidad clínica abarcando el diagnóstico, monitoreo, pronóstico y terapia de esta patología. Una de sus principales características es que su concentración es mayor en comparación con Células Tumorales Circulantes (CTC) y ADN tumoral circulante (tcADN)[5,7]Asimismo, presentan una alta estabilidad en diferentes líquidos, tal como, se observó en el estudio realizado por Lin et al., en este caso el ARN largo no codificante lncUEGC1 se mantuvo intacto a pesar de la aplicación de ARNasas en muestras plasmáticas, a diferencia de lncUEGC2, que evidenció su presencia a nivel exosomal y libre en plasma, ya que, su concentración disminuyó al tratar las muestras con estas enzimas[26].

Igualmente, en varias investigaciones se ha determinado que la presencia de biomarcadores exosomales funciona como una herramienta diferencial, tanto entre pacientes con cáncer en comparación con grupos control saludables [18,19,20,25], así como, al comparar exosomas derivados de células tumorales con componentes celulares adyacentes, tal es el caso de la expresión de miR-15a-5p exosomal propuesto para el diagnóstico temprano de carcinoma endometrial, en donde su presencia fue siete veces mayor a nivel de tejido tumoral que en células adyacentes[25]. Tomando en cuenta estas características diferenciales, lo ideal a nivel clínico es la creación de perfiles que contengan un conjunto de proteínas o ácidos nucleicos con una expresión alta, específica y sensible para cada tipo de cáncer.

Por ejemplo, en un estudio sobre el cáncer de pulmón, se demostró que es posible realizar un perfil proteómico con F13A1, CFHR4 y otras proteínas asociadas al estado hipercoagulante en estos pacientes.[18] En otros casos como en el cáncer de mama, se incluyen proteínas de superficie exosomal como GPC-1, GLUT-1 y ADAM10, mismas que permiten determinar aquellos pacientes con un mal pronóstico, la presencia de tumores de mayor grado y riesgo de desarrollar metástasis[20], mientras que en el neuroblastoma, proteínas como MYH9, FN1, CALR, AKAP12 y LTBP1 son útiles para diagnosticar pacientes con

alto riesgo de desarrollar fenotipos tumorales agresivos[28]. Otra funcionalidad valiosa, es su potencial para discriminar entre pacientes que presentan enfermedades benignas con pacientes que realmente tienen cáncer, como la expresión de miR-451a mismo que mostró una especificidad de 89.47%, permitiendo determinar aquellos pacientes que tienen cáncer de páncreas y aquellos que presentan pancreatitis benigna[23]. En el cáncer epitelial de ovario y cáncer papilar de tiroides, las especies descritas en la Tabla 2 en conjunto tienen una especificidad diagnóstica de 72.0% y 62.2% respectivamente ayudando a la discriminación con otras afecciones a nivel de estos tejidos[29,32].

A su vez, se ha encontrado que combinar los biomarcadores aumenta su especificidad al momento de diagnosticar, en particular en el cáncer de próstata la expresión de ERG, PSMA y PCA3 muestran un Área Bajo la Curva (AUC) superior a 0.75, sin embargo, al combinar ERG+PSMA, PCA3+PSMA y ERG+PCA3, este aumenta a 0.85[21]. Incluso, se pueden combinar con los biomarcadores tradicionales como son PSA y PI-RADS con PCA3+PSMA obteniendo un AUC de 0.9145[21]. Otro estudio similar, basado en el cáncer de pulmón de células no pequeñas, demostró que la combinación de las proteínas exosomales AHSG y ECM1 con CEA aumentan la especificidad de este último como biomarcador tumoral, mostrando un AUC superior a 0.90 en ambos casos[40]. De esta manera, se evidencia que el aislamiento de moléculas exosomales funcionan también, como herramienta de apoyo para los métodos existentes, facilitando de cierta manera su aplicación a nivel clínico.

Ampliar la investigación sobre los exosomas en cuanto a su participación como modulares activos del microambiente tumoral, permitiría entender de mejor manera los diferentes mecanismos que conlleva el cáncer[6]. Particularmente en el cáncer colorrectal, se ha observado que una alta concentración miR-106b produce la polarización de macrófagos a subtipo M2, induciendo la metástasis[41]. En el caso del cáncer pulmonar, la migración de linfocitos está asociada a las proteínas WASL, STK10 y WNK1, asimismo, se ha observado una disminución de la población linfocitaria en relación con el aumento del estadio tumoral, sin embargo, no se conoce completamente si estos linfocitos se correlacionan con el desarrollo de metástasis[19]. Del mismo modo, en la investigación realizada por Risha et al., acerca del perfil proteómico de los exosomas asociados al cáncer de mama, la expresión proteica de GPC-1, ADAM10 y GLUT-1 se asoció a mecanismos de transporte y adhesión[20].

De igual forma, se demostró que los exosomas derivados de células de tumor del estroma gastrointestinal (GIST) son transportadores del receptor de tirosin-quinasa oncongénco (KIT), provocando la activación de vías de señalización de fosfoquinasa, además de cambiar fenotípicamente otro tipo de células provocando la secreción de Metaloproteinasa de Matriz 1 (MMP1) aumentando el riesgo de invasión tumoral[42]. Otro elemento importante son los fibroblastos asociados al cáncer (CAF), se ha evidenciado que la expresión de ncARN contenidos en exosomas derivados de CAF es directamente proporcional con el

riesgo potencial de cáncer de colon[43]. Como se evidencia en este último caso, la heterogeneidad de los componentes exosomales debe ser explotada, pues existen biomoléculas además de proteínas y microARN útiles para la detección del cáncer. Un ejemplo importante son los carbohidratos, específicamente los glucanos como el ácido siálico en exosomas urinarios, cuya expresión se relaciona a un potencial negativo en pacientes con cáncer de próstata[44].

Igualmente existen ciertos grupos de ARN como los microARN derivados de ARNt, mismos que a pesar de representar entre un 0.2-2% de moléculas de miARN han demostrado su alta expresión en plasma de pacientes con cáncer [22]. Otro de los ARN no codificantes son los ARN circulares (circARN), como circSIPA1L3, mismo que participa en la reprogramación de células tumorales predisponiendo a metástasis a pacientes con cáncer de mama triple negativo[45]. Similar a la desregulación de ARN largos no codificantes (lncARN), en este caso DLX6-AS1 es protagonista en la metástasis hacia ganglios linfáticos[46]. Además, se ha observado que especies como piR-019308 y piR-004918 pueden aumentar la sensibilidad y especificidad diagnóstica de marcadores tumorales como CEA y CA199 sobre el 70% y 90% respectivamente para la detección de cáncer gástrico[27]. Lograr la validación de otras especies de ARN no solo mejoran el diagnóstico de los pacientes, si no que, permiten conocer el tipo de tratamiento, ya sea farmacológico o de resección, óptimo de acuerdo con las características tumorales y moleculares de manera personalizada[47].

Para lograr el aislamiento correcto de estas biomoléculas, es necesario que, durante el procesamiento de las muestras, ya sea, directamente de tejido tumoral, de suero/orina de pacientes o cultivos celulares, se difiera entre exosomas derivados de tumor y no derivados, dado que, en un estudio realizado por Ludwig et al., al evaluar la expresión de TGF-β en carcinoma de cabeza y cuello sin diferenciarlos, no fue posible determinar la significancia clínica en relación con el tamaño de tumor o su estadio[48]. Actualmente, existen varias técnicas para el aislamiento de exosomas que pueden ser adaptadas a los objetivos de cada estudio[13,14,15]. Por ejemplo, se puede reemplazar la ultracentrifugación por la ultrafiltración para la preparación de la muestra, utilizar columnas o filtros adecuados al tamaño de partículas que representan contaminación para el aislamiento, así como, enriquecer marcadores exosomales para su correcta identificación, de esta manera es posible optimizar tiempo y recursos al momento de realizar una investigación[49].

A pesar de aplicar recomendaciones como almacenar la muestra a temperatura adecuada, tomar en cuenta el lugar anatómico de la toma de muestra y evitar la contaminación con microorganismo[50], es posible que los modelos experimentales comprometan la pureza final del aislamiento, siendo una de las principales problemáticas en el estudio de los exosomas, pues hoy en día, no existe un método que permita la eliminación completa de otras moléculas presentes en la muestra[51]. Una de las alternativas más funcionales es la cromatografía por exclusión de tamaño, con la modificación o adición de pasos[16].

Además, su reproducibilidad a nivel clínico sigue representando un desafío, especialmente debido al limitado tamaño de muestra (participantes) que se utiliza durante la mayoría de las investigaciones, pues esto dificulta la correlación de la expresión de biomarcadores con diferentes factores que influyen sobre los exosomas[17]. Además, es importante tomar en cuenta que la implementación de los equipos necesarios y la adquisición de los reactivos adecuados en un laboratorio puede llegar a ser costoso, sin mencionar la precisión que se necesita para mantener los equipos calibrados adecuadamente para asegurar que los resultados obtenidos se correlacionan de manera específica con cada paciente.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS A FUTURO

Gracias a la asociación de los exosomas con su célula de origen, el aislamiento e identificación de biomarcadores tumorales derivados de estos representan un avance significativo en el pronóstico, diagnóstico y tratamiento del cáncer. El estudio de estos biomarcadores representa una herramienta útil en el reconocimiento del origen y estado tumoral, así como, en la clasificación de cada tipo de cáncer en base a diferentes enfoques desde el tipo de tejido afectado y el riesgo que representa para cada paciente. Sin embargo, la investigación continua es necesaria para encontrar nuevos métodos o realizar modificaciones de las técnicas actuales que permitan la extracción adecuada de los exosomas, ya sea, a partir de fluidos biológicos como de cultivos celulares; asegurando al mismo tiempo la validación y estandarización de estas técnicas para su aplicación en escenarios clínicos. De esta manera, se facilitaría el establecimiento de puntos de corte y valores de referencia útiles para la toma de decisiones por parte del personal médico. La actualización de las técnicas abre la oportunidad de brindar un diagnóstico precoz, claro y preciso, que en conjunto incrementa la esperanza de vida de miles de personas alrededor del mundo, pues además, la administración de tratamientos podría ser personalizado para cada paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin [Internet]. 2021 May [cited 2024 Sep 15];71(3):209–49. Available from: 10.3322/caac.21660
2. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin [Internet]. 2024 May [cited 2024 Sep 15];74(3):229–63. Available from: 10.3322/caac.21834

3. Mattiuzzi C, Lippi G. Current cancer epidemiology. J Epidemiol Glob Health [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2024 Sep 15];9(4):217–22. Available from: 10.2991/jegh.k.191008.001
4. Makler A, Asghar W. Exosomal biomarkers for cancer diagnosis and patient monitoring. Vol. 20, Expert Review of Molecular Diagnostics. Taylor and Francis Ltd; 2020. p. 387–400.
5. Zhou Y, Zhang Y, Gong H, Luo S, Cui Y. The role of exosomes and their applications in cancer. Vol. 22, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2021.
6. Zhang Q, Yang X, Liu H. Extracellular Vesicles in Cancer Metabolism: Implications for Cancer Diagnosis and Treatment. Technol Cancer Res Treat. 2021;20.
7. Liu T, Hooda J, Atkinson JM, Whiteside TL, Oesterreich S, Lee A V. Exosomes in breast cancer – Mechanisms of action and clinical potential. Vol. 19, Molecular Cancer Research. American Association for Cancer Research Inc.; 2021. p. 935–45.
8. Gurung S, Perocheau D, Touramanidou L, Baruteau J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. Vol. 19, Cell Communication and Signaling. BioMed Central Ltd; 2021.
9. Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. Vol. 1871, Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer. Elsevier B.V.; 2019. p. 455–68.
10. Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, Ahadi AM, Molaei F, Alahari SK. Exosomes: Composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. Vol. 18, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd.; 2019.
11. Gurunathan S, Kang MH, Kim JH. A comprehensive review on factors influences biogenesis, functions, therapeutic and clinical implications of Exosomes. Vol. 16, International Journal of Nanomedicine. Dove Medical Press Ltd; 2021. p. 1281–312.
12. Rodrigues Da Costa V, Araldi RP, Vigerelli H, D'ámelio F, Mendes TB, Gonzaga V, et al. Exosomes in the Tumor Microenvironment: From Biology to Clinical Applications Academic Editors: Daniela Spano and. 2021; Available from: https://doi.org/10.3390/cells10090000
13. Shao H, Im H, Castro CM, Breakefield X, Weissleder R, Lee H. New Technologies for Analysis of Extracellular Vesicles. Vol. 118, Chemical Reviews. American Chemical Society; 2018. p. 1917–50.
14. Zhu L, Sun HT, Wang S, Huang SL, Zheng Y, Wang CQ, et al. Isolation and characterization of exosomes for cancer research. Vol. 13, Journal of Hematology and Oncology. BioMed Central Ltd; 2020.

15. Cheng H, Yang Q, Wang R, Luo R, Zhu S, Li M, et al. Emerging Advances of Detection Strategies for Tumor-Derived Exosomes. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022.
16. Monguió-Tortajada M, Morón-Font M, Gámez-Valero A, Carreras-Planella L, Borràs FE, Franquesa M. Extracellular-Vesicle Isolation from Different Biological Fluids by Size-Exclusion Chromatography. Curr Protoc Stem Cell Biol. 2019 Jun 1;49(1).
17. Jia Y, Yu L, Ma T, Xu W, Qian H, Sun Y, et al. Small extracellular vesicles isolation and separation: Current techniques, pending questions and clinical applications. Vol. 12, Theranostics. Ivyspring International Publisher; 2022. p. 6548–75.
18. Pedersen S, Jensen KP, Honoré B, Kristensen SR, Pedersen CH, Szejniuk WM, et al. Circulating microvesicles and exosomes in small cell lung cancer by quantitative proteomics. Clin Proteomics. 2022 Dec 1;19(1).
19. Jin S, Liu T, Wang W, Li T, Liu Z, Zhang M. Lymphocyte migration regulation related proteins in urine exosomes may serve as a potential biomarker for lung cancer diagnosis. BMC Cancer. 2023 Dec 1;23(1).
20. Risha Y, Minic Z, Ghobadloo SM, Berezovski M V. The proteomic analysis of breast cell line exosomes reveals disease patterns and potential biomarkers. Sci Rep. 2020 Dec 1;10(1).
21. Gan J, Zeng X, Wang X, Wu Y, Lei P, Wang Z, et al. Effective Diagnosis of Prostate Cancer Based on mRNAs From Urinary Exosomes. Front Med (Lausanne). 2022 Mar 23;9.
22. Zhu L, Li J, Gong Y, Wu Q, Tan S, Sun D, et al. Exosomal tRNA-derived small RNA as a promising biomarker for cancer diagnosis. Mol Cancer. 2019 Apr 2;18(1).
23. Chen J, Yao D, Chen W, Li Z, Guo Y, Zhu F, et al. Serum exosomal miR-451a acts as a candidate marker for pancreatic cancer. International Journal of Biological Markers. 2022 Mar 1;37(1):74–80.
24. Zheng R, Zhang K, Tan S, Gao F, Zhang Y, Xu W, et al. Exosomal circLPAR1 functions in colorectal cancer diagnosis and tumorigenesis through suppressing BRD4 via METTL3–eIF3h interaction. Mol Cancer. 2022 Dec 1;21(1).
25. Zhou L, Wang W, Wang F, Yang S, Hu J, Lu B, et al. Plasma-derived exosomal miR-15a-5p as a promising diagnostic biomarker for early detection of endometrial carcinoma. Vol. 20, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd; 2021.
26. Lin LY, Yang L, Zeng Q, Wang L, Chen ML, Zhao ZH, et al. Tumor-originated exosomal lncUEGC1 as a circulating biomarker for early-stage gastric cancer. Vol. 17, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd.; 2018.
27. Ge L, Zhang N, Li D, Wu Y, Wang H, Wang J. Circulating exosomal small RNAs are promising non-invasive diagnostic biomarkers for gastric cancer. J Cell Mol Med. 2020 Dec 1;24(24):14502–13.

28. Morini M, Raggi F, Bartolucci M, Petretto A, Ardito M, Rossi C, et al. Plasma-Derived Exosome Proteins as Novel Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Neuroblastoma Patients. Cells. 2023 Nov 1;12(21).
29. Wang S, Song X, Wang K, Zheng B, Lin Q, Yu M, et al. Plasma exosomal miR-320d, miR-4479, and miR-6763-5p as diagnostic biomarkers in epithelial ovarian cancer. Front Oncol. 2022 Dec 14;12.
30. Li K, Lin Y, Luo Y, Xiong X, Wang L, Durante K, et al. A signature of saliva-derived exosomal small RNAs as predicting biomarker for esophageal carcinoma: a multicenter prospective study. Mol Cancer. 2022 Dec 1;21(1).
31. Atay S, Wilkey DW, Milhem M, Merchant M, Godwin AK. Insights into the proteome of gastrointestinal stromal tumors-derived exosomes reveals new potential diagnostic biomarkers. Molecular and Cellular Proteomics. 2018 Mar 1;17(3):495–515.
32. Zou X, Gao F, Wang ZY, Zhang H, Liu QX, Jiang L, et al. A three-microRNA panel in serum as novel biomarker for papillary thyroid carcinoma diagnosis. Chin Med J (Engl). 2020;133(21):2543–51.
33. Aziz MA, Seo B, Hussaini HM, Hibma M, Rich AM. Comparing Two Methods for the Isolation of Exosomes. J Nucleic Acids. 2022;2022.
34. Tian Y, Gong M, Hu Y, Liu H, Zhang W, Zhang M, et al. Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry. J Extracell Vesicles. 2020 Jan 1;9(1).
35. Ludwig N, Whiteside TL, Reichert TE. Challenges in exosome isolation and analysis in health and disease. Vol. 20, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2019.
36. Palviainen M, Saari H, Kärkkäinen O, Pekkinen J, Auriola S, Yliperttula M, et al. Metabolic signature of extracellular vesicles depends on the cell culture conditions. J Extracell Vesicles. 2019 Jan 1;8(1).
37. Chen J, Li P, Zhang T, Xu Z, Huang X, Wang R, et al. Review on Strategies and Technologies for Exosome Isolation and Purification. Vol. 9, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. Frontiers Media S.A.; 2022.
38. Wu T, Dai Y, Xu Y, Zheng J, Chen S, Zhang Y, et al. ExosomePurity: tumour purity deconvolution in serum exosomes based on miRNA signatures. Brief Bioinform. 2023 May 1;24(3).
39. Qazi R e. M, Sajid Z, Zhao C, Hussain I, Iftikhar F, Jameel M, et al. Lyophilization Based Isolation of Exosomes. Int J Mol Sci. 2023 Jul 1;24(13).
40. Niu L, Song X, Wang N, Xue L, Song X, Xie L. Tumor-derived exosomal proteins as diagnostic biomarkers in non-small cell lung cancer. Cancer Sci. 2019 Jan 1;110(1):433–42.

41. Yang C, Dou R, Wei C, Liu K, Shi D, Zhang C, et al. Tumor-derived exosomal microRNA-106b-5p activates EMT-cancer cell and M2-subtype TAM interaction to facilitate CRC metastasis. Molecular Therapy. 2021 Jun 2;29(6):2088–107.
42. Atay S, Banskota S, Crow J, Sethi G, Rink L, Godwin AK. Oncogenic KIT-containing exosomes increasegastrointestinal stromal tumor cell invasion. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(2):711–6.
43. Herrera M, Berral-González A, López-Cade I, Galindo-Pumariño C, Bueno-Fortes S, Martín-Merino M, et al. Cancer-associated fibroblast-derived gene signatures determine prognosis in colon cancer patients. Vol. 20, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd; 2021.
44. Tkac J, Bertok T, Hires M, Jane E, Lorencova L, Kasak P. Glycomics of prostate cancer: updates. Vol. 16, Expert Review of Proteomics. Taylor and Francis Ltd; 2019. p. 65–76.
45. Liang Y, Ye F, Luo D, Long L, Wang Y, Jin Y, et al. Exosomal circSIPA1L3-mediated intercellular communication contributes to glucose metabolic reprogramming and progression of triple negative breast cancer. Mol Cancer. 2024 Dec 1;23(1).
46. Ding XZ, Zhang SQ, Deng XL, Qiang JH. Serum Exosomal lncRNA DLX6-AS1 Is a Promising Biomarker for Prognosis Prediction of Cervical Cancer. Technol Cancer Res Treat. 2021;20.
47. Li K, Lin Y, Luo Y, Xiong X, Wang L, Durante K, et al. A signature of saliva-derived exosomal small RNAs as predicting biomarker for esophageal carcinoma: a multicenter prospective study. Mol Cancer. 2022 Dec 1;21(1).
48. Ludwig N, Yerneni SS, Harasymczuk M, Szczepański MJ, Głuszko A, Kukwa W, et al. TGFβ carrying exosomes in plasma: potential biomarkers of cancer progression in patients with head and neck squamous cell carcinoma. Br J Cancer. 2023 May 18;128(9):1733–41.
49. Lobb RJ, Becker M, Wen SW, Wong CSF, Wiegmans AP, Leimgruber A, et al. Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma. J Extracell Vesicles. 2015;4(1).
50. 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. 2024 Feb 1;13(2).
51. Shu S La, Yang Y, Allen CL, Hurley E, Tung KH, Minderman H, et al. Purity and yield of melanoma exosomes are dependent on isolation method. J Extracell Vesicles. 2020 Jan 1;9(1).