



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

**INFLUENCIA DE LAS PLAQUETAS EN EL FENOTIPO DE LAS LÍNEAS CELULARES DE
CÁNCER DE OVARIO SKOV3 Y OVCAR3**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADA EN:

CIENCIAS GENÓMICAS

PRESENTA:

ROSA LAURA AVANTE VALENCIA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GRETTEL MENDOZA ALMANZA

CODIRECTORA:

DRA. MARÍA ELIZBETH ÁLVAREZ SÁNCHEZ

Ciudad de México, Julio, 2026.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Plantel Del Valle

Integración del Jurado

Presidente: Dr. Maximo Berto Martínez Benítez
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Secretaria : Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Vocal: Dra. Gretel Mendoza Almanza
Instituto Nacional de Medicina Genómica

DIRECTORA
DRA. GRETTEL MENDOZA ALMANZA
Instituto Nacional de Medicina Genómica

CODIRECTORA
DRA. ELIZBETH ÁLVAREZ SÁNCHEZ
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Agradecimientos.

El presente trabajo de tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Epigenética del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), bajo la dirección de la Dra. Gretel Mendoza Almanza, a quien expreso mi más sincero agradecimiento por su guía, paciencia y acompañamiento científico. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para el diseño experimental, la interpretación de los resultados y mi formación académica.

Los concentrados plaquetarios utilizados en este estudio fueron donados por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Extiendo un agradecimiento especial a las y los donadores anónimos de plaquetas, quienes, con un acto de generosidad profundamente humano, hicieron posible la obtención de los insumos biológicos necesarios para esta investigación.

Cada donación representa un testimonio del impacto que un acto altruista puede tener más allá del ámbito clínico, trascendiendo hacia la construcción colectiva de ciencia y salud pública.

Si bien el trabajo experimental no se realizó en la Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM), agradezco profundamente el acompañamiento académico de la Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez, del Laboratorio 1 del Posgrado en Ciencias Genómicas, quien brindó orientación conceptual, revisión crítica y apoyo constante durante el desarrollo teórico y la redacción de la tesis.

Dedicatoria.

A mi familia, a mi mamá, Martha Luisa Valencia Ruiz, por ser mi fuerza, mi guía y el ejemplo más grande de constancia y amor. A mi hermana, Linda Rosalía Avante Valencia, por acompañarme siempre con su cariño, su luz y su apoyo incondicional.

A mi compañero de aventuras, José Ignacio Zazueta Rubio, cuyo acompañamiento, paciencia, amor y presencia constante han sido un sostén fundamental durante este camino.

A mis compañeras incondicionales, Yuma y Mulán, que con su compañía silenciosa se quedaron conmigo hasta la madrugada mientras escribía, recordándome que incluso en los días difíciles nunca estuve sola.

A mi amigo y Maestro en Ciencias Miguel Ángel Juárez Mancera, por su invaluable asesoría, por escucharme con paciencia en cada etapa, y por enseñarme ciencia con una pasión que inspira. Gracias por guiarme, orientarme y mostrarme siempre la belleza del pensamiento científico.

A mis amigas Elizabeth Martínez Falcón y Zeltzin Xochiketzalli Castillo Córdova, por sus consejos, risas, desahogos y por ser parte del equilibrio que necesitaba mientras avanzaba en este proyecto.

A la EBDI 26 del ISSSTE, por su comprensión, apoyo y facilidades cada vez que necesité trasladarme al laboratorio; gracias por permitirme crecer dentro y fuera del aula.

A la Dra. Gretel Mendoza Almanza, por su guía, acompañamiento y compromiso, incluso en las jornadas nocturnas de trabajo.

A la Dra. Floria Josefina Lizárraga Sánchez y a la Dra. Magali Espinosa Castilla, por compartir conmigo su conocimiento, su experiencia y su pasión por la ciencia, que han sido fundamentales en mi formación.

A la Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez, por su acompañamiento académico, su orientación y por impulsarme siempre a crecer con firmeza y claridad.

Índice

Agradecimientos.....	3
Dedicatoria.....	4
Índice de tablas.....	7
FGF Factor de crecimiento de fibroblastos.....	9
PDGF Factor de crecimiento derivado de plaquetas.....	10
1. Introducción.....	14
2.1 Cáncer de ovario.....	15
2.2 Epidemiología.....	19
2.3 Diagnóstico y tratamiento.....	22
2.4. Plaquetas.....	24
2. Antecedentes particulares.....	25
3.1 Marcadores de la transición epitelio mesenquimal (TEM) y su relación con el cáncer de ovario.....	26
3.2 E Caderinas.....	27
3.3 N-Caderina.....	27
3.4 Vimentina.....	28
3.5 Metaloproteinasas de matriz.....	29
3.6 MMP2 y MMP9.....	30
3.7 MT1.....	31
3.8 Marcadores de proliferación celular Ki67.....	33
3.9 PCNA.....	33
4.0 Otras interacciones célula a célula.....	34
4.1 Interacción entre plaquetas y células tumorales.....	34
4.2 La angiogénesis como facilitadora del crecimiento tumoral.....	36
5.0 Líneas celulares.....	37
5.1 Línea celular SKOV3.....	38
5.2 Línea celular OVCAR3.....	39
5.3 Comparación y utilidad de SKOV3 y OVCAR3 en investigación.....	39
6 Hipótesis.....	40
7 Justificación.....	40
8.0 Objetivos.....	41
8.1 Objetivo general.....	41
8.2 Objetivos específicos.....	41
9.0 Estrategia experimental general.....	42
9.1 Materiales y Métodos.....	43
9.2 Cultivo y mantenimiento de células (SKOV3 Y OVCAR3).....	43
9.3 Conteo celular.....	44
9.4 Aislamiento y purificación de plaquetas.....	44
9.5 conteo de plaquetas.....	45
9.6 Cocultivo celular.....	46

9.7 Evaluación de la proliferación y/o migración celular por ensayo de cierre de heridas..	47
9.8 Extracción de ARN por el método de trizol.....	48
9.9 Análisis en los cambios de la expresión génica por RT-qPCR.....	49
9.9.1 Digestión de DNA con DNAsas.....	49
9.9.2 Síntesis de cDNA a partir de ARN de líneas celulares.....	49
9.10 qPCR.....	50
9.11 Análisis estadístico.....	52
9.12 Extracción de la fracción proteica por el método de trizol.....	52
9.13 Cuantificación de proteínas por kit BCA Rapid Gold.....	53
9.14 Ensayo de clonogenicidad.....	54
9.15 Ensayo de degradación de gelatina-FITC	55
9.16 Inmunofluorescencia.....	55
10. Resultados	56
10.1 Evaluación de la migración celular mediante el ensayo de cierre de herida.....	56
10.2 Evaluación de los cambios en la expresión génica inducidos por plaquetas mediante RT-qPCR.....	58
10.3 Evaluación del potencial proliferativo mediante el ensayo de clonogenicidad.....	60
10.4 Evaluación de la degradación de la matriz extracelular mediante el ensayo de gelatina-FITC.....	62
11. Discusión.....	65
12. Conclusiones.....	68
13. Referencias.....	69
14. Anexos.....	84

Índice de tablas.

Tabla 1. Mezcla de reacción utilizada para la síntesis de cDNA de líneas celulares.....	56
Tabla 2. Mezcla de reacción para la reacción de qPCR.....	56
Tabla 3. Secuencia de los primers empleados para la amplificación de los genes de interés.....	57

Índice de figuras.

Figura 1. Hallmarks emergentes.....	16
Figura 2. Características distintivas del cáncer.....	17
Figura 3. Clasificación histológica del cáncer de ovario.....	19
Figura 4. Comparación del número de casos de cáncer de ovario, incidencia y mortalidad en México en 2022 y 2024.....	21
Figura 5. Representación de cirugías de histerectomía.....	23
Figura 6. Proceso de megacariopoyesis y formación de plaquetas.....	25
Figura 7. Esquema general de trabajo experimental.....	40
Figura 8. Placa de siembra de cocultivo celular para línea celular SKOV3 y OVCAR3...	45
Figura 9. Ensayo de cierre de herida en las líneas celulares SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 24h después de la herida.....	54
Figura 10. Ensayo de cierre de herida en las líneas celulares SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 48h después de la herida.....	55
Figura 11. Ensayo de cierre de herida en células SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 24h después de la herida.....	56
Figura 12. Ensayo de cierre de herida en células SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 48h después de la herida.....	57
Figura 13. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 24h después de la herida.	58
Figura 14. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 48h después de la herida.....	59
Figura 15. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 24h después de la herida.	60
Figura 16. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 48h después de la herida.	61
Figura 17. Análisis relativo de la expresión de genes asociados a proliferación, adhesión celular y degradación de matriz extracelular en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 tras cocultivo con plaquetas.....	65
Figura 18. Ensayo de clonogenicidad en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 después del cocultivo con plaquetas.	68

Figura 19. Ensayo de degradación de gelatina-FITC en células SKOV3 tras cocultivo con plaquetas durante 12 y 24 h.....	70
Figura 20. Ensayo de degradación de gelatina-FITC en células OVCAR3 tras cocultivo con plaquetas durante 12 y 24 h.....	71
Figura 21. Modelo propuesto del efecto del cocultivo con plaquetas sobre células de cáncer de ovario.....	75

Abreviaturas

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Adenosín difosfato
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ARID1A	Gen supresor tumoral que contiene dominio interactivo rico en AT
ARN	Ácido ribonucleico
BRAF	B-Fibrosarcoma Rápidamente Acelerado
BRCA1 / BRCA2	Genes 1 y 2 de Cáncer de Mama
BSA	Albúmina Sérica Bovina
Ca⁺²	Ión de calcio
CAF	Fibroblastos asociados al cáncer
CCC	Carcinoma de células claras
DAG	Diacilglicerol
CE	Carcinoma endometriode
EC	Células endoteliales
ECM	Matriz extracelular
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
HGSC	Carcinoma seroso de alto grado
IHQ	Inmunohistoquímica
IL Interleucina	
IP3	Inositol trifosfato

IRM	Imágenes por resonancia magnética
KRAS	Homólogo del oncogén viral de sarcoma de Kirsten
LGSC	Carcinoma seroso de bajo grado
MC	Carcinoma mucinoso
MET	Transición-mesenquima-epitelio
Mg²⁺	Ión magnesio
miR	Micro ácido ribonucleico
mM	Milimolar
MMPS	Metaloproteinasas
NF-κB	Factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de las células B
PBS	Solución salina tamponada con fosfato
PCNA	Antígeno nuclear de proliferación celular
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PI3K/AKT	Vía de señalización Fosfatidilinositol 3-Cinasa / AKT
proMMP	Forma inactiva de metaloproteinasas de matriz
RPM	Revoluciones por minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
shARN	Ácido ribonucleico silenciado
TA	Temperatura ambiente
TC	Tomografía computarizada
TEM	Transición epitelio-mesenquimal
TEP	Tomografía por emisión de positrones
TGF-β	Beta
TP53	Proteína tumoral p53
UV	Ultravioleta
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
WR	Reactivo de trabajo

2MeSAMP

2-metiltioadenosina 5'-monofosfato triethylammonium salt hydrate

Resumen

El cáncer de ovario es una neoplasia maligna heterogénea con alta tasa de mortalidad asociada frecuentemente a un diagnóstico tardío y baja supervivencia. En este contexto se ha observado que las plaquetas además de su papel en la hemostasia, participan activamente en la progresión tumoral mediante su interacción con las células cancerosas y el microambiente tumoral.

El objetivo de este estudio fue analizar los cambios en la expresión de genes clave involucrados en la transición epitelio-mesénquima y la proliferación celular en las líneas tumorales OVCAR3 y SKOV3 tras su cocultivo con plaquetas, así como evaluar los cambios en su comportamiento funcional. Para ello, se realizaron ensayos de cierre de herida, degradación de gelatina y clonogenicidad, además del análisis de la expresión génica de marcadores asociados a transición epitelio-mesénquima (*E-cadherina* y *N-cadherina*), degradación de matriz extracelular (*MMP2* y *MMP9*) y proliferación (*Ki67* y *PCNA*).

Los resultados mostraron que el cocultivo con plaquetas modifica la expresión génica en ambas líneas celulares, destacando cambios en genes relacionados con la transición epitelio-mesénquima y la degradación de matriz extracelular, particularmente *MMP2* y *MMP9*, cuya sobreexpresión se asoció con la concentración de plaquetas y el tiempo de cocultivo. A nivel funcional, las células cocultivadas presentaron un aumento en la migración y en la capacidad de degradar la matriz extracelular en comparación con los controles.

En conjunto, estos hallazgos indican que las plaquetas promueven un fenotipo más agresivo en células de cáncer de ovario, favoreciendo procesos asociados a invasión y diseminación tumoral mediante la modulación de la expresión génica y el comportamiento celular.

1. Introducción

El cáncer se define como un grupo de enfermedades heterogéneas que generalmente posee las siguientes características: 1) evaden los supresores del crecimiento, 2) evaden al sistema inmune, 3) promueven la inflamación del tumor, 4) adquieren capacidad invasiva y metastásica, 5) inducen angiogénesis, 6) promueven la inestabilidad genómica, 7) son más resistentes a la muerte celular, 8) desregulan el metabolismo celular y 9) mantienen indefinidamente activa la señal proliferativa, (Figura 1) (Hanahan, 2022).

El cáncer es un proceso multifactorial que implica la acumulación de mutaciones genéticas y alteraciones epigenéticas, lo que dan como resultado un crecimiento descontrolado de las células (Hanahan *et al.*, 2011).

El proceso por el cual una célula normal adquiere características neoplásicas se denomina transformación celular, la cual constituye la primera de tres etapas de la carcinogénesis:

1) La etapa de la iniciación se caracteriza por la aparición de mutaciones en genes claves también conocidos como genes conductores del cáncer —oncogenes y genes supresores de tumores—, debido a la exposición a agentes carcinogénicos, químicos, biológicos, ionizantes, no ionizantes, teratogénicos y clastógenos (Vogelstein *et al.*, 2013). Un carcinógeno puede inducir una mutación genética, provocando un cambio en la secuencia de bases, como una mutación puntual (sustitución, inserción o delección de una base), al alterar la estructura del ADN; si esta no es corregida, puede fijarse durante la replicación, contribuyendo a la progresión hacia la etapa de promoción tumoral (Vogelstein *et al.*, 2013).

2) En la etapa de la promoción, estas células previamente mutadas comienzan a proliferar de forma acelerada en respuesta a factores de crecimiento y señales asociadas a inflamación crónica. Este proceso no requiere nuevas alteraciones genéticas, pero sí depende de cambios epigenéticos y del microambiente celular (Pitot, 2000). En la promoción, las células alteradas evaden los procesos de apoptosis, se vuelven inmortales y adquieren mutaciones que favorecen la proliferación. En este punto del proceso, todavía se puede considerar de tipo reversible. Además, en algunos tipos de cáncer, como el de mama y ovario, las hormonas sexuales, como el estrógeno, actúan como agentes estimulantes, al igual que factores de crecimiento como el TGF- β , que participa en la regulación de la proliferación celular, la migración y la diferenciación. Sin embargo, no todos los tipos de cáncer dependen de estímulos hormonales, como ocurre en neoplasias óseas u otros carcinomas sólidos. Incluso en tipos de cáncer hormono-dependientes, se ha observado que

pacientes con niveles normales de estrógeno pueden desarrollar tumores, lo que sugiere la participación de otras vías de señalización, alteraciones epigenéticas o factores de crecimiento que actúan de manera autocrina o paracrina, regulando proliferación y la diferenciación celulares (Figura 1-2) (Rickard et al., 2021).

Las modificaciones epigenéticas —como las alteraciones en los patrones de metilación del ADN y las modificaciones de histonas— promueven el desarrollo del cáncer al expresar genes que regulan el ciclo celular y la apoptosis, promover la inflamación crónica, facilitar un microambiente celular y mejorar la supervivencia celular (Rickard *et al.*, 2021). Las células pasan por diversos fenotipos, como lo son: atrofias, hipertrofias, metaplasias, hiperplasias y displasias (Rickard *et al.*, 2021).

3) Por último, la progresión es la etapa final e irreversible de la carcinogénesis. En ella, se acumulan mutaciones que confieren a las células capacidades malignas —evasión de la apoptosis, invasión de tejidos y metástasis— A lo largo de la progresión, las células malignas adquieren características más agresivas y adaptativas, que les permiten invadir los tejidos circundantes, remodelar la matriz extracelular y migrar hacia sitios distantes a través de los vasos sanguíneos o linfáticos. Este proceso da lugar a la diseminación metastásica con afinidad por órganos específicos, fenómeno conocido como organotropismo, que depende de la interacción entre las células tumorales y los microambientes tisulares receptores (Vogelstein *et al.*, 1988).

Durante la progresión tumoral, las células malignas experimentan una acumulación adicional de alteraciones genéticas y epigenéticas que consolidan el fenotipo neoplásico avanzado. Estas modificaciones incluyen la activación sostenida de oncogenes —versiones mutadas de protooncogenes celulares como *RAS*, *MYC*, *RAF* y *HER2*—, así como la pérdida o inactivación funcional de genes supresores de tumores, lo que otorga a las células una ventaja proliferativa, resistencia a señales inhibitorias y capacidad para invadir tejidos adyacentes (Sidransky, 1995). Además, durante esta etapa se intensifican procesos como la angiogénesis, la evasión del sistema inmune, la plasticidad fenotípica y la reprogramación metabólica, lo que contribuye a la progresión agresiva del tumor y a su potencial metastásico (Sidransky, 1995).



Figura 1. Hallmarks emergentes. Representación esquemática de los rasgos emergentes y mecanismos de soporte que complementan las funciones clave del cáncer, permitiendo a las células tumorales adaptarse al entorno y superar barreras fisiológicas. Entre los hallmarks emergentes se incluye la (i) plasticidad fenotípica, que otorga a las células tumorales la capacidad de cambiar de identidad celular para adaptarse a diferentes entornos; (ii) la reprogramación epigenética no mutacional, que altera la expresión génica sin modificar la secuencia del ADN, y (iii) la influencia de microbiomas polimórficos, que modulan procesos como la inflamación; (iv) la respuesta inmune, y (v) el metabolismo tumoral. Por otro lado, (vi) la presencia de células senescentes en el microambiente tumoral, que a pesar de no dividirse, secretan factores que favorecen la progresión del cáncer, y (vii) el establecimiento de un entorno que favorece la inestabilidad genómica, promoviendo la aparición de nuevas variantes tumorales más agresivas. Estas propiedades no están presentes en todos los tipos de cáncer, pero aportan ventajas significativas. Modificada de Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cell*, 185(2), 267–280.



Figura 2. Características distintivas del cáncer. Representación esquemática de las capacidades funcionales que adquieren las células cancerosas para sostener el crecimiento maligno y facilitar la progresión tumoral. Estas incluyen: (i) la señalización proliferativa sostenida, que permite a las células tumorales estimular su propia división; (ii) la evasión de supresores del crecimiento, mediante la inactivación de vías que normalmente limitan la proliferación; (iii) la evitación de la destrucción inmunológica, que impide su eliminación por el sistema inmune; (iv) la activación de mecanismos de invasión y metástasis, facilitando la diseminación a otros tejidos, y (v) la inducción de angiogénesis, que promueve la formación de nuevos vasos sanguíneos para nutrir el tumor. También se consideran: (vi) la inestabilidad genómica y mutación, que generan diversidad genética favorable al tumor; (vii) la inflamación promotora de tumores, que proporciona señales proliferativas y de supervivencia; (viii) la resistencia a la muerte celular, mediante la evasión de la apoptosis; (ix) la reprogramación del metabolismo energético, que favorece la utilización de rutas metabólicas alternativa, (x) y la inmortalidad replicativa, mantenida por mecanismos como la activación de la telomerasa. Modificada de Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cell*, 185(2), 267–280.

2.1 Cáncer de ovario

Los ovarios se definen como glándulas reproductoras femeninas, donde tienen su origen los óvulos y donde tiene lugar la producción de estrógenos y progesterona (Instituto Nacional del Cáncer, 2024). El cáncer de ovario es una neoplasia maligna que afecta a un gran número de mujeres. A nivel mundial se reportó en 2024, una tasa de mortalidad de

206,956. Mientras que, en México, para 2024 se reportó una tasa de mortalidad de 2,000 mujeres (GLOBOCAN, 2025; Gobierno de México, 2022).

El desarrollo del cáncer de ovario generalmente es asintomático, por lo que se detecta en etapas avanzadas, dificultando así el tratamiento y la recuperación de las pacientes (Tarek *et al.*, 2022). Por lo tanto, es necesario desarrollar estrategias de diagnóstico oportuno y mejorar las opciones terapéuticas, para reducir su impacto en la salud pública (Bregenzer *et al.*, 2019).

Existen diversas formas de clasificación del cáncer de ovario, 1) basadas en histología; 2) clasificación por grado; 3) clasificación por estadio clínico (FIGO) y 4) clasificación molecular. La más utilizada es la clasificación histológica (Organización Mundial de la Salud, 2025), debido a que presenta una mayor correlación con el diagnóstico y permite identificar con precisión los distintos tipos tumorales epiteliales, cada uno con características biológicas, patrones de diseminación, comportamiento clínico y respuesta terapéutica particulares. Además, al estar dividida en subtipos, facilita la investigación de terapias dirigidas y es complementaria con la estadificación FIGO (Figura 3) (Cybula *et al.*, 2022). Los subtipos del cáncer de ovario basados en la histología que presentan son:

- a) Epiteliales de tipo I: abarcan el carcinoma seroso de bajo grado (LGSC), el carcinoma endometriode (EC), el carcinoma de células claras (CCC) y el carcinoma mucinoso (MC) (Bhavsar *et al.*, 2024).
- b) Epiteliales de tipo II: abarcan el seroso de alto grado (HGSC), el carcinoma indiferenciado y el carcinosarcoma. (Bhavsar *et al.*, 2024).
- c) No epiteliales: aproximadamente el 5% de las pacientes diagnosticadas con cáncer de ovario lo presentan, incluyen carcinoma de células germinales y carcinoma de células pequeñas (Bhavsar *et al.*, 2024).

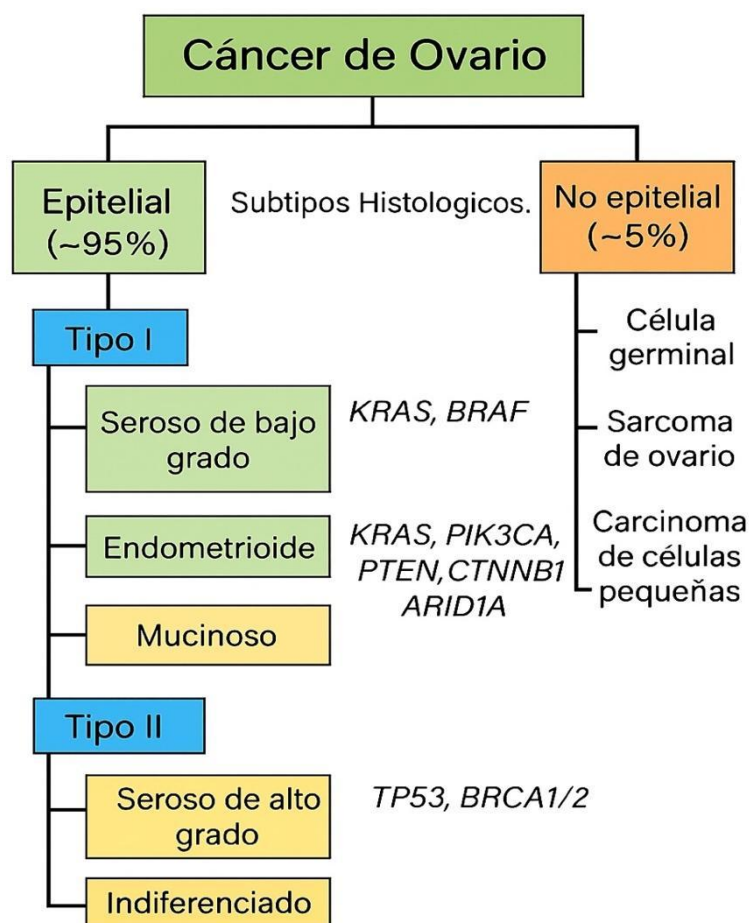


Figura 3. Clasificación histológica del cáncer de ovario. División entre tumores epiteliales y no epiteliales con sus respectivos subtipos y genes desregulados más frecuentes: *KRAS*; *BRAF* (protooncogenes que codifican proteínas implicadas en la vía MAPK favoreciendo la proliferación celular); *PIK3CA* (gen que codifica la subunidad PI3K, involucrada en señales de supervivencia y ciclo celular); *PTEN* (gen supresor tumoral que antagoniza la vía PI3K/AKT regulando la apoptosis y el ciclo celular); *CTNNB1* (gen que codifica la B-catenina, proteína clave en la adhesión celular); *ARID1A* (gen supresor tumoral que participa en la remodelación de la cromatina); *TP53* (gen supresor tumoral que regula la respuesta al daño del ADN y apoptosis, mutado en la mayoría de carcinomas serosos de alto grado), y *BRCA1/2* (genes supresores involucrados en la reparación del ADN por recombinación homóloga, mutaciones hereditarias o somáticas, aumentando el cáncer de ovario de alto grado). Modificada de Cybula, M., Stępień, E., & Kapka-Skrzypczak, L. (2022). The Hallmarks of Cancer: Challenges in the Quest for Precision Oncology. *Cancers*, 14(4), 917.

2.2 Epidemiología

El rango de edades de las pacientes que padecen esta enfermedad va de los 20 hasta los 50 años. Sin embargo, el subtipo epitelial invasivo predomina en la población de más de 50 años (Berek *et al.*, 2021).

A nivel mundial, el cáncer de ovario presentó, en 2022, aproximadamente 324,603 nuevos casos (GLOBOCAN, 2022). El cáncer de ovario fue responsable de aproximadamente 207,000 muertes a nivel mundial, lo que lo convirtió en la octava causa de muerte por cáncer en mujeres, la prevalencia global del cáncer de ovario en 2022 a nivel mundial fue de aproximadamente 1,200,000 habitantes mujeres (Figura 4) (GLOBOCAN, 2022). En

México, la incidencia estimada en ese mismo periodo fue de 4,600 casos nuevos por año (GLOBOCAN, 2022). En México, se registraron cerca de 2,800 y 3,000 muertes anuales (GLOBOCAN, 2022). Para el mismo año, en México, se estimó que la prevalencia fue cerca de 15,000 mujeres, aunque la cifra puede estar subestimada por el diagnóstico tardío. (GLOBOCAN, 2022).

En el año del 2023, a nivel mundial no se cuentan con datos estimados de incidencia, mortalidad y prevalencia debido a que los datos más recientes para un rastreo epidemiológico son del año 2022 y 2024. En México se registró la misma tasa de prevalencia y de incidencia que en el 2022, debido a que los informes tenían una proyección a 5 años. Sin embargo, la mortalidad registrada en 2023 en México por cáncer de ovario fue de 91,562 muertes por cáncer, aunque los reportes no especifican el número exacto de muertes por cáncer de ovario (INEGI, 2025).

En 2024 a nivel mundial se registraron 324.603 casos de incidencias y 206.956 casos de mortalidad de forma anual; la prevalencia a nivel mundial fue de 269.179 mujeres anuales (Figura 4) (GLOBOCAN, 2022). Durante ese mismo año, México ocupó el tercer lugar en neoplasias ginecológicas más frecuentes, se registraron 5,000 casos de incidencias (Secretaría de Salud, 2024). El número de muertes registradas en 2024 en México, fue de 5,676 muertes (GLOBOCAN, 2022). Mientras que, la prevalencia fue de aproximadamente 221,001 personas en México (GLOBOCAN, 2024). Hasta la fecha, no se dispone de datos globales actualizados para 2023, 2024 y 2025 sobre la incidencia y la mortalidad del cáncer de ovario a nivel mundial. Esto se debe a que las estimaciones epidemiológicas a nivel mundial, como las reportadas por GLOBOCAN, presentan un desfase temporal debido a los procesos de recopilación, validación y estandarización de los registros poblacionales de cáncer. Por lo tanto, las cifras más recientes corresponden al año 2022, las cuales continúan utilizándose como referencia para describir la carga global de la enfermedad en años posteriores.

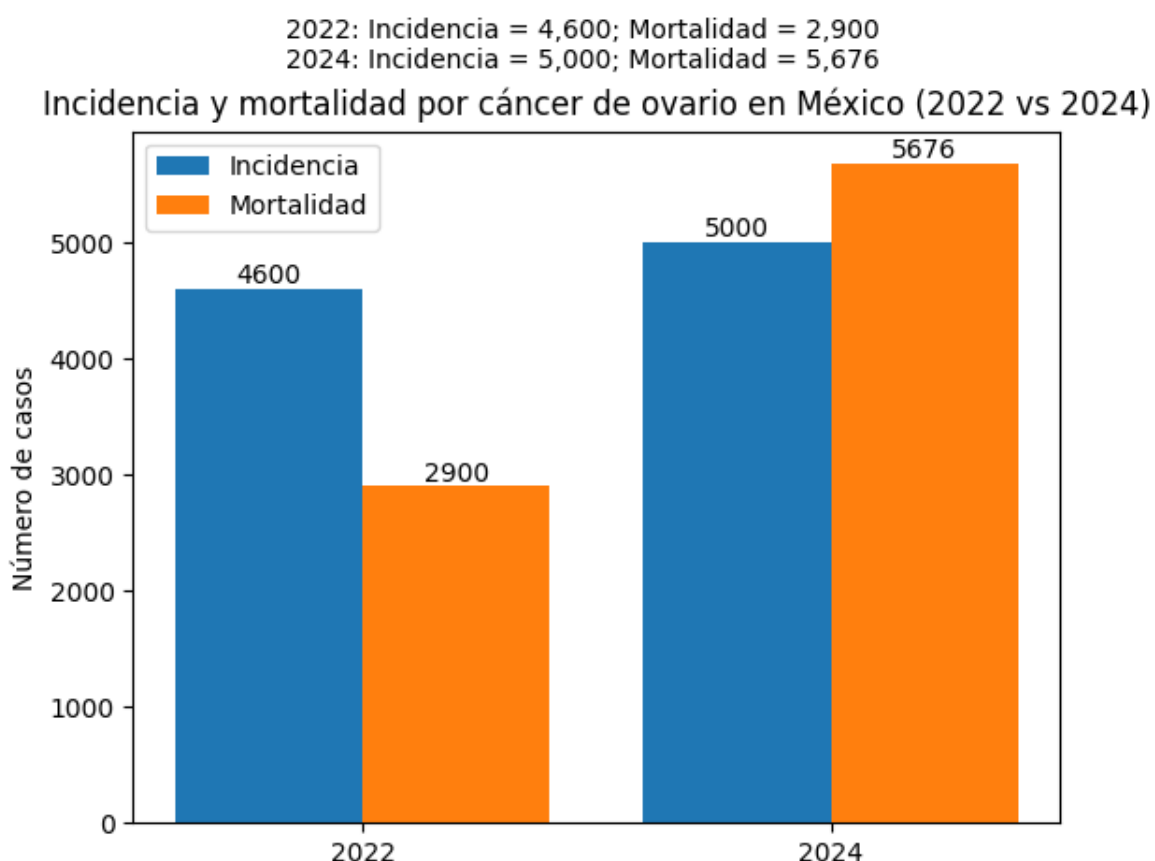


Figura 4. Comparación del número de casos de cáncer de ovario, incidencia y mortalidad en México en 2022 y 2024. Gráfica de barras con datos crudos que muestra la incidencia y mortalidad por cáncer de ovario durante los años 2022 y 2024 en México. El eje X representa las dos categorías epidemiológicas analizadas: número de casos nuevos (incidencia) y número de muertes (mortalidad). El eje Y indica la cantidad de casos registrados expresados en valores absolutos (personas afectadas). Modificación de Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 71(3), 209–249. Elaboración propia.

2.3 Diagnóstico y tratamiento

Los métodos empleados en el diagnóstico de cáncer de ovario incluyen, examen pélvico, ecografía, tomografía computarizada (TC), tomografía por emisión de positrones (TEP), imágenes por resonancia magnética (IRM) y biopsia (Berek *et al.*, 2020). Entre los tratamientos empleados para el cáncer de ovario se encuentran los quirúrgicos, como las cirugías. Existen tres tipos de cirugías, que se nombran de acuerdo con su invasividad o con la posición de la abertura del corte (Instituto Nacional del Cáncer, 2024) (Figura 7).

Las cirugías se emplean comúnmente para extirpar la mayor cantidad posible de tejido tumoral. Los criterios para elegir la cirugía dependen del estadio del cáncer y de consideraciones sobre la fertilidad en pacientes jóvenes. La histerectomía total está recomendada para estadios de tipo I; la histerectomía salpingo-ooforectomía se realiza en estadios de tipo II y III, mientras que la histerectomía radical está recomendada únicamente para pacientes con cáncer de ovario seroso de alto grado en estudios avanzados. (Morice *et al.*, 2016). Otra clasificación de tratamientos es la de los químicos, los cuales pueden ser administrados por vía oral, intravenosa o intramuscular. En esta categoría se incluyen las quimioterapias (Instituto Nacional del Cáncer, 2024). Con respecto al tipo biológico, se encuentra la inmunoterapia; mientras que de tipo físico, las radioterapias (Instituto Nacional del Cáncer, 2024).

Los tratamientos para el cáncer de ovario dependen del subtipo y estadios en los cuales se realice el diagnóstico. Los tratamientos con quimioterapia son utilizados posteriormente a un tratamiento quirúrgico de estadios III y IV; mientras que los tratamientos con radioterapia son utilizados en recaídas frecuentes de cáncer, y la inmunoterapia es utilizada en casos emergentes de tipo seroso de alto grado, debido a que presenta un perfil molecular complejo, caracterizado por una alta inestabilidad genómica, mutaciones frecuentes en TP53, y una sobreexpresión de proteínas asociadas con proliferación celular y evasión inmune, como Ki-67, PCNA, MYC, etc., lo cual lo hace un candidato para estrategias inmunoterapéuticas" (Mellon *et al.*, 2019). Sin embargo, la eficiencia de los tratamientos depende, como ya se mencionó, de la rapidez con que se detecte el cáncer y del estadio en el que se encuentre (Bray *et al.*, 2018).

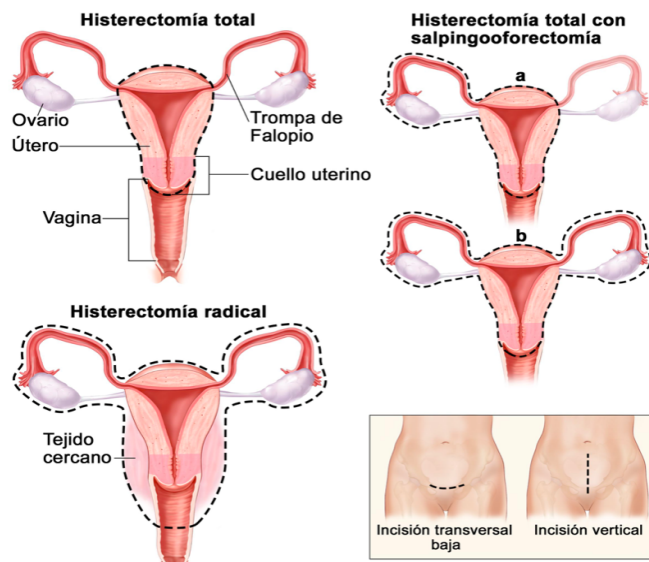


Figura 5. Representación de cirugías de histerectomía. a) Unilateral, por la que se extirpan el útero, uno de los ovarios y una de las trompas de Falopio; b) Bilateral, por la que se extirpan el útero, ambos ovarios y ambas trompas de Falopio. Procedimientos realizados mediante una incisión transversal baja o una incisión vertical. Modificada de Instituto Nacional del Cáncer (NCI). (2024). *Tratamiento del tumor de ovario de bajo potencial maligno (PDQ®)–Versión para pacientes*. U.S. National Cancer Institute.

2.4. Plaquetas

Son fragmentos celulares derivados de células progenitoras encontradas en la médula ósea conocidas como megacariocitos. Las plaquetas poseen una morfología discal, se localizan en la sangre y en el bazo y, no son consideradas como células, debido a que no contienen un núcleo, pero tienen varios organelos celulares derivados de los megacariocitos, entre ellos las mitocondrias, ribosomas, peroxisomas, lisosomas, gránulos alfa, gránulos densos, gránulos lisosomales. Su tamaño oscila entre los 500 nm y los 3 micrómetros de diámetro, son significativamente más pequeños que cualquier otro componente de la sangre (Serrano, 2024). Las plaquetas en condiciones normales se encargan de protegernos cuando se produce una lesión en nuestro cuerpo, van a la herida y ayudan a detener el sangrado al reunir más plaquetas junto con otros factores de coagulación para formar un coágulo (Figura 8) (Nakeff *et al.*, 1974). La formación de las plaquetas se realiza mediante un proceso denominado trombopoyesis, en el cual los megacariocitos maduran para producir proplaquetas. La morfología de las proplaquetas se alarga hasta producir plaquetas por fisión. Las plaquetas son activadas por agentes causales, es decir, eventos que rompen la homeostasis, incluyendo daño vascular, inflamación crónica, infecciones, hipoxia y factores derivados del microambiente tumoral, como citoquinas, vesículas extracelulares o estrés oxidativo (Machlus *et al.*, 2013; Liao *et al.*, 2023).

El número de plaquetas en una persona sana oscila entre 150,000 a 450,000 plaquetas por microlitro, lo que se traduce a 150 a 450 millones de plaquetas por litro (Yun *et al.*, 2017; Instituto Nacional del Cáncer, 2024). En la actualidad, las plaquetas han generado un gran interés por su interacción con las células, al formar parte del microambiente tumoral. Asimismo, algunos estudios reportan que pueden promover la invasión tumoral y la metástasis mediante varios mecanismos, lo que nos lleva a buscar respuestas sobre el papel de las plaquetas en el cáncer (Liao *et al.*, 2023).

En este contexto, se ha descrito el concepto de plaquetas “educadas por el tumor” (tumor-educated platelets, TEPs), las cuales presentan modificaciones en su contenido molecular como resultado de su interacción con células tumorales o con señales derivadas del microambiente tumoral. Estas modificaciones incluyen cambios en el perfil de ARN, proteínas y vesículas extracelulares, lo que les confiere la capacidad de reflejar el estado del tumor y participar activamente en su progresión (Best *et al.*, 2015)

La evidencia experimental ha demostrado que las plaquetas pueden ser reprogramadas por el tumor mediante la transferencia de ARN y proteínas a través de vesículas extracelulares. Por ejemplo, estudios de secuenciación de ARN han mostrado que las plaquetas de pacientes con cáncer presentan perfiles transcriptómicos distintos en comparación con donadores sanos, lo que permite no solo diferenciar entre individuos con y sin cáncer, sino también identificar el tipo tumoral. Estos hallazgos respaldan la idea de que las plaquetas no son elementos pasivos, sino que adquieren activamente características moleculares inducidas por el tumor, participando en la regulación del microambiente tumoral (Best *et al.*, 2015).

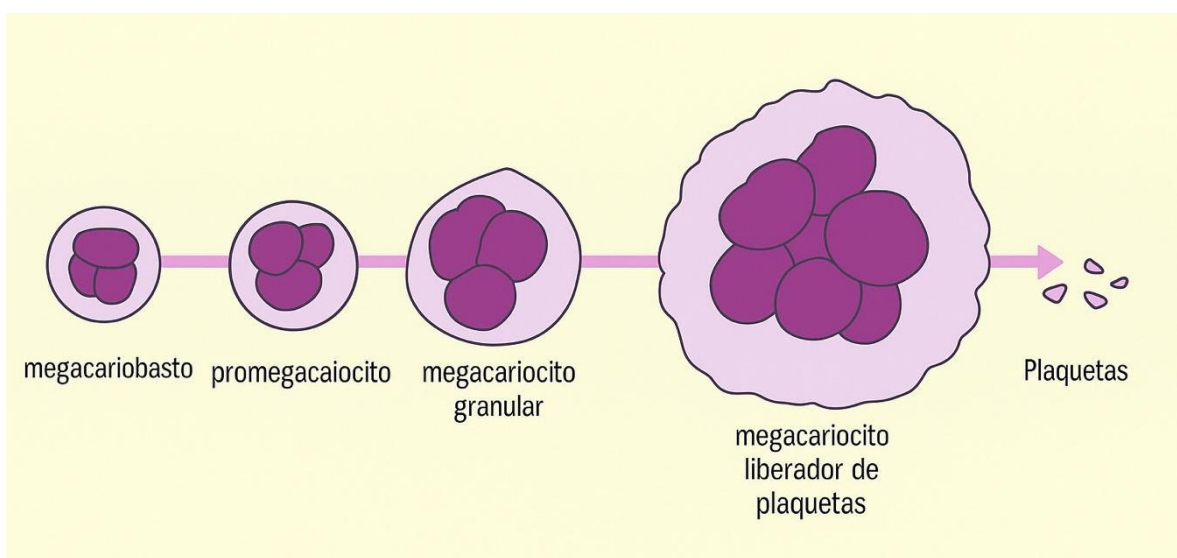


Figura 6. Proceso de megacariopoyesis y formación de plaquetas. Representación esquemática de las etapas de maduración de la línea megacariocítica, que culmina en la liberación de plaquetas. El proceso inicia con un megacarioblasto, célula progenitora derivada de la médula ósea, que da lugar a un megacariocito inmaduro. Durante su maduración, el megacariocito experimenta un crecimiento progresivo y desarrolla gránulos citoplasmáticos, esenciales para la función hemostática de las plaquetas. Estos gránulos incluyen: a) gránulos alfa, ricos en factores de coagulación y proteínas de señalización; b) gránulos densos, que contienen ADP, serotonina y calcio, y c) lisosomas, con enzimas hidrolíticas. Su formación ocurre principalmente en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi, mediante mecanismos de síntesis, empaquetamiento y transporte vesicular. Finalmente, el megacariocito maduro sufre fragmentación citoplasmática para dar origen a plaquetas circulantes. Liao, C., Wu, X., Wang, J., Li, H., Zhang, Q., & Wang, Z. (2023). *Platelet-cancer cell interactions in the tumor microenvironment promote ovarian cancer progression. Frontiers in Oncology*, 13, 1170252.

2. Antecedentes particulares.

La carcinogénesis es un proceso multietapa mediante el cual las células normales adquieren alteraciones genéticas y epigenéticas que las transforman en células cancerosas. Uno de los eventos clave dentro de este proceso es la transición epitelio-mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés y TEM, por sus siglas en español), definida como el cambio fenotípico mediante el cual las células epiteliales pierden sus características de polaridad y adhesión celular para adquirir un fenotipo mesenquimal, más migratorio e invasivo (Instituto Nacional del Cáncer, 2024). La TEM fue descrita inicialmente por Elisabeth Hay; durante el desarrollo embrionario; como un paso clave en la formación de órganos y tejidos (Hay, 1995). Ya que, en condiciones normales, la TEM participa en diversos procesos fisiológicos como el desarrollo embrionario (organogénesis), la cicatrización de heridas, la regulación de tejidos.

Durante la TEM, las células responden a señales provenientes del microambiente tumoral, especialmente de la matriz extracelular (ECM), que contiene quimiocinas, citocinas inflamatorias, integrinas, metaloproteinasas de matriz (MMP) y otros factores solubles que modulan la plasticidad celular. Además, intervienen diversos tipos de células estromales, como células troncales cancerosas, pericitos, fibroblastos asociados al cáncer (CAF), células endoteliales (EC) y células del sistema inmune, que cooperan activamente en la progresión tumoral y en la evasión inmunológica (Hanahan y Weinberg, 2011).

La forma natural de las células es epitelial y poseen ciertas características específicas, entre otras, que son células adherentes, estrechamente unidas, forman monocapas y tienen una polaridad apico-basal. Expresan diversos tipos de marcadores que sirven para el

reconocimiento de esta, como lo son las proteínas de superficie como la E-cadherina (Thiery y Sleeman *et al.*, 2006).

Durante el proceso de la TEM, las células epiteliales adquieren un fenotipo mesenquimal. Cuando ocurre esta transformación, la célula mesenquimal que se está formando pierde toda polaridad apico-basal y expresa filamentos de vimentina. Además, expresa nuevos marcadores en su superficie celular, como: N-cadherina, fibronectina, Snail, twist, β -catenina. El fenotipo mesenquimal se vuelve resistente a la apoptosis, produce componentes de la matriz extracelular e incrementa su movilidad (Arvelo *et al.*, 2023). La TEM es un proceso transitorio y reversible, que se le denomina plasticidad epitelial. Es decir, las células epiteliales que han adquirido capacidades y fenotipos mesenquimales, pueden revertir el proceso y volver a su estado epitelial original diferenciado (Chaffer *et al.*, 2016; Arvelo, 2013). Para la inducción de la TEM, se requiere una reorganización del citoesqueleto —entre ellos; filamentos intermedios, microtúbulos, y microfilamentos—, y la producción de enzimas que degradan la matriz extracelular. También, necesita promover la activación de diversos factores de transcripción y, por último, la expresión de marcadores de superficie (Arvelo *et al.*, 2023).

3.1 Marcadores de la transición epitelio-mesenquimal (TEM) y su relación con el cáncer de ovario

La superfamilia de caderinas consta de 114 proteínas de membrana dependientes de calcio, pertenecientes a tres familias principales: caderinas, protocaderinas y proteínas relacionadas con caderinas (Hulpiau *et al.*, 2016; Gul *et al.*, 2017). La mayoría de las caderinas están involucradas en la regulación de la adhesión célula-célula, así como en la modulación de procesos morfogénéticos y de diferenciación cruciales durante el desarrollo (Stemmler, 2008; Vestweber *et al.*, 2015).

3.2 E-Cadherina

La E-cadherina es una proteína de 80 kDa codificada por el gen *cadherin 1 (CDH1)*, presente en el brazo largo del cromosoma 16, la cual contiene un dominio citoplasmático. el cual se subdivide funcionalmente en dos regiones: una región proximal que interactúa con las cateninas (α -, β - y p120-catenina), y otra región que regula la conexión con el citoesqueleto de actina, modulando así la estabilidad de las uniones adherentes (Gloushankova *et al.*, 2017):

- 1) dominio de yuxtamembrana y,

2) Dominio de unión a catenina.

La E-cadherina es la encargada de las uniones adherentes en células epiteliales de mamíferos, y es considerada un supresor de tumores. La pérdida de su expresión es un marcador clave de la TEM y se asocia con estadios tempranos de invasión y metástasis, un menor grado de diferenciación y un pronóstico clínico. La pérdida de la regulación de la E-cadherina en las uniones adherentes es importante, ya que se asocia con estadios tempranos del cáncer antes de que se produzca la metástasis (Cao et al., 2019). Se ha reportado que la reducción de la expresión de E-cadherina en el tejido primario de cáncer de ovario puede indicar un pronóstico menos favorable y se asocia con un mayor avance de la enfermedad. Sin embargo, Kielbik *et al.* en 2022 cuantificaron la expresión de E-cadherina, la cual se estableció solo con el porcentaje de células teñidas mediante inmunohistoquímica (IHQ) indicando claramente que la expresión preservada de E-cadherina está asociada con la supervivencia favorable de pacientes con cáncer de ovario (Kielbik et al., 2022).

3.3 N-Cadherina

Es una glicoproteína transmembranal dependiente de calcio que participa en la adhesión celular, especialmente entre células de tipo mesenquimal. Está codificada por el gen *CDH2*, localizado en el brazo largo del cromosoma 18, tiene un peso molecular aproximado de 130 kDa (Nieto *et al.*, 2011). En el contexto del cáncer, su sobreexpresión se asocia con pérdida de adhesión epitelial, aumento de la migración celular e invasión tumoral, lo que favorece la progresión metastásica (Wheelock *et al.*, 2008). En diferentes tipos de líneas celulares de cáncer de ovario, se ha observado que las células con mayor expresión de *E-cadherina* mostraron menor resistencia a la apoptosis, menor adhesión a matrices extracelulares y menor invasividad en comparación con las líneas celulares con mayor expresión de *N-cadherina* (Rosso *et al.*, 2017).

A diferencia de la E-cadherina, la N-cadherina prevalece en tejidos no epiteliales y se expresa en diferentes tipos celulares, como células neuronales, endoteliales, del estroma y osteoblastos (Van y Beyond, 2014; Mrozik *et al.*, 2018).

3.4 Metaloproteinasas de matriz

Las metaloproteinasas de matriz (MMP) constituyen una amplia familia de enzimas proteolíticas. La primera MMP identificada fue la MMP-1, descubierta en 1962 por Gross y Lapiere (Gross y Lapiere, 1962). Desde entonces, se han descubierto más de 28 MMP

(Liu *et al.*, 2021). Sin embargo, solo 23 MMP se expresan en humanos (Cui N *et al.*, 2017). Las MMP se pueden dividir en seis grupos: (1) gelatinasas; (2) colagenasas; (3) estromelinas; (4) matrilisinas; (5) MMP de tipo membrana, y (6) otras MMP. Por ejemplo, la MMP-2 y MMP-9 han sido ampliamente asociadas con la invasión y metástasis en diversos tipos de cáncer, incluyendo cáncer de mama y ovario; la MMP-1 se ha relacionado con la degradación de colágeno en tumores de pulmón y melanoma; mientras que la MMP-7 ha sido implicada en la progresión tumoral en cáncer colorrectal (Kessenbrock *et al.*, 2010). (Rangasamy *et al.*, 2021). La función principal de las MMP es mantener la homeostasis fisiológica del tejido mediante la degradación de los componentes de la matriz extracelular. Las MMP también están involucradas en la degradación de otras enzimas proteolíticas, inhibidores de la proteasa, factores de coagulación sanguínea, citocinas, factores de crecimiento, moléculas de adhesión y receptores de la membrana (Liu y Khalil, 2017; Będkowska *et al.*, 2021).

Las MMP se secretan en el ambiente como zimógenos inactivos conocidos como proMMP. Las ProMMP se mantienen inactivas debido a la interacción coordinada entre una cisteína conservada en su dominio polipeptídico y un ion de zinc localizado en el sitio catalítico activo, lo que impide su actividad enzimática. Se activan por medio de un rompimiento del enlace químico entre la cisteína y el ion de zinc (Kicman *et al.*, 2022). Las MMP también tienen múltiples funciones fisiológicas que, en muchas ocasiones, pueden afectar negativamente, como la regulación de los procesos celulares relacionados con la diferenciación y proliferación, la apoptosis y la inducción de respuestas inflamatorias o inmunitarias. Cabe mencionar que desempeñan un papel importante en todas las etapas de la carcinogénesis (Cabral *et al.*, 2020). En condiciones normales, actúan de manera positiva, involucrándose en la cicatrización de heridas, la remodelación de tejidos, ovulación y restauración del endometrio durante el ciclo menstrual. Asimismo, durante el desarrollo fetal, las MMP están involucradas en la embriogénesis y la organogénesis, especialmente en el desarrollo de los sistemas cardiovascular, respiratorio y musculoesquelético. También son esenciales durante las etapas finales del embarazo y el parto (Löffek *et al.*, 2011; Cui N *et al.*, 2017).

Entre otras funciones, las MMP afectan la proliferación, migración e invasión de las células tumorales, estimulan la angiogénesis y la TEM (Raeeszadeh *et al.*, 2020; Roy *et al.*, 2020). Si su actividad se desregula, estas enzimas pueden contribuir al inicio y a la progresión de diversas condiciones patológicas. Se ha demostrado que la desregulación de los MMP puede provocar aneurismas, arteriosclerosis, enfermedad arterial coronaria,

remodelación patológica del miocardio e hipertensión (Cui N *et al.*, 2017; Raeeszadeh *et al.*, 2020). En las primeras etapas del cáncer, los MMP inducen daño en el ADN e inestabilidad genómica (Radisky *et al.*, 2006). Estas MMP han despertado el interés de los investigadores debido a que se encuentran sobreexpresados en numerosos trastornos humanos, como enfermedades cardiovasculares, enfermedades inflamatorias, enfermedades pulmonares y hepáticas y neoplasias malignas (Liu *et al.*, 2021; Cui N *et al.*, 2017).

3.5 MMP2 y MMP9

Las MMP-2 y MMP-9 pertenecen a las gelatinasas que, al degradar el colágeno tipo IV de la membrana basal, pueden contribuir a procesos de carcinogénesis, como la proliferación celular, la angiogénesis y la metástasis tumoral, cuando su actividad está desregulada (Dofara *et al.*, 2020). En las últimas etapas del cáncer, la actividad de las MMP se ha asociado con la formación de focos metastásicos. Lo anterior se debe a que posee propiedades proteolíticas que permiten la digestión de la ECM (Raeeszadeh *et al.*, 2020; Roy *et al.*, 2020). La MMP-2 se localiza en el núcleo celular y degrada las proteínas responsables de la reparación del daño del ADN (Kwan *et al.*, 2003). La mayor expresión de *MMP2* se ha observado en carcinoma ovárico seroso y en los tumores sensibles a la quimioterapia (Sakata *et al.*, 2000).

La expresión de *MMP2* se ha reportado en el tejido ovárico fisiológico (Hu X *et al.*, 2012). La expresión de *MMP9* se reporta como baja o indetectable en el mismo tipo de tejido ovárico fisiológico (Hu X *et al.*, 2012; Czekierdowski *et al.*, 2012). Por otro lado, la *MMP-9* se encuentra en todos los tipos histológicos de carcinoma ovárico (Jeleniewicz *et al.*, 2019). El tiempo medio de supervivencia de las pacientes con cáncer de ovario que expresan *MMP9* es significativamente más corto que el de las pacientes con expresión negativa (Xu D *et al.*, 2019). La expresión de *MMP2* y *MMP9* se ha detectado directamente en las células epiteliales cancerosas (Hu X *et al.*, 2012), el estroma de las lesiones tumorales y en focos metastásicos. La expresión de *MMP9* es mayor en el cáncer que en las lesiones benignas (Czekierdowski *et al.*, 2012). Cabe mencionar que, en los últimos años, se han publicado numerosos estudios genéticos sobre *MMP-2* y *MMP-9*, junto con sus funciones en el riesgo de cáncer. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han centrado en el cáncer de mama, colorrectal o de próstata (Wadowska *et al.*, 2023). Cabe mencionar que, en los últimos años, se han publicado numerosos estudios genéticos sobre *MMP-2* y *MMP-9*, junto con sus funciones en el riesgo de cáncer. Sin embargo, la mayoría

de estos estudios se han centrado en cáncer de mama, colorrectal o de próstata (Wadowska *et al.*, 2023).

3.6 Marcadores de proliferación celular Ki-67

La proteína Ki-67 fue llamada "Ki" en referencia a la ciudad de Kiel, donde trabajó el equipo de investigación, y "67" en referencia al clon original en la placa de 96 pocillos (Gerdes *et al.*, 1983). La Ki-67 es una proteína que solo se expresa en las células que se dividen (Gerdes *et al.*, 1983). Es una proteína nuclear utilizada como marcador de proliferación tumoral. Se expresa durante las fases del ciclo celular: G1, S, G2 y mitosis, y está ausente en la fase G0 del ciclo celular. Un índice de proliferación Ki-67 alto indica que muchas células se dividen de forma rápida y que es probable que el cáncer crezca y se disemine (Instituto Nacional del Cáncer, 2025).

Con respecto a la expresión de Ki-67 en el cáncer de ovario, varios autores como Chen *et al.* (2016), evaluaron mediante inmunohistoquímica en carcinoma seroso de alto grado (HGSC). Señalaron que una baja expresión de Ki-67 —aproximadamente menos del 40%— se ha asociado con resistencia al tratamiento con platino y a una menor supervivencia del paciente (Chen *et al.* 2016).

Zhang *et al.* en 2019 analizaron 89 muestras de tejido ovárico embebido en parafina provenientes de pacientes con distintos grados de tumores ováricos, recolectadas en centros médicos de China y Japón en las que emplearon las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3, a las cuales se indujo la sobreexpresión de *COX2* mediante técnicas de transfección génica. Los resultados indicaron que esta sobreexpresión se asoció con un aumento significativo en los niveles de *Ki-67*, un marcador de proliferación celular. Por otro lado, la inhibición de *COX2* redujo la expresión de *Ki-67*, lo que sugiere que *COX2* podría regular directamente la proliferación celular en estas líneas tumorales de cáncer de ovario.

Un año después, en 2020, Zhang *et al.* reportó que la sobreexpresión de EZH2, una enzima histona metiltransferasa implicada en la regulación epigenética, se encontraba correlacionada con la expresión de *Ki-67* en células SKOV3 y que la reducción de EZH2 apoyada con un short hairpin RNA (EZH2-shRNA) disminuía la proliferación celular, y por lo tanto, existía una menor expresión de *Ki67*; estos hallazgos sugieren que EZH2 participa activamente en la regulación de la proliferación tumoral a través de mecanismos epigenéticos dependientes de *Ki-67* (Zhang *et al.*, 2020).

3.7 PCNA

El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es una proteína nuclear que participa en la replicación del ADN. Su función principal es facilitar la síntesis de ADN y participar en la reparación del ADN, en la regulación del ciclo celular y en la respuesta al daño genético. Se localiza predominantemente en el núcleo de las células en fase S del ciclo celular (Moldovan *et al.*, 2007). La *PCNA* se ha reportado como sobreexpresada en varios tipos de cáncer, asociada a una alta tasa de proliferación celular (Maga *et al.*, 2003).

Por otra parte, en 2017, Gang *et al.* demostraron que la sobreexpresión de miR-223-3p en células SKOV3 y OVCAR3 reduce significativamente los niveles de *PCNA*, lo que sugiere que este micro ARN inhibe la proliferación celular al disminuir la expresión de *PCNA*.

En estudios más recientes, como el de Wang S. *et al.* en 2020, se demostró que la sobreexpresión de genes como *ZNF703* en células OVCAR3 aumenta los niveles de *PCNA*, promoviendo la proliferación celular y reduciendo la apoptosis. Asimismo, en el mismo estudio menciona que la inhibición de *ZNF703* disminuye la expresión de *PCNA* (Wang *et al.*, 2020).

4.0 Otras interacciones célula a célula

El cáncer de ovario suele asociarse con trombocitosis y un mayor riesgo de eventos trombóticos, lo que ha llevado a considerar el papel activo que desempeñan las plaquetas en la progresión tumoral. Estas no solo intervienen en procesos de coagulación, sino que también interactúan con células cancerosas y componentes del microambiente tumoral, favoreciendo mecanismos como la invasión, migración, evasión inmune y angiogénesis, que son fundamentales en el avance del cáncer.

En el contexto del cáncer, las plaquetas no solo participan como efectores periféricos activados en la circulación, sino que reflejan procesos biológicos que se originan desde su formación en los megacariocitos. Diversos estudios han demostrado que señales derivadas del tumor, así como estímulos inflamatorios sistémicos, pueden inducir una reprogramación del linaje megacariocítico, dando lugar a subpoblaciones plaquetarias con perfiles moleculares y funcionales distintos. Estas plaquetas “educadas por el tumor” presentan modificaciones en su contenido proteico y de ARN, lo que les confiere la capacidad de modular activamente procesos clave en la progresión tumoral, como la invasión, la metástasis, la angiogénesis y la evasión del sistema inmune (Best *et al.*, 2015; Roweth & Battinelli, 2021).

4.1 Interacción entre plaquetas y células tumorales

Un individuo sano tiene recuentos de plaquetas entre 150.000 y 450.000 por microlitro de sangre. Por el contrario, solo aproximadamente un tercio de las pacientes con cáncer de ovario recientemente diagnosticadas tienen un recuento de plaquetas superior a 450.000 por microlitro (Cho *et al.*, 2012). Las plaquetas pueden contribuir a la progresión del cáncer mediante distintos mecanismos, incluidos el aumento de la proliferación, la TEM y la angiogénesis (Cho *et al.*, 2012).

Las células tumorales activan las plaquetas; que alteran las células cancerosas, la TEM y su interacción (Haemmerle *et al.*, 2018). Se ha reportado que las plaquetas son reprogramadas por el cáncer, mediante un proceso llamado “educación”, que favorece el desarrollo del cáncer (Gao *et al.*, 2023).

Mecánicamente, las plaquetas pueden aumentar la proliferación (Cho *et al.*, 2012), promover la evasión de tejidos y la metástasis (Haemmerle *et al.*, 2017) y reforzar la angiogénesis en el cáncer de ovario (Klement *et al.*, 2009). En 2023, Gao *et al.* publicaron un perfil de ARN plaquetario con potencial para la detección de cáncer. Con el objetivo de evaluar la relación entre las plaquetas y el cáncer de ovario, se analizaron los recuentos plaquetarios de 9,968 individuos registrados en la Plataforma de Oncología Ginecológica del Mundo Real de China. A partir de estas muestras, se investigó la posible asociación entre el transcriptoma plaquetario y el cáncer de ovario mediante la secuenciación de ARN. Este análisis permitió identificar firmas moleculares plaquetarias que permitieron un diagnóstico preoperatorio más preciso en pacientes con cáncer de ovario.

Hoy en día, diversas investigaciones respaldan la relación recíproca entre el crecimiento tumoral y la producción y activación de plaquetas. No obstante, la acumulación de datos sugiere que las plaquetas no solo son un posible biomarcador de la enfermedad, sino que también contribuyen activamente a su progresión (Lin *et al.*, 2014).

Uno de los grandes atractivos para la ciencia actualmente es la terapia con actividad antiplaquetaria —como los medicamentos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE), incluida la aspirina—, la cual se ha asociado con un mejor pronóstico. Este tipo de terapias sigue siendo investigando en el ámbito clínico del cáncer de ovario (Merritt *et al.*, 2018). Tanto la diversidad de estudios preclínicos, como la de los clínicos demuestran que las plaquetas y las células cancerosas se influyen mutuamente de manera bidireccional: las neoplasias malignas favorecen la trombocitosis y el aumento de las plaquetas impulsa la tumorigénesis y la metástasis (Menter *et al.*, 2014).

Holmes *et al.* en 2015 demostraron que la actividad invasiva de las células SKOV3 de cáncer de ovario humano aumenta de forma dependiente de la dosis de la exposición a plaquetas en los cocultivos celulares. Este efecto se redujo significativamente al administrar prostaglandina E1, un inhibidor de la activación plaquetaria, lo que sugiere un papel activo de las plaquetas en la promoción de la invasividad tumoral. Por su parte, Bottsford *et al.* (2015) observaron que el cocultivo de plaquetas con diferentes líneas celulares de cáncer de ovario —como A2780, HeyA 8 y SKOV3-ip1— tiene un efecto protector frente a la apoptosis, lo que indica que las plaquetas podrían contribuir a la supervivencia tumoral en el microambiente peritoneal. En 2015, Bottsford *et al.*, estudiaron las líneas celulares de cáncer de ovario humano (SKOV3, OVCAR5) y murino (ID8, 2C6), demostrando efectos proliferativos directos de las plaquetas en las células cancerosas mediados a través del receptor TGF- β (Bottsford *et al.*, 2015).

Por otra parte, en 2015 Cooke *et al.* llevaron a cabo un cocultivo de células de cáncer de ovario SKOV3 y 59M de plaquetas. Sus hallazgos mostraron que esta interacción inducía un aumento en la expresión de proteínas asociadas a la TEM, como *N-cadherina* y vimentina, junto con una disminución de la expresión de *E-cadherina*, lo que sugiere una mayor capacidad migratoria e invasiva de las células tumorales. Utilizaron la adición de antagonistas plaquetarios al sistema de cocultivo para evaluar si los agentes plaquetarios podían revertir este efecto mediante dos inhibidores: aspirina y 2-metiltioadenosina 5'-monofosfato hidrato de trietilamonio (2MeSAMP), un antagonista del receptor P2Y12. Ambos agentes redujeron significativamente la invasión inducida por las plaquetas en las células SKOV3, devolviendo su comportamiento invasivo a niveles comparables con el de las células no expuestas a plaquetas. Lo anterior resalta el papel funcional de las micropartículas plaquetarias en la promoción del fenotipo mesenquimal y la progresión tumoral del cáncer de ovario.

Yuan *et al.* en 2015 trabajaron en modelos murinos de cáncer de ovario, donde encontraron que los marcadores endoteliales VEGF y CD31 se colocan con las plaquetas, y que el cocultivo de líneas celulares humanas de cáncer de ovario con plaquetas aumenta la secreción de varios factores proangiogénicos. En esa misma línea, algunos estudios *ex vivo* han aportado evidencia complementaria. Por ejemplo, se han utilizado células de cáncer de ovario derivadas de pacientes humanos, específicamente aisladas del líquido ascítico, y tratadas en cocultivo con plaquetas. Estos modelos han permitido confirmar el papel pro-tumorigénico de las plaquetas, al observarse un aumento significativo de la capacidad migratoria de las células tumorales, así como cambios

fenotípicos compatibles con características de células troncales y la activación de procesos asociados a la TEM (Orellana *et al.*, 2015).

De manera más reciente, se ha consolidado el concepto de plaquetas “educadas por el tumor” (tumor-educated platelets, TEPs), las cuales reflejan modificaciones inducidas por el microambiente tumoral tanto a nivel transcriptómico como proteico. Estas alteraciones no solo posicionan a las plaquetas como biomarcadores potenciales, sino también como mediadores activos de la progresión tumoral. Estudios recientes han demostrado que estas plaquetas presentan perfiles moleculares dinámicos capaces de influir en procesos clave como la proliferación, la transición epitelio-mesénquima, la angiogénesis, la evasión inmune y la diseminación metastásica, reforzando la naturaleza bidireccional de la interacción entre plaquetas y células tumorales (Best *et al.*, 2015; Roweth & Battinelli, 2021; Morales-Pacheco *et al.*, 2025).

4.2 La angiogénesis como facilitadora del crecimiento tumoral

La angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos que a menudo se asocian con el crecimiento tumoral durante la etapa de la promoción. Debido a que, los tumores dependen de un suministro sanguíneo adecuado para su crecimiento y desarrollo, los factores angiogénicos secretados por las células tumorales estimulan la angiogénesis dentro del tumor, lo que incrementa la expresión de moléculas de señalización inflamatoria como NF- κ B (Liu *et al.*, 2024). Es un proceso en el que se desarrollan nuevos vasos sanguíneos a partir de capilares existentes y, finalmente, forman una red vascular completa. Este proceso incluye la activación, proliferación y migración de las células endoteliales (Larionova *et al.*, 2021). La angiogénesis contribuye a la progresión del cáncer de ovario, del cáncer de mama, cáncer colorrectal y de varios melanomas (Liu *et al.*, 2023).

En condiciones fisiológicas normales, la angiogénesis desempeña un papel fundamental, por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, la reparación de tejidos y el ciclo menstrual. No obstante, la desregulación de la angiogénesis puede provocar la sobreexpresión de factores proangiogénicos, inactivando los antiangiogénicos y promoviendo diversas enfermedades, como la artritis reumatoide, psoriasis y la retinopatía diabética, entre otras (Creamer *et al.*, 1997).

La angiogénesis permite una rápida expansión del cáncer. En el tumor existe un microambiente hipóxico, que estimula la angiogénesis y la expresión de los factores angiogénicos —como VEGF, PDGF, FGF y la angiopoyetina—, lo que aumenta la

supervivencia de las células cancerígenas y promueve el crecimiento (Larionova *et al.*, 2021). Cuando sucede esto, las células tumorales desarrollan un fenotipo más agresivo; continúan proliferando, propagándose y, finalmente, inducen la angiogénesis, la invasión y la metástasis a tejidos distantes, a través de la circulación sanguínea (Liu *et al.*, 2023).

La angiogénesis también se promueve cuando las plaquetas activadas se desgranulan y liberan diversos factores. En este proceso de angiogénesis, se han descrito más de 30 componentes asociados a las plaquetas; entre ellos se encuentran las metaloproteinasas de matriz, como las MMP-2, MMP-9, y citocinas, IL-6 e IL-8. Estos componentes se almacenan principalmente en los gránulos alfa plaquetarios y liberan tras su activación, promoviendo así la formación de nuevos vasos sanguíneos en el entorno tumoral (Larionova *et al.*, 2021).

5.0 Líneas celulares

Las líneas celulares son cultivos de células que han adquirido la capacidad de proliferar indefinidamente en condiciones *in vitro*. Se originan a partir de tejidos normales o tumorales (Freshney, 2016).

La primera línea celular humana establecida fue HeLa, derivada en 1951 de un carcinoma cervical agresivo de una paciente afroamericana llamada —Henrietta Lacks—, por el investigador George Gey. Estas células se caracterizan por su alta tasa de proliferación y su capacidad de dividirse indefinidamente. De este modo inició una nueva era en la biología celular y médica (Skloot, 2010; Gey *et al.*, 1952). Las líneas celulares pueden clasificarse según su origen y características proliferativas en:

- 1) Líneas celulares primarias: derivadas directamente de tejido, con vida limitada en cultivo (Lucey *et al.*, 2009).
- 2) Líneas celulares inmortalizadas: modificadas genéticamente para evadir la senescencia replicativa, lo que les permite crecer indefinidamente. Se utiliza el tejido primario que posteriormente se inmortaliza; es de tipo benigno, no canceroso (Lucey *et al.*, 2009).
- 3) Transformadas: han adquirido fenotipos tumorales, como crecimiento independiente de anclaje, evasión de la apoptosis y desregulación del ciclo celular, ya sea por agentes virales, mutaciones o carcinógenos (Lucey *et al.*, 2009).

La importancia de las líneas celulares radica en su accesibilidad, bajo costo, reproducibilidad y control experimental. Las líneas celulares representan una herramienta experimental fundamental en la investigación biomédica, permitiendo realizar ensayos

reproducibles que serían imposibles de ejecutar en sistemas *in vivo* por razones éticas (Masters, 2000; Barretina *et al.*, 2012).

En el campo de la oncología, las líneas celulares tumorales han sido clave para estudiar los mecanismos de carcinogénesis, progresión tumoral, metástasis, resistencia a tratamientos y señalización intracelular, facilitando el descubrimiento de biomarcadores diagnósticos, pronósticos y nuevas dianas terapéuticas. Además, permiten modelar alteraciones genéticas específicas observadas en pacientes y analizar su impacto biológico. Las líneas celulares permiten generar modelos tridimensionales como —esferoides, organoides o cocultivos— (Ben-David *et al.*, 2018).

No obstante, presentan limitaciones relevantes, con el tiempo las líneas celulares pueden acumular mutaciones, presentar alteraciones en el cariotipo y diferir fenotípicamente del tumor original y no replican completamente el microambiente tumoral, por lo que sus resultados deben validarse en modelos animales o tejidos primarios (Hughes *et al.*, 2007).

5.1 Línea celular SKOV3

Esta línea celular fue derivada de un tumor de ovario de una paciente de 64 años con adenocarcinoma seroso de ovario. El subtipo histológico que se le denominó inicialmente a estas células fue seroso, pero compañías más recientes como SIGMA describen un fenotipo de carcinoma de células claras de ovario (SIGMA, 2025).

Esta línea celular se caracteriza presentar mutaciones en el gen TP53, lo que la distingue de otras líneas celulares de cáncer de ovario de alto grado. Cuenta con un perfil mesenquimal, ya que tiene sobreexpresados genes como *HOX* (gen de la familia homeobox, que codifican factores de transcripción que regulan en condiciones normales el desarrollo embrionario y la diferenciación celular); *FAP* (en condiciones normales está implicado en la remodelación de matriz extracelular y en cáncer participa en la modulación del microambiente tumoral); *TWIST* (en condiciones normales está involucrado en el desarrollo embrionario, pero en cáncer se encarga de reprimir la expresión de E-cadherina, promoviendo la resistencia a apoptosis) y, *SNAIL* (se encarga de inducir la pérdida de características epiteliales como la polaridad apico basal y la adhesión) (Xing *et al.*, 1999; Tanwar *et al.*, 2011).

Dentro de sus características funcionales se encuentra una alta capacidad de proliferación y resistencia al estrés; carece de expresión del antígeno CA125 (MUC16), el cual comúnmente es utilizado como marcador tumoral de cáncer de ovario (Nieto *et al.*, 2016).

5.2 Línea celular OVCAR3

Esta línea celular fue derivada en 1982 de ascitis maligna de una paciente con adenocarcinoma progresivo de ovario resistente a quimioterapia con ciclofosfamida (agente alquilante que induce apoptosis); adriamicina (antibiótico antraciclínico, el cual provoca la fragmentación del ADN y genera la muerte celular) y, cisplatino (agente quimioterápico que bloquea la replicación y transcripción del ADN, causando apoptosis). Su subtipo histológico es carcinoma seroso de alto grado (HGSOC), el más común y agresivo de los cánceres epiteliales de ovario (SIGMA, 2025).

Esta línea celular se caracteriza por pérdida funcional del gen *TP53*, pérdida funcional de la reparación de recombinación homóloga, lo que la hace sensible a inhibidores de PARP. En cuanto a sus características funcionales, expresa receptores de andrógenos y estrógenos así como el antígeno CA125 (Patch *et al.*, 2015).

5.3 Comparación y utilidad de SKOV3 y OVCAR3 en investigación

Ambas líneas celulares se utilizan en estudios sobre cáncer de ovario, pero presentan diferencias significativas. Por un lado, SKOV3 representa un modelo más mesénquimal y menos representativo del tipo HGSOC, lo que la convierte en una línea celular útil para estudiar mecanismos de transición epitelio-mesénquima y la resistencia a fármacos.

Por otra parte, OVCAR3 sí es un modelo representativo del HGSOC, lo que la hace adecuada para estudios de sensibilidad a quimioterapias y a diversos mecanismos de reparación del ADN. Además, al ser derivada de líquido ascítico, la hace más agresiva ya que tiene organotropismo metastásico hacia cerebro y pulmón, lo cual le confiere mayor capacidad de migración (Domcke *et al.*, 2013). La elección de cada línea celular depende del objetivo específico de estudio, pero utilizar ambas puede proporcionar una visión más completa de los mecanismos implicados en el cáncer de ovario (Domcke *et al.*, 2013).

6 Hipótesis

El contacto entre las plaquetas provenientes de donadores sanos con las líneas celulares de cáncer de ovario SKOV3 y OVCAR3 induce un cambio en el fenotipo celular, incrementando la migración, proliferación y clonogenicidad celular, así como cambios en la expresión de genes relacionados con la transición epitelio mesenquimal (TEM) y genes asociados a la proliferación celular.

7. Justificación

En los últimos años, el papel de las plaquetas en el desarrollo y la progresión del cáncer ha cobrado un creciente interés dentro de la investigación oncológica. Diversos componentes del microambiente tumoral participan en estos procesos; entre ellos, las plaquetas han sido asociadas con un comportamiento tumoral más agresivo.

Por ello, resulta importante evaluar si la interacción entre plaquetas y células de cáncer de ovario modifica procesos relacionados con la proliferación, migración, invasión y capacidad clonogénica, así como la expresión de genes asociados con la transición epitelio-mesénquima, contribuyendo a una mejor comprensión de su papel en la progresión tumoral.

8.0 Objetivos

8.1 Objetivo general

Determinar el efecto del cocultivo con plaquetas sobre el fenotipo de las líneas celulares de cáncer de ovario SKOV3 y OVCAR3, mediante el análisis de marcadores asociados a agresividad tumoral.

8.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto del cocultivo entre las líneas celulares de cáncer de ovario SKOV3 y OVCAR3 con plaquetas de donadores sanos sobre la migración, invasión y capacidad clonogénica a fin de determinar su contribución al incremento de características asociadas a agresividad tumoral.
2. Determinar los cambios en la expresión de genes relacionados con la transición epitelio-mesénquima (E-cadherina, N-cadherina, MMP2 y MMP9) y la proliferación celular (Ki67 y PCNA) en células SKOV3 y OVCAR3 cocultivadas con plaquetas, para establecer su asociación con la inducción de un fenotipo más agresivo.

9.0 Estrategia experimental general

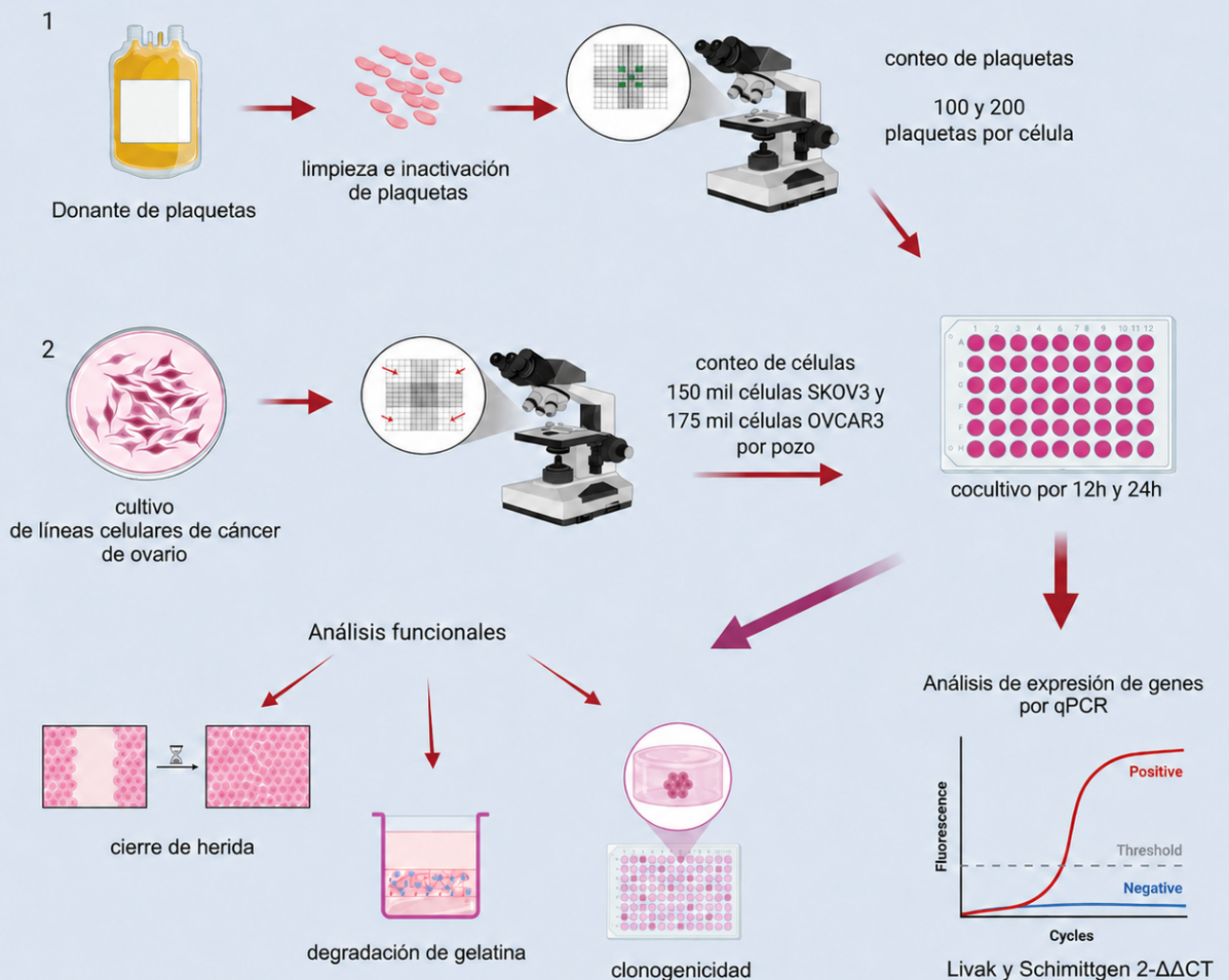


Figura 7. Esquema general de trabajo experimental. Representación esquemática de la estrategia experimental utilizada en el estudio. Las líneas celulares de cáncer de ovario SKOV3 y OVCAR3 fueron co-cultivadas con plaquetas humanas en proporciones 1:100 y 1:200 durante 12 y 24 h. Posteriormente, se realizaron los ensayos funcionales de proliferación y clonogenicidad, seguidos de la extracción de ARN para el análisis de expresión génica mediante RT-qPCR.

9.1 Materiales y Métodos

9.2 Cultivo y mantenimiento de células (SKOV3 Y OVCAR3)

Para el mantenimiento de las células SKOV3 y OVCAR3 se utilizó medio RPMI (Roswell Park Memorial Institute, en inglés), adicionado con Suero Fetal Bovino (FBS por sus siglas en inglés, Gibco) a una concentración del 10 % (v/v).

El vial que contenía las células se descongeló en un baño de agua a temperatura de 37 °C. Las células fueron transferidas a un tubo para centrifuga de 15 mL y se agregó 1 mL de medio RPMI (5% de SFB). Las células fueron centrifugadas durante 6 min a 1300 rpm, terminada la centrifugación, se descartó el sobrenadante. El pellet fue resuspendido gentilmente en 1mL de medio RPMI (5% SFB). Las células fueron inoculadas en un caja p100 que contenía 8 mL de medio RPMI suplementado con SFB al 10% e incubadas a 37 °C y CO₂ al 5% (Thermo Scientific™, modelo Series 8000 WJ CO₂ Incubator).

El cultivo fue inspeccionado antes de su colocación en la incubadora para verificar la integridad celular y la adecuada distribución de las células. Posteriormente, se realizó un monitoreo a las 24 horas de incubación con el fin de evaluar la viabilidad celular y confirmar la adherencia al sustrato.

Durante la fase exponencial de crecimiento celular, se alcanzó una confluencia aproximada del 80 %, considerada un criterio adecuado para llevar a cabo el primer pase celular y así proceder con la expansión del cultivo. Para llevar a cabo el pase celular, se retiró y descartó el medio de cultivo, seguido de un lavado con PBS 1X con el objetivo de eliminar residuos de suero fetal bovino. Posteriormente, se adicionaron 3 mL de tripsina-EDTA 1X [solución compuesta por: 1% de suero de pollo (Gibco), 1% de tripsina 2.5% (Gibco) y 0.036% de ácido etildiaminotetraacético (EDTA por sus siglas en inglés; Gibco) diluidos en PBS 1x], para favorecer el desprendimiento celular del sustrato, se incubó durante 5 a 7 minutos a 37°C (Thermo Scientific™, modelo Series 8000 WJ CO₂ Incubator).

La acción de la tripsina fue neutralizada mediante la adición de 2 mL de medio RPMI sin suplemento. Posteriormente, la suspensión celular fue recuperada mediante centrifugación a 1800 rpm durante 5 minutos a 4 °C. El pellet obtenido se resuspendió en 10 mL de medio RPMI suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10 %.

A partir del segundo pase celular, los subcultivos posteriores se realizaron bajo las mismas condiciones, durante la fase exponencial de crecimiento y con una confluencia superior al 70 %. Sin embargo, para el mantenimiento de ambas líneas celulares (SKOV3 y OVCAR3), la concentración de suero fetal bovino (SFB) fue reducida al 5 %.

9.3 Conteo celular.

Se tomaron 10 μ L de la suspensión celular obtenida tras la cosecha y se depositaron en una cámara de Neubauer con el propósito de determinar la concentración celular. El recuento total de células se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Células/mL} = \frac{\Sigma \text{células contadas} \times \text{factor de dilución}}{\text{Número de cuadros contados} \times \text{volumen de cada cuadro (mL)}}$$

Para determinar el volumen de suspensión celular requerido por pozo en una placa de 48 pocillos, se aplicó la siguiente ecuación, considerando la concentración celular previamente obtenida y el número deseado de células por pozo:

$$\text{Volumen necesario (mL)} = \frac{\text{Número deseado de células}}{\text{Células/mL en la muestra}}$$

9.4 Aislamiento y purificación de plaquetas.

Los concentrados plaquetarios fueron obtenidos con el apoyo del Banco de Sangre del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, mediante colaboración con un proyecto de investigación previamente aprobado por el comité de ética correspondiente (Reg. CONBIÉTICA-09-CEI-011-20160627) (ver anexos).

Las muestras utilizadas corresponden a concentrados plaquetarios residuales provenientes del fraccionamiento de sangre total de donadores sanos de ambos sexos y de edades diversas, los cuales estaban destinados a desecho biológico, por lo que no implican intervenciones adicionales en los donadores ni riesgos asociados. Se consideraron como criterios de inclusión donadores clínicamente sanos, sin antecedentes de enfermedades hematológicas o neoplásicas y sin consumo reciente de medicamentos que alteren la función plaquetaria. Como criterios de exclusión se descartaron muestras provenientes de donadores con procesos infecciosos activos, enfermedades crónicas o bajo tratamiento farmacológico que pudiera afectar la calidad o función de las plaquetas.

Se recolectaron los días martes y jueves a las 8:00 h y se procesaron a las 11:00 h del mismo día. Hasta su utilización, las plaquetas se mantuvieron en agitación constante a temperatura ambiente.

Previo al procedimiento experimental, la bolsa que contenía el concentrado fue lavada dos veces con jabón antiséptico; posteriormente, se dejó en remojo con solución de cloro bajo agitación suave a temperatura ambiente, y finalmente se lavó mediante un chorro continuo de agua y se roció la bolsa con alcohol al 70%. Durante el procedimiento en el área de trabajo, se empleó equipo de protección personal que incluyó cubrebocas, doble par de guantes (cambiando el par externo cada vez que se salía de la campana de bioseguridad) y cabello recogido, con el objetivo de minimizar el riesgo de contaminación.

Los concentrados plaquetarios fueron abiertos utilizando tijeras previamente esterilizadas e irradiadas con luz ultravioleta (UV). El contenido fue transferido asépticamente a tubos Falcon de 50 mL, con un volumen aproximado de 30 mL por tubo. Posteriormente, se le agregó ácido acetilsalicílico (AAS) (ver anexos) en una concentración final de 200 μ M y se mezclaron por inversión lenta 3 veces, se centrifugó a 100 x g, 16 min a temperatura ambiente (TA), y se tomaron $\frac{2}{3}$ partes del sobrenadante con pipeta subiendo lentamente el líquido, se transfirió a un falcon de 50ml y se agregó buffer HEP (relación 1:1, v/v; ver anexos), y la solución fue homogeneizada mediante inversión lenta en dos ocasiones. Se realizó una segunda centrifugación a TA a 150 x g durante 16 minutos.

Posteriormente, se tomaron las $\frac{2}{3}$ partes superiores y se pasaron a un tubo falcon de 50ml nuevo, donde se llevó a cabo una tercera centrifugación a 1,000g, por 11 minutos a 25 °C; Se desechó el sobrenadante cuidadosamente y el botón se resuspendió en 5ml de buffer tyrodes (ver anexos).

9.5 Conteo de plaquetas.

Para la cuantificación de plaquetas, se realizó una dilución final de 1:200, iniciando con una dilución 1:50, tomando 490 μ L de buffer Tyrode's y 10 μ L del concentrado plaquetario previamente resuspendido. Posteriormente, se preparó una dilución 1:2, mezclando 10 μ L de azul de toluidina (ver anexos) con 10 μ L de la dilución 1:50.

La mezcla fue incubada durante 5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, el conteo plaquetario se llevó a cabo utilizando una cámara de Neubauer, aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Plaquetas } (\mu\text{L}) = \frac{\Sigma \text{ plaquetas contadas} \times \text{factor de dilución}}{\text{Número de cuadros contados} \times \text{volumen de cada cuadro}}$$

Donde:

- Σ = plaquetas contadas: suma total de plaquetas observadas en los cuadros utilizados para el conteo.
- Factor de dilución: depende de la dilución utilizada en la preparación de la muestra
- Número de cuadros contados: generalmente se cuentan las plaquetas en los 5 cuadrantes de la cuadrícula central.
- Volumen de cada cuadro: en la cuadrícula de la cámara de Neubauer, cada cuadro grande de la zona central tiene un volumen de 0.004 mm^3 (o $4 \times 10^{-3} \text{ }\mu\text{L}$).

El conteo de plaquetas deseadas por pozo se realizó con la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen necesario (mL)} = \frac{\text{Número deseado de plaquetas por pozo}}{\text{Concentración de plaquetas en la muestra (plaquetas/mL)}}$$

En donde la concentración de plaquetas en la muestra corresponde al número total de plaquetas cuantificadas previamente mediante la cámara de Neubauer.

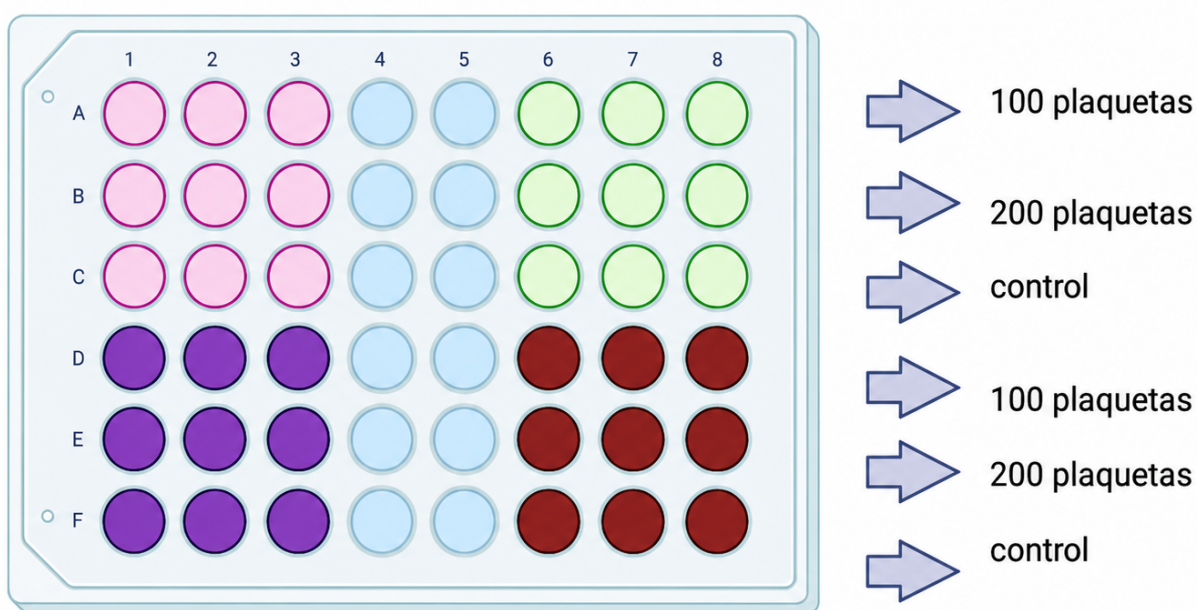
9.6 Cocultivo celular.

El cocultivo celular se realizó por triplicado y se estableció en placas de 48 pozos tratadas para cultivo celular (Thermo Fisher). Se sembraron 1.5×10^5 células por pozo para la línea celular SKOV3 y 1.75×10^5 células por pozo para la línea OVCAR3. Posteriormente, las placas fueron incubadas durante 24 horas a 37°C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO_2 , con el fin de favorecer la adherencia celular (Thermo Scientific™, modelo Series 8000 WJ CO_2 Incubator).

Dos horas antes del aislamiento de plaquetas (apartado 7.2), el medio de cultivo de las células involucradas en el experimento fue sustituido por medio RPMI sin suero. Una vez completado el protocolo de preparación y cuantificación plaquetaria, se establecieron cuatro condiciones experimentales con el objetivo de evaluar el impacto de la proporción y el tiempo de exposición de plaquetas sobre las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3:

- 1) 100 plaquetas por célula sembrada;
- 2) 200 plaquetas por célula sembrada;
- 3) 12 horas de cocultivo; y
- 4) 24 horas de cocultivo.

Para asegurar la homogeneidad de la suspensión, las plaquetas fueron agitadas suavemente antes de su adición a cada pozo. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37 °C y 5 % de CO₂ (Thermo Scientific™, modelo Series 8000 WJ CO₂ Incubator). Las condiciones de adherencia se mantuvieron durante 24 horas, previo a la realización del ensayo de cierre de herida (Figura 9).



SKOV3 12h 150 mil células por pozo

OVCAR3 12h 175 mil células por pozo

SKO3 24h 150 mil células por pozo

OVCAR3 24h 175 mil células por pozo

Figura 8. Placa de siembra de cocultivo celular para línea celular SKOV3 y OVCAR3. Esquema de cocultivo celular por triplicado de células SKOV3 y OVCAR3 para 12 y 24 horas en contacto, co-productos secretados por las plaquetas. Elaboración propia.

9.7 Evaluación de la proliferación y/o migración celular por ensayo de cierre de heridas.

Para evaluar el comportamiento celular tras el cocultivo con plaquetas, se seleccionó una placa de las condiciones experimentales previamente establecidas. Finalizado el periodo de cocultivo, se retiró cuidadosamente el sobrenadante de cada pozo. Las células adheridas en monocapa fueron lesionadas de forma controlada mediante un raspado uniforme con una punta de micropipeta estéril de 10 μ L, simulando una herida lineal. Los residuos celulares generados fueron eliminados mediante un lavado suave con PBS 1X (ver anexos), y posteriormente, se reincorporó el medio de cultivo condicionado (MCC) correspondiente a cada condición experimental.

Inmediatamente después de la inducción de la herida, se capturaron microfotografías con objetivos de 10x y 20x mediante microscopía óptica, registrando el tiempo 0 h. Posteriormente, las muestras fueron incubadas a 37 °C en una atmósfera controlada con 5 % de CO₂ (Thermo Scientific™, modelo Series 8000 WJ CO₂ Incubator). Se tomaron nuevas imágenes de la misma región a los tiempos $t = 24$ h y $t = 48$ h, utilizando los mismos aumentos (10x y 20x), con el fin de evaluar el cierre progresivo de la herida. Las condiciones experimentales para el análisis del cierre de herida fueron idénticas para ambas líneas celulares (SKOV3 y OVCAR3), manteniéndose la relación célula-plaqueta establecida previamente en el cocultivo. Las heridas fueron inducidas bajo las siguientes condiciones:

- Células en cocultivo + medio de cultivo condicionado (MCC).
- Células sin cocultivo + MCC.
- Células sin cocultivo + medio RPMI sin SFB.

Como control negativo, se utilizaron las mismas líneas celulares cultivadas sin la adición de plaquetas ni suero, con el propósito de evaluar el proceso basal de cierre de herida en condiciones de monocapa. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los ensayos se hicieron por triplicado. Las micrografías se analizaron con el software ImageJ —del National Institute of Health— que analiza las micrografías, a partir de un algoritmo que permite medir el porcentaje del área que ocupa la herida con respecto al área total.

9.8 Extracción de ARN por el método de TRIzol.

La extracción de ARN se llevó a cabo a partir de células obtenidas del cocultivo. El

sobrenadante de cada pozo fue descartado y se adicionaron 200 μL de TRIzol™ (Invitrogen) directamente sobre la monocapa celular. El contenido fue resuspendido cuidadosamente mediante micropipeteo y se dejó en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente para permitir la completa disrupción celular. Posteriormente, el contenido de cada pozo fue transferido a tubos Eppendorf individuales, se sometió a agitación en vórtex durante 20 segundos y se añadieron 70 μL de cloroformo (Sigma-Aldrich) por muestra.

La mezcla fue agitada mediante vortex durante 20 segundos y posteriormente incubada durante 3 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, las muestras fueron centrifugadas a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Finalizada la centrifugación, se identificaron las tres fases características del procedimiento: la fase superior acuosa (conteniendo el ARN), la fase intermedia (rica en ADN) y la fase inferior orgánica (conformada por lípidos y proteínas). La fase acuosa fue cuidadosamente transferida a un tubo nuevo, en el cual se adicionaron 250 μL de isopropanol. La mezcla se homogeneizó por inversión lenta en cuatro ocasiones, se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos y, posteriormente, fue sometida a centrifugación a 14,000 rpm por 10 minutos a 4 °C.

El sobrenadante fue cuidadosamente descartado y el pellet resultante se lavó 2 veces en 700 μL de etanol al 75%, se aplicó vortex a cada muestra por 40 segundos y se centrifugó por 5 min a 10,000 rpm, el sobrenadante fue eliminado y los tubos fueron colocados invertidos sobre una superficie absorbente estéril (sanita seca), permitiendo el secado del pellet en condiciones lo más asépticas posible. La pastilla de ARN se resuspendió en 22 μL de H₂O libre de ARNsas, se incubó en choque térmico a 55 °C por 15 minutos. La integridad del ARN se analizó en gel al 1% teñido por RedGel y se cuantificó en un espectrofotómetro NANODROP 2000 a una absorbancia de 260 nm.

Así, las muestras de ARN que se seleccionaron para continuar con el proceso fueron aquellas cuya concentración fue arriba de 100 ng/ μL y cuya relación 260/280 fuera arriba de 1.8.

9.9.1 Digestión de ADN con DNAsas

Al ARN recuperado en 22 μL se le adicionó 1.5 μL DNasa I ARNsa Free de Thermoscientific complementado con 1.5 μL de buffer de DNasa con MgCl₂ 10x. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 30 minutos, posteriormente se les adicionó 1.5 μL de

EDTA y se incubaron por 10 minutos a 65h °C y se almacenaron a -70 °C para su posterior uso.

9.9.2 Síntesis de cDNA a partir de ARN de líneas celulares

El cDNA se sintetizó mediante el Kit Invitrogen SuperScript® II First-Strand Synthesis System for RT-PCR. A partir del ARN digerido, se cuantificaron 2 µg de ARN a los que se agregaron 2 µl de oligos hexámeros aleatorios, 2 µL de dNTPs 10mM, y 24 µl de agua. Se incubó la primera reacción a 65° por 5 min. En hielo se cargaron los siguientes reactivos para la segunda reacción. Se adicionaron 8µl del Buffer SuperScript® II 5X, y 4 µl de DTT 100 nM. Se incubó a 25 °C por 2 min. La última reacción se incubó por 10min a 25 °C, seguida de una segunda incubación a 42 °C por 50 min y finalmente 15 min a 70 °C. Se adicionó a la reacción 1 µL de la enzima SuperScript® II.

Tabla 1. Mezcla de reacción realizada para la síntesis de cDNA de líneas celulares.

Mezcla	µL
ARN digerido	2 µg
Oligos hexámeros aleatorios de promega 50 ng/ µL	2µL
Buffer SSII 5X	8 µL
100nM DTT	4 µL
dNTPs 10mM de Promega	2 µL
Enzima SSII	1 µL
Agua	24 µL

9.10 qPCR.

La técnica de qPCR cuantitativa en tiempo real permitió calcular la expresión relativa de cada uno de nuestros genes de interés a partir de la fluorescencia emitida mediante la incorporación de SYBR Green. El método se dividió en 4 ciclos. El primer ciclo único correspondió a la desnaturalización inicial, realizada a 95°C por 10 minutos. El segundo ciclo se repitió 40 veces, iniciando con una desnaturalización de las cadenas, realizado a 95 °C, durante 30s. La mezcla para la reacción de qPCR fue realizada a un volumen total de 11 µl con la mezcla maestra para qPCR de Applied Biosystems™ No. Cat. 4309155 de la siguiente manera:

Tabla 2. Mezcla de reacción para qPCR.

Reactivo	1 μ l	Volumen Total
cDNA dil 1:4	5 μ L	11 μ L
Master Mix Sybr Green	1 μ l de cada uno (F y R)	
Oligos	μ L	
Agua	1 μ L	

Los oligos fueron previamente diseñados a partir de la secuencia del gen de interés, eligiendo la sección del ARNm de exón a exón.

Tabla 3. Secuencia de los primers empleados para la amplificación de los genes de interés.

Genes	Oligonucleótidos	T° de alineamiento °C	Tamaño del amplicón
<i>MKI67</i>	F' TTTGGGTGCGACTTGACGA	58.5	74
	R' TACAACCTCTTCCACTGGGACG	58.5	74
<i>PCNA</i>	F' TCTTCCCTTACGCAAGTCTCA	58.5	96
	R' CGGGAAGGAGGAAAGTCTAGC	58.5	96
<i>CDH1</i>	F' CCTGGGACTCCACCTACAGA	61	103
	R' TGGATTCCAGAAACGGAGGC	61	103
<i>CDH2</i>	F' GGCTCCACTGCTGGGTCCTT	61	136

	R' AAGTTCAGTCATCACCTCCACCATAACA	61	136
MMP2	F' GTGCTTACCTAGCACATGCAAT	58.5	70
	R' CAAACAGGTTGCAGCTCTCC	58.5	70
MMP9	F' CCTGGGCAGATTCCAAACCT	57.5	91
	R' CGGCAAGTCTTCCGAGTAGT	57.5	91
GAPDH	F' CACCATGGAGAAGGCTGG	57	137
	R' TGCTGATGATCTTGAGGCTG	57	137

9.9 Análisis en los cambios de la expresión génica por RT-qPCR.

Análisis de los cambios en la expresión génica por RT-qPCR

Para determinar los cambios en la expresión relativa de los genes de interés, se empleó el método de $2^{-\Delta\Delta CT}$ descrito por Kenneth J. Livak y Thomas D. Schmittgen (2001). Este método se basa en el cálculo del umbral de ciclo (CT), definido como el punto en el cual la señal de amplificación supera el nivel basal. Se calcularon los valores de ΔCT mediante la diferencia entre el CT del gen de interés y el CT del gen de referencia; posteriormente, se obtuvo el $\Delta\Delta CT$ al comparar el ΔCT de las muestras experimentales con el ΔCT del grupo control. Finalmente, la expresión relativa (R_n) se determinó mediante la ecuación $2^{-\Delta\Delta CT}$. Cabe señalar que la aplicación de este método asume una eficiencia de amplificación similar entre los genes analizados y el gen de referencia.

9.11 Análisis estadístico.

Se realizó el análisis estadístico de los grupos experimentales generados a partir del cocultivo con plaquetas, considerando como grupo control aquel que no tuvo contacto con plaquetas, cuya expresión génica se definió como basal. Inicialmente, se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Dado que los datos

no siguieron una distribución normal, se emplearon pruebas no paramétricas. Para determinar diferencias significativas en la expresión de los genes entre los grupos de estudio, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias estadísticas se consideraron significativas con un valor de $p = 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPad Prism versión 9.0 para Mac.

9.12 Ensayo de clonogenicidad.

Las pruebas de clonogenicidad se realizaron en placas de 96 pozos.

Las células cocultivadas previamente en las condiciones descritas anteriormente, se recolectaron, se contaron y se ajustaron en medio completo.

Para la siembra, la primera columna de cada placa se inoculó con 2 000 células por pozo y, a partir de ella, se realizaron diluciones seriadas 1:2 columna por columna hasta completar la placa, de modo que los últimos pozos contuvieron una densidad esperada cercana a dos células por pozo ($4\,000/2^{11} \approx 1.95$). Los volúmenes de siembra se mantuvieron constantes en todos los pozos, y las placas se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂.

El medio de cultivo se sustituyó cada cinco días mediante reposiciones suaves para no perturbar las colonias en formación. A los 15 días de cultivo, las colonias se fijaron con etanol al 70 % frío durante 10 min a -20 °C. Transcurrido este tiempo, se retiró el etanol y las placas se dejaron secar completamente a temperatura ambiente hasta eliminar cualquier residuo.

La tinción se realizó directamente sobre las colonias secas, utilizando cristal violeta al 0.5 % (p/v) preparado en agua destilada, incubando durante 10 min a temperatura ambiente sin agitación. Posteriormente, las placas se lavaron cinco veces con agua corriente para retirar el exceso de colorante y se dejaron secar durante una noche a temperatura ambiente.

Las colonias se cuantificaron visualmente mediante observación directa, considerando como unidad de conteo los puntos violetas formados. En esta etapa no se realizó recuento individual de células, sino de colonias completas visibles.

Para el análisis estadístico del ensayo de clonogenicidad se utilizó ELDA (*Extreme Limiting Dilution Analysis*). Los pozos fueron clasificados como positivos o negativos de acuerdo con la presencia o ausencia de colonias visibles. A partir del número de pozos

evaluados, la dosis celular sembrada y el número de pozos positivos, ELDA estimó la frecuencia clonogénica de cada grupo con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%). Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante una prueba global de chi-cuadrada, considerando significativo un valor de $p < 0.05$.

9.13 Ensayo de degradación de gelatina-FITC.

Las células cocultivadas previamente en las condiciones descritas anteriormente, se recolectaron, y se sembraron en los cubreobjetos tratados.

Cada experimento se realizó por duplicado técnico. Los cubreobjetos redondos se lavaron con etanol al 70 % y se secaron en campana de bioseguridad dentro de placas de 12 pozos. Se recubrieron con 1 mL de poly-L-lysine (0.01 % p/v, son 3 $\mu\text{L/mL}$ de H_2O del stock de Poly-lysina) (ver anexos) durante 20 min a temperatura ambiente. Se enjuagaron 1 vez con PBS estéril, se fijaron con 500 microlitros de glutaraldehído al 0.5% en PBS (ver anexos) y se realizaron 3 lavados con PBS 1X.

Previamente, se preparó la gelatina-FITC a 0.2 mg/mL en PBS con 2 % de sacarosa y se filtró (0.22 μm) (ver anexos). Se aplicaron gotas de 80 μL sobre un parafilm limpio, sobre las cuales se colocaron los cubreobjetos pretratados de manera invertida y se incubaron 10 min a 37 °C en oscuridad. Al finalizar esta incubación, los cubreobjetos se regresaron por inversión a los pozos con PBS 1X y se realizó un lavado con borohidruro de sodio (NaBH_4 , 5 mg/mL)(ver anexos) por 3 min para eliminar residuos de aldehídos, seguido de 3 lavados con PBS 1 X. Se retiró el PBS y los cubreobjetos se guardaron en la incubadora en medio sin suero durante el tiempo de preparación de las células.

Las líneas SKOV3 y OVCAR3 se tripsinizaron y se sembraron con su medio condicionado en cada pozo que contenía el cubreobjetos cubierto con gelatina-FITC, agregando aproximadamente 8.0×10^4 células por cubreobjetos. Las células se incubaron a 37 °C y 5 % CO_2 en oscuridad por 5 h.

9.14 Inmunofluorescencia.

Las células adheridas sobre los cubreobjetos recubiertos con gelatina-FITC se lavaron con PBS 1X y se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4 % durante 20 min. Posteriormente, se incubó con NH_4Cl 25 mM por 10 min (inactivar fluorescencia) y se permeabilizó con PBS 1X–Tritón X-100 0.3 % por 5 min.

Después de 3 lavados con PBS 1X, se bloquearon con PBS 1X suplementado con FBS 10 % durante 20 min y se incubaron con faloidina conjugada con Alexa Fluor 488 (Invitrogen), durante 30 min en oscuridad, para marcar los filamentos de actina.

Posteriormente, se realizaron lavados con PBS y, finalmente, las muestras se escurrieron cuidadosamente y se montaron con medio antifade (con DAPI para la tinción nuclear). Las laminillas se mantuvieron 1 h a temperatura ambiente para su secado en oscuridad y posteriormente se guardaron a 4 °C o -20 °C hasta su observación por microscopía de epifluorescencia y confocal.

10. Resultados.

10.1 Evaluación de la migración celular mediante el ensayo de cierre de herida.

Para analizar el efecto del co-cultivo con el objetivo de evaluar el efecto de las plaquetas sobre la migración celular, se realizó un ensayo de cierre de herida en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3. Durante las primeras 24 horas posteriores a la herida, se observó que ambas líneas celulares presentaron una progresiva reducción del espacio correspondiente a la herida en comparación con el control. En las células SKOV3, el cierre fue más evidente en las condiciones de co-cultivo con plaquetas, particularmente en la relación 1:200, donde el área libre entre los bordes celulares disminuyó notablemente respecto al grupo control. En la línea OVCAR3, aunque el cierre de la herida fue más lento en general, también se observó una tendencia hacia un incremento en la migración celular con el aumento en la proporción de plaquetas.

Las imágenes muestran la zona central del raspado a las 24 y 48 horas de iniciado el co-cultivo; cada microfotografía corresponde a una condición experimental distinta (control, 100 y 200 plaquetas por célula), mantenidas bajo las mismas condiciones de incubación y tiempo de exposición (Figuras 9–16).

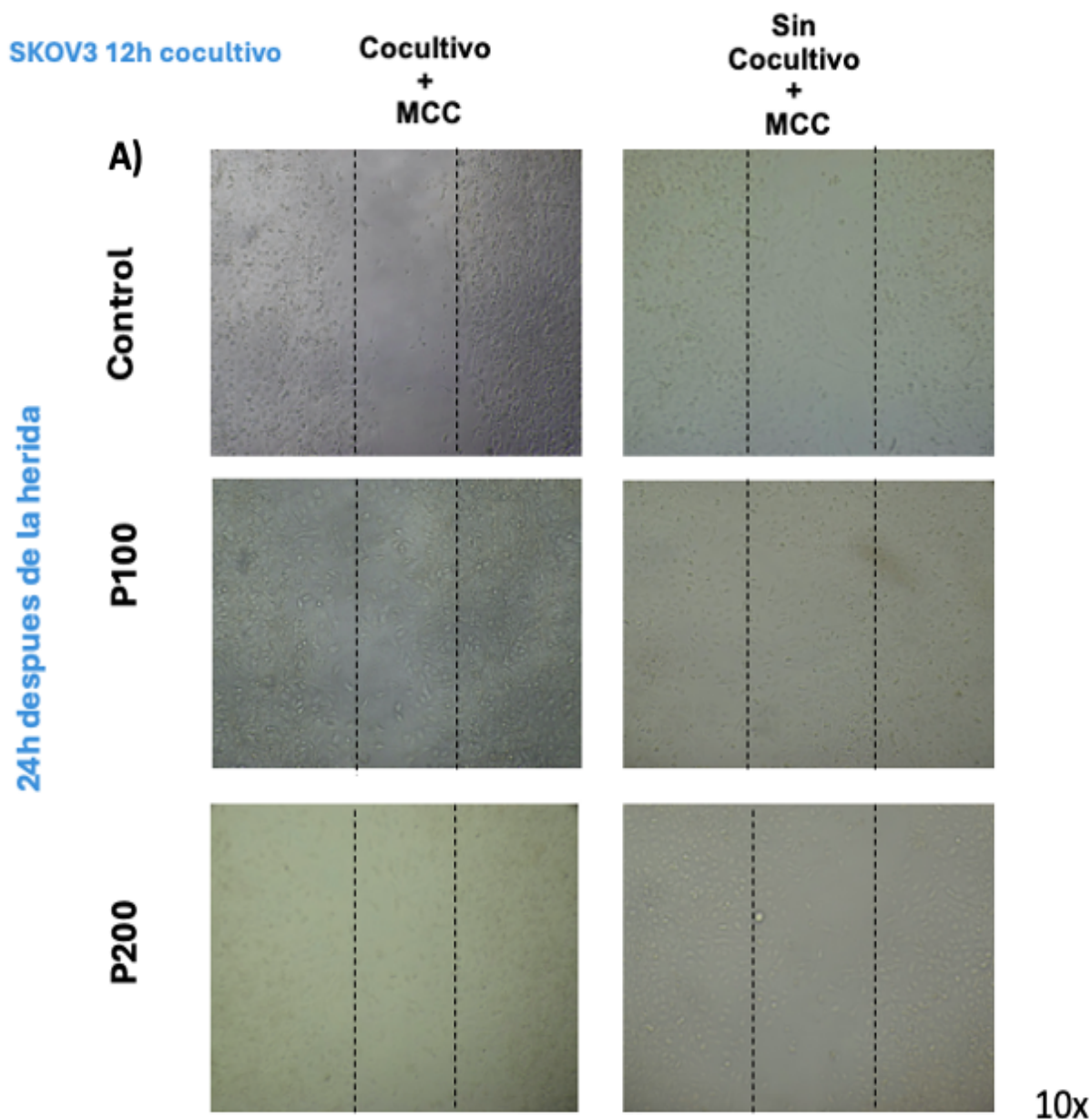


Figura 9. Ensayo de cierre de herida en las líneas celulares SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 24h después de la herida. Las células SKOV3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 12 h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a las 24h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

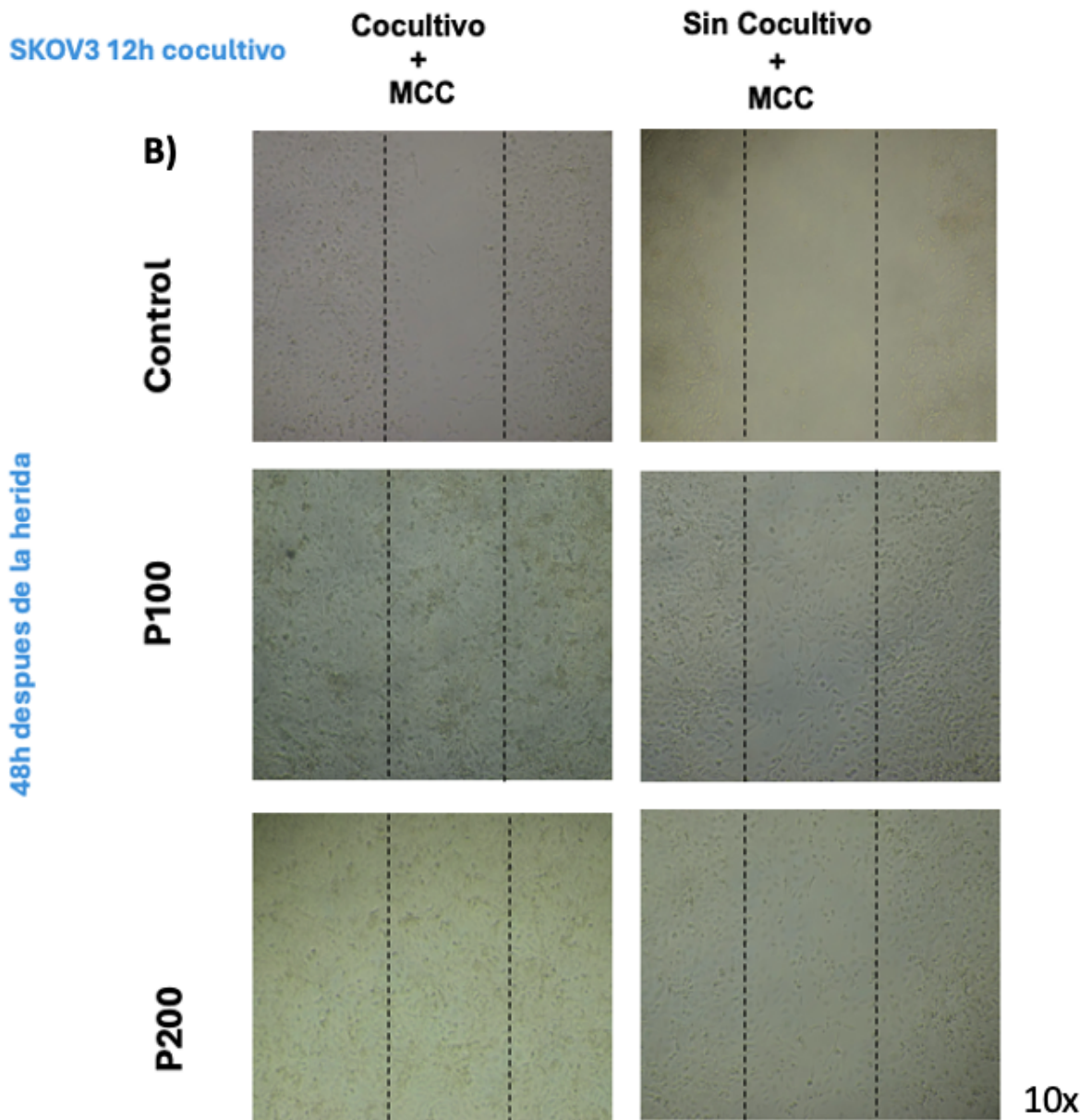


Figura 10. Ensayo de cierre de herida en las líneas celulares SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 48h después de la herida. Las células SKOV3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 12 h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a las 48h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

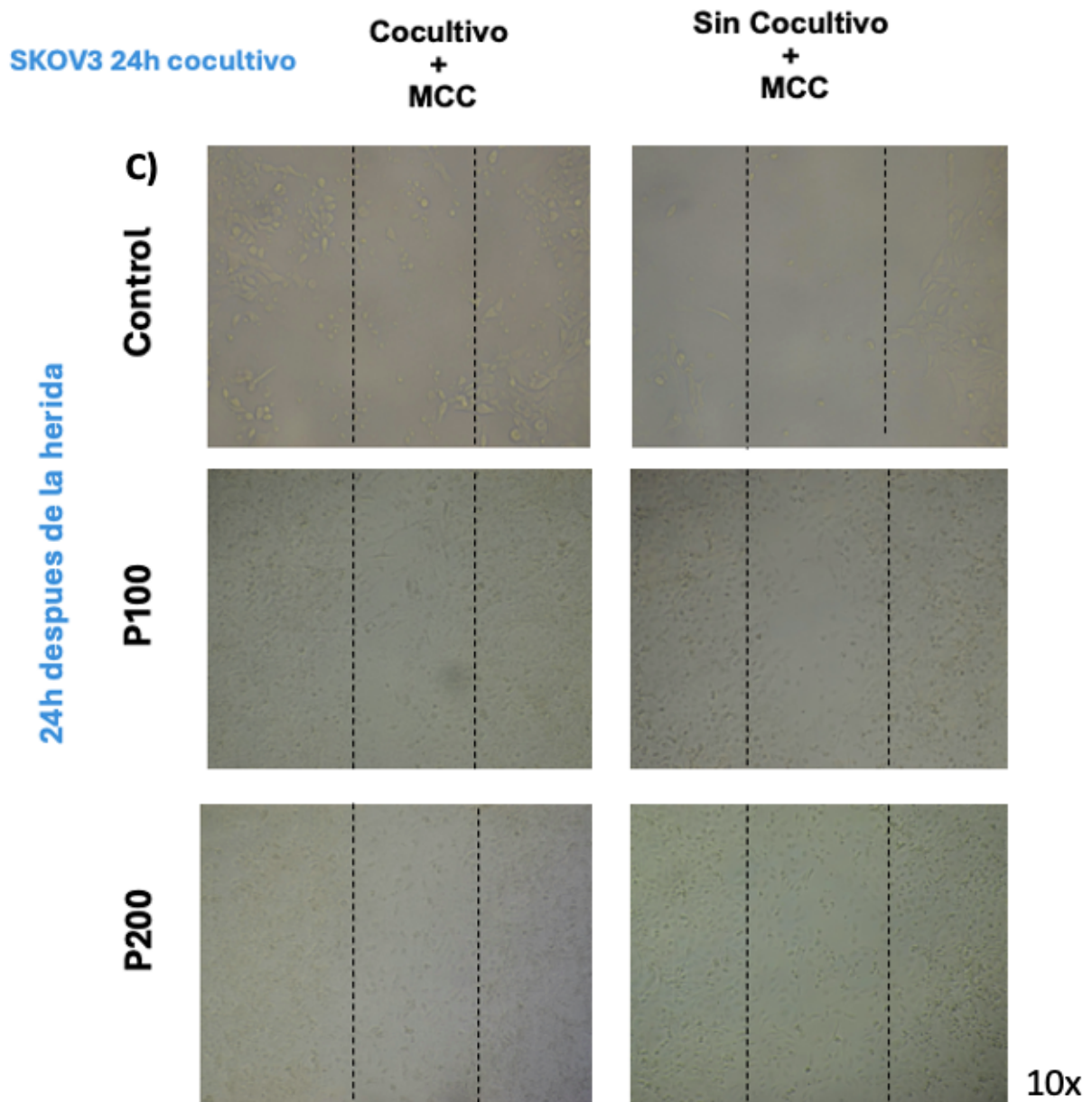


Figura 11. Ensayo de cierre de herida en células SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 24h después de la herida. Las células SKOV3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 24h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 24h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

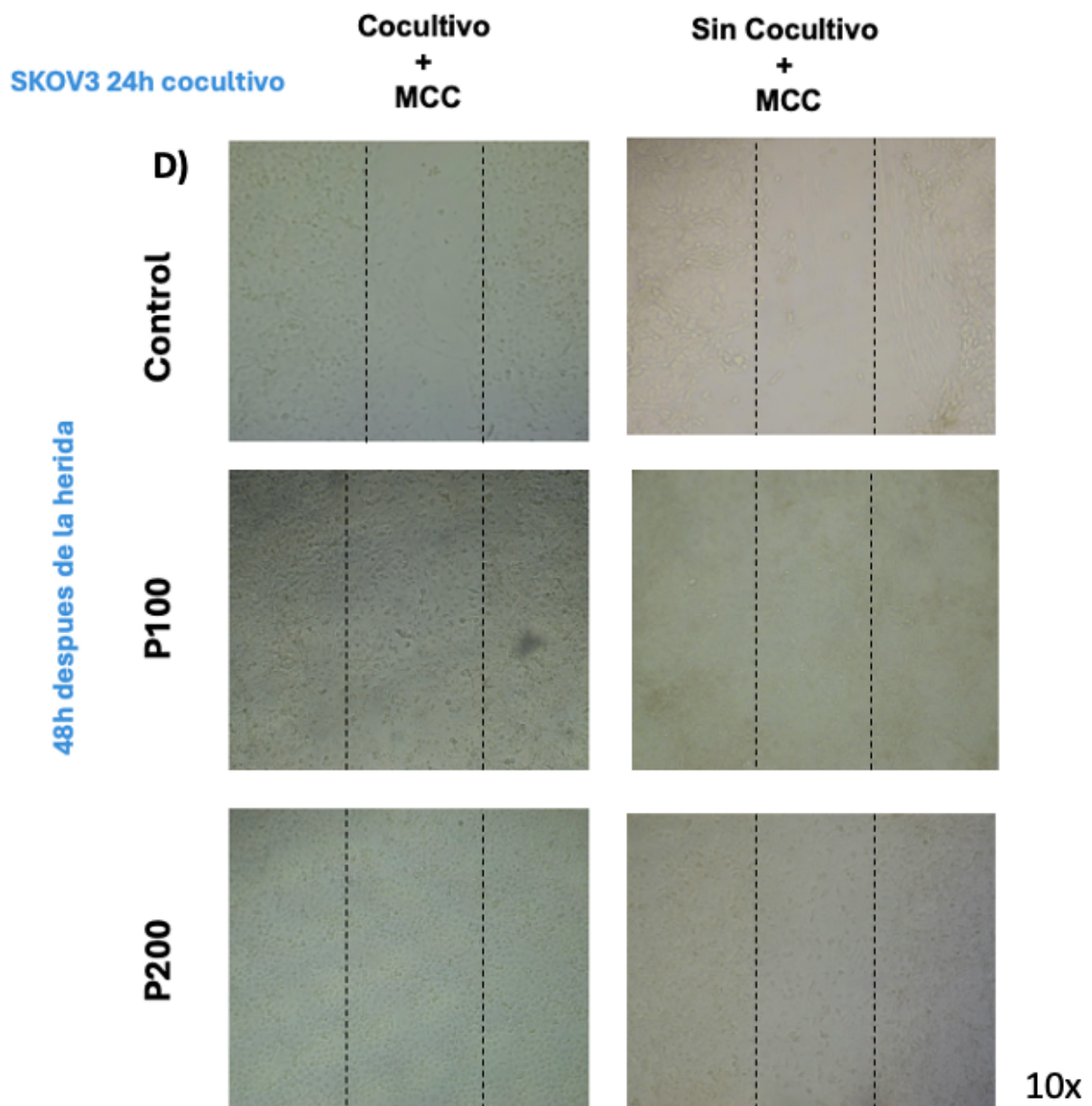


Figura 12. Ensayo de cierre de herida en células SKOV3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 48h después de la herida. Las células SKOV3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 24 h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 48h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

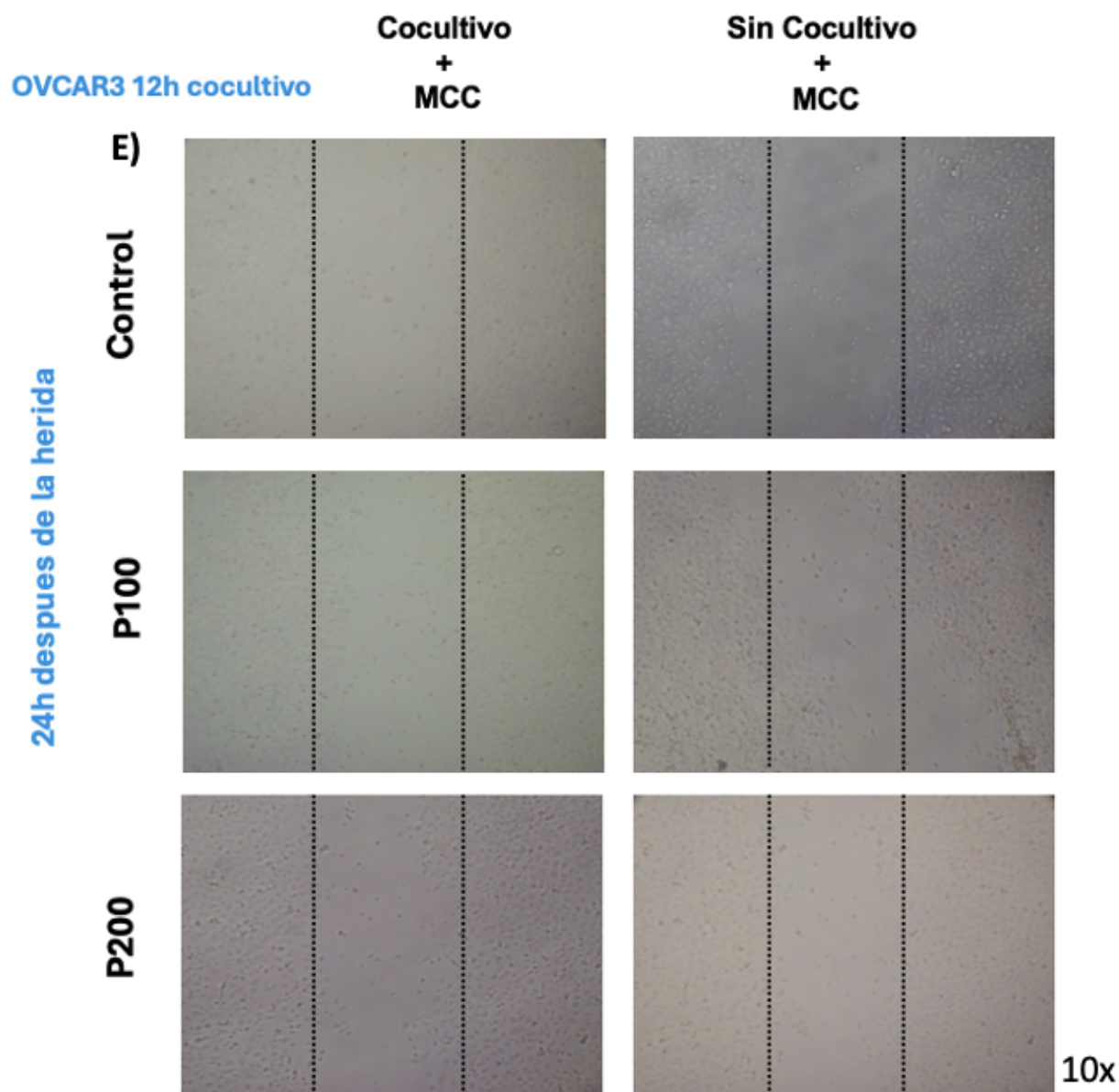


Figura 13. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 24h después de la herida. Las células OVCAR3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 12h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 24h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

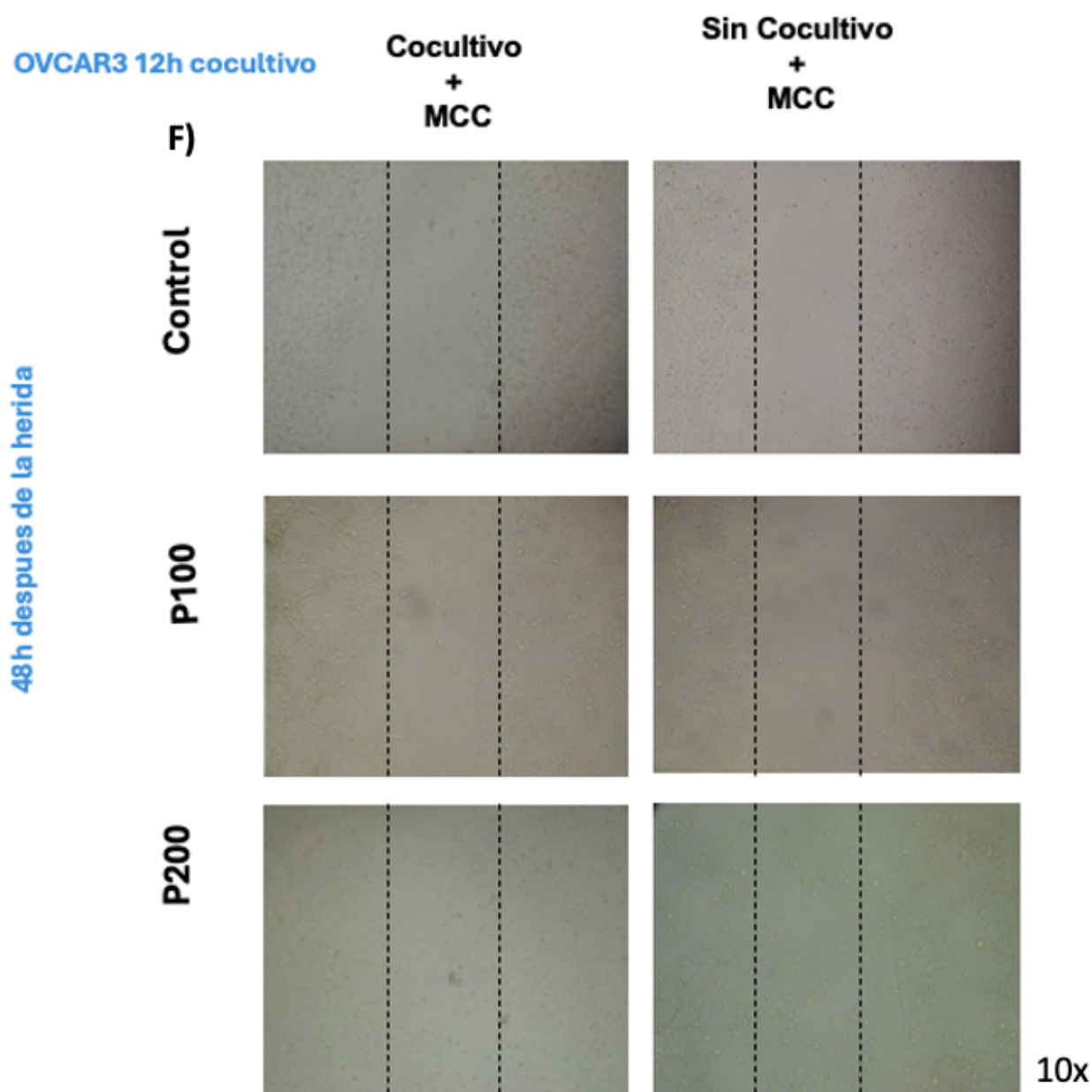


Figura 14. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 12h de cocultivo y 48h después de la herida. Las células OVCAR3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 12h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 48h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

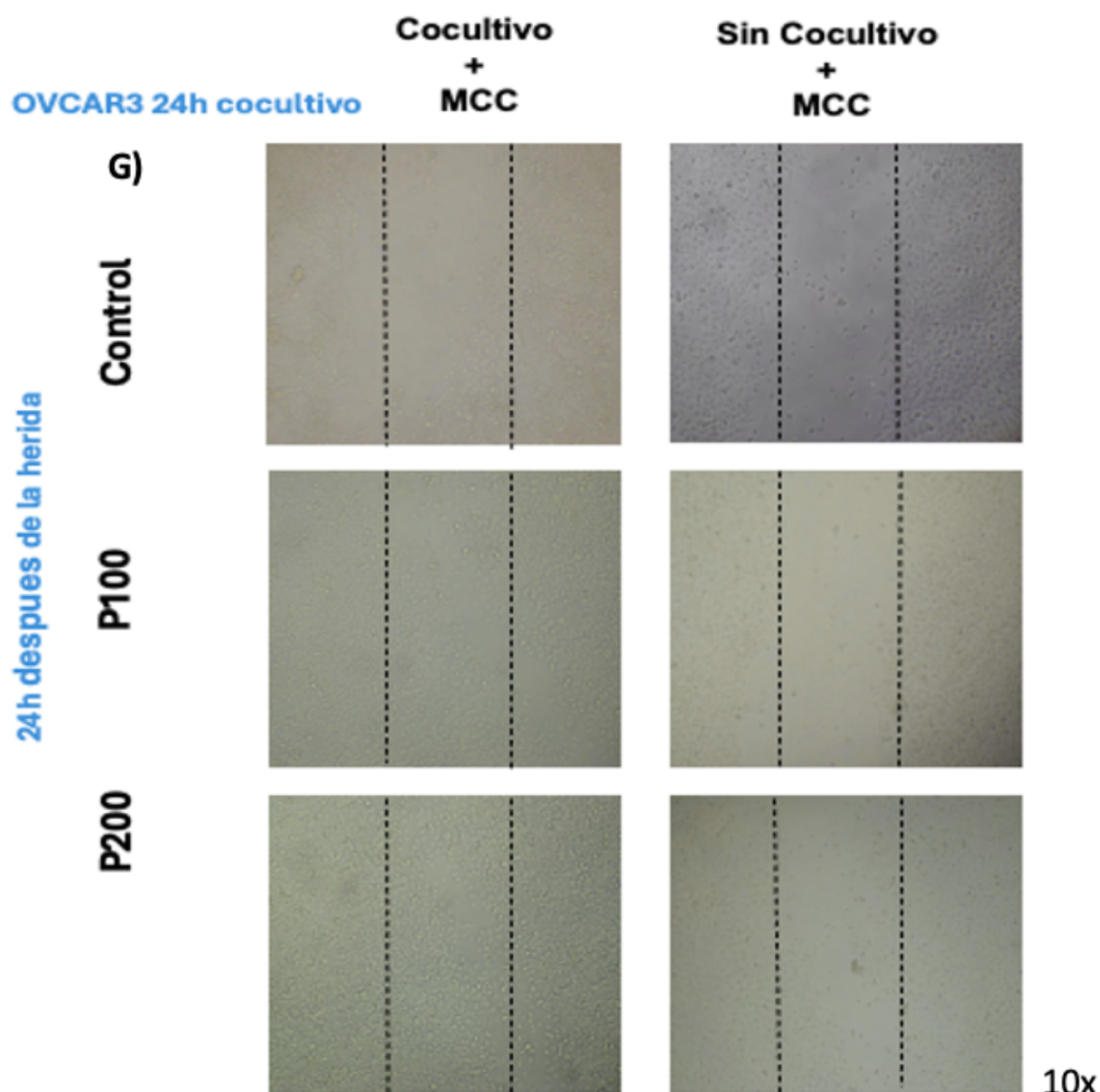


Figura 15. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 24h después de la herida. Las células OVCAR3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 24 h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 24h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

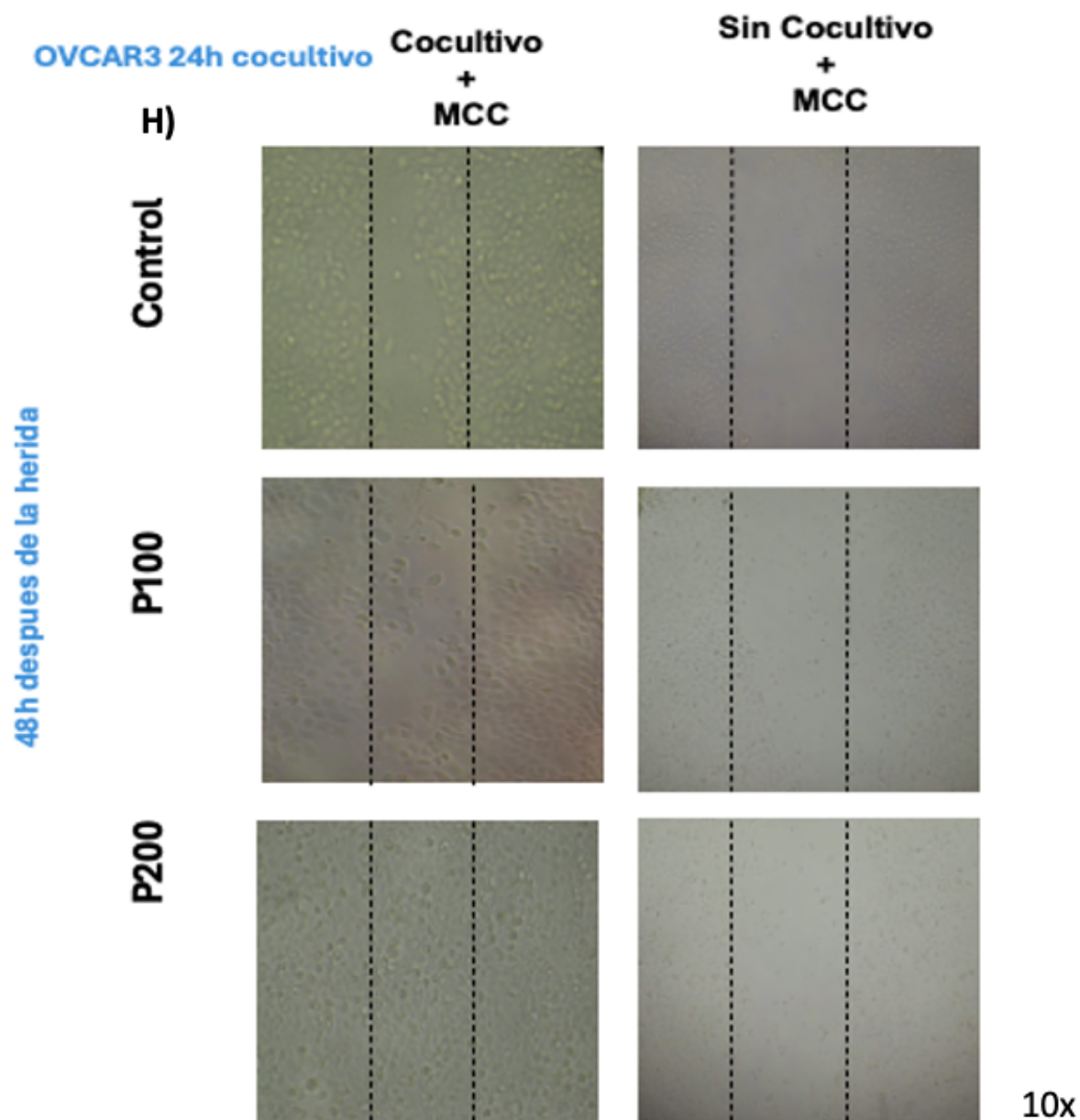


Figura 16. Ensayo de cierre de herida en células OVCAR3 en respuesta al medio condicionado y plaquetas 24h de cocultivo y 48h después de la herida. Las células OVCAR3 fueron sometidas a un ensayo de migración celular tras 24 h de cocultivo previo con plaquetas. Posteriormente, las células fueron incubadas con medio condicionado (MCC) proveniente de cocultivo con plaquetas (Cocultivo + MCC) o MCC obtenido en ausencia de cocultivo (Sin cocultivo + MCC). Como control negativo se utilizó medio RPMI sin suero fetal bovino (SFB). Se evaluaron tres condiciones experimentales: control (sin plaquetas), P100 (100 plaquetas por célula) y P200 (200 plaquetas por célula). Las imágenes representativas muestran el área de la herida a 48h del ensayo. Las líneas punteadas indican los bordes iniciales de la herida.

10.2 Evaluación de los cambios en la expresión génica relativa inducidos por plaquetas mediante RT-qPCR.

Para analizar los cambios en la expresión de genes asociados a proliferación, migración y transición epitelio-mesénquima, se evaluó el efecto del cocultivo con plaquetas en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 mediante RT-qPCR.

A partir del ARN total obtenido de células cocultivadas con plaquetas en proporciones de 1:100 y 1:200 durante 12 y 24 horas, se sintetizó cDNA y se analizó la expresión relativa de los genes *KI67*, *PCNA*, *MMP2*, *MMP9*, *E-cadherina* y *N-cadherina*, utilizando *GAPDH* como gen constitutivo (Figura 17).

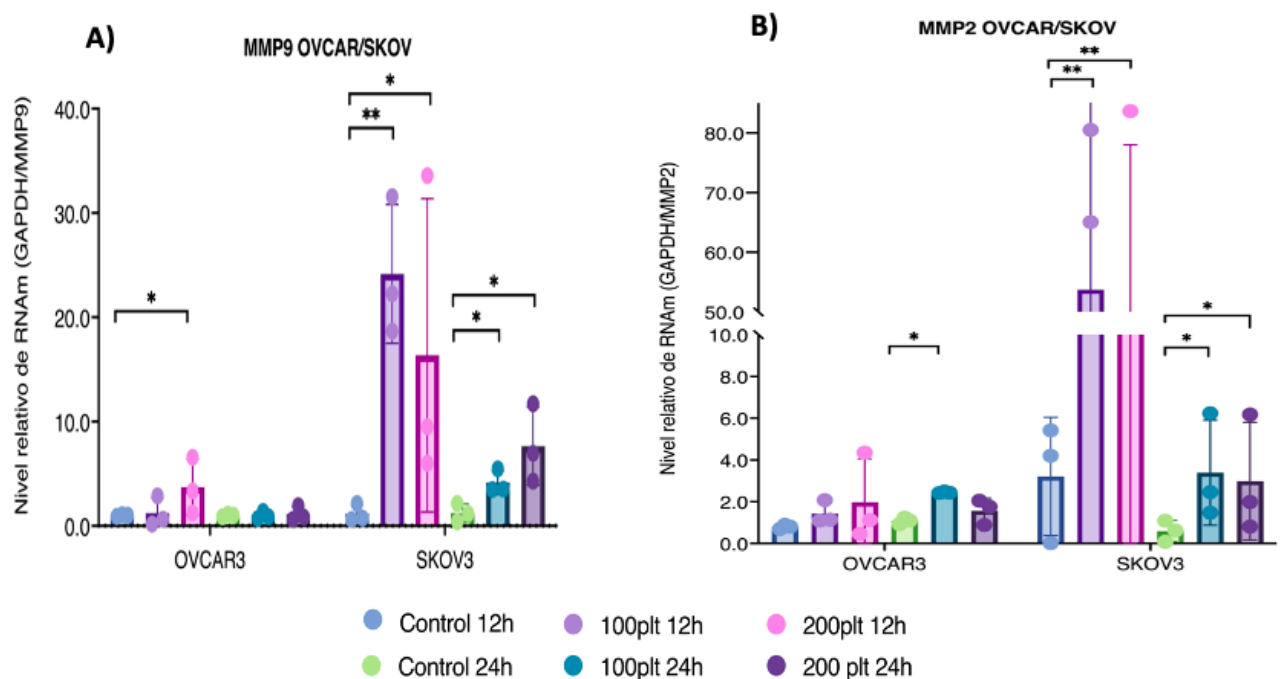
. En la línea OVCAR3, se observó un aumento significativo en la expresión de *KI67* en la condición de co-cultivo con 100 plaquetas a las 24 horas, mientras que las demás condiciones no mostraron diferencias notables respecto al control. La expresión de *PCNA* presentó un patrón similar, con un incremento significativo en la condición de 100 plaquetas a las 24 horas, lo que sugiere una activación temprana de genes asociados a proliferación celular bajo interacción plaqueta-tumor.

En contraste, los genes relacionados con la degradación de la matriz extracelular mostraron un comportamiento distinto. *MMP2* presentó un incremento notable en SKOV3, principalmente en la condición de 200 plaquetas a 24 horas, mostrando una regulación positiva dependiente de la concentración y el tiempo de exposición a plaquetas. De igual forma, *MMP9* se encontró significativamente sobreexpresado en SKOV3 en las condiciones de 100 y 200 plaquetas, con un aumento pronunciado a las 24 horas, alcanzando niveles de hasta 30 veces respecto al control, mientras que en OVCAR3 el incremento fue más moderado pero también estadísticamente significativo.

Respecto a los genes asociados a adhesión celular y transición epitelio-mesénquima, se observó que *N-cadherina* mostró un aumento considerable en OVCAR3, particularmente en la condición de 200 plaquetas a 12 y 24 horas, mientras que en SKOV3 la inducción fue más discreta y sin alcanzar los niveles observados en OVCAR3. En contraste, *E-cadherina* mantuvo una expresión estable en la mayoría de las condiciones, sin evidenciar una disminución marcada después del co-cultivo con plaquetas. No obstante, en SKOV3 se observó una ligera tendencia al incremento en la condición de 100 plaquetas a 24 horas.

En conjunto, estos resultados sugieren que la interacción con plaquetas induce una regulación diferencial en la expresión génica, promoviendo la activación de genes asociados a proliferación (*KI67*, *PCNA*) y degradación de matriz extracelular (*MMP2*, *MMP9*), particularmente en la línea SKOV3 tras 24 horas de co-cultivo, lo que indica un potencial efecto pro-migratorio y pro-invasivo derivado de la exposición a plaquetas.

Asimismo, los cambios observados en *N-cadherina* y *E-cadherina* indican que, si bien puede existir una modulación parcial de genes vinculados a adhesión celular, no se observa una transición epitelio-mesénquima completa inducida por plaquetas bajo las condiciones evaluadas.



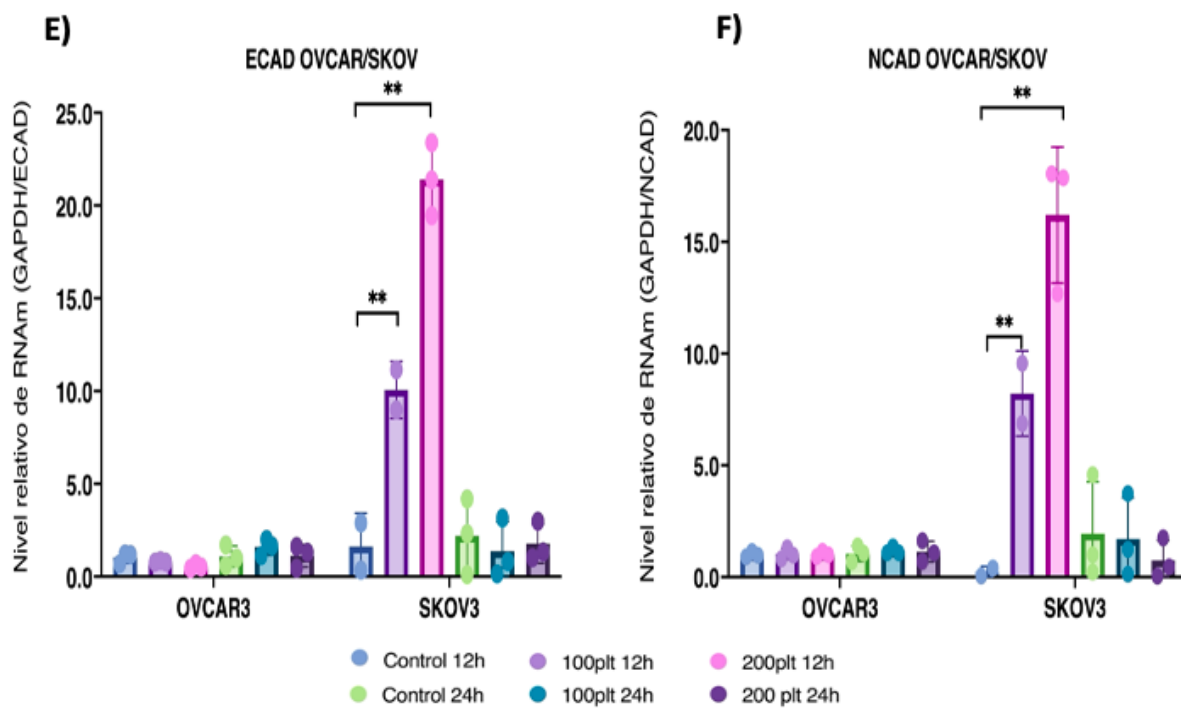
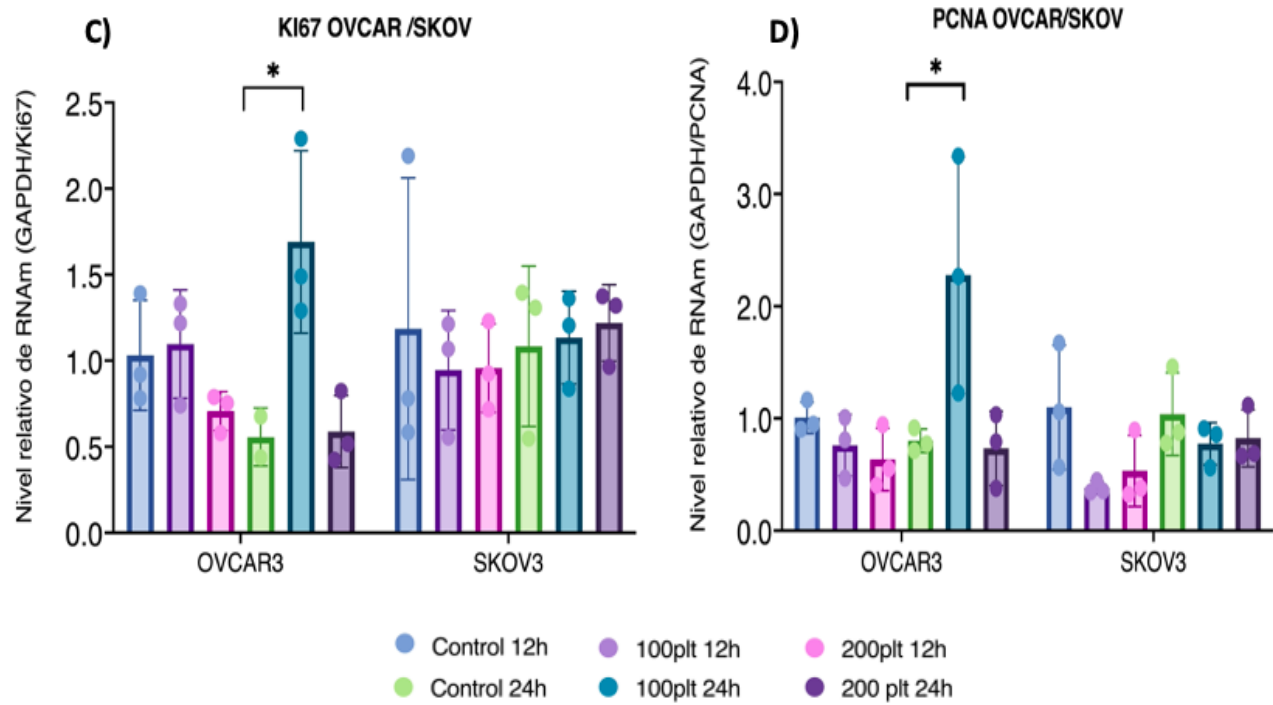


Figura 17. Análisis relativo de la expresión de genes asociados a proliferación, adhesión celular y degradación de matriz extracelular en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 tras cocultivo con plaquetas. Se evaluó la expresión de (A) *MMP9*, (B) *MMP2*, (C) *KI67*, (D) *PCNA*, (E) *NCAD* (*N-cadherina*) y (F) *ECAD* (*E-cadherina*). Las células fueron co-cultivadas con plaquetas en proporciones 1:100 y 1:200 durante 12 y 24 horas. Los niveles relativos de ARNm se determinaron mediante RT-qPCR y se normalizaron con el gen constitutivo *GAPDH* utilizando el método $\Delta\Delta Ct$. Los valores representan la media $\pm$ desviación estándar de réplicas biológicas independientes. La distribución de los datos se evaluó mediante la prueba Kolmogorov–Smirnov, y al no presentar una distribución paramétrica, las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba Kruskal–Wallis. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas entre condiciones experimentales ($p < 0.05$; $p < 0.01$). En conjunto, estos resultados indican que el co-cultivo con plaquetas modula la expresión de genes relacionados con proliferación celular, adhesión y remodelación de la matriz extracelular en ambas líneas celulares.

10.3 Evaluación del potencial proliferativo mediante el ensayo de clonogenicidad.

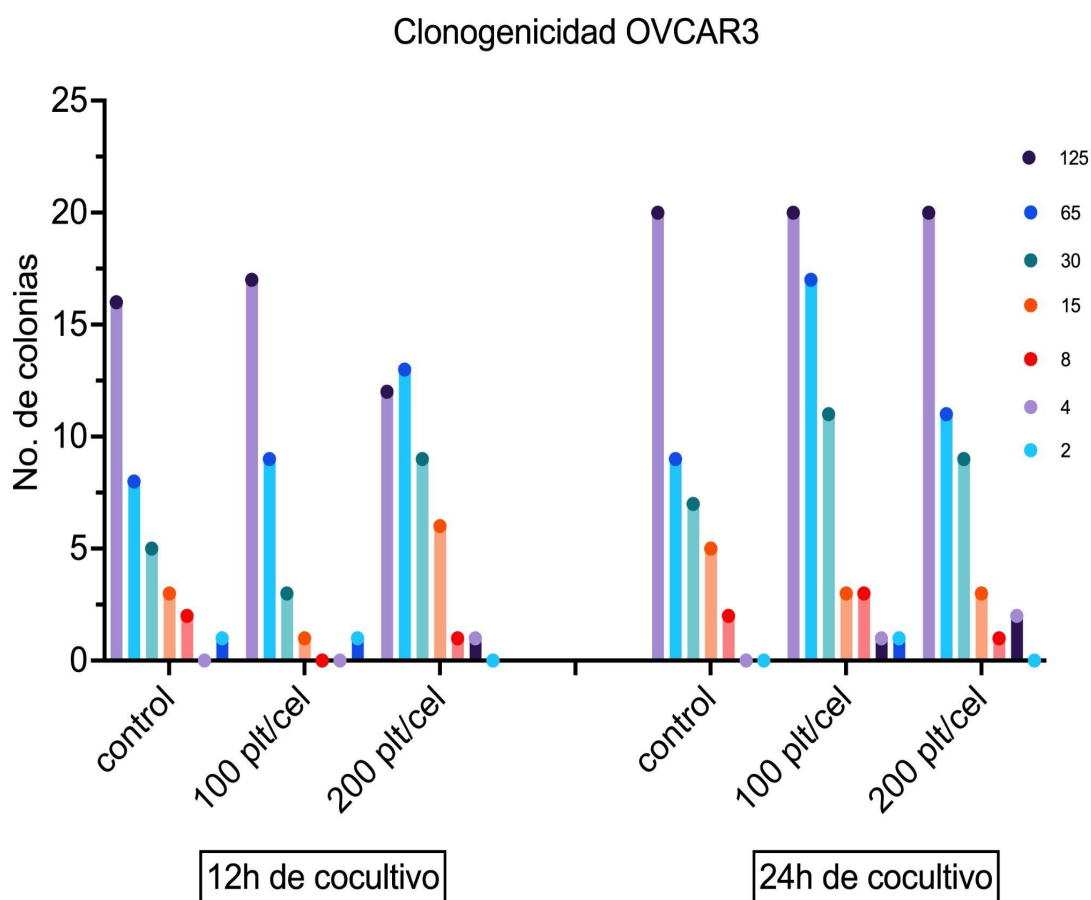
Con el objetivo de evaluar el potencial proliferativo, se realizó un ensayo de clonogenicidad en las células de las líneas SKOV3 y OVCAR3 cocultivadas con plaquetas en proporciones 1:100 y 1:200 durante 12 y 24 horas.”

En la línea SKOV3, se observó un incremento evidente en el número y tamaño de las colonias formadas en las condiciones de cocultivo con plaquetas, particularmente en la relación 1:200 tras 24 horas de exposición. Este aumento refleja una mayor capacidad proliferativa y supervivencia reproductiva de las células, incluso cuando la siembra final correspondía a únicamente dos células por pozo. Dichas células fueron capaces de dividirse repetidamente hasta generar colonias bien definidas, evidenciando una alta eficiencia de formación clonal bajo la influencia de plaquetas. La condición de 12 horas mostró un comportamiento similar, aunque con menor intensidad, manteniendo la tendencia hacia una estimulación proliferativa dependiente del número de plaquetas.

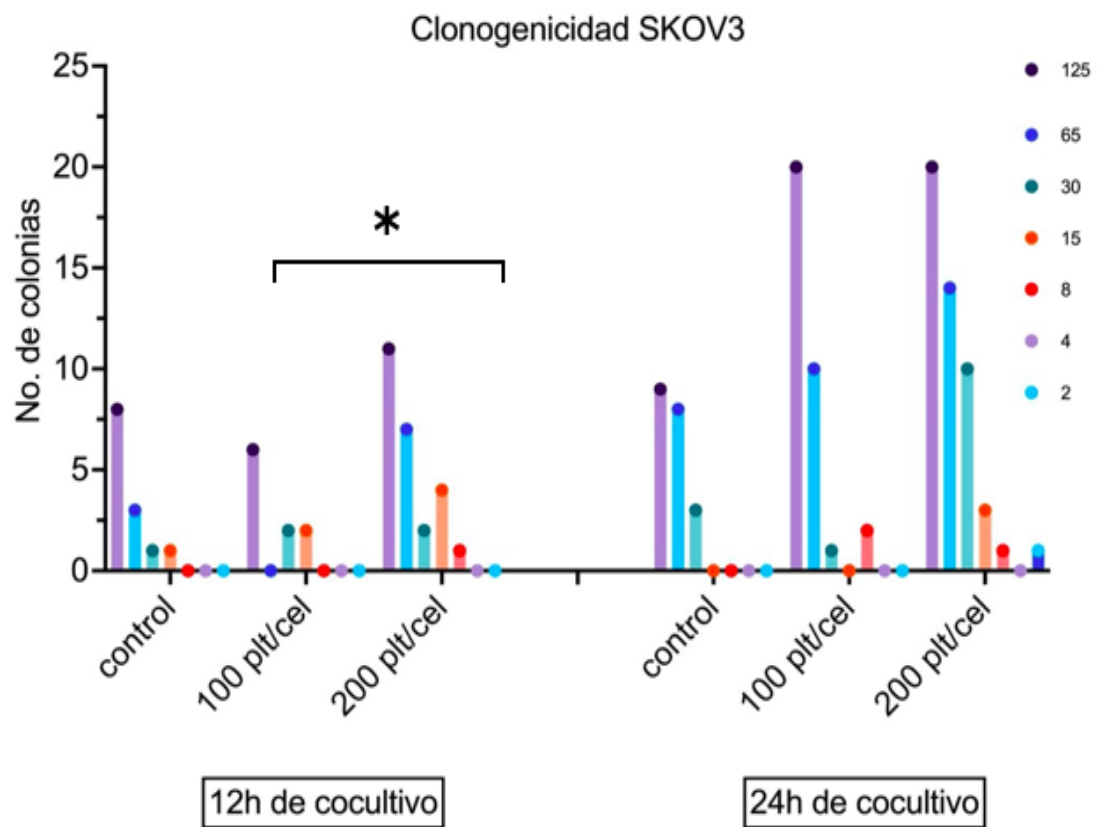
En contraste, la línea OVCAR3 presentó un patrón diferente. A las 12 horas, la condición de 100 plaquetas favoreció ligeramente la formación de colonias respecto al control, demostrando que aun a baja densidad, una célula individual conservó la capacidad de reiniciar su crecimiento y generar una colonia visible. Sin embargo, la exposición prolongada (24 horas) y la mayor proporción de plaquetas (1:200) redujeron notablemente el número de colonias, sugiriendo un posible efecto inhibitorio dependiente del tiempo.

Los resultados fueron cuantificados mediante análisis digital para su representación gráfica

y posteriormente evaluados mediante ELDA. En conjunto, las células OVCAR3 y SKOV3 conservaron su capacidad de formar colonias tras el cocultivo con plaquetas. Sin embargo, el análisis estadístico mostró que la frecuencia clonogénica no se modificó significativamente en OVCAR3 a 12 h ni a 24 h. En SKOV3, se observó una diferencia significativa global entre los grupos a 12 h, mientras que a 24 h no se detectaron diferencias significativas. Estos resultados sugieren que el efecto de las plaquetas sobre la capacidad clonogénica es dependiente de la línea celular y del tiempo de cocultivo (Figura 18).



OVCAR3	Prueba global para evaluar diferencias en la frecuencia clonogénica entre los grupos		
COCULTIVO	Chisq	DF	P.value
12 horas	4.38	2	0.112
24 horas	0.3	2	0.861



SKOV3	Prueba global para evaluar diferencias en la frecuencia clonogénica entre los grupos		
COCULTIVO	Chisq	DF	P.value
12 horas	6.68	2	0.0355
24 horas	4.37	2	0.112

Figura 18. Ensayo de clonogenicidad en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 después del cocultivo con plaquetas. Las células fueron cocultivadas con plaquetas durante 12 h o 24 h en proporciones 1:100 y 1:200 (plaquetas:célula). Posteriormente, las células fueron sembradas a baja densidad (125, 65, 30, 15, 8, 4 y 2 células por pozo) y cultivadas durante 15 días para permitir la formación de colonias. Los gráficos muestran el número de colonias formadas en función del número de células sembradas bajo las diferentes condiciones experimentales (control, 100 plt/cel y 200 plt/cel). Se observa que ambas líneas celulares mantienen capacidad clonogénica incluso a partir de bajas densidades celulares, siendo este efecto más evidente en OVCAR3 tras 24 h de cocultivo con 200 plaquetas por célula, donde se detecta un aumento en el número de colonias formadas. En contraste, SKOV3 mostró una capacidad clonogénica más variable, dependiente del tiempo de cocultivo y del número de plaquetas. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas entre condiciones experimentales ($p < 0.05$; $p < 0.01$).

10.4 Evaluación de la degradación de la matriz extracelular mediante el ensayo de gelatina-FITC.

Para evaluar la degradación de la matriz extracelular, se realizó un ensayo de gelatina-FITC en las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 tras su exposición a plaquetas en proporciones de 1:100 y 1:200 (célula:plaqueta) durante 12 y 24 horas.

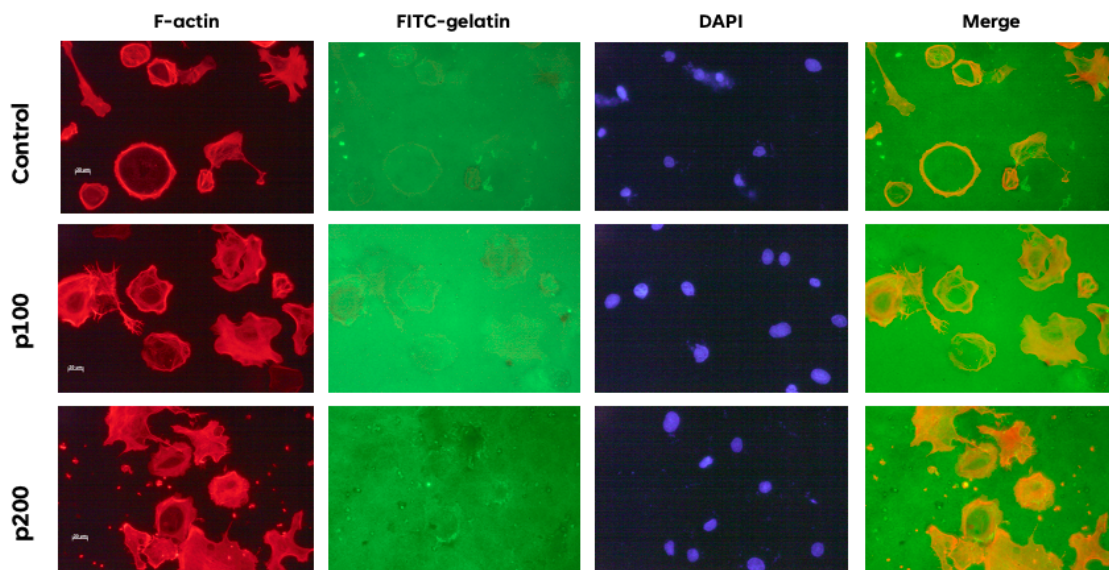
En la línea OVCAR3, a las 12 h (Figura 20) las células control mostraron una morfología regular con anillos corticales de actina bien definidos y mínima pérdida de fluorescencia en la matriz, indicando escasa actividad proteolítica. En contraste, las células co-cultivadas con plaquetas, particularmente en la condición 1:200, exhibieron una expansión del citoesqueleto de actina y regiones oscuras dentro del sustrato de gelatina, compatibles con focos de degradación local. A las 24 h (Figura 20) esta tendencia se intensificó, observándose una mayor reorganización del F-actina y aumento en las áreas degradadas, lo que sugiere un efecto acumulativo del estímulo plaquetario sobre la capacidad invasiva de OVCAR3.

En la línea SKOV3, las imágenes a 12 h (Figura 19) revelaron estructuras celulares amplias con bordes ricos en filamentos de actina, pero la degradación de la matriz fue discreta en comparación con OVCAR3. Sin embargo, tras 24 h de exposición (Figura 19), las células en la condición 1:200 mostraron un incremento evidente en la pérdida de fluorescencia del FITC-gelatina, junto con un patrón de actina reorganizado en proyecciones y lamelipodios, característico de una mayor capacidad de invasión.

Estos resultados en conjunto indican que el co-cultivo con plaquetas promueve la remodelación del citoesqueleto de actina y la degradación de componentes de matriz extracelular en ambas líneas, efecto más pronunciado en OVCAR3 y bajo la condición de

mayor proporción plaquetaria (1:200), lo que sugiere una potenciación de los mecanismos invasivos mediados por plaquetas.

SKOV 12h



SKOV 24h

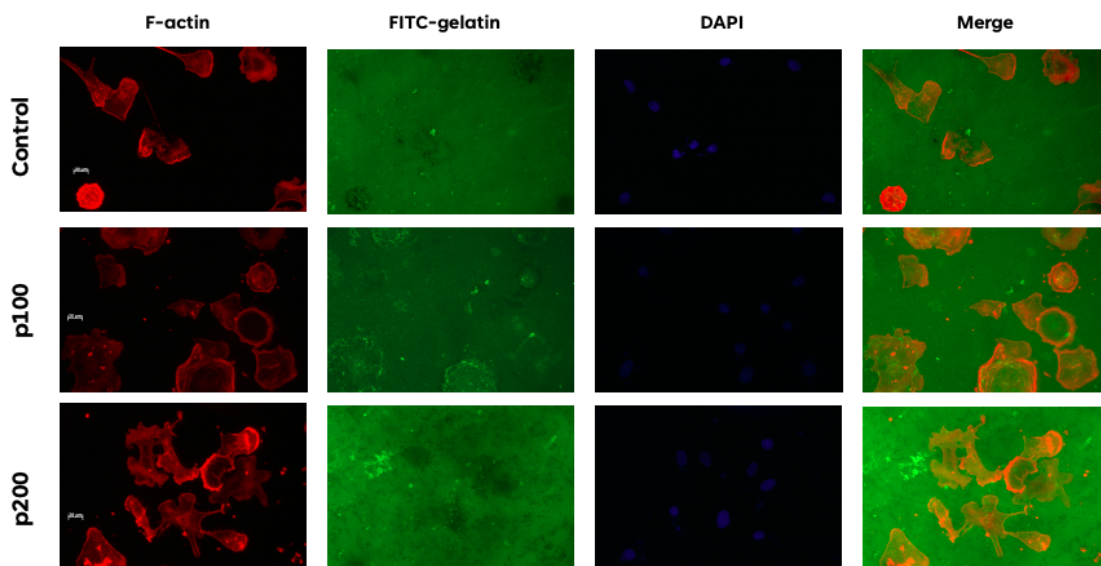
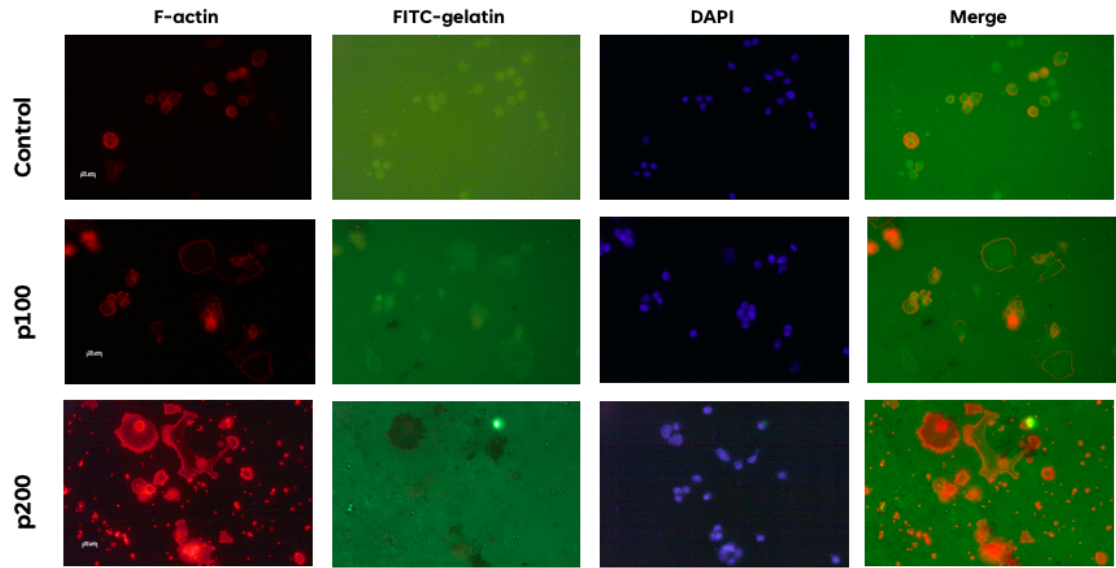


Figura 19. Ensayo de degradación de gelatina-FITC en células SKOV3 tras cocultivo con plaquetas durante 12 y 24 h. Las microfotografías muestran la distribución de F-actina marcada con faloidina-Alexa Fluor (rojiza), la matriz de gelatina marcada con FITC (verde) y los núcleos teñidos con DAPI (azul). En la condición control (fila superior) se observan células con anillos corticales de actina bien definidos y mínima pérdida de fluorescencia en la matriz, indicando baja actividad proteolítica. En las condiciones tratadas con plaquetas (p100 y p200) se aprecia una reorganización del citoesqueleto caracterizada por la pérdida de la actina cortical y la formación de lamelipodios y filopodios. Además, se detectan áreas oscuras en la gelatina fluorescente compatibles con degradación de matriz. Este patrón se intensifica a 24 h, sugiriendo un incremento progresivo de la actividad proteolítica y del potencial invasivo inducido por plaquetas en las células SKOV3. La barra de escala corresponde a 20 µm.

Ovcar3 12h



Ovcar3 24h

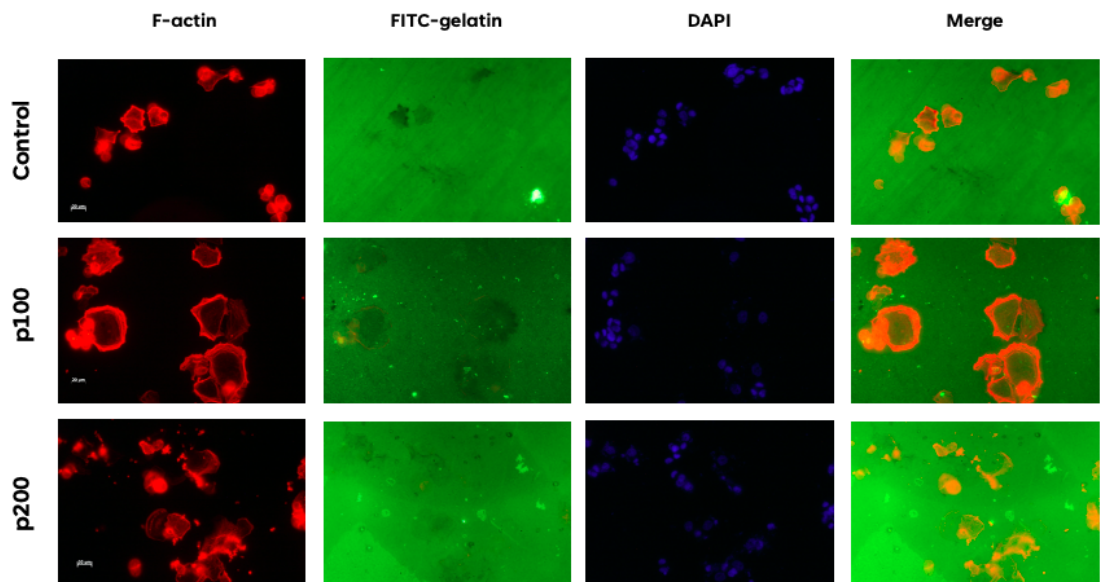


Figura 20. Ensayo de degradación de gelatina-FITC en células OVCAR3 tras cocultivo con plaquetas durante 12 y 24 h. Las microfotografías muestran la distribución de F-actina marcada con faloidina-Alexa Fluor (rojiza), la matriz de gelatina marcada con FITC (verde) y los núcleos teñidos con DAPI (azul). En la condición control (fila superior) se observan células con morfología epitelioide y anillos corticales de actina bien definidos, asociados a una baja degradación de la matriz. En las condiciones tratadas con plaquetas (p100 y p200) se evidencia una reorganización del citoesqueleto con pérdida del anillo cortical, formación de estructuras lamelipodiales y aumento de regiones oscuras en la matriz fluorescente, compatibles con actividad proteolítica. Este efecto es más notorio a las 24 h, lo que sugiere una respuesta dependiente del tiempo y de la concentración plaquetaria, asociada al incremento del potencial invasivo de las células OVCAR3. La barra de escala corresponde a 20 μm.

11. Discusión.

Las plaquetas, tradicionalmente reconocidas por su papel en la hemostasia y reparación vascular, han cobrado relevancia en los últimos años como mediadoras activas en la progresión del cáncer, demostrado su participación en múltiples etapas del desarrollo tumoral, desde la proliferación celular hasta la invasión y metástasis (Haemmerle *et al*, 2020).

La evaluación del efecto del cocultivo de plaquetas humanas con las líneas celulares SKOV3 y OVCAR3 de cáncer de ovario nos permitió evaluar los cambios en la expresión génica y el comportamiento funcional asociados con la TEM, la proliferación y la capacidad migratoria e invasiva en las líneas celulares.

En la evaluación de RT-qPCR se mostró una disminución en la expresión de *E-cadherina*, acompañada de un incremento en *N-cadherina*, lo cual indica la inducción de un proceso de TEM. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado por Plantureux *et al.* en 2020, quienes observaron que la exposición de células tumorales a plaquetas promueve la pérdida de un fenotipo epitelial y la adquisición de características mesenquimales.

El aumento en la expresión de *MMP2* y *MMP9* observado en las células cocultivadas refuerza la idea de que las plaquetas inducen la activación de genes asociados con la degradación de la matriz extracelular, favoreciendo la diseminación tumoral. Lo cual puede deberse a que las plaquetas liberan metaloproteinasas y factores de crecimiento que modulan el microambiente tumoral y facilitan la invasión celular (Wang *et al*, 2021). La correlación entre la sobreexpresión de estas metaloproteinasas y la actividad de degradación de gelatina en el presente trabajo confirma el efecto de las plaquetas sobre la capacidad proteolítica de las células tumorales.

Este fenómeno ha sido ampliamente descrito en distintos tipos de cáncer, como el cáncer de mama y gástrico, donde las plaquetas promueven la expresión de metaloproteinasas y la remodelación de la matriz extracelular, contribuyendo a la progresión tumoral (Haemmerle *et al.*, 2020).

En este sentido, la correlación entre la sobreexpresión de estas metaloproteinasas y la actividad de degradación de gelatina observada en el presente trabajo respalda el efecto de las plaquetas sobre la capacidad proteolítica de las células tumorales.

Por otra parte, la expresión aumentada de *Ki67* y *PCNA* sugiere que las plaquetas no solo inducen TEM, sino también estimulan la proliferación celular. Esto coincide con lo descrito por Labelle *et al*, 2021, quienes reportan que los mediadores plaquetarios, como PDGF y VEGF, activan la proliferación y la supervivencia de las células tumorales. En el contexto del cáncer de ovario, la proliferación incrementada en presencia de plaquetas podría estar relacionada con la liberación de micropartículas ricas en ARN y proteínas que promueven el crecimiento tumoral (Best *et al*, 2021).

Los ensayos funcionales apoyan los resultados moleculares. En el ensayo de cierre de herida, las células cocultivadas con plaquetas mostraron un aumento significativo en su migración, lo que sugiere que las plaquetas favorecen la motilidad celular. Este efecto ha sido previamente descrito en modelos de cáncer gástrico y mamario, donde las plaquetas facilitan la reorganización del citoesqueleto y la adhesión celular a través de la activación de integrinas (Qian *et al*, 2022). En el ensayo de degradación de gelatina, las células tratadas con plaquetas presentaron un incremento evidente en la capacidad de degradar la matriz extracelular, lo que respalda la sobreexpresión de metaloproteinasas detectada por RT-qPCR. Este resultado coincide con lo descrito por Plantureux *et al*, 2020, quienes demostraron que las plaquetas estimulan la secreción de *MMP2* y *MMP9* en células de cáncer de ovario, favoreciendo la degradación de componentes de la matriz extracelular y la invasión tumoral. De manera similar, Wang *et al*, 2021 reportaron que la exposición a factores derivados de plaquetas incrementa la actividad proteolítica y la capacidad invasiva en líneas celulares epiteliales, confirmando la función pro-metastásica de las metaloproteinasas en el microambiente tumoral.

Asimismo, en el ensayo de clonogenicidad, las células cocultivadas formaron colonias más numerosas y de mayor tamaño en comparación con las células control, lo cual indica una mejora en su capacidad proliferativa y de supervivencia. Este hallazgo es consistente con lo reportado por Sousa *et al*, 2023, quienes demostraron que los factores plaquetarios favorecen la autorrenovación y expansión clonal de células cancerosas.

La integración de los resultados sugiere que las plaquetas actúan como moduladores multifuncionales en el microambiente tumoral, promoviendo simultáneamente la migración, invasión y proliferación de las células de cáncer de ovario. Estos efectos pueden atribuirse a la liberación de factores solubles y micropartículas que modifican la expresión génica y la plasticidad celular (Best *et al*, 2021). En este sentido, el modelo de cocultivo utilizado permitió evidenciar la capacidad de las plaquetas para inducir un

fenotipo más agresivo en las líneas SKOV3 y OVCAR3, lo cual coincide con la hipótesis planteada al inicio de la investigación.

A pesar de que los resultados concuerdan con la mayoría de los reportes recientes, existen limitaciones que deben considerarse. En primer lugar, los cocultivos se realizaron bajo condiciones controladas *in vitro*, por lo que sería necesario validar estos hallazgos en modelos tridimensionales o *in vivo* para confirmar su relevancia fisiológica. Además, la caracterización del contenido plaquetario liberado durante la interacción con las células tumorales —incluyendo vesículas extracelulares, ARN y proteínas— podría proporcionar información más precisa sobre los mecanismos implicados en la reprogramación tumoral. Finalmente, la variabilidad individual en las muestras de plaquetas humanas representa un factor biológico importante que podría influir en la magnitud de los efectos observados.

En conjunto, los resultados obtenidos en esta investigación confirman que las plaquetas desempeñan un papel determinante en la progresión del cáncer de ovario. Al inducir la TEM, activar la expresión de metaloproteinasas y potenciar la proliferación celular, las plaquetas promueven un fenotipo tumoral más agresivo.(Figura 21).

Es importante considerar que las plaquetas utilizadas en este estudio fueron obtenidas de donadores sanos de ambos sexos y un rango de edades de entre 21- 55 años, lo cual podría representar una fuente de variabilidad biológica. Diversos estudios han demostrado que el sexo, el entorno hormonal y la edad pueden influir en la función plaquetaria, incluyendo su activación, reactividad y liberación de factores bioactivos, observándose diferencias significativas entre hombres y mujeres, así como un papel modulador de las hormonas sexuales en estos procesos (Ranucci *et al*; 2019; Raparelli *et al*; 2022). Sin embargo, los diversos estudios y análisis se realizaron repetidamente y en todos se observaron cambios en el fenotipo y expresión relativa.

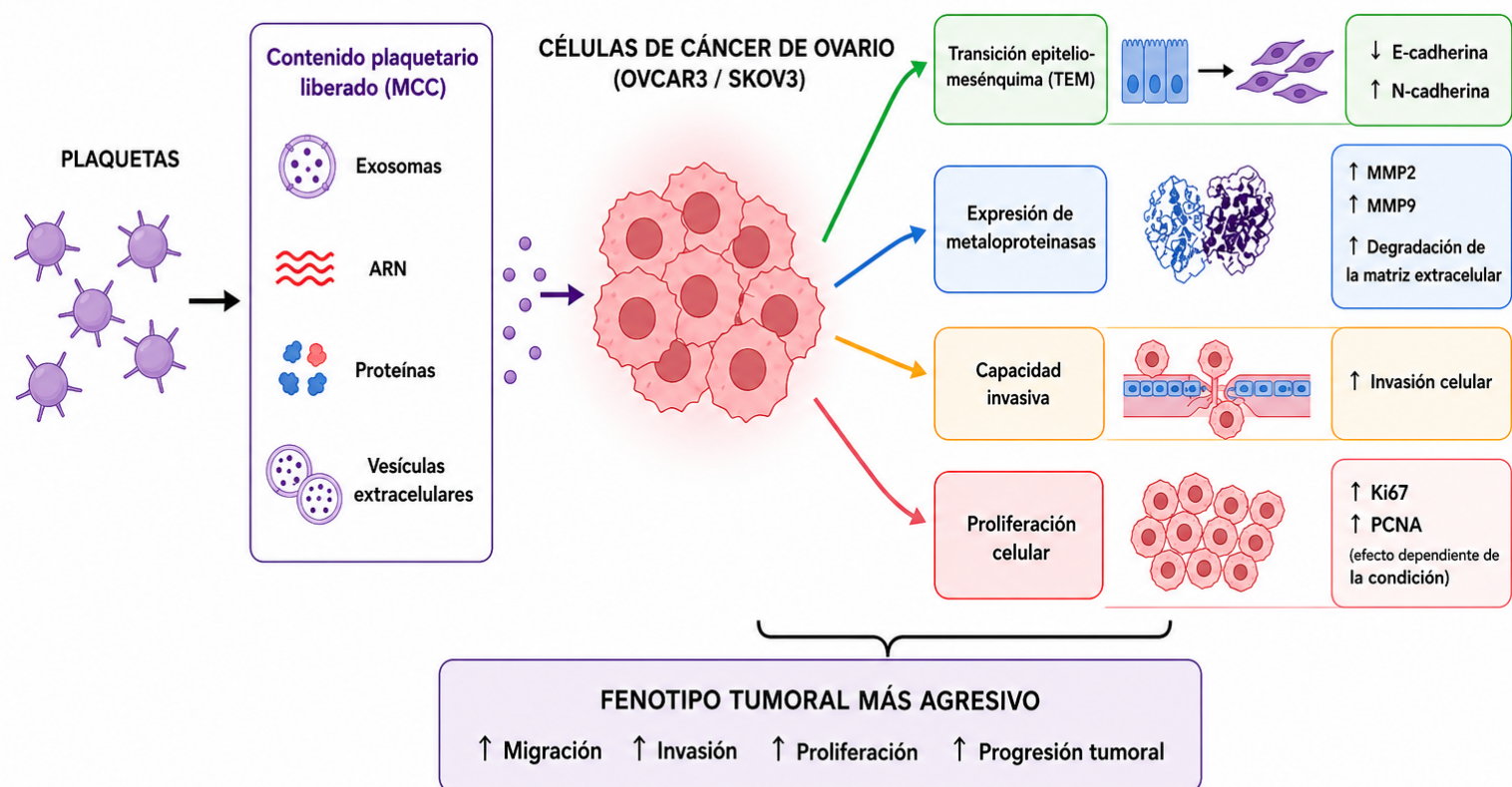


Figura 21. Modelo propuesto del efecto del cocultivo con plaquetas sobre células de cáncer de ovario. Las plaquetas liberan diversos componentes (exosomas, ARN, proteínas y vesículas extracelulares) que, al interactuar con las células de cáncer de ovario (OVCAR3 y SKOV3), inducen la transición epitelio-mesénquima, aumentan la expresión de metaloproteinasas (*MMP2* y *MMP9*), potencian la capacidad invasiva y modulan la proliferación celular. En conjunto, estos efectos favorecen la adquisición de un fenotipo tumoral más agresivo, caracterizado por el incremento en migración, invasión y progresión tumoral

12. Conclusiones.

Las células cocultivadas con plaquetas presentaron un aumento en la degradación de gelatina, de manera dependiente de la dosis plaquetaria y del tiempo de exposición.

El cocultivo con plaquetas incrementó la frecuencia clonogénica de las células SKOV3 a las 12 h, siendo más evidente en la condición de 200 plaquetas por célula.

El cocultivo con plaquetas incrementó la expresión de MMP2 y MMP9, particularmente en la línea celular SKOV3, sugiriendo una mayor capacidad de degradación de matriz extracelular, de manera dependiente de la dosis plaquetaria y del tiempo de exposición.

El cocultivo con plaquetas incrementó la expresión de los transcritos Ki67 y PCNA, en la condición de 100 plts con 24 h de cocultivo para la línea celular OVCAR3, lo que sugiere una mayor actividad proliferativa.

El cocultivo con plaquetas moduló la expresión de los transcritos E-cadherina y N-cadherina de manera dependiente de la línea celular, la dosis plaquetaria y el tiempo de exposición, sugiriendo cambios parciales asociados con transición epitelio-mesénquima para la línea SKOV3.

Las plaquetas provenientes de donadores sanos influyen en el fenotipo de las líneas celulares de cáncer de ovario SKOV3 y OVCAR3, favoreciendo la adquisición de características asociadas con un fenotipo más agresivo.

13. Perspectivas.

Este trabajo abre diversas líneas de investigación que pueden explorarse en estudios posteriores. Sería relevante profundizar en los mecanismos moleculares mediante los cuales las plaquetas modulan el fenotipo tumoral, incorporando análisis a nivel proteico y de actividad enzimática que permitan confirmar y ampliar los cambios observados a nivel génico. Asimismo, el uso de modelos tridimensionales o *in vivo* permitiría evaluar la relevancia fisiológica de estos hallazgos en un contexto más cercano al microambiente tumoral.

Por otra parte, resultaría de interés analizar el efecto del origen y estado funcional de las plaquetas, incluyendo su posible “educación tumoral” (TEPs), así como la influencia del sexo biológico y factores hormonales de los donadores. Este aspecto representa un campo emergente en la investigación oncológica, ya que se ha demostrado que las señales sistémicas que afectan a los megacariocitos pueden modificar el contenido molecular y la función plaquetaria, impactando su capacidad de modular la progresión tumoral.

13. Referencias.

1. Arvelo, F. (2013). Micrometastasis: Estrategias para su detección. *Investigación Clínica*, 54, 206–225. Disponible en: ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0535-51332013000200009
2. Arvelo, F. y Sojo, F. (2023). Transición epitelio-mesénquima y cáncer. *Investigación Clínica*, 64(3), 379–404. <https://doi.org/10.54817/ic.v64n3a10>
3. Avital, A., Dolev, T., Aga-Mizrachi, S. y Zubedat, S. (2011). Environmental enrichment preceding early adulthood methylphenidate treatment leads to long term increase of corticosterone and testosterone in the rat. *PLoS ONE*, 6(7), e22059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022059>
4. Barretina, J., Caponigro, G., Stransky, N., Venkatesan, K., Margolin, A.A., Kim, S. et al. (2012). The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*, 483(7391), 603–607. <https://doi.org/10.1038/nature11003>
5. Baulida, J., Díaz, V.M. y De Herreros, A.G. (2019). Snail1: A transcriptional factor controlled at multiple levels. *JouARNI of Clinical Medicine*, 8, 757.
6. Będkowska, G.E., Gacuta, E., Zbucka-Krętowska, M. et al. (2021). Plasma levels and diagnostic utility of VEGF in a three-year follow-up of patients with breast cancer. *JouARNI of Clinical Medicine*, 10(22), 5452. <https://doi.org/10.3390/jcm10225452>
7. Behrens, J., Vakaet, L., Friis, R., Winterhager, E., Van Roy, F., Mareel, M.M. y Birchmeier, W. (1993). Loss of epithelial differentiation and gain of invasiveness correlates with tyrosine phosphorylation of the E-cadherin/beta-catenin complex in cells transformed with a temperature-sensitive v-SRC gene. *JouARNI of Cell*

8. Ben-David, U., Siranosian, B., Ha, G., Tang, H., Oren, Y., Hinohara, K. et al. (2018). Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response. *Nature*, 560(7718), 325–330. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0409-3>
9. Berek, J.S., Friedlander, M. y Hacker, N.F. (2020). Cáncer epitelial de ovario, trompa de Falopio y peritoneal. En: Berek, J.S. y Hacker, N.F. (eds.) *Oncología ginecológica de Berek y Hacker* (7ª ed.). Wolters Kluwer.
10. Berek, J.S., Friedlander, M. y Hacker, N.F. (2020). Epithelial ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancer. In: Berek, J.S. y Hacker, N.F. (eds.) *Berek and Hacker's Gynecologic Oncology* (7th ed.). Wolters Kluwer Health.
11. Berek, J.S., Renz, M., Kehoe, S., Kumar, L. y Friedlander, M. (2021). Cáncer de ovario, trompa de Falopio y peritoneo: actualización de 2021. *InteARNtional JouARNl of Gynecology & Obstetrics*, 155(Suppl 1), 61–85. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13878>
12. Best, M.G., Sol, N., Kooi, I., Tannous, J., Westerman, B.A., Rustenburg, F., Schellen, P., Verschueren, H., Post, E., Koster, J., et al. (2015). RNA-Seq of tumor-educated platelets enables blood-based pan-cancer, multiclass, and molecular pathway cancer diagnostics. *Cancer Cell* 28, 666–676.
13. Bhavsar, D., Raguraman, R., Kim, D., Ren, X., Munshi, A., Moore, K., Sikavitsas, V. y Ramesh, R. (2024). Exosomes in diagnostic and therapeutic applications of ovarian cancer. *JouARNl of Ovarian Research*, 17, 113. <https://doi.org/10.1186/s13048-024-01417-0>
14. Blechschmidt, K., Sassen, S., Schmalfeldt, B., Schuster, T., Höfler, H. y Becker, K-F. (2008). The E-cadherin repressor Snail is associated with lower overall survival of ovarian cancer patients. *British JouARNl of Cancer*, 98, 489–495. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604115>
15. Bottsford-Miller, J., Choi, H.J., Dalton, H.J., Stone, R.L., Cho, M.S., Haemmerle, M. et al. (2015). Differential platelet levels affect response to taxane-based therapy

- in ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*, 21, 602–610.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0870>
16. Bradbury, A., O'Donnell, R., Drew, Y., Curtin, N.J. y Sharma Saha, S. (2020). Characterisation of ovarian cancer cell line NIH-OVCAR3 and implications of genomic, transcriptomic, proteomic and functional DNA damage response biomarkers for therapeutic targeting. *Cancers*, 12(7), 1939.
<https://doi.org/10.3390/cancers12071939>
 17. Brandl, M., Seidler, B., Haller, F., Adamski, J., Schmid, R.M., Saur, D. y Schneider, G. (2010). IKK α controls canonical TGF β –SMAD signaling to regulate genes expressing SNAIL and SLUG during EMT in Panc1 cells. *Journal of Cell Science*, 123, 4231–4239.
 18. Bregenzner, M.E., Horst, E.N., Mehta, P., Novak, C.M., Repetto, T. y Mehta, G. (2019). The role of cancer stem cells and mechanical forces in ovarian cancer metastasis. *Cancers*, 11(7), 1008. <https://doi.org/10.3390/cancers11071008>
 19. Cabral-Pacheco, G.A., Garza-Veloz, I., Castruita-de la Rosa, C. et al. (2020). The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 9739.
<https://doi.org/10.3390/ijms21249739>
 20. Cao, Z.Q., Wang, Z. y Leng, P. (2019). Aberrant N-cadherin expression in cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109320.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109320>
 21. Chaffer, C.L., San Juan, B.P., Lim, E. y Weinberg, R.A. (2016). EMT, cell plasticity and metastasis. *Cancer Metastasis Reviews*, 35(4), 645–654.
<https://doi.org/10.1007/s10555-016-9648-7>
 22. Chen, L., He, X., Li, J., Qin, Y., Yang, T. y Lin, S. (2023). Platelets in the tumor microenvironment and their biological effects. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1121529.

23. Chen, M., Yao, S., Cao, Q., Xia, M., Liu, J. y He, M. (2016). The prognostic value of Ki67 in ovarian high-grade serous carcinoma: an 11-year cohort study of Chinese patients. *Oncotarget*, 8(64), 107877–107885. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14112>

24. Cho, M.S., Bottsford-Miller, J., Vasquez, H.G., Stone, R., Zand, B., Kroll, M.H., Sood, A.K. y Afshar-Kharghan, V. (2012). Platelets increase the proliferation of ovarian cancer cells. *Blood*, 120, 4869–4872. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-438598>

25. Chung, B.M., Rotty, J.D. y Coulombe, P.A. (2013). Redes en abundancia: filamentos intermedios y migración celular. *Current Opinion in Cell Biology*, 25, 600–612. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2013.06.008>

26. Colás-Algora, N. y Millán, J. (2019). How many cadherins do human endothelial cells express? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76, 1299–1317.

27. Cong, H., Yao, R.Y., Sun, Z.Q., Qiu, W.S., Yao, Y.S., Feng, T.T., Xin, C., Liang, J. y Yue, L.U. (2016). DNA hypermethylation of the vimentin gene inversely correlates with vimentin expression in intestinal- and diffuse-type gastric cancer. *Oncology Letters*, 11, 842–848. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3937>

28. Cooke, N.M., Spillane, C.D., Sheils, O., O’Leary, J. y Kenny, D. (2015). Aspirin and P2Y12 inhibition attenuate platelet-induced ovarian cancer cell invasion. *BMC Cancer*, 15, 627. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1634-x>

29. Creamer, D., Jaggar, R., Allen, M., Bicknell, R. y Barker, J. (1997). Overexpression of platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase in psoriatic epidermis. *British Journal of Dermatology*, 137, 851–855. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1997.19772089.x>

30. Cui, N., Hu, M. y Khalil, R.A. (2017). Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 147, 1–73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>

31. Cybula, M., Witek, A., and Rychlik, A. (2022). Molecular classification of ovarian cancer and its clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 12045.
32. Czekierdowski, A., Czekierdowska, S., Daniłóś, J., Rogala, E. y Nowicka, A. (2012). Vasculogenic mimicry and matrix metalloproteinase MMP-9 expression in women with ovarian tumors. *Przegląd Menopauzalny*, 11(2), 108–114.
33. Dofara, S.G., Chang, S-L. y Diorio, C. (2020). Gene polymorphisms and circulating levels of MMP-2 and MMP-9: a review of their role in breast cancer risk. *Anticancer Research*, 40, 3619–3631. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14351>
34. Dubocovich, M.L., Rivera-Bermudez, M.A., Gerdin, M.J. y Masana, M.I. (2003). Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Frontiers in Bioscience*, 8, d1093–d1108. <https://doi.org/10.2741/1093>
35. Elias, K.M., Emori, M.M., Papp, E., MacDuffie, E., Konecny, G.E., Velculescu, V.E. y Drapkin, R. (2015). Beyond genomics: critical evaluation of cell line utility for ovarian cancer research. *Gynecologic Oncology*, 139(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.08.017>
36. Faleiro-Rodrigues, C., Macedo-Pinto, I., Pereira, D. y Lopes, C.S. (2004). Prognostic value of E-cadherin immunoexpression in patients with primary ovarian carcinomas. *Annals of Oncology*, 15, 1535–1542. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdh387>
37. Fang, G., Liu, J., Wang, Q., Huang, X., Yang, R., Pang, Y. y Yang, M. (2017). *RETRACTED*: MicroARN-223-3p regulates ovarian cancer cell proliferation and invasion by targeting SOX11 expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1208. <https://doi.org/10.3390/ijms18061208>

38. Farina, A.R. y Mackay, A.R. (2014). Gelatinase B/MMP-9 in tumour pathogenesis and progression. *Cancers*, 6(1), 240–296. <https://doi.org/10.3390/cancers6010240>
39. Freshney, R.I. (2016). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (7th ed.). Wiley-Blackwell.
40. Gao, Y., Liu, C.J., Li, H.Y. et al. (2023). Platelet ARN enables accurate detection of ovarian cancer: an intercontinental biomarker identification study. *Protein & Cell*, 14(6), 579–590. <https://doi.org/10.1093/procel/pwac056>
41. Gerdes, J., Schwab, U., Lemke, H. y Stein, H. (1983). Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International Journal of Cancer*, 31, 13–20. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910310104>
42. Gerdin, M.J., Masana, M.I. y Dubocovich, M.L. (2004). Melatonin-mediated regulation of human MT1 melatonin receptors expressed in mammalian cells. *Biochemical Pharmacology*, 67(12), 2155–2166. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.02.012>
43. Gerhardt, H., Wolburg, H. y Redies, C. (2000). N-cadherin mediates pericytic-endothelial interaction during brain angiogenesis in the chicken. *Developmental Dynamics*, 218, 472–479.
44. Gey, G.O., Coffman, W.D. y Kubicek, M.T. (1952). Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research*, 12(4), 264–265.
45. Gloushankova, N.A., Rubtsova, S.N. y Zhitnyak, I.Y. (2017). Cadherin-mediated cell-cell interactions in normal and cancer cells. *Tissue Barriers*, 5(3), e1356900. <https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1356900>
46. Gremmel, T., Frelinger, A.L. y Michelson, A.D. (2016). Platelet physiology. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 42(3), 191–204.

<https://doi.org/10.1055/s-0035-1564835>

47. Gross, J. y Lapiere, C.M. (1962). Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *PNAS*, 48, 1014–1022. <https://doi.org/10.1073/pnas.48.6.1014>
48. Gruss, M.J., O’Callaghan, C., Donnellan, M. y Corsi, A.K. (2023). A Twist-Box domain of the *C. elegans* Twist homolog HLH-8... *Genetics*, 224(4), iyad066. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad066>
49. Gul, I.S., Hulpiau, P., Saeys, Y. y Van Roy, F. (2017). Evolution and diversity of cadherins and catenins. *Experimental Cell Research*, 358, 3–9.
50. Haemmerle, M., Stone, R.L., Menter, D.G., Afshar-Kharghan, V. y Sood, A.K. (2018). The platelet lifeline to cancer: challenges and opportunities. *Cancer Cell*, 33, 965–983. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.002>
51. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discovery* 12, 31–46.
52. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discovery* 12, 31–46.
53. Hardeland, R., Pandi-Perumal, S.R. y Cardinali, D.P. (2011). Melatonin. *InteARNtional JouARNl of Biochemistry & Cell Biology*, 43(10), 1390–1393. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.06.005>
54. Hay, E.D. (1995). An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta Anatomica*, 154(1), 8–20. <https://doi.org/10.1159/000147748>
55. Holmes, C.E., Levis, J.E. y Ornstein, D.L. (2009). Activated platelets enhance ovarian cancer cell invasion in a cellular model of metastasis. *Clinical &*

56. Hu, X., Li, D., Zhang, W., Zhou, J., Tang, B. y Li, L. (2012). Matrix metalloproteinase-9 expression correlates with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 286(6), 1537–1543. <https://doi.org/10.1007/s00404-012-2456-6>
57. Hughes, P., Marshall, D., Reid, Y., Parkes, H. y Gelber, C. (2007). The costs of using unauthenticated, over-passaged cell lines... *BioTechniques*, 43(5), 575–586. <https://doi.org/10.2144/000112598>
58. Hulpiau, P., Gul, I.S. y Van Roy, F. (2016). Evolution of cadherins and associated catenins. En: Suzuki, S.T. y Hirano, S. (eds.) *The Cadherin Superfamily*. Springer, pp. 13–37.
59. Instituto Nacional del Cáncer. (s.f.). Definición de ovario. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/ovario>
60. Instituto Nacional del Cáncer. (s.f.). Tipos de cáncer. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/sindicacion>
61. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2024). Estadísticas de defunciones registradas 2023. México: INEGI. Available at: <https://www.inegi.org.mx>
62. International Agency for Research on Cancer (IARC) (2022). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: World Health Organization. Available at: <https://gco.iarc.fr/today>
63. Janus-Bell, E., Smethurst, P.A., García, A. y Watson, S.P. (2023). The relative importance of platelet integrins in hemostasis, thrombosis and beyond. *Haematologica*, 108(7), 1786–1799.

64. Jaroszewski, A., Zalewska-Ziob, M., Głowacki, M. et al. (2015). Expression of the MT1 melatonin receptor in ovarian cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 23074.
65. Jeleniewicz, W., Cybulski, M., Nowakowski, A. et al. (2019). MMP-2 mRNA expression predicts response to platinum-taxane chemotherapy. *Anticancer Research*, 39(4), 1821–1827. <https://doi.org/10.21873/anticanres.13289>
66. Jennbacken, K., Tešan, T., Wang, W., Gustavsson, H., Damber, J-E. y Welen, K. (2010). N-cadherin increases after androgen deprivation and is associated with metastasis in prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 17, 469–479.
67. Kalluri, R. y Weinberg, R.A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Clinical Investigation*, 119(6), 1420–1428. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
68. Karnezis, A.N., Cho, K.R., Gilks, C.B., Pearce, C.L. y Huntsman, D.G. (2017). The disparate origins of ovarian cancers: pathogenesis and prevention strategies. *Nature Reviews Cancer*, 17(1), 65–74. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.113>
69. Kaufhold, S. y Bonavida, B. (2014). Central role of Snail1 in EMT and resistance in cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 33, 62.
70. Kicman, A., Niczyporuk, M., Kulesza, M., Motyka, J. y Ławicki, S. (2022). Utility of matrix metalloproteinases in ovarian cancer patients. *Cancer Management and Research*, 14, 3359–3382. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S385658>
71. Kielbik, M., Szulc-Kielbik, I. y Klink, M. (2021). Impact of selected signaling proteins on SNAIL1/2 expression... *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 980. <https://doi.org/10.3390/ijms22020980>
72. Kielbik, M., Szulc-Kielbik, I. y Klink, M. (2022). E-cadherin expression in relation to clinicopathological parameters... *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14383. <https://doi.org/10.3390/ijms232214383>

73. Kokkinos, M.I., Wafai, R., Wong, M.K., Newgreen, D.F., Thompson, E.W. y Waltham, M. (2007). Vimentina y transición epitelial-mesénquimal en cáncer de mama humano. *Cells Tissues Organs*, 185, 191–203.
<https://doi.org/10.1159/000101320>

74. Kwan, J.A., Schulze, C.J., Wang, W. et al. (2004). MMP-2 is present in the nucleus of cardiac myocytes and cleaves PARP *in vitro*. *FASEB JouARNI*, 18(6), 690–692.
<https://doi.org/10.1096/fj.02-1202fje>

75. Larionova, I., Kazakova, E., Gerashchenko, T. y Kzhyshkowska, J. (2021). New angiogenic regulators produced by TAMs. *Cancers*, 13, 3253.
<https://doi.org/10.3390/cancers13133253>

76. Lengyel, E. (2010). Desarrollo de cáncer de ovario y metástasis. *American JouARNI of Pathology*, 177(3), 1053–1064.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.100105>

77. Li, H., Zhang, Y., Chen, Z. et al. (2023). Melatonin enhances cell death and suppresses metastatic potential of ovarian cancer via MT1 receptor. *Gynecologic Oncology*, e-pub.

78. Li, S. y Luo, W. (2019). Matrix metalloproteinase-2 contributes to aggressive phenotype... *OncoTargets and Therapy*, 12, 5701–5711.
<https://doi.org/10.2147/OTT.S202280>

79. Liao, K., Niu, H., Wang, Y., Zhang, X. y Li, J. (2023). The role of platelets in tumor growth and metastasis. *MedComm*, 4(3), e350.

80. Lin, R.J., Afshar-Kharghan, V. y Schafer, A.I. (2014). Paraneoplastic thrombocytosis: the secrets of tumor self-promotion. *Blood*, 124, 184–187.
<https://doi.org/10.1182/blood-2014-03-562538>

81. Liu, A., Huang, C., Cai, X. et al. (2016). Twist promotes angiogenesis in pancreatic cancer by targeting miR-497/VEGFA axis. *Oncotarget*, 7, 25801–25814.

82. Liu, G., Philp, A.M., Corte, T. et al. (2021). Therapeutic targets in lung tissue remodelling and fibrosis. *Pharmacology & Therapeutics*, 225, 107839. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107839>
83. Liu, J. y Khalil, R.A. (2017). Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational tools... *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 148, 355–420. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.003>
84. Liu, Z.L., Chen, H.H., Zheng, L.L., Sun, L.P. y Shi, L. (2023). Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8, 198. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01460-1>
85. Liu, H.Y., Zhang, Y.Y., Zhu, B.L. et al. (2019). MiR-203a-3p regulates ovarian cancer behaviors... *JouARNI of Ovarian Research*, 12(1), 60. <https://doi.org/10.1186/s13048-019-0532-2>
86. Liu, J., Clough, S.J., Hutchinson, A.J. et al. (2016). MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 56, 361–383. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103118>
87. Lo, W., Zhu, B., Sabesan, A. et al. (2019). Associations of CDH1 germline variant location and cancer phenotype... *JouARNI of Medical Genetics*, 56(6), 370–379. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105361>
88. Löffek, S., Schilling, O. y Franzke, C-W. (2011). Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *European Respiratory JouARNI*, 38(1), 191–208. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146510>
89. Loh, C-Y., Chai, J.Y., Tang, T.F. et al. (2019). The E-cadherin and N-cadherin switch in EMT. *Cells*, 8(10), 1118. <https://doi.org/10.3390/cells8101118>
90. Lucotti, S. y Muschel, R.J. (2020). Platelets and metastasis: new implications of an old interplay. *Frontiers in Oncology*, 10, 1350.

91. Lucey, B.P., Nelson-Rees, W.A. y Hutchins, G.M. (2009). Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 133(9), 1463–1467. <https://doi.org/10.5858/133.9.1463>
92. Machlus, K.R. y Italiano, J.E. (2013). The incredible journey: from megakaryocyte development to platelet formation. *Journal of Cell Biology*, 201(6), 785–796. <https://doi.org/10.1083/jcb.201304054>
93. Maga, G. y Hubscher, U. (2003). Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *Journal of Cell Science*, 116(15), 3051–3060.
94. Mai, S., Wei, L., Huang, X., Zhou, H., Fan, Y. y Gao, H. (2021). Pancreatic cancer and platelets crosstalk. *Cancers*, 13(21), 5472.
95. Manenti, L., Paganoni, P., Floriani, I. et al. (2003). VEGF, MMP-2/9 and TIMPs in ovarian carcinoma plasma. *European Journal of Cancer*, 39(13), 1948–1956. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(03\)00427-1](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00427-1)
96. Massagué, J. y Obenauf, A.C. (2016). Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature*, 529, 298–306. <https://doi.org/10.1038/nature17038>
97. Masters, J.R. (2000). Human cancer cell lines: fact and fantasy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(3), 233–236. <https://doi.org/10.1038/35043172>
98. Meng, J., Chen, S., Han, J.X., Qian, B., Wang, X.R., Zhong, W.L. et al. (2018). Twist1 regulates vimentin through Cul2 circular ARN to promote EMT. *Cancer Research*, 78, 4150–4162. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-3009>
99. Menter, D.G., Tucker, S.C., Kopetz, S., Sood, A.K., Crissman, J.D. y Honn, K.V. (2014). Platelets and cancer: causal or casual relationship revisited. *Cancer Metastasis Reviews*, 33, 231–269. <https://doi.org/10.1007/s10555-014-9498-0>
100. Merritt, M.A., Rice, M.S., BaARNrd, M.E. et al. (2018). Analgesics and ovarian cancer prognosis. *Lancet Oncology*, 19, 1107–1116.

101. Messica, Y., Laser-Azogui, A., Volberg, T. et al. (2017). The role of vimentin in invasive migration in dense cultures. *Nano Letters*, 17, 6941–6948. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.7b03358>
102. Miyamoto, Y., Sakane, F. y Hashimoto, K. (2015). N-cadherin-based adherens junction regulates neural progenitor cells. *Cell Adhesion & Migration*, 9, 183–192.
103. Moldovan, G.L., Pfander, B. y Jentsch, S. (2007). PCNA, the maestro of the replication fork. *Cell*, 129(4), 665–679. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.003>
104. Mrozik, K.M., Blaschuk, O.W., Cheong, C.M., Zannettino, A.C.W. y Vandyke, K. (2018). N-cadherin in cancer metastasis. *BMC Cancer*, 18, 939.
105. Nakeff, A. y Maat, B. (1974). Separation of megakaryocytes from mouse bone marrow by velocity sedimentation. *Blood*, 43(4), 591–595.
106. National Heart, Lung, and Blood Institute. (s.f.). Diagnóstico de los trastornos plaquetarios. Disponible en: <https://www.nhlbi.nih.gov/es/salud/trastornos-plaquetarios/diagnostico>
107. Nawrocki-Raby, B., Gilles, C., Polette, M. et al. (2003). Upregulation of MMPs by soluble E-cadherin in lung tumor cells. *International Journal of Cancer*, 105(6), 790–795. <https://doi.org/10.1002/ijc.11168>
108. Nieto, M.A. (2002). The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3, 155–166.
109. Oldham, W.M. y Hamm, H.E. (2008). Heterotrimeric G protein activation by GPCRs. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 60–71. <https://doi.org/10.1038/nrm2299>
110. Orellana, R., Kato, S., Erices, R. et al. (2015). Platelets enhance tissue factor protein and metastasis initiating cell markers... *BMC Cancer*, 15, 290.

111. Paccione, R.J., Miyazaki, H., Patel, V. et al. (2008). Vimentin siARN reverses keratin downregulation and inhibits growth/motility. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7, 2894–2903. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0450>
112. Pierce, K.L., Premont, R.T. y Lefkowitz, R.J. (2002). Seven-transmembrane receptors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(9), 639–650. <https://doi.org/10.1038/nrm908>
113. Pitot, H.C. (2000). The molecular biology of carcinogenesis. *Cancer* 89, 1277–1285.
114. Plantureux, L., Mège, D., Crescence, L. et al. (2020). Platelet interaction with colorectal cancer cells inhibits tumor growth but promotes metastasis. *Cancer Research*, 80(2), 291–303. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1181>
115. Radisky, D.C. y Bissell, M.J. (2006). Matrix metalloproteinase-induced genomic instability. *Current Opinion in Genetics & Development*, 16(1), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2005.12.011>
116. Raeeshzadeh-Sarmazdeh, M., Do, L.D. y Hritz, B.G. (2020). Metalloproteinases and their inhibitors: potential for new therapeutics. *Cells*, 9(5), 1313. <https://doi.org/10.3390/cells9051313>
117. Rangasamy, R., Geronimo, G., Ortín, O. et al. (2019). Molecular imaging probes based on MMP inhibitors. *Molecules*, 24(16), 2982. <https://doi.org/10.3390/molecules24162982>
118. Rickard, B.P., Conrad, C., Sorrin, A.J. et al. (2021). Malignant ascites in ovarian cancer... *Cancers*, 13(17), 4318. <https://doi.org/10.3390/cancers13174318>
119. Ranucci, M., Aloisio, T., Di Dedda, U., Menicanti, L., de Vincentiis, C., and Baryshnikova, E. (2019). Gender-based differences in platelet function and platelet reactivity to P2Y₁₂ inhibitors. *PLoS ONE* 14, e0225771.

120. Rosso, M., Majem, B., Devis, L. et al. (2017). E-cadherin in ovarian cancer progression. *PLoS ONE*, 12, e0184439.
121. Roy, R., Morad, G., Jedinak, A. y Moses, M.A. (2020). Metalloproteinases and their roles in human cancer. *Anatomical Record*, 303(6), 1557–1572. <https://doi.org/10.1002/ar.24188>
122. Roweth, H.G. y Battinelli, E.M. (2021). Lessons to learn from tumor-educated platelets. *Blood*, 137(23), 3174–3180.
123. Sabetta, A., et al. (2022). Sex differences at the platelet–vascular interface. *Internal and Emergency Medicine* 17, 1553–1564.
124. Sabrkhany, S., Kuijpers, M.J.E. y Oude Egbrink, M.G.A. (2021). Platelets as messengers of early-stage cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 40, 563–584.
125. Sakata, K., Shigemasa, K., Nagai, N. y Ohama, K. (2000). Expression of MMP-2, MMP-9, MT1-MMP and TIMPs in ovarian tumors. *International Journal of Oncology*, 17(4), 673–681.
126. Satelli, A. y Li, S. (2011). Vimentin in cancer and its potential as a target. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(18), 3033–3046. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0735-1>
127. Secretaría de Salud. (s.f.). Cáncer de ovario, uno de los más agresivos si no se detecta... Gobierno de México. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/es/articulos/cancer-de-ovario-uno-de-los-mas-agresivos-si-no-se-detecta-y-atende-a-tiempo>
128. Secretaría de Salud (2024). *Boletín epidemiológico / Anuario de morbilidad 2023*. México: Gobierno de México. Available at: <https://www.gob.mx/salud>
129. Serrano-Gomez, S.J., Maziveyi, M. y Alahari, S.K. (2016). Regulation of EMT through epigenetic and post-translational modifications. *Molecular Cancer*, 15, 18. <https://doi.org/10.1186/s12943-016-0502-x>

130. Sidransky, D. (1995). Genética molecular del cáncer de cabeza y cuello. *Current Opinion in Oncology*, 7, 229–233.
131. Siegel, R.L., Miller, K.D. y Jemal, A. (2019). Cancer statistics 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1), 7–34. <https://doi.org/10.3322/caac.21551>
132. Sigma-Aldrich (2025). *SKOV3 human ovarian cancer cell line*. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com>
133. Skloot, R. (2010). *The Immortal Life of Henrietta Lacks*. Crown Publishing Group.
134. Stemmler, M.P. (2008). Cadherins in development and cancer. *Molecular BioSystems*, 4, 835–850.
135. Strouhalova, K., Přechová, M., Gandalovičová, A. et al. (2020). Vimentin intermediate filaments as a target for cancer treatment. *Cancers*, 12(1), 184. <https://doi.org/10.3390/cancers12010184>
136. Su, Y., Li, J., Shi, C., Hruban, R.H. y Radice, G.L. (2016). N-cadherin functions as a growth suppressor in PanIN. *Oncogene*, 35, 3335.
137. Testa, U., Petrucci, E., Pasquini, L., Castelli, G. y Pelosi, E. (2018). Ovarian cancers: genetic abnormalities, heterogeneity and progression. *Medicines*, 5(1), 16. <https://doi.org/10.3390/medicines5010016>
138. Van Roy, F. (2014). Beyond E-cadherin: roles of other cadherins in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 14, 121.
139. Vestweber, D. (2015). Cadherins in tissue architecture and disease. *Journal of Molecular Medicine*, 93, 5–11.
140. Vesuna, F., Lisok, A., Kimble, B. et al. (2012). Twist contributes to hormone resistance in breast cancer. *Oncogene*, 31(27), 3223–3234. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.483>

141. Vogelstein, B., Fearon, E.R. y Hamilton, S.R. et al. (1988). Alteraciones genéticas durante el desarrollo del tumor colorrectal. *New England Journal of Medicine*, 319, 525–532.
142. Wadowska, K., Błasiak, P., Rzechonek, A. y Śliwińska-Mossoń, M. (2023). MMP-2-735C/T and MMP-9-1562C/T polymorphisms in lung cancer risk. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10576. <https://doi.org/10.3390/ijms241310576>
143. Wang, S., Wang, C., Hu, Y. et al. (2020). ZNF703 promotes tumor progression in ovarian cancer... *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 39, 264. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01770-0>
144. Wang, X. y Khalil, R.A. (2018). Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease. *Advances in Pharmacology*, 81, 241–330. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.08.002>
145. Wang, M., Ren, D., Guo, W. et al. (2016). N-cadherin promotes EMT and stem-like traits via ErbB signaling in prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 48, 595–606.
146. Wang, X., Wu, C., Wang, J., Wang, Y. y Zhang, J. (2022). Platelets involved tumour cell EMT during circulation. *Cell & Bioscience*, 12, 208.
147. Wheelock, M.J., Shintani, Y., Maeda, M., Fukumoto, Y. y Johnson, K.R. (2008). Cadherin switching. *Journal of Cell Science*, 121(6), 727–735. <https://doi.org/10.1242/jcs.000455>
148. Wu, X., Yao, X. y Cao, Q. (2019). CDH1 hypermethylation in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Cancer Management and Research*, 11, 857–?. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S179710>
149. Xing, E.P., Nie, Y., Song, Y. et al. (1999). Mechanisms of inactivation of p14ARF, p15INK4b and p16INK4a genes in esophageal squamous cell carcinoma.

150. Xu, D., Su, C., Guo, L. et al. (2019). Predictive significance of serum MMP-9 in papillary thyroid carcinoma. *Open Life Sciences*, 14(1), 275–287. <https://doi.org/10.1515/biol-2019-0031>
151. Yang, Y., Yang, Y., Yang, J., Zhao, X. y Wei, X. (2020). Tumor microenvironment in ovarian cancer: function and therapeutic strategy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 758. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00758>
152. Yin, G., Chen, R., Alvero, A.B., Fu, H.H., Holmberg, J., Glackin, C., Rutherford, T. y Mor, G. (2010). TWISTing stemness, inflammation and proliferation of ovarian cancer cells through MIR199A2/214. *Oncogene*, 29(24), 3545–3553. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.111>
153. Yuan, L. y Liu, X. (2015). Platelets are associated with xenograft tumor growth... *Molecular Medicine Reports*, 11, 2449–2458. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.3082>
154. Yun, Z.Y., Zhang, X., Liu, Y.S., Liu, T., Liu, Z.P., Wang, R.T. y Yu, K.J. (2017). Lower mean platelet volume predicts poor prognosis in renal cell carcinoma. *Scientific Reports*, 7, 6700. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07168-x>
155. Zhang, J., Quan, L.N., Meng, Q., Wang, H.Y., Wang, J., Yu, P. et al. (2020). miR-548e sponged by ZFAS1 regulates metastasis and cisplatin resistance of OC. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, 20, 621–638. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.03.013>
156. Zhang, X., Yan, K., Deng, L. et al. (2019). Cyclooxygenase-2 promotes proliferation and invasion in ovarian cancer via PGE2/NF-κB. *Cell Transplantation*, 28(1_suppl), 1S–13S. <https://doi.org/10.1177/0963689719890597>
157. Zhou, L., Zhang, Z., Tian, Y. et al. (2023). The critical role of platelet in cancer progression and metastasis. *European JouARNl of Medical Research*, 28, 385.

158. Zhu, J., He, K., Wang, W. et al. (2023). Emerging applications of tumour-educated platelets in cancer diagnosis and treatment. *Protein & Cell*, 14(8), 556–572.

14. Anexos

Buffer HEP

Para 100 ml:

0.813 gr de NaCl.

0.02gr de KCl.

0.090gr de HEPES.

0.186gr EDTA.

Ajustar pH 7.4.

Aforar a 100 ml.

Filtrar y esterilizar la solución.

Buffer Tyrode's

Para 100 ml:

0.783 gr de NaCl.

0.100gr de NaHCO₃.

0.216gr de KCL.

0.482gr de Na₂PO₄.

0.009gr de MgCl₂.

0.238gr de HEPES.

Ajustar pH a 7.4.

Aforar a 100 ml, filtrar y esterilizar la solución.

Medio RPMI

Disolver el sobre del medio Roswell Park Memorial Institute en 800 ml de agua destilada, se ajusta pH a 7.4 y se afora a 1 L, se filtra por 0.22 micras. Para RPMI al 10% se agrega 10% de SFB y 90% de RPMI para 100ml. Para RPMI al 20 % se agrega 20% de SFB y 80% de RPMI para 100ml.

Solución de lavado de clorhidrato de guanidina 0.3 M en etanol al 95%

Para 100 ml:

Se calcula la masa molar de HCL= 95.53 g/mol.

$0.3M = 0.3 \text{ moles/L} = 0.03 \text{ moles/100 mL}$

Cantidad necesaria: $0.03 \text{ moles} \times 95.53 \text{ g/mol} = 2.87 \text{ g de HCL}$.

HCL 2.87 g

Disolver en 80ml de etanol al 95% y llevar a un volumen final de 100mL con etanol al 95%.

Ácido acetilsalicílico (AAS) a 5000 micromolar

Para 100 ml:

Concentración: 500micromolar = 0.0005 mol/L

Volumen= 0.1L

Masa molar del ácido acetilsalicílico: 180.16 g/mol.

$\text{Masa} = 0.0005 \text{ mol/L} \times 0.1L \times 180.16\text{g/mol} = 0.009008\text{g} = 9.01\text{mg}$

Pesar 9.01mg del AAS y disolverlo en 80ml de agua destilada y aforar a 100ml.

Tripsina 0.025% en 0.53M de EDTA

Se calcula el peso molecular del EDTA= 372.24 g/mol.

Para calcular los gramos: $g = (M)(PM)(V)$

Para 1L:

Tripsina 0.25 g

EDTA 0.197 g

Disolver la tripsina en 800 ml de PBS estéril, agregar EDTA, disolver y llevarlo a un volumen final de 1L con PBS estéril, filtrar la solución con filtro estéril de 0.22 micras, alicuotar y almacenar a -20, antes de usar calentar a 37 grados.

PBS 10X

Para 1L:

NaCl 80 g

KCl 2 g

Na₂HPO₄ 6.5 g

KH₂PO₄ 2 g

Disolver en 500ml de agua destilada, medir el PH a 7.0, aforar a un litro y llevar a esterilizar.

PBS 1X

Para 1L:

PBS 10X 100ml

Se afora a 500ml, medir el PH a 7.0 y aforar a 1L.

Etanol al 70%

Etanol al 100% 70ml

Agua destilada 30ml

Poly-L-lysine 0.5 µg/mL

Diluir la solución stock comercial de poly-L-lysine en agua destilada estéril hasta obtener una concentración final de 0.5 µg/mL.

El volumen de stock a añadir dependerá de la concentración indicada por el proveedor (calcular con $C1V1 = C2V2$).

Preparar el volumen necesario y conservar a 4 °C.

Glutaraldehído 0.5 % en PBS 1X

Para 10 mL (a partir de stock al 25 %):

Glutaraldehído 25 %: 0.2 mL

PBS 1X: completar a 10 mL

Mezclar suavemente en campana y usar fresco.

Gelatina-FITC 0.2 mg/mL en PBS

Para 25 mL:

Gelatin/FITC (Invitrogen G13187): 5 mg

PBS/2 % sacarosa: 25 mL

Disolver completamente la gelatina-FITC en PBS/2 % sacarosa.

Centrifugar 5 min a 4500 rpm.

Preparar alícuotas de 1 mL y almacenar a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ protegidas de la luz.

PBS con sacarosa al 2 %

Para 30 mL:

PBS 1X: 30 mL

Sacarosa: 0.6 g

Disolver completamente la sacarosa en PBS 1X y filtrar por membrana de $0.22\text{ }\mu\text{m}$ y conservar a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Borohidruro de sodio (NaBH_4) 5 mg/mL

Para 10 mL:

Borohidruro de sodio (NaBH_4): 50 mg

PBS 1X: 10 mL

Preparar justo antes de usar, mantener en hielo y desechar al final de la sesión

Paraformaldehído (PFA) al 4 %

Apartir de stock comercial 16 %

Para 50 mL:

PFA 16 %: 12.5 mL

PBS 1X: completar a 50 mL

Mezclar en campana hasta homogeneizar.

Conservar a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y usar en pocos días.

NH₄Cl 25 mM

Para 100 mL:

NH₄Cl: 0.134 g

PBS 1X: completar a 100 mL

Disolver completamente y conservar a 4 °C.

PBS 1X -Tritón X-100 al 0.3 %

Para 10 mL:

Tritón X-100 (100 %): 30 µL

PBS 1X: 9.97 mL

Mezclar suavemente, conservar a 4 °C.

Faloidina–Alexa Fluor 488

Marca: Invitrogen

Dilución de trabajo: 1:200

Preparación: 5 µL de faloidina + 995 µL de PBS 1X

Volumen por cubreobjetos: 100 µL

Tiempo: 30 min, en oscuridad

Medio antifade con DAPI

Listo para usar (sin dilución)

Volumen por cubreobjetos: 5–10 µL

Secado: 1 hora en oscuridad

Cristal violeta 0.5 %

Para 100 mL:

Cristal violeta en polvo: 0.5 g

Agua destilada: 100 mL

Filtrar con membrana de 0.22 μm para eliminar precipitados, guardar en frasco ámbar porque es fotosensible, conservar a temperatura ambiente o a 4 °C.

Formatos de consentimientos



Ciudad de México a 26 de febrero de 2026.

Dra. Laura Adriana Tripp Aguilar
Coordinadora del Servicio de Medicina Transfusional
Presente

Por medio de la presente, le solicito amablemente su apoyo con la donación de tres concentrados plaquetarios obtenidos a partir del fraccionamiento de sangre total de donadores. Estos concentrados serán transportados al Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) para su procesamiento los días:

- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| • Martes 03 de marzo de 2026 | Jueves 05 de marzo de 2026 |
| • Martes 10 de marzo de 2026 | Jueves 12 de marzo de 2026 |
| • Martes 17 de marzo de 2026 | Jueves 19 de marzo de 2026 |
| • Martes 24 de marzo de 2026 | Jueves 26 de marzo de 2026 |

Cabe resaltar que el material biológico se empleará con fines de investigación en el proyecto titulado: "Avances en la identificación de marcadores diagnósticos y pronósticos del cáncer de ovario: De la transcriptómica espacial a la biopsia líquida" (Reg. CONBIÉTICA-09-CEI-011-20160627).

Sin más por el momento, me despido y agradezco enormemente su atención.

Atentamente,

Dra. Irma Beatriz Mitre Aguilar
Investigador Principal
Unidad de Bioquímica Dr. Guillermo Soberón Acevedo