



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA



LABORATORIO DE NEUROENDOCRINOLOGÍA

**EFEECTO DE IL-8 SOBRE EL POTENCIAL METASTÁSICO
EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO,
MDA-MB 231: PAPEL DE PD-L1**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**PRESENTA:
LBM. JESÚS DÉNILSON ARAGÓN ROSADO**

**DIRECTOR DE TESIS:
D.C. EDUARDO MONJARAZ GUZMÁN**

ENERO 2026

“En medio del odio me pareció que había dentro de mí un amor invencible. En medio de las lágrimas me pareció que había dentro de mí una sonrisa invencible.

En medio del caos me pareció que había dentro de mí una calma invencible.

Me di cuenta, a pesar de todo, que en medio del invierno había dentro de mí un verano invencible. Y eso me hace feliz, porque no importa lo duro que el mundo empuje en mi contra, dentro de mí, hay algo mejor empujando de vuelta.”

El verano, 1953 -Albert Camus

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado mediante la beca como estudiante de Maestría (1289709).

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Eje IV. Modelo de Investigación abierta y compartida. Objetivo 13. Formar recursos humanos que impacten positivamente el contexto social y científico como consecuencia de su accionar en una comunidad para lograr una educación desarrolladora de la transformación. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2021-2025.

Al Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán, por el apoyo y tiempo brindado para la realización de este proyecto, así como la paciencia y las respuestas a cada duda y pregunta en mi trayecto académico.

A mis padres, Leonardo y Yadira, a mi hermana Abril y a la familia Cruz Cuevas, por todo el amor aun a la distancia, por sus sacrificios, consejos y por cada momento de tristezas y alegrías compartidas. Este y todos mis logros son y serán siempre por y para ustedes.

A mi compañera de aventuras por más de 6 años, Melissa, por haber estado presente en cada momento, desde los mejores hasta los peores, por escucharme, apoyarme y mostrarme el camino correcto. Que esta historia no tenga fin...

A todos mis compañeros y amigos hechos en el laboratorio y fuera de él a lo largo de estos dos años, por todas sus enseñanzas, conocimientos y también por los errores cometidos juntos. Porque quien no se equivoca no aprende.

A mis revisores de tesis: D.C. Ma. Del Carmen Cortés Sánchez y D.C. Fabián Galindo Ramírez, por sus comentarios, conocimientos e invaluable tiempo para la culminación de este proyecto de manera satisfactoria.

Finalmente, a todas y cada una de las personas que ahora están ausentes. Porque cada decisión y palabra suya también contribuyó para llegar a este momento. Especialmente a mis abuelas, Nereida y Ulvia, un abrazo hasta el cielo...

ÍNDICE

ABREVIATURAS	6
RESUMEN	9
ANTECEDENTES GENERALES	11
Cáncer	11
• Epidemiología	13
• Factores de Riesgo	15
Microambiente tumoral	19
• Condición inflamatoria crónica.....	23
• Citocinas proinflamatorias en cáncer	25
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	28
Cáncer de mama.....	28
• Epidemiología	29
• Factores de riesgo.....	31
• Fisiopatología.....	36
Interleucina 8 (IL-8).....	40
• Receptor a IL-8 y vías de señalización	42
• IL-8 en cáncer	44
Ligando 1 de muerte programada (PD-L1)	46
• Estructura y función de PD-L1.....	47
• Regulación de la expresión de PD-L1.....	50
• PD-L1 en cáncer	54
• PD-L1 en cáncer de mama.....	56
JUSTIFICACIÓN.....	59

HIPÓTESIS.....	60
OBJETIVO GENERAL	60
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
METODOLOGÍA	61
Cultivo Celular de MDA-MB 231	61
Ensayo de expresión génica (RT-PCR).....	61
• Extracción de ARN	61
• Síntesis de cDNA (Retrotranscripción)	61
• Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	62
• Electroforesis en Gel de Agarosa.....	63
• Análisis Densitométrico.....	64
Ensayo de Proliferación	64
Ensayo de Migración	65
Ensayo de Silenciamiento de PD-L1.....	65
Análisis Estadístico.....	66
RESULTADOS.....	67
DISCUSIÓN.....	81
CONCLUSIONES.....	91
REFERENCIAS	92
MATERIAL SUPLEMENTARIO	103

ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

AINE: Antiinflamatorio no Esteroideo

AIPC: Cáncer de Próstata Independiente de Andrógenos

Akt: Proteína Quinasa B

ALDH1: Aldehído Deshidrogenasa 1

AP-1: Proteína Activadora tipo 1

Apc: Poliposis Adenomatosa de Colón

AVAD: Años de Vida Ajustados por Discapacidad

Bcl-2: Linfoma de Células B2

BRCA: Acrónimo de Breast Cancer

CAF: Fibroblastos Asociados al Cáncer

CD28: Cúmulo de Diferenciación tipo 28

CD3ζ: Cadena Zeta CD3 del Receptor de Células T

CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

CDH1: Gen Humano que Codifica para la Proteína E-Cadherina

CDR: Regiones Determinantes de Complementariedad

CXCL8: Ligando 8 de Quimiocina con Motivo CXC

CXCR1/2: Receptor de Quimiocinas con Motivo CXC tipo 1/2

EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico

EMT: Transición Epitelio Mesénquima

Erk: Quinasa Regulada por Señales Extracelulares

FAPα: Proteína de Activación de Fibroblastos Alfa

FDA: Administración de Fármacos y Alimentos

Gas6: Proteína 6 Específica de Detención del Crecimiento

HER2: Receptor 2 del Factor de Crecimiento Epidérmico Humano

HIF1-α: Factor Inducible por Hipoxia tipo 1 alfa

HRAS: Gen que codifica para la proteína Ras

HRE: Elemento de Respuesta a Hormonas

HSP: Proteínas de Choque Térmico

IAP: Proteína Inhibidora de la Apoptosis

IARC: Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer

IFN: Interferón

IKK β : Inhibidor de la Subunidad Beta de la Quinasa del Factor Nuclear kappa-B

IL-10: Interleucina 10

IL-11: Interleucina 11

IL-17: Interleucina 17

IL-1 β : Interleucina 1 beta

IL-2: Interleucina 2

IL-37: Interleucina 37

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IP3: Inositol Trifosfato

ITIM: Motivo Inhibitorio Basado en Tirosina

ITSM: Motivo de Cambio Basado en Tirosina

JAK: Quinasa Asociada a Janus

KPNB1: Carioferina Subunidad Beta 1

KRAS: Oncogén Homólogo del Virus del Sarcoma de Rata de Kirsten

MAPK: Proteína Quinasa Activada por Mitógenos

MCA: Membrana Corioalantoidea

MerTK: Protooncogén MER Tirosina Quinasa

Min: Neoplasia Intestinal Múltiple

mTOR: Diana de Rapamicina en Células de Mamíferos

NCBI: Centro Nacional de Investigación Biotecnológica

NF- κ B: Factor Nuclear Potenciador de las Cadenas Ligeras *kappa* de las Células B Activadas

NIH: Instituto Nacional de Salud

NOX4: NADPH Oxidasa 4

NSCLC: Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas

OMS: Organización Mundial de la Salud

PD-1: Receptor 1 de Muerte Programada

PD-L1/2: Ligando 1/2 de Muerte Programada

PI3K: Fosfoinositida 3-quinasa

PKC: Proteína Quinasa C

PKD: Proteína Quinasa D

PLC: Fosfolipasa C

PTEN: Fosfatasa y Homólogo de Tensina eliminado en el cromosoma 10

SHP-1/2: Proteína Tirosina Fosfatasa no Receptora de tipo 1/2

STAT: Proteína Transductora de Señales y Activador de la Transcripción

STK11: Serina/Treonina Quinasa 11

TCGA: Atlas de Genoma del Cáncer

TCR: Receptor de Células T

TGF- β : Factor de Crecimiento Transformante Beta

TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral Alfa

TP53: Gen que codifica la proteína p53

VEGFA: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular A

YY1: Represor Transcripcional YY1

ZAP70: Proteína Quinasa Asociada a la Cadena Zeta 70

α -SMA: Actina de Músculo Liso Alfa

RESUMEN

El cáncer de mama representa un gran problema de salud pública a nivel mundial, situándose entre las neoplasias malignas de mayor incidencia y mortalidad dentro de la población femenina. En cuanto a los fenotipos del cáncer de mama se refiere, el Cáncer de Mama Triple Negativo (TNBC) representa aproximadamente entre el 15 y 20% de todos los casos de cáncer de mama, sin embargo, a pesar de esta relativa baja frecuencia, se ha profundizado en su estudio, ya que presenta un comportamiento clínico agresivo, una elevada tasa de recurrencia, una incidencia en edades tempranas a partir de los 25 años, es más frecuente en mujeres afroamericanas y se carece de tratamientos terapéuticos eficaces, de ahí su alta tasa de mortalidad.

Recientemente, se ha asociado la presencia de una condición inflamatoria crónica dentro del microambiente tumoral como un factor desencadenante del potencial metastásico de las células tumorales, tales como la supervivencia, proliferación, migración, invasión y quimio-resistencia. En este contexto, se han relacionado altos niveles de interleucina 8 (IL-8) y del ligando 1 de muerte programada (PD-L1) con malos pronósticos de supervivencia de los pacientes con diferentes tipos de cáncer, sin embargo, no se ha descrito a detalle una relación molecular y funcional entre ambos elementos en el TNBC.

Por lo que el objetivo principal de esta investigación fue determinar si la presencia de IL-8 favorece el potencial metastásico de las células MDA-MB 231, una línea celular representativa del TNBC, y si este efecto es mediado por PD-L1.

De manera inicial, se confirmó que las células MDA-MB 231 expresan tanto el receptor a IL-8 como PD-L1 a nivel de ARNm. El tratamiento con IL-8 provocó un aumento significativo en la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231. De manera complementaria, se observó que la presencia de IL-8 regula positivamente la expresión del ARNm que codifica para PD-L1, y que este factor es relevante en la capacidad migratoria exacerbada por IL-8, ya que al silenciar a PD-L1, se reduce de manera significativa la capacidad migratoria de las células

MDA-MB 231. Se observó de manera interesante, que el silenciamiento de PD-L1 no afecta la capacidad proliferativa de las células de cáncer de mama triple negativo, en presencia y ausencia de IL-8.

Se trató de investigar de manera parcial, la probable vía de señalización involucrada entre la activación del receptor a IL-8 y la expresión del ARNm que codifica para PD-L1. El uso de inhibidores específicos, nos permite sugerir la probable participación de las vías de señalización PI3K/Akt y JAK/STAT.

Nuestros datos aportan evidencia en torno a la relación molecular y funcional de IL-8 y PD-L1 que influyen en el potencial metastásico de las células de cáncer de mama triple negativo, y que pudieran proponerse como potenciales blancos farmacológicos para un tratamiento más eficiente, mejorando el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes.

ANTECEDENTES GENERALES

Cáncer

El “Cáncer” es un término ampliamente utilizado para hacer referencia a un conjunto de enfermedades que se caracterizan por originarse en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo, se presenta cuando un conjunto de células anormales, comienzan a crecer de forma descontrolada, sobrepasan los límites habituales y finalmente invaden órganos adyacentes al sitio donde se originó (OMS, 2025).

Este último proceso se define como “metástasis”, y es la principal causa de muerte por cáncer. La metástasis ocurre cuando las células tumorales se desprenden de un tumor primario e invaden un tejido distinto adaptándose selectivamente a la presión impuesta por el nuevo microambiente (Kiri & Ryba, 2024).

Se puede comprender de mejor manera la carga que implica el cáncer si se consideran los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD), el cual está definido por la Organización Mundial de la Salud como: “el equivalente a un año de vida con plena salud perdido”. En este sentido, durante el 2019 se calculó que el cáncer produjo aproximadamente 250 millones de AVAD, lo que lo posicionó en el segundo lugar de enfermedades clasificadas como nivel 2 por el proyecto Carga Global de Enfermedades, solo por detrás de las enfermedades cardiovasculares (OMS, 2025; Kiri & Ryba, 2024).

Si bien el cáncer *per se* representa una amplia clasificación del estado celular, la identificación de las características en común o “señales típicas” propuestas por Hanahan y Weinberg en el año 2000 fue fundamental para la organización de la investigación y el conocimiento del cáncer contemporáneo. En este contexto, aunque el desarrollo y origen de todos los tipos de cáncer es debido a causas multifactoriales, existen elementos compartidos que unen a todos los tipos de células cancerosas a nivel fenotípico (Figura 1) (Kiri & Ryba, 2024; Hanahan & Weinberg, 2011).



Fig 1. Características y señales distintivas de las células tumorales. Actualmente, las características distintivas del cáncer engloban ocho capacidades distintivas y dos características facilitadoras (Modificado de Hanahan & Weinberg, 2011).

Recientemente, ha surgido la pregunta de si existen características adicionales que pudieran incorporarse a este modelo habitual, por lo tanto, se han planteado nuevas características adicionales que pudieran considerarse en su debido tiempo como elementos centrales acerca de la conceptualización del cáncer (Figura 2) (Hanahan, 2022).

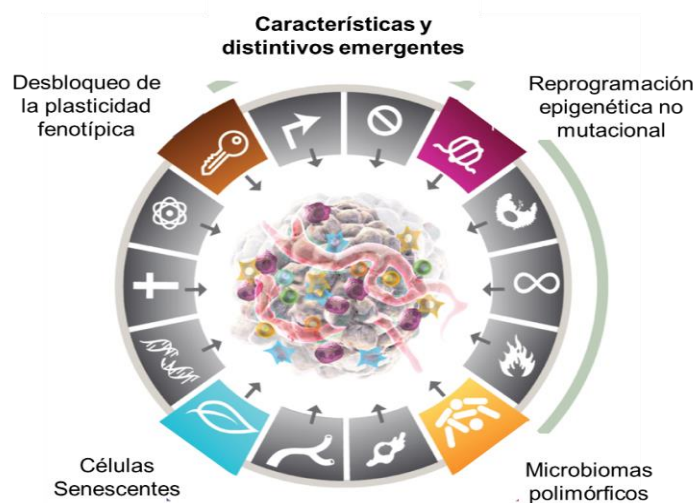


Fig 2. Características distintivas adicionales de las células tumorales. Cuatro nuevos elementos que podrían ser considerados para conceptualizar el cáncer (Modificado de Hanahan, 2022).

- **Epidemiología**

Durante el año 2022, el Observatorio Global de Cáncer (GLOBOCAN) reportó aproximadamente 19.9 millones de casos nuevos de cáncer y alrededor de 9.7 millones de defunciones a causa de esta enfermedad. Estos datos corresponden al análisis de 186 países, para una población de ambos sexos y un rango de edad estimado entre 0-85 años (Figura 3) (GLOBOCAN, 2022).

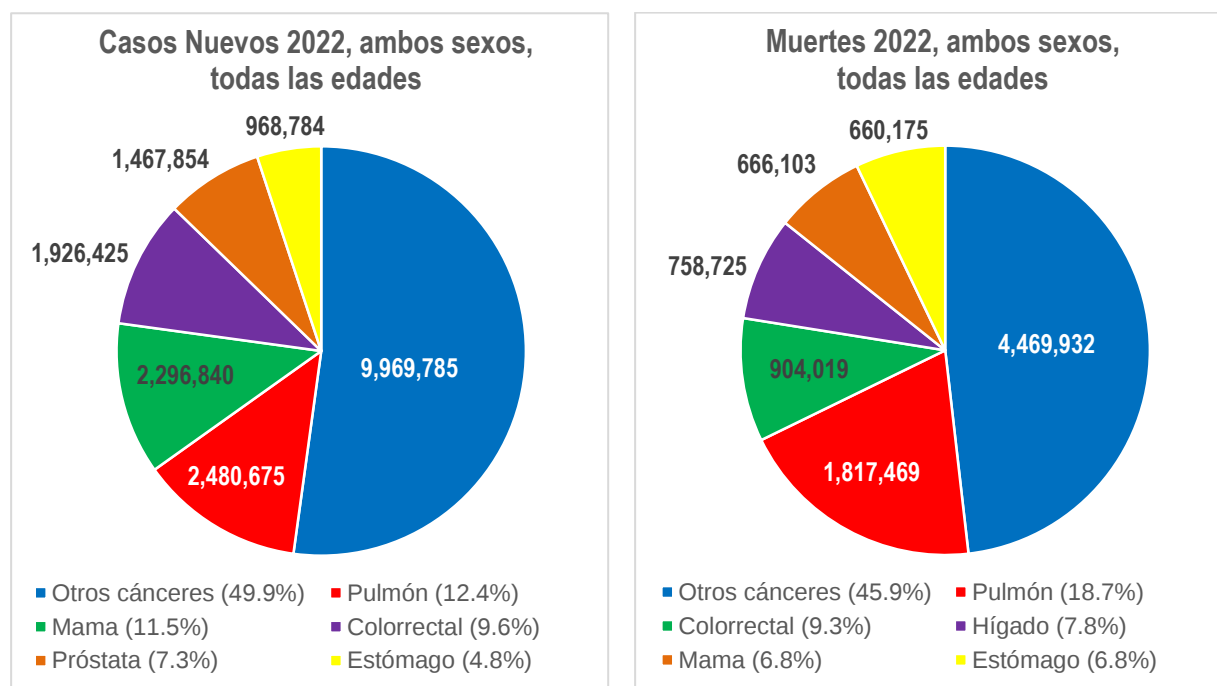


Fig 3. Número de casos nuevos y muertes por cáncer a nivel mundial. Durante el 2022, se detectaron 19,976,499 casos nuevos de cáncer y 9,743,832 muertes por esta enfermedad (Modificado de GLOBOCAN, 2022).

Dentro de todos los tipos de cáncer, el cáncer de pulmón (12.4%), mama (11.5%), colorrectal (9.6%), próstata (7.3%) y estómago (4.8%) ocupan los primeros cinco lugares en cuanto a tasas de incidencia se refiere. Por su parte, en cuanto a la tasa de mortalidad, se observa que el cáncer de pulmón ocupa el primer puesto con el 18.7% del total de muertes por cáncer, seguido por el cáncer colorrectal (9.3%), hígado (7.8%), mama (6.8%) y estómago (6.8%) (Figura 3) (GLOBOCAN, 2022).

El panorama a nivel nacional no es menos desalentador debido a que el número de casos nuevos y muertes por cáncer ha ido en aumento durante los últimos 10 años. En este sentido, GLOBOCAN reportó que, durante el 2022 se diagnosticaron 207,154 casos nuevos y 96,210 personas fallecieron a causa de algún tipo de cáncer. Dentro de todos los tipos de cáncer, se ha reportado que el cáncer de mama (15%), próstata (12.8%) y colorrectal (7.8%) son los que presentan las tasas de incidencia más elevadas, por otra parte, el cáncer colorrectal (8.6%) ocupa el primer lugar en tasas de mortalidad por cáncer, seguido por el cáncer de mama (8.5%) y el cáncer de pulmón (8.1%). Cabe mencionar que estos datos representan el análisis de una población de ambos sexos y un rango de edad de 0-85 años (Figura 4) (GLOBOCAN, 2022).

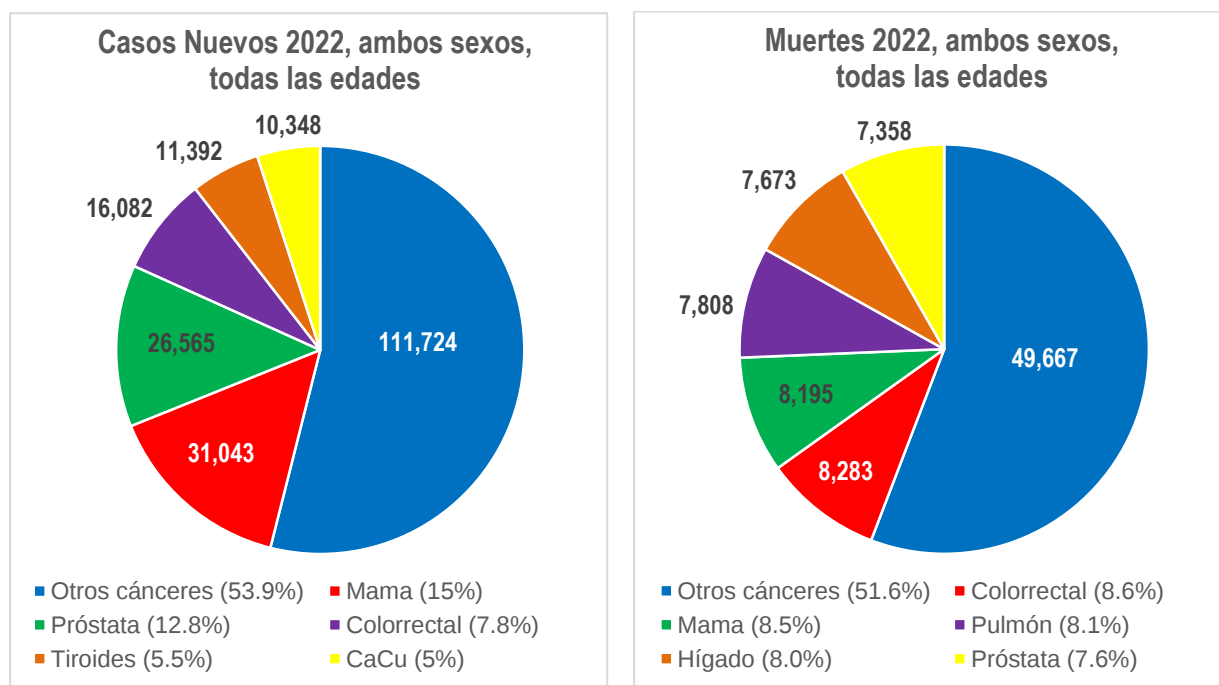


Fig 4. Número de casos nuevos y muertes por cáncer en México. Durante el 2022, se detectaron aproximadamente 207,000 casos nuevos de cáncer y 96,000 muertes por esta enfermedad (Modificado de GLOBOCAN, 2022).

El Observatorio Global de Cáncer estima que para el año 2045 el número de casos nuevos aumentará de 19.9 millones a 30.9 millones aproximadamente,

mientras que el número de muertes ascenderá de 9.7 millones a alrededor de 16.6 millones (GLOBOCAN, 2022).

- **Factores de Riesgo**

De manera general, resulta prácticamente imposible saber por qué algunas personas padecen cáncer, mientras que otras no lo padecen a lo largo de la vida. Sin embargo, las investigaciones han contribuido a identificar factores de riesgo que aumentan en gran medida la probabilidad de desarrollar algún tipo de cáncer en particular.

Se han identificado ciertos factores de riesgo que son comunes para el desarrollo de cualquier tipo de cáncer, además, se considera que algunos de estos factores son modificables como el consumo de tabaco y alcohol o la exposición a la radiación y compuestos químicos, mientras que otros son inherentes a los procesos biológicos en general, como la edad y los antecedentes familiares (NIH, 2015).

Los factores de riesgo más conocidos o que más se han estudiado en relación a favorecer el desarrollo de cáncer son: **alcohol, dieta, edad, hormonas, luz solar, radiación, tabaquismo e inflamación.**

Alcohol: se sabe ampliamente que el consumo excesivo de bebidas alcohólicas aumenta el riesgo de desarrollar cáncer, tales como cáncer de boca, garganta, esófago, laringe, hígado y estómago. Aunque se ha sugerido que ciertos compuestos del vino tinto, como el resveratrol, posee capacidades antitumorales, no hay evidencia de que el consumo de vino tinto disminuya el riesgo de desarrollar cáncer (NIH, 2015).

Dieta: muchas investigaciones han tratado de dilucidar la posibilidad de que ciertos alimentos poseen capacidades pro o antitumorales. Por ejemplo, se sabe que el riesgo de desarrollar cáncer es menor en las poblaciones que consumen mayor cantidad de frutas y hortalizas, también diversos estudios en líneas celulares y modelos animales han observado que ciertos compuestos aislados de

diferentes alimentos tienen diferentes propiedades a favor y en contra del desarrollo tumoral (NIH, 2015; Robles-Agudo et al., 2005).

Sin embargo, las causas del cáncer son sumamente complejas y resulta complicado apreciar la importancia de los distintos componentes de una dieta sin tomar en cuenta otros grupos de factores que también contribuyen al desarrollo de esta enfermedad. Por otra parte, estos son algunos alimentos o nutrientes que se han asociado con un bajo o alto riesgo de padecer cáncer:

- *Acrilamida*: esta sustancia química presente en el humo del tabaco se ha asociado con un aumento en el riesgo de desarrollar cáncer. También se encuentra en algunos alimentos y se produce al calentar algunos vegetales como las papas a temperaturas muy altas.
- *Antioxidantes*: estas sustancias que tienen la capacidad de inhibir la actividad de radicales libres se han asociado con la disminución de desarrollar cáncer. Los antioxidantes son muy abundantes en alimentos como frutas (arándanos, fresas, manzanas) y verduras (zanahorias, espinacas, tomates), y también en algunas semillas.
- *Edulcorantes artificiales*: existen muchos estudios acerca del efecto que ejercen estos aditivos, principalmente sobre aquellos que han sido aprobados por la FDA como la sacarina, aspartamo, acesulfamo de potasio, etc. En este sentido, aunque no se hayan observado efectos adversos sobre la salud o una relación causal significativa entre el consumo de estos edulcorantes y el desarrollo de cáncer en modelos animales, existen muchos estudios de cohorte donde se muestran que los pacientes con algún tipo de cáncer presentan niveles elevados de algún tipo de edulcorante artificial.
- *Carne carbonizada*: las aminas heterocíclicas y los hidrocarburos aromáticos son sustancias que se forman al cocinar carne de diferentes fuentes animales a altas temperaturas. Se sabe que la exposición a altas concentraciones de estas sustancias aumenta en gran medida el riesgo de desarrollar cáncer.

Edad: la edad avanzada es el principal factor de riesgo para el desarrollo de muchas enfermedades, dentro de ellas, el cáncer en general. Existe una relación positiva entre el aumento de la edad y las tasas de incidencia más elevadas de algún tipo de cáncer en particular. Diversas teorías han tratado de explicar la relación entre una edad más avanzada y el aumento en el desarrollo del cáncer, las más estudiadas y aceptadas es la pérdida de la función o la expresión de la enzima telomerasa, la acumulación de múltiples radicales libres, el silenciamiento de genes supresores de tumores y la acumulación de mutaciones en el ADN (NIH, 2015; MAYO Clinic, 2024).

Hormonas: se ha demostrado que los estrógenos también poseen efectos carcinogénicos. Aunque normalmente estas hormonas tienen funciones fisiológicas esenciales en las mujeres, una exposición a largo plazo o concentraciones elevadas en sangre se han relacionado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama. Por ejemplo, las mujeres que se someten a una terapia hormonal para tratar la menopausia (estrógeno más progestina) aumenta de 2 a 6 veces el riesgo de cáncer de mama (NIH, 2015).

Luz solar y Radiación: el sol, lámparas solares y cámaras que emiten radiación ultravioleta (UV) causan envejecimiento prematuro de la piel y daños severos que pueden resultar en cáncer de piel como basaliomas, carcinomas de células escamosas o melanomas. Asimismo, la radiación de alta energía como rayos X o rayos gamma causa daños severos al ADN (NIH, 2020).

Tabaquismo: se ha definido que el consumo de tabaco es la principal causa de cáncer y de muerte por esta enfermedad. De manera general, las personas que fuman o que están alrededor del humo producido por el cigarro de forma constante tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer porque los productos derivados del tabaco poseen diversas sustancias químicas que generan mutaciones a nivel del ADN. Además, el tabaco es el factor de riesgo que se ha relacionado con una mayor cantidad de tipos de cáncer, tales como el cáncer de pulmón, laringe, boca, esófago, garganta, vejiga, riñón, hígado, mama, estómago, páncreas, colon, recto, cervicouterino e incluso leucemia mieloide aguda (NIH, 2020).

Inflamación: recientemente, una plétora de evidencias provenientes de investigación básica y datos clínicos indican que la presencia prolongada de moléculas y vías inflamatorias promueven la aparición y el desarrollo de diversos tipos de cáncer. Las citocinas proinflamatorias, como la IL-6, IL-1 β y el TNF- α , así como ciertos factores de transcripción como el NF- κ B y STAT3 resultan elementos claves en este proceso. Durante un proceso de inflamación crónica, los mecanismos involucrados se pueden desencadenar aun en ausencia de una infección o lesión, son desregulados y no cesan cuando deberían terminar. Con el tiempo, esta inflamación crónica puede ocasionar daños severos al ADN y provocar el cáncer (Xie et al., 2025; NIH, 2015).

En las últimas décadas se ha incrementado la evidencia de que el uso de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), particularmente la aspirina, reduce la incidencia y mortalidad de distintos tipos de cáncer, especialmente el cáncer colorrectal. Otros antiinflamatorios no esteroideos han mostrado efectos antitumorales significativos, por ejemplo, un derivado de la indometacina, denominado CZ-212-3, mostró efectos antitumorales en células de cáncer de próstata resistente a la castración. Estos datos sugieren que el uso de AINEs aprobados por la FDA son fármacos prometedores para la prevención y el tratamiento de distintos tipos de cáncer, además, refuerza la idea de que la inhibición o detención del proceso inflamatorio crónico contribuye a reducir la progresión tumoral (Burn et al., 2020; Wang et al., 2021).

Los estudios epidemiológicos del cáncer son esenciales para desarrollar estrategias de salud que proporcionen datos cruciales para identificar factores de riesgo relacionados con el cáncer en general. Aunque algunos casos de cáncer pueden llegar a ser inevitables, es responsabilidad de los gobiernos establecer políticas que puedan reducir la exposición a nivel poblacional a ciertos factores de riesgo ampliamente conocidos como el tabaquismo, el consumo de alcohol y las enfermedades infecciosas (Wu, Xia & Lin, 2024).

Microambiente tumoral

Las células tumorales se ven altamente influenciadas por diversos elementos presentes en los tejidos circundantes, lo cual forma un nicho especializado denominado Microambiente Tumoral. Este nicho es un entorno heterogéneo compuesto por vasos sanguíneos, fibroblastos, adipocitos, células inmunitarias y las propias células tumorales. La diversa composición celular promueve la liberación de una amplia gama de moléculas de señalización y proteínas que tienen la capacidad de alterar la biología del tumor y, por lo tanto, su respuesta a múltiples tratamientos (Frankiw & Li, 2022).

Durante la última década, diversas investigaciones se han centrado en dilucidar los cambios espacio-temporales en diversos componentes del microambiente tumoral, así como también los cambios que se presentan en las células transformadas a medida que progresan a células malignas, invasivas y metastásicas. En relación a esto, se sabe que el microambiente tumoral no solo abarca componentes celulares, sino también elementos de la matriz extracelular, factores de crecimiento y metabolitos que influyen en la tumorigénesis y progresión tumoral (Figura 5) (Yuan, Almagro & Fuchs, 2024; de Visser & Joyce, 2023).

Uno de los mecanismos que se han estudiado recientemente es la competencia celular durante la tumorigénesis, un proceso en el cual una célula transformada solo puede proliferar cuando se encuentra alrededor de otras células transformadas. En 2021, Yum y colaboradores demostraron que enterocitos transformados con mutaciones en KRAS y PI3K son capaces de secretar moléculas que frenan la actividad normal de células madre sanas, lo cual les otorga una ventaja competitiva frente a células vecinas sanas (Yum et al., 2021).

Por su parte, las investigaciones sobre cómo influye la presencia de un proceso inflamatorio en la tumorigénesis y la progresión tumoral ha cobrado una gran relevancia desde la identificación de los puntos de control inmunitario y el uso de la inmunoterapia para el tratamiento contra el cáncer. Sin embargo, la relación

inflamación-cáncer es un fenómeno que ha sido estudiado desde finales del siglo XIX. Durante muchos años se ha comparado la inflamación inducida por cáncer con la respuesta inflamatoria observada en lesiones o heridas, no obstante, mientras el proceso de cicatrización es un fenómeno altamente orquestado entre células inmunitarias innatas y adaptativas que resulta en la restauración tisular y subsecuentemente la contención de un proceso inflamatorio exacerbado, la inflamación en el contexto de un tumor en crecimiento se caracteriza por una comunicación cruzada entre células inmunitarias que no cesa. Bajo la influencia de una señalización inflamatoria constante, los niveles de hipoxia y pH bajos, esta inflamación se vuelve crónica y dañina (Balkwill & Mantovani, 2001; Dvorák, 1986).

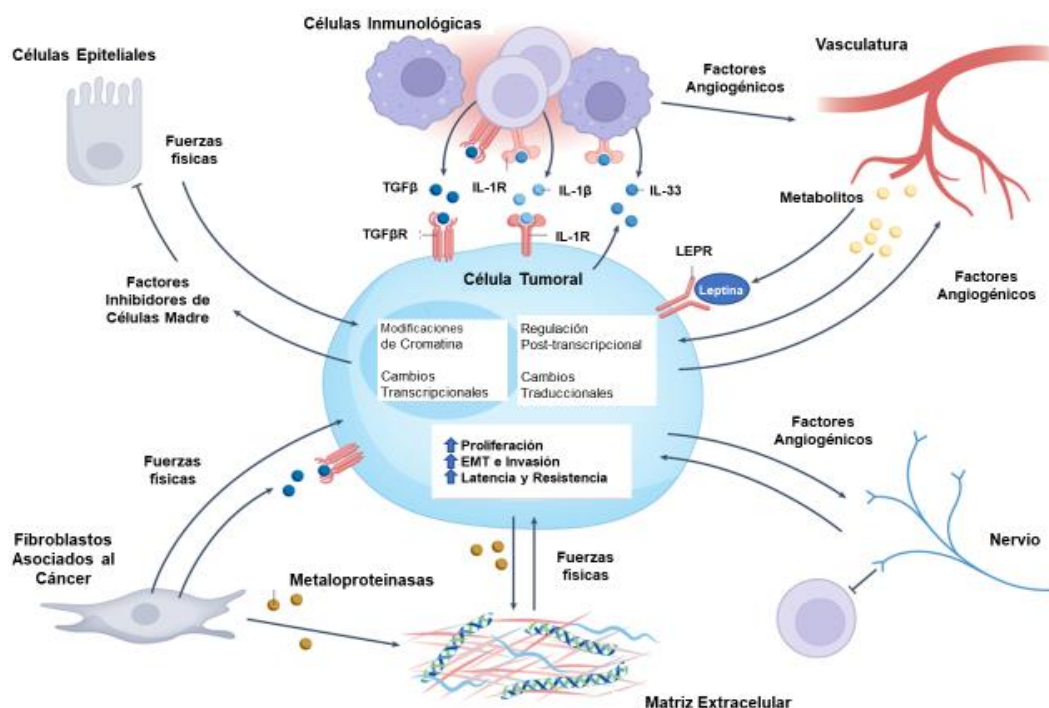


Fig 5. Elementos del Microambiente Tumoral que interaccionan con las células tumorales, impulsando su potencial metastásico. Las células epiteliales malignas inhiben la función de las células madre epiteliales. Por su parte, la liberación de citocinas inmunomoduladoras estimulan la liberación de citocinas proinflamatorias que favorecen la actividad de células tumorales. La producción de factores angiogénicos favorece la formación de nuevos vasos para suministrar nutrientes a las células malignas. También se ha demostrado que los CAF producen citocinas proinflamatorias y liberan enzimas que promueven la remodelación de la Matriz Extracelular (Modificado de Yuan et al., 2024).

Otro aspecto interesante entre la relación inflamación-cáncer proviene del hecho de que la exposición a un estímulo inflamatorio proporciona cierta memoria inflamatoria a las células madre posterior a la disminución del proceso inflamatorio. Estos llamados “dominios de memoria” mantienen sus genes en un estado activo y preparado para una reactivación rápida e hipersensible ante un estímulo estresante. Por su parte, a pesar de la capacidad que tiene la inflamación para acelerar la tumorigénesis en células oncogénicas que expresan Ras, la expresión de *HRAS* puede por sí sola desencadenar señales desreguladas dentro del microambiente tumoral que progresan a tumores con características invasivas (Larsen et al., 2021; Yuan et al., 2022).

Junto con la inflamación y las células inmunológicas, los Fibroblastos Asociados al Cáncer (CAF, del inglés *Cancer Associated Fibroblasts*) forman parte importante del microambiente tumoral de muchos tumores. Los CAF son células con fenotipo heterogéneo intratumoral que funcionan críticamente en la remodelación de la matriz extracelular y también en la comunicación con células tumorales y linfocitos infiltrados. El origen de los CAF en los tumores aún no se ha esclarecido por completo, sin embargo, se sabe que puede variar según el tipo de cáncer y el estadio clínico del tumor. Por ejemplo, pueden originarse a través de la conversión de miofibroblastos a fibroblastos, así como de las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea, células estrelladas y CAF derivados de adipocitos (Raz et al., 2018; Bochet et al., 2013).

Los Fibroblastos Asociados al Cáncer se pueden activar por diferentes mecanismos presentes en el microambiente tumoral, los cuales incluyen mediadores inflamatorios y cambios en la integridad de la matriz extracelular. El hecho de que factores solubles como TGF- β , IL-6 y TNF- α activen a los CAF pone en evidencia la amplia relación entre la inflamación y los fibroblastos durante el desarrollo y progresión tumoral. Al igual que las células del sistema inmunológico, se ha observado que los CAF poseen funciones pleiotrópicas y opuestas en el microambiente tumoral. En 2010, Kraman y colaboradores observaron en ratones transgénicos de melanoma que la depleción de la proteína de activación de

fibroblastos α (FAP α) provocó una rápida necrosis hipóxica de células tumorales, por otra parte, Özdemir y colaboradores observaron que en ratones transgénicos de cáncer pancreático con deficiencia de miofibroblastos α -SMA+ hubo una mayor presencia de tumores invasivos indiferenciados con una reducción en la tasa de supervivencia (Kraman et al., 2010; Özdemir et al., 2014).

Otros mecanismos ampliamente estudiados del microambiente tumoral son la angiogénesis y linfangiogénesis, los cuales se desencadenan principalmente por señales provenientes de las células madre cancerosas. Tal como lo han demostrado los modelos *knock-out* del gen que codifica para el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA, del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor A*), el VEGFA es un potente inductor de la angiogénesis. El inicio de la angiogénesis durante la progresión tumoral es un proceso complejo que consta de una extensa comunicación cruzada entre células endoteliales, pericitos, células tumorales, células inmunológicas y fibroblastos asociados al cáncer (Fig 5), los vasos tumorales están constantemente expuestos a estímulos proangiogénicos, lo cual conduce a una vasculatura desorganizada y un revestimiento irregular de células endoteliales afectando directamente la oxigenación de los tumores, la dinámica de células inmunológicas y reduciendo la penetración de fármacos antitumorales (Beck et al., 2011; Lugano et al., 2020; De Palma et al., 2017).

Por su parte, se conoce menos sobre el papel de los vasos linfáticos en el proceso de tumorigénesis, sin embargo, sabemos que el origen de la metástasis comienza con la migración de células cancerosas a los ganglios linfáticos. Un estudio del 2020 sugiere que las células de melanoma podrían usar la vasculatura linfática como un medio para reducir la muerte celular por ferroptosis (Ubellacker et al., 2020).

Recientemente se ha comenzado a estudiar el efecto de los nervios y células neuronales en la progresión del cáncer. Por ejemplo, en un modelo de cáncer colorrectal con el oncogén *Apc* (del inglés, *Adenomatous polyposis coli*) que presenta el alelo Min/+ (del inglés, *Multiple intestinal neoplasia*), se observó que la vagotomía redujo significativamente el número de tumores, lo cual sugiere que las

neuronas sensoriales viscerales podrían funcionar como impulsores no genéticos de la tumorigénesis y progresión (Liu et al., 2015).

- **Condición inflamatoria crónica**

En 1863, el médico alemán Rudolf Virchow observó la presencia de glóbulos blancos en tejidos tumorales, estableciendo así la primera evidencia de una posible relación entre la inflamación y el cáncer. Actualmente, mucho se sabe acerca de los efectos que ejerce la inflamación sobre el desarrollo y progresión tumoral, así como las funciones pro y anti cancerígenas del sistema inmunológico. De hecho, se estima que entre el 15% y 20% de las muertes ocasionadas por tumores están relacionadas con un proceso inflamatorio crónico (Balkwill & Mantovani, 2001; Elinav et al., 2013).

Dentro de los múltiples factores inflamatorios que contribuyen a una mayor susceptibilidad al cáncer, las enfermedades infecciosas son reconocidas como causa primaria de tumorigénesis inducida por inflamación. La inflamación es una respuesta innata como consecuencia de la homeostasis tisular perturbada y la inflamación asociada con el desarrollo tumoral es desencadenada por la diversidad de células inmunológicas. Por su parte, el papel de los mecanismos reguladores de la respuesta inmune determina si el proceso inflamatorio ejerce sus efectos antitumorales o protumorales. La heterogeneidad tumoral se ve influenciada a través de los mecanismos de immunoedición y por los efectos antitumorales del sistema inmunológico, de forma paralela, la inflamación protumoral ejerce efectos inhibitorios sobre la inmunidad antitumoral, lo que conduce a modificaciones en la composición del microambiente tumoral y favorece el desarrollo cancerígeno y la transición de las células epiteliales a un fenotipo mesenquimal más agresivo (Elinav et al., 2013; Greten & Grivnickov, 2019).

Una de las primeras evidencias del papel de la inflamación en la progresión tumoral se derivó de estudios de inactivación de NF- κ B en células mieloides, donde el silenciamiento de la quinasa IKK β provocó una disminución del crecimiento tumoral en un modelo de cáncer asociado a colitis. De hecho, NF- κ B

es un regulador clave en la expresión de citocinas inflamatorias promotoras de la supervivencia y proliferación de células tumorales. Por ejemplo, la señalización desencadenada por IL-6, IL-17 e IL-11 promueve la tasa de proliferación de células tumorales bajo condiciones de hipoxia, bajos nutrientes, mínima producción de factores de crecimiento y papel antitumoral del sistema inmunológico (Greten et al., 2004; Putoczki et al., 2013).

Investigaciones recientes han sugerido que las modificaciones funcionales de las células inmunológicas se ven influenciadas por la reprogramación metabólica. El sistema inmunológico está asociado con el sistema digestivo, donde los procesos inmunomoduladores e inflamatorios están fuertemente conectados con el microbioma y los micronutrientes. Por un lado, las personas con deficiencia de micronutrientes son más susceptibles a infecciones debido a su bajo estado nutricional, por otra parte, una dieta con alto consumo calórico aumenta la acumulación de grasa corporal y obesidad, ocasionando una condición de inflamación crónica (Hatch-McChesney & Smith, 2023, Barrea et al., 2021).

Adicionalmente, comprender los mecanismos inflamatorios que conducen al proceso metastásico es crucial considerando que aproximadamente el 90% de las muertes por cáncer ocurren por enfermedad metastásica. Se ha demostrado que los procesos de invasión, migración y la transición epitelio-mesénquima (EMT, del inglés *epithelial-mesenchymal transition*), son influenciadas por la actividad inflamatoria en distintos tipos de cáncer, el TNF- α y la IL-1 β regulan directamente la expresión de factores de transcripción relacionados con la EMT como Twist y Slug. Además, en el cáncer de colon, la IL-11 favorece el reclutamiento de fibroblastos productores de TGF- β para promover la evasión inmunitaria y posteriormente la invasión tumoral. Por su parte, en el cáncer de mama, la IL-11 actúa sobre las células tumorales para favorecer la selección de clones más invasivos y malignos. Las células madre cancerosas son esenciales para la migración y metástasis, las señales inflamatorias provenientes de células tumorales potencian su pluripotencialidad y aumentan la proporción de células madre entre células tumorales. No obstante, aún queda esclarecer si los factores

inflamatorios y de crecimiento necesarios para el crecimiento tumoral primario y la proliferación y metástasis son los mismos para diferentes tipos de cáncer (Rothwell et al., 2012; Suárez-Carmona et al., 2017; Kryczek et al., 2014).

- **Citocinas proinflamatorias en cáncer**

El proceso inflamatorio asociado al desarrollo tumoral involucra una gran variedad de células inmunológicas, las cuales producen una amplia gama de citocinas, mediadores citotóxicos, metaloproteinasas, interleucinas, quimiocinas y factores solubles de muerte celular.

Las Interleucinas se consideran como el medio principal para la comunicación entre células inmunes y no inmunes, cumpliendo importantes funciones en el desarrollo y regulación tumoral. Recientemente, una plétora de evidencias provenientes de investigación básica y ensayos clínicos han demostrado el papel dual de diversas citocinas en función del tipo de cáncer y el estadio tumoral. Por ejemplo, la IL-37 ejerce efectos protumorales en el cáncer de colon, páncreas y piel, mientras que, en el cáncer vesicular, renal y de pulmón presenta funciones antitumorales. La IL-2 promueve el desarrollo de cáncer gástrico al regular el deterioro funcional de linfocitos T, sin embargo, inhibe la progresión del cáncer pancreático al mejorar el funcionamiento de linfocitos provenientes del bazo. La IL-6, considerada como la interleucina promotora de tumores por excelencia, favorece el crecimiento de células tumorales en el cáncer de próstata, ovario y mama, no obstante, se ha observado que también promueve la actividad fagocítica y citotóxica de macrófagos y linfocitos NK en el cáncer colorrectal. Uno de los descubrimientos más interesantes fue el hecho de que la IL-10, una citocina de carácter antiinflamatorio y reguladora de las respuestas inmunológicas, promueve el desarrollo del cáncer pulmonar y gástrico, pero inhibe el crecimiento tumoral en el cáncer de colon (Wang et al., 2022; Zhao et al., 2020; Jiang et al., 2015; Manore et al., 2022; Gao et al., 2020; Won et al., 2011).

Por otra parte, como la familia de citocinas mayoritariamente distribuidas se encuentran los Interferones (IFN), los cuales se clasifican en IFN de tipo I, II y III.

Los interferones α , β , κ , ϵ y ω pertenecen a la subfamilia tipo I, la subfamilia tipo II se refiere a los IFN- γ y la subfamilia tipo III se compone por IFN- γ 1, IFN- γ 2 e IFN- γ 3. Toda la familia de Interferones activa la transcripción de genes a través de la vía de señalización JAK/STAT. Por ejemplo, el Interferón α y β regulan la transcripción de genes río abajo de JAK/STAT en células tumorales y células inmunológicas para promover el desarrollo tumoral. Las funciones mediadas por los interferones en el cáncer son complejas y varían según el tipo de cáncer, la composición del microambiente tumoral, los niveles de interferón y los subtipos de interferón que desencadenen los efectos (Chow & Gale, 2015; Pestka et al., 2004).

A finales de la década de los 70's, se identificó que los macrófagos secretan una citocina denominada Factor de Necrosis Tumoral (TNF del inglés, *Tumor Necrosis Factor*), el cual puede inhibir el crecimiento tumoral. La superfamilia de los TNF se compone por 19 ligandos y 29 receptores, participando en múltiples mecanismos como la inflamación, apoptosis, proliferación, angiogénesis, migración e inmunidad. Debido a su papel pleiotrópico, las investigaciones se han centrado en el desarrollo de fármacos y terapias basadas en TNF, sin embargo, al igual que otras citocinas, la familia de TNF presenta efectos antitumorales y protumorales. Por ejemplo, el TNF- α actúa como el principal mediador de la inflamación asociada al cáncer y diversos antagonistas de estas proteínas y sus receptores aprobados por la FDA se encuentran en pruebas clínicas, tal es el caso del anticuerpo monoclonal Infliximab, que mejora los efectos de la quimioterapia en el tratamiento del cáncer de colon. Sin embargo, también está demostrado que la liberación de TNF- α y β es citotóxica y provoca la apoptosis de células tumorales, convirtiéndola en una alternativa para el tratamiento de diversos tipos de cáncer (Matthews & Watkins, 1978; Huang et al., 2017).

Otro grupo de citocinas presentes en el microambiente tumoral son las quimiocinas, las cuales son proteínas de aproximadamente 8-12 kDa que se unen a receptores de siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G, dentro de sus funciones se encuentra la quimioatracción o quimiotaxis, la adhesión y las interacciones célula-célula. Las quimiocinas desempeñan un papel fundamental en

la orientación de las células inmunológicas, inician y promueven una respuesta inmunitaria antitumoral eficiente. Sin embargo, también pueden promover la inmunidad protumoral al favorecer la interacción entre células inmunológicas y células tumorales en el microambiente tumoral (Ozga, Chow & Luster, 2021).

Diversas investigaciones han demostrado el papel de las quimiocinas presentes en el microambiente tumoral. Por ejemplo, dentro de la subfamilia CC, se ha observado que CCL1 promueve la progresión y la quimiorresistencia en el cáncer de esófago y colorrectal, sin embargo, inhibe la metástasis y quimiorresistencia en el cáncer de mama y pulmón. La quimiocina CCL3 promueve el crecimiento tumoral, favorece la transición epitelio-mesénquima y la migración e invasión de células de cáncer de mama a través de la vía PI3K/Akt/mTOR, sin embargo, se ha observado que la terapia combinada CCL3 y anticuerpos monoclonales dirigidos contra PD-1 inhiben el crecimiento de células de glioblastoma. Quimiocinas como CCL2, CCL5, CCL7/8/9, CCL17/18, CCL20 y CCL24/25 solo han mostrado efectos protumorales en cáncer de mama, pulmón, colorrectal, páncreas y gástrico, por otra parte, aún no se han descrito quimiocinas con efectos puramente antitumorales (Fujikawa et al., 2021; Iwata et al., 2024; Luo et al., 2020; Wang et al., 2024; Xie et al., 2025).

En cuanto a la subfamilia CXC, Cheng y colaboradores observaron que la sobreexpresión de CXCL1 y su receptor CXCR2 promueven la invasión tumoral en el cáncer gástrico, en contraparte, Benelli y colaboradores observaron que la sobreexpresión de CXCL1 inhibe el desarrollo tumoral al limitar el escape de las células del tumor primario en el cáncer de próstata. Actualmente, se sabe que las quimiocinas CXCL3 y 4 y CXCL6, 7 y 8 solo ejercen funciones protumorales (Cheng et al., 2011; Benelli et al., 2013; Xie et al., 2025).

La composición del microambiente tumoral resulta sumamente complejo y heterogéneo, de igual forma, el tipo de cáncer determina en gran medida las respuestas exitosas a determinados tratamientos, por lo que el uso generalizado de fármacos y terapias ya no resulta eficiente para tratar el cáncer en un contexto global. Esta problemática actual nos conduce a rediseñar las estrategias

terapéuticas y a investigar el papel bifásico que puedan presentar la gran variedad de elementos presentes en el microambiente tumoral para el establecimiento de tratamientos más específicos y eficaces según el tipo de cáncer.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Cáncer de mama

Una de las neoplasias malignas más frecuentes en la población femenina a nivel mundial es el cáncer de mama, el cual está caracterizado por una alta tasa de proliferación de células cuyos genes han mutado y, por lo tanto, actúan suprimiendo y/o estimulando la actividad del ciclo celular de distintos fenotipos presentes en la glándula mamaria (CDC, 2020).

El sistema de la glándula mamaria está compuesto por células epiteliales, fibroblastos y un subconjunto de células madre y progenitoras luminales y basales que se encargan de modular los procesos del desarrollo y reparación de las glándulas mamarias (Samocha, et al., 2019).

Se sabe que las interacciones entre células epiteliales y mesenquimales son esenciales para el desarrollo normal de la glándula mamaria, así como para la tumorigénesis mamaria. Diversos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que las células que componen el microambiente de la glándula mamaria y las moléculas de la matriz extracelular juegan un papel importante en la modulación de la especificidad tisular mamaria normal, asimismo, modulan procesos como el crecimiento, proliferación, supervivencia e invasividad de las células de cáncer de mama. También se ha demostrado que la presencia de fibroblastos ayuda al desarrollo y promueve la proliferación de las células tumorales mamarias (Polyak, 2007; Samocha, et al., 2019).

Por otra parte, aproximadamente el 70-80% de todos los casos de cáncer de mama no metastásico en etapas tempranas son curables, sin embargo, el cáncer

de mama es una de las neoplasias más agresivas y la tasa de supervivencia promedio de manera global es de 5 años. Por su parte, la tasa de supervivencia para todos los estadios del cáncer de mama triple negativo es de 39% y, este porcentaje desciende hasta el 22% cuando el cáncer de mama se vuelve metastásico y se ha propagado a otros tejidos (Harbeck et al., 2019).

- **Epidemiología**

El cáncer de mama se ha convertido en el más frecuente de todos los tipos de cáncer que se desarrollan dentro de la población femenina. Durante el 2012, se estimaron aproximadamente 1.67 millones de casos nuevos a nivel mundial. Para el año 2022, el número de casos nuevos de cáncer de mama aumentó a 2.3 millones aproximadamente, representando el 11.5% del total de casos nuevos y ocupando el segundo lugar de neoplasias más frecuentes en ambos sexos a nivel mundial, solo por debajo del cáncer de pulmón (GLOBOCAN, 2012; 2022).

En México, el cáncer de mama también es el más frecuente en las mujeres desde el año 2006, cuando superó las tasas de incidencia del cáncer cervicouterino. Históricamente se ha observado que la mayor frecuencia de cáncer de mama se encuentra en los estados del norte y centro del país, en general, donde el nivel socioeconómico y cultural de las mujeres es más elevado. Por otra parte, en los estados donde predomina la población indígena y el nivel socioeconómico es menor, la frecuencia se observa mucho más baja (Figura 6) (INEGI, 2023).

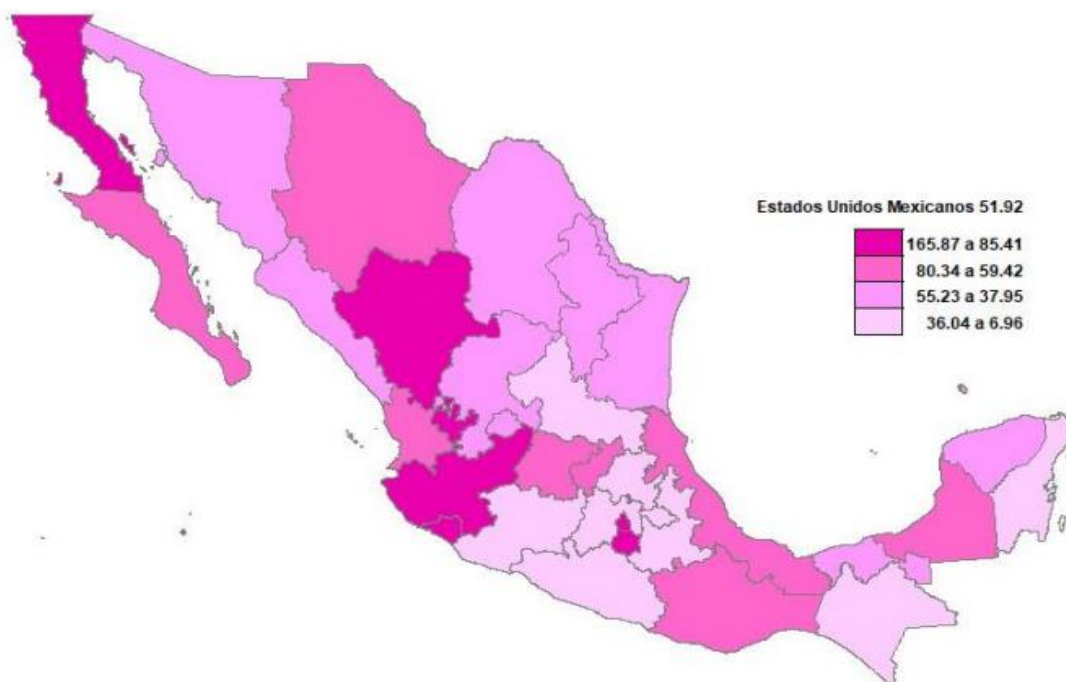


Fig 6. Incidencia de cáncer de mama en mujeres de 20 años o más por entidad federativa durante 2022 (Modificado de INEGI, 2023).

En cuanto a las tasas de mortalidad, en el mundo se producen aproximadamente 458,000 defunciones al año por cáncer de mama, siendo entre los tumores malignos la principal causa de muerte en las mujeres. Durante el año 2022, el cáncer de mama fue la cuarta causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial con un número estimado de 666,103 muertes, lo que representó el 6.8% del total de muertes por cáncer (OMS, 2025; GLOBOCAN, 2022).

Para el año 2022, se registraron 207,154 casos nuevos de cáncer en México en ambos sexos. En este sentido, 31,043 casos correspondían a cáncer de mama, lo cual representó el 15% del total de casos en ambos sexos y el 27.9% del total de casos solo en mujeres, más que cualquier otro tipo de neoplasia maligna. En cuanto a mortalidad, durante este mismo año se registraron 8,195 muertes por cáncer de mama, ocupando el primer lugar de muertes por cáncer en mujeres con un 16.5% (Figura 7) (GLOBOCAN, 2022).

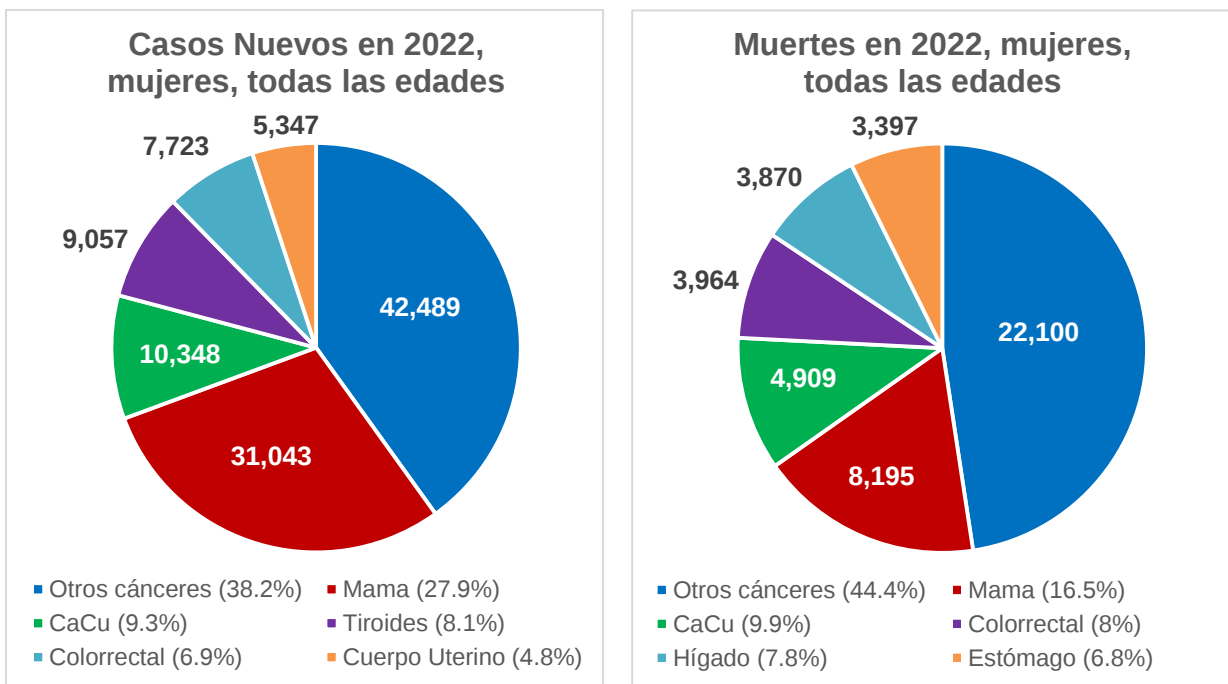


Fig 7. Incidencia y Mortalidad de cáncer en México durante 2022. Se observa que el cáncer de mama ocupa el primer lugar en casos nuevos y muertes en cuanto a cáncer se refiere (Modificado de GLOBOCAN, 2022).

- **Factores de riesgo**

A pesar de que las pruebas de detección temprana y los tratamientos han mejorado, las medidas preventivas siguen siendo un desafío importante. El aumento en la tasa de incidencia del cáncer de mama se debe mayoritariamente a los cambios demográficos, las tendencias reproductivas y los cambios en el estilo de vida, debido a esto, comprender los factores de riesgo del cáncer de mama es crucial para desarrollar estrategias preventivas contra esta enfermedad.

De manera general, los factores de riesgo del cáncer de mama incluyen la predisposición genética, los antecedentes reproductivos, el estilo de vida y las influencias hormonales, los cuales determinan la susceptibilidad de una persona a desarrollar esta enfermedad (Figura 8) (Momenimovahed & Salehiniya, 2019).

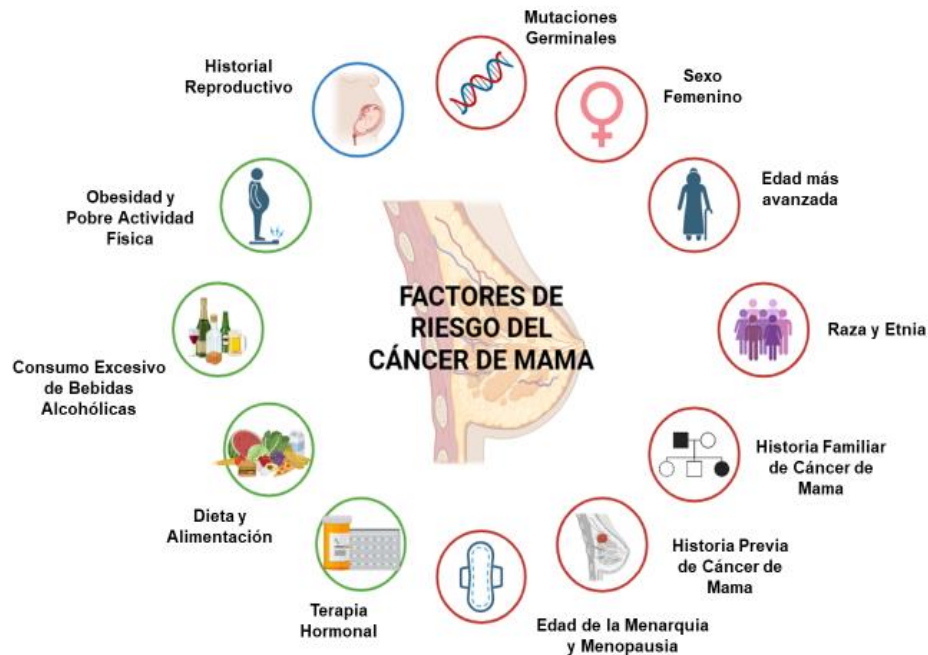


Fig 8. Factores de Riesgo del Cáncer de Mama. Los factores de riesgo no modificables se observan de color rojo, los modificables de color verde y los factores de antecedentes reproductivos de color azul (Modificado de García-Sancha et al., 2025)

Dentro de los factores no modificables se encuentran las mutaciones de la línea germinal (*BRCA*, *TP53* y *PTEN*), y aunque estos representan entre el 5-10% de todos los casos de cáncer de mama, pueden comprometer los mecanismos de reparación del ADN y desencadenar inestabilidad genómica y un aumento de la tumorigénesis. Las mujeres con mutaciones en el gen *BRCA1* presentan un riesgo acumulativo de cáncer de mama de entre 44-78%, mientras que para los portadores con mutaciones en *BRCA2* el riesgo se estima entre 31-56%. Cabe destacar que los portadores de *BRCA1* desarrollan con mayor frecuencia cánceres de mama triple negativos. Otros genes de alta penetrancia relacionados con el desarrollo de esta enfermedad son *TP53*, *PTEN*, *STK11* y *CDH1*. Las mutaciones del gen *TP53* se vinculan al síndrome de Li-Fraumeni, aumentando significativamente la susceptibilidad a múltiples tumores. Así mismo, el cáncer de mama es la neoplasia de mayor frecuencia con mutaciones en *TP53*, con aproximadamente el 50% de los casos diagnosticados antes de los 30 años. Por su parte, las mutaciones de *PTEN*, *STK11* y *CDH1* aumentan el riesgo de

desarrollar cáncer de mama en un 85%, 32% y del 39-52% respectivamente (Miki et al., 1994; Malkin et al., 1990; Lynch et al., 1997; Pharoah et al., 2001).

Se sabe ampliamente que el cáncer de mama afecta principalmente a la población femenina debido a las influencias hormonales y al desarrollo y función de las glándulas mamarias, sin embargo, el cáncer de mama también puede afectar a hombres, aunque representan menos del 1% de todos los casos a nivel mundial. Por su parte, la edad es considerada uno de los factores más determinantes para el desarrollo de cualquier tipo de cáncer. En este sentido, está ampliamente demostrado que a una edad más avanzada se presenta una mayor acumulación de alteraciones genéticas, epigenéticas y un mayor número de células senescentes, lo cual conduce a una mayor susceptibilidad a la carcinogénesis. Además, aproximadamente el 80% de todos los casos de cáncer de mama a nivel mundial ocurren en mujeres mayores de 50 años, con una edad media estimada de 60-65 años en el momento del diagnóstico (Shiovitz & Korde, 2015; Qing et al., 2020; DeSantis et al., 2019).

El desarrollo de cáncer de mama varía ampliamente entre diversos grupos étnicos. Por ejemplo, las mujeres no hispanas presentan las tasas de incidencia más elevadas en comparación con el resto de la población mundial. No obstante, las mujeres negras tienden a desarrollar cáncer de mama más rápido que las mujeres blancas, aproximadamente entre los 40-45 años. Un fenómeno interesante es el hecho de que las mujeres asiáticas que habitan en los países occidentales presentan una incidencia similar a las mujeres blancas después de varias generaciones, lo que pone en evidencia el papel de los factores ambientales y la alimentación en el desarrollo del cáncer. Por su parte, la población negra en general presenta tasas de mortalidad por cáncer de mama más elevadas en todas las edades, además, este grupo racial tiende a desarrollar con mayor frecuencia tumores de mama triple negativos. Se ha tratado de dilucidar cuáles son las modificaciones genéticas más significativas que influyen en las diferencias al momento del desarrollo tumoral del cáncer de mama, en este sentido, Porter y colaboradores observaron que las mujeres negras muestran una mayor expresión

de la ciclina E1, lo cual conduce a una tasa de proliferación más elevada. Por su parte, Keenan y colaboradores observaron una mayor frecuencia de mutaciones en el gen *TP53* en mujeres negras (Gómez et al., 2010; DeSantis et al., 2019; Chlebowski et al., 2005; Porter et al., 2004; Keenan et al., 2015).

La probabilidad de desarrollar cáncer de mama aumenta significativamente cuando un mayor número de familiares de primer grado han sido afectados por esta enfermedad. Se ha demostrado que el riesgo relativo es de 1.80 cuando hay un familiar de primer grado afectado, 2.93 cuando son dos familiares y 3.90 cuando aumenta hasta tres el número de familiares afectados. Por otra parte, este riesgo aumenta el doble cuando los familiares afectados fueron diagnosticados antes de los 50 años (Brewer et al., 2017).

Aproximadamente 1 de cada 10 mujeres con cáncer de mama que presentan una tasa de supervivencia mayor a un año posterior a la radioterapia o quimioterapia desarrollan un segundo tumor primario. En contraparte, el cáncer de mama también es uno de los tumores secundarios más comunes en personas que recibieron radioterapia torácica para el tratamiento de un cáncer previamente desarrollado. Este hecho pone en evidencia los efectos carcinogénicos de la radiación, además, Brenner y colaboradores realizaron un análisis de la incidencia de cáncer de mama en mujeres sobrevivientes a los efectos de la radiación provocados por las bombas lanzadas en Hiroshima y Nagasaki durante la segunda guerra mundial, observaron una relación significativa entre los niveles de radiación y un riesgo relativo de 1.56 de desarrollar cáncer de mama (Ramin et al., 2021; Brenner et al., 2018).

Durante décadas se ha descrito ampliamente que la menarquia temprana y la menopausia tardía se asocian significativamente a un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, esto debido a que la exposición del tejido mamario a los estrógenos se ve prolongado durante más tiempo. Esta exposición constante mejora la proliferación de células epiteliales de la mama y regula positivamente la expresión de factores de crecimiento y mediadores inflamatorios, facilitando la inestabilidad genómica y por ende el desarrollo tumoral. Se estima que la edad

promedio del inicio de la menarquia ha disminuido drásticamente desde 1850, de 16.5 años a 12 años actualmente, asimismo, la edad promedio de la menopausia ha ido en aumento, desde los 49 años en mujeres que nacieron en la década de 1910, 51 años en mujeres nacidas en 1930, hasta los 53 años en mujeres nacidas en la década de los 60's en adelante (Key et al., 2002; Parent et al., 2003).

En el año 2005, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, del inglés *International Agency for Research on Cancer*) clasificó la combinación de anticonceptivos orales y la terapia hormonal sustitutiva como elementos tumorigénicos del grupo 1, evidenciando que se presenta un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama en mujeres que usan estos fármacos. Además, un metaanálisis realizado en 1994 informó que las mujeres que usaron anticonceptivos orales presentaron un aumento en el riesgo relativo de desarrollar cáncer de mama, siendo persistente hasta 10 años después de suspender el tratamiento (Cogliano et al., 2005).

Dentro de los mecanismos modificables, se sabe que la dieta y el tipo de alimentación influye considerablemente en el desarrollo de cualquier enfermedad y el cáncer, particularmente el cáncer de mama, no es la excepción. Recientemente se ha considerado que la ingesta de micronutrientes participa en el proceso carcinogénico, por ejemplo, Brown y colaboradores observaron que el consumo de fósforo en altas concentraciones (1800 mg/día) aumenta 2.3 veces el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Por su parte, el estudio de Investigación Prospectiva Europea sobre el Cáncer y la Nutrición han demostrado que duplicar la ingesta de fibra diaria reduce en un 40% el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal y, aunque los efectos protectores de la fibra han sido mayormente estudiados en modelos de cáncer colorrectal, hay evidencia de que el consumo de frutas y verduras reduce el riesgo de desarrollar cáncer de mama, no obstante, esta relación aún permanece precaria. En consonancia con la alimentación, la obesidad también se considera un factor de riesgo determinante para el desarrollo de cáncer, por ejemplo, se sabe que las personas obesas muestran un estado inflamatorio crónico prolongado que facilita el desarrollo tumoral. Por otra parte, un metaanálisis del

2008 que recopiló datos de 2.5 millones de mujeres mostró resultados paradójicos pero interesantes, en este sentido, informaron que por cada aumento de 5 kg/m² sobre el IMC en mujeres premenopáusicas redujo en un 8% el riesgo de desarrollar cáncer de mama, en contraparte, en mujeres postmenopáusicas el riesgo aumentó en un 12% (Brown et al., 2023; Bingham et al., 2003; Elio & Teresa, 2003).

En el siglo XVIII, Bernardino Ramazzini observó una mayor incidencia de cáncer de mama en monjas en comparación con mujeres casadas que tenían hijos, lo que sugería una posible relación entre el historial reproductivo y el cáncer de mama. Fue en 1926 cuando la epidemióloga Janet Lane-Claypon observó que la incidencia de cáncer de mama era mayor en mujeres de nula paridad, paridad tardía o que no amamantaban a sus hijos, de igual forma, observó que esta incidencia disminuía cuando las mujeres tenían un mayor número de hijos. En la actualidad, se sabe que un embarazo temprano presenta efectos protectores a largo plazo contra el desarrollo de cáncer de mama, reduciendo en un 50% el riesgo de desarrollar esta enfermedad, además, el número de embarazos y la duración de la lactancia materna mejoran este efecto protector a largo plazo (Lane-Claypon, 1926; Meier-Abt & Bentires-Alj, 2014).

- **Fisiopatología**

Particularmente, el cáncer de mama tiene origen en distintas zonas anatómicas del seno, el cual se constituye por tres estructuras principalmente: *los lobulillos, los conductos y el tejido conectivo*. Generalmente, la mayor parte de casos diagnosticados de cáncer de mama comienzan su desarrollo en los conductos y en los lobulillos, representando entre el 70-80% y 5-7% respectivamente (CDC, 2020).

En 2017, Maffuz-Aziz y colaboradores realizaron un estudio descriptivo sobre las características clínicas y patológicas de mujeres con diagnóstico confirmatorio de cáncer de mama registradas en la base de datos del IEM-FUCAM. Las características evaluadas incluyeron la edad, el estadio clínico, el tipo y grado

histológico y el subtipo biológico. Fueron analizados un total de 4411 casos de mujeres con cáncer de mama (Maffuz-Aziz et al., 2017).

Se observó que, en el momento del diagnóstico, la edad promedio era de 53.7 años, siendo el grupo de 41 a 50 años de edad el más afectado (Figura 9). En cuanto al estadio clínico en el momento del diagnóstico, se observó un 6.8% de carcinomas *in situ* (etapa 0), un 36.4% en etapas tempranas (I y IIA), un 45.2% en etapas localmente avanzadas (IIB, IIIA, IIIB y IIIC), un 7.7% con enfermedad metastásica y un 3.9% no clasificable (NC) por manejo inicial externo a los datos registrados en el IEM-FUCAM (Figura 10) (Maffuz-Aziz et al., 2017).

De los 4411 casos de cáncer de mama analizados y en relación con la clasificación histopatológica establecida por la Organización Mundial de la Salud, el tipo histopatológico más frecuente fue el carcinoma ductal con una representación del 79% del total de casos evaluados (Figura 11). En este sentido, del total de carcinomas ductales invasores, el 9.1% correspondía a tumores bien diferenciados, el 54.1% a tumores moderadamente diferenciados y el 34.6% a tumores pobremente diferenciados (Maffuz-Aziz et al., 2017).

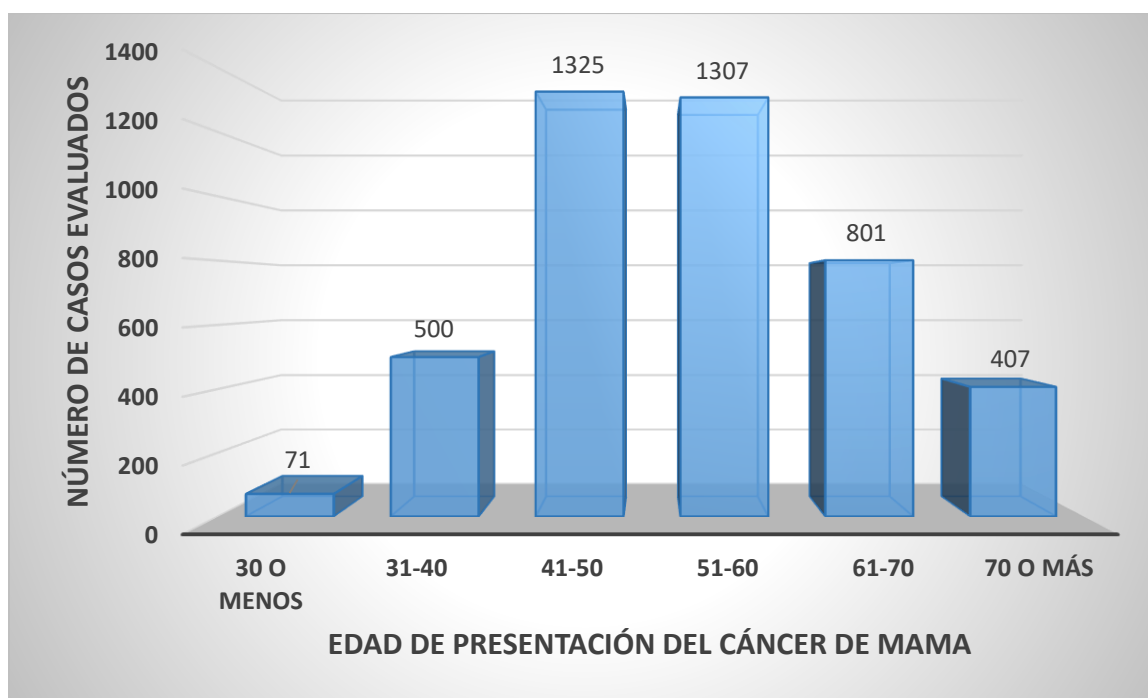


Fig 9. Distribución del cáncer de mama por edad. Análisis de 4411 casos de cáncer de mama registrados en el IEM-FUCAM (Modificado de Maffuz-Aziz et al., 2017).

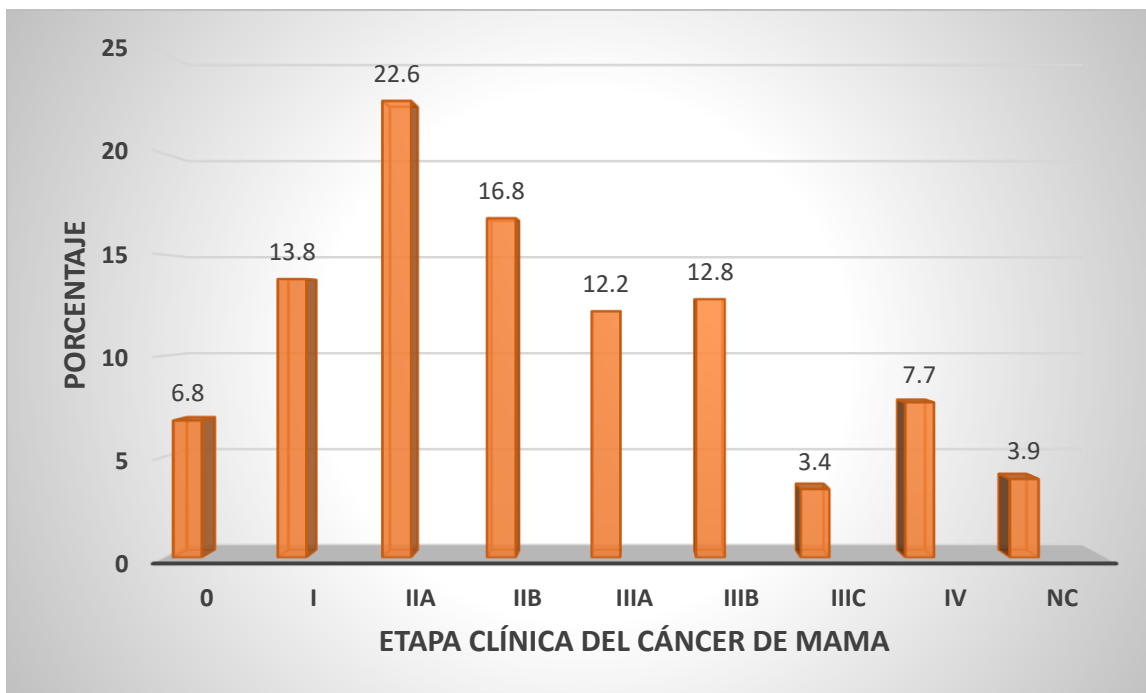


Fig 10. Distribución de las etapas clínicas al momento del diagnóstico de cáncer de mama (Modificado de Maffuz-Aziz et al., 2017).

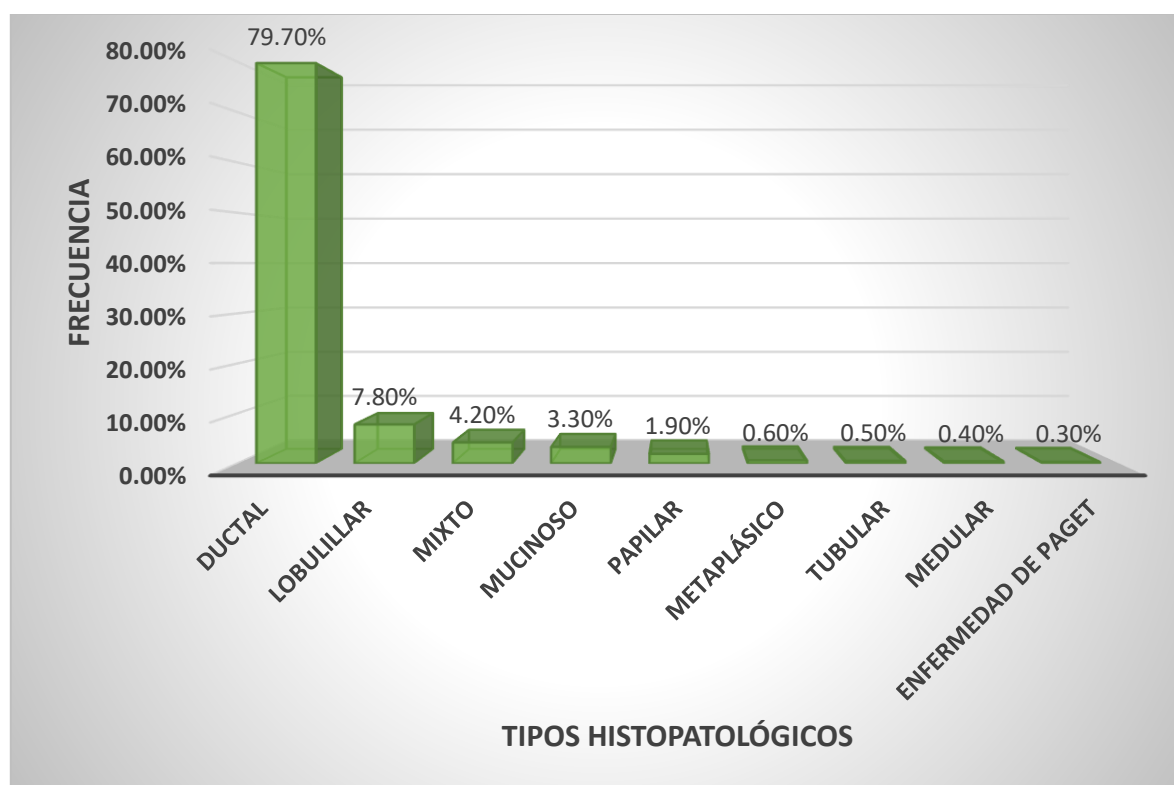


Fig 11. Frecuencia de los tipos histopatológicos de cáncer de mama. El carcinoma ductal y el carcinoma lobulillar representan los dos tipos histopatológicos más frecuentes en México y a nivel mundial (Modificado de Maffuz-Aziz et al., 2017).

Derivado de los trabajos de Perou y colaboradores, se han identificado diferentes fenotipos de cáncer de mama determinados por la variación de la expresión genética de las células, estableciendo la identificación de cuatro subtipos biológicos. Estos subtipos incluyen el fenotipo luminal, el fenotipo luminal HER-2 positivo, el fenotipo HER-2 positivo puro y el fenotipo triple negativo (Perou, Sorlie, Eisen et al., 2000).

Los fenotipos luminales son aquellos que expresan receptores a estrógenos o a progesterona a nivel nuclear y se ha demostrado que esta expresión es un factor determinante en la respuesta al tratamiento hormonal contra el cáncer de mama. Por otra parte, la sobreexpresión del oncogén HER-2 se ha considerado como un marcador de mala evolución en ausencia de tratamiento dirigido contra HER-2, lo cual se manifiesta como un aumento en la capacidad metastásica de células tumorales y una supervivencia libre de recurrencia y supervivencia global disminuidas. Además, el anticuerpo monoclonal Ki67 específico contra antígenos nucleares también se considera un factor pronóstico, generalmente se expresa en células que se encuentran en proliferación y contribuye a la determinación del fenotipo luminal A (RE+, RP+, HER2- y Ki67 < 20%) o luminal B (RE+, RP+, HER2-/+ y Ki67 > 20%) (Perou et al., 2000).

En este sentido, en 2015, Kast y colaboradores analizaron patrones de metástasis en diferentes fenotipos de cáncer de mama clasificados en luminal A, luminal B/HER-2 negativo, triple positivo, HER-2 puro y triple negativo. Los investigadores analizaron el estadio del tumor al momento del primer diagnóstico, así como el momento y sitio de metástasis al momento del primer diagnóstico de enfermedad metastásica, en este trabajo se evaluaron muestras tumorales de 2284 pacientes con cáncer de mama primario. Haciendo hincapié en los casos de cáncer de mama triple negativo, los resultados de este análisis mostraron que el 75.9% de estos pacientes con una tasa de supervivencia libre de recurrencia a 3 años expresaban el fenotipo triple negativo. De la misma manera, este fenotipo se presentó con una frecuencia del 45.5% en los casos de enfermedad metastásica (Kast, Link, Friederich et al., 2015).

Generalmente, la tasa de supervivencia global tiende a ser más favorable en aquellos pacientes cuyos tumores mamarios resultan positivos a la expresión de receptores hormonales, como en el caso de los fenotipos luminal A y luminal B, seguido de aquellos pacientes que presentan altos niveles de expresión del oncogén HER-2 (particularmente todos aquellos que reciben el tratamiento anti-HER2). Por otra parte, los pacientes que presentan el pronóstico y la esperanza de vida más desfavorable son aquellos con tumores que no expresan receptores hormonales y tampoco expresan el receptor HER-2, es decir, aquellos que por sus características fenotípicas se han denominado triples negativos (Kast, Link, Friederich et al., 2015).

Interleucina 8 (IL-8)

La interleucina 8 (IL-8) es una citocina de naturaleza proinflamatoria perteneciente a la familia de las quimiocinas. Fue purificada y clonada por primera vez como factor quimiotáctico de neutrófilos en el sobrenadante de células mononucleares humanas que se estimularon con lipopolisacáridos, derivado de esto, se ha observado que presenta actividad quimiotáctica para leucocitos polimorfonucleares, monocitos, células dendríticas y linfocitos T y B (Matsushima et al., 1992; Strieter, 2002).

La IL-8 es un miembro de la familia de quimiocinas CXC, por lo tanto, también se denomina CXCL8 en relación a los sistemas de nomenclatura para quimiocinas. El gen que codifica para esta citocina se ubica en la posición q12-q21 del cromosoma 4 en seres humanos y consta de cuatro exones y tres intrones. Además, la región 5' de IL-8 contiene estructuras en forma de cajas "CCAAT" y "TATA" y posee varios sitios de unión para factores transcripcionales (Figura 12) (Luster, 1998; Wu et al., 1997).

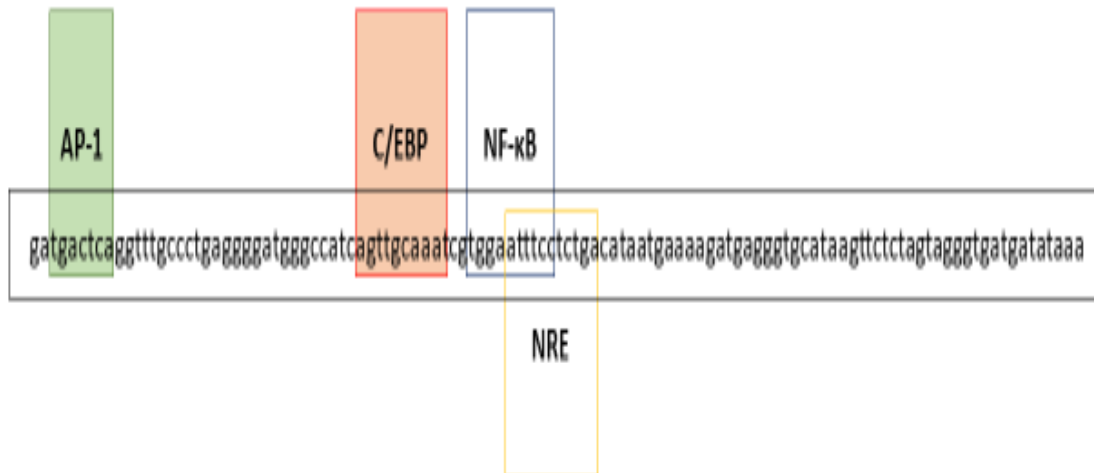


Fig 12. Representación de la secuencia de aminoácidos del promotor del gen que codifica para IL-8. Se enmarcan en cuadros de colores los sitios de unión identificados para los factores de transcripción que regulan la expresión del gen que codifica para la IL-8 (Modificado de Nourbakhsh, 2001).

El ADNc de IL-8 codifica una proteína precursora de 99 aminoácidos que se escinde para formar proteínas maduras de aproximadamente 72-77 aminoácidos. La IL-8 puede ser sintetizada y secretada por leucocitos y por células somáticas no leucocíticas, incluidas las células endoteliales, fibroblastos y células epiteliales. En condiciones fisiológicas, la expresión de IL-8 no es de origen constitutivo, sino inducible por otras citocinas proinflamatorias y otros estímulos presentes en el microambiente extracelular, mientras que sus receptores homólogos (CXCR1 y CXCR2) se expresan típicamente en monocitos, granulocitos y células endoteliales. La producción de IL-8 depende ampliamente de la activación en la vía de señalización NF-κB y genera de manera canónica la activación de las cascadas de señalización PI3K/Akt y MAPK (Baggiolini et al., 1997; Matsushima et al., 1992; Liu et al., 2016).

La expresión de IL-8 asociada al desarrollo tumoral se observó por primera vez en 1991 en líneas celulares de melanoma maligno y se consideró que su expresión desempeñaba un papel en la regulación del crecimiento y la metástasis del melanoma. Se ha demostrado que la expresión de IL-8 influye en la biología de diversos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de colon, próstata, mama, páncreas

y pulmón. Estos tumores se caracterizan por altos niveles de expresión de IL-8, aunado a una expresión y señalización desregulada de su receptor (Zachariae et al., 1991).

Entre los diversos mecanismos que contribuyen a la progresión tumoral se encuentra el fenómeno de Transición Epitelio-Mesénquima, un proceso de plasticidad fenotípica que aumenta la motilidad e invasividad de las células tumorales e influye en el microambiente tumoral al promover la secreción de factores solubles como IL-8. Esta quimiocina presenta múltiples funciones pro-tumorales, las cuales incluyen el aumento en la capacidad proliferativa y la transformación de células malignas en un fenotipo migratorio o mesenquimatoso, además, se ha observado que favorece la angiogénesis tumoral y el reclutamiento de células inmunosupresoras que expresan puntos de control inmunitario a nivel membranal (Cheng et al., 2019; Fousek et al., 2020).

- **Receptor a IL-8 y vías de señalización**

La función de la IL-8 se basa en su interacción con receptores acoplados a proteínas G presentes en la superficie celular, CXCR1 (IL-8 α) y CXCR2 (IL-8 β), los cuales están codificados por un gen ubicado en la región q33-q36 del cromosoma 2 en seres humanos. La unión de IL-8 a estas dos isoformas de receptores desencadena diferentes vías de señalización, aunque CXCR2 se considera su principal receptor funcional. Además, se ha observado que la interacción CXCL8/CXCR1 promueve principalmente la proliferación tumoral, mientras que la interacción CXCL8/CXCR2 promueve la migración y angiogénesis (Brat et al., 2005; Araki et al., 2007).

Se ha observado que la vía PI3K/Akt actúa como la principal señal intracelular de IL-8, la activación de esta cascada desempeña un papel fundamental en la supervivencia, la angiogénesis y la migración tumoral. También se ha demostrado la activación de la cascada de señalización Raf-1/MAP/Erk perteneciente a las MAPK inducida por IL-8 tanto en neutrófilos como en células de cáncer de

próstata, este mecanismo de activación es a través de la vía PI3K/Akt en neutrófilos y mediante la transactivación del EGFR en líneas celulares de cáncer de ovario y de pulmón (Knall et al., 1996; Luppi et al., 2007).

La IL-8 también estimula la señalización de la Fosfolipasa C (PLC) que a su vez induce la fosforilación de la Proteína Cinasa C (PKC). Se ha observado que IL-8 promueve la migración de células tumorales humanas mediante la activación de la vía de señalización PKC dependiente de PLC, este mecanismo aunado a un aumento en la concentración de Ca^{+2} citosólico por acción del IP_3 regulan el citoesqueleto de actina, potenciando la migración tumoral (Lang et al., 2002).

En el 2017, Guo y colaboradores demostraron que la activación de CXCR1/2 inducida por IL-8 promovía la activación del factor de transcripción STAT3 en células PC-3 de cáncer de próstata, además, esta activación fue dependiente de la concentración de IL-8. En relación a esta activación, observaron que la fosforilación de este elemento promovía significativamente la capacidad proliferativa y migratoria de estas células. Este resultado es interesante debido a que STAT3 es un elemento que regula positivamente la expresión de citocinas proinflamatorias en el microambiente tumoral, entre ellas la IL-8, lo que sugiere un posible mecanismo de retroalimentación positiva entre IL-8/STAT3. Además, STAT3 y NF- κ B pueden interactuar físicamente para potenciar la expresión de genes relacionados con el potencial metastásico (Guo et al., 2017).

Como resultado de la activación de diversas cascadas de señalización, se ha demostrado que la actividad de múltiples factores de transcripción se induce en respuesta a la señalización de IL-8. En este sentido, se ha demostrado que la señalización de IL-8 aumenta la actividad transcripcional del NF- κ B y que esta respuesta podría estar mediada por la fosforilación de la quinasa I κ K promovida por Akt como parte de la vía PI3K o como parte de la activación de STAT3 (Figura 13) (Wilson, Purcell, Seaton et al., 2008).

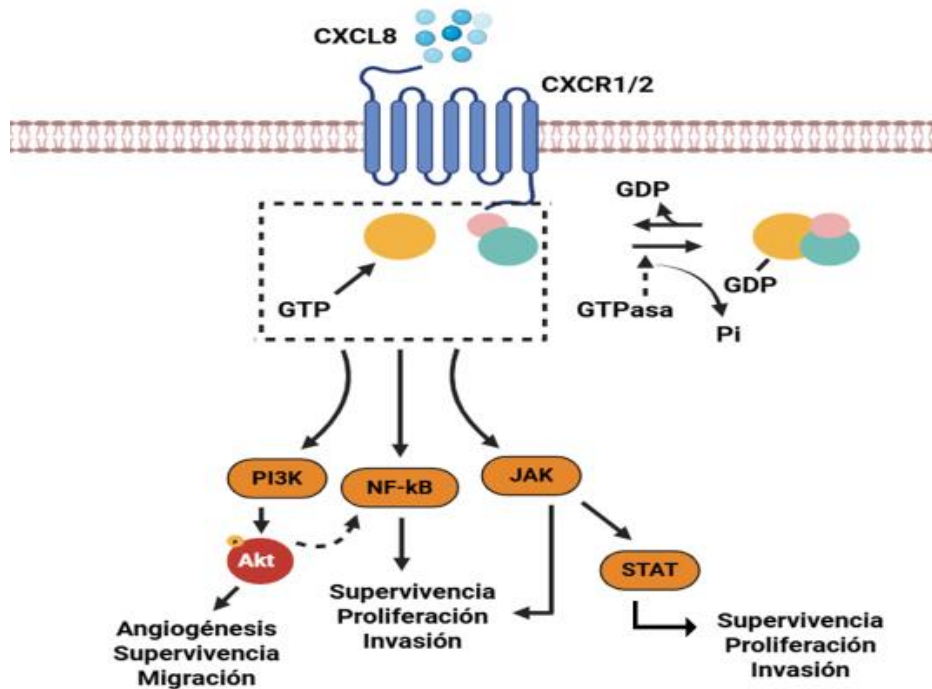


Fig 13. Vías de señalización activadas por la interacción CXCL8-CXCR1/2. CXCL8 se une a sus receptores acoplados a proteínas G, las subunidades Gα y βγ estimulan principalmente a PI3K para fosforilar Akt, el cual puede activar a NF-κB. Estas vías activan diversos factores de transcripción relacionados con el potencial metastásico (Modificado de Liu et al., 2016).

- **IL-8 en cáncer**

IL-8 influye directamente en los tumores modificando sus características mediante la transición de células tumorales a un fenotipo mesenquimal, es decir, a un estado de células migratorias o a través de la promoción de la capacidad proliferativa (Fousek et al., 2020).

La expresión de los receptores para IL-8 en células tumorales, endoteliales y macrófagos asociados a tumores sugiere que la secreción de la IL-8 por parte de las células tumorales influye en el establecimiento del nicho metastásico idóneo para la progresión tumoral. Se ha demostrado que la activación de los receptores para IL-8 promueve una respuesta angiogénica, favoreciendo la proliferación, supervivencia y migración de las células endoteliales y tumorales. La expresión de los receptores CXCR1/2 en líneas celulares de cáncer y en biopsias de tejidos tumorales sugiere que las células tumorales son susceptibles a los efectos de la

señalización autocrina y paracrina de IL-8, lo cual se ha asociado fuertemente con la estimulación de la proliferación, migración e invasión celular y, más recientemente, en favorecer la resistencia a la apoptosis inducida por estrés (Brat et al., 2005; Lang et al., 2002; Yao et al., 2007; Maxwell et al., 2007).

En el contexto del cáncer de mama, todas las células expresan las isoformas del receptor a IL-8, CXCR1/2, el aumento en los niveles de expresión de esta citocina se ha detectado principalmente en casos de cáncer de mama con receptor a estrógenos y progesterona negativos y HER-2 positivo. También se ha demostrado que la inducción de la transición epitelio-mesénquima (EMT, del inglés *epithelial-mesenchymal transition*) en células tumorales aumentó consecuentemente la actividad del eje IL-8/IL-8R, en este sentido, la secreción de IL-8 por células tumorales mesenquimales fue capaz de inducir la EMT en células epiteliales circundantes; es importante destacar que el bloqueo de los receptores para IL-8 disminuyó significativamente la capacidad invasiva de las células de cáncer de mama en condiciones *in vitro* (Zuccari et al., 2012; Fernando et al., 2011).

En relación al cáncer de próstata, se ha observado que la interacción CXCL8/CXCR2 promueve el crecimiento de células resistentes a la castración y la proliferación de células AIPC (del inglés, *Androgen-Independent Prostate Cancer*) activando la expresión de ciclina D1 dependiente de las vías de señalización PI3K/Akt y MAPK. Aunque la IL-8 es capaz de promover la progresión del cáncer de próstata mediante el reclutamiento de células del estroma adiposo, dicho efecto es bloqueado por anticuerpos CXCR1/2. Por otra parte, se ha observado un estadio patológico avanzado del cáncer de próstata asociado a una mayor expresión del ARNm que codifica para la IL-8 (Araki et al., 2007; Zhang et al., 2016; Uehara et al., 2005).

También se han detectado altos niveles de IL-8 en cáncer de pulmón, particularmente en Cáncer de Pulmón de Células no Pequeñas (NSCLC, del inglés *Non-Small-Cell Lung Cancer*). El papel mitogénico de IL-8 en el cáncer de pulmón está mediado principalmente a través de su interacción con la isoforma CXCR1.

Se ha observado que la IL-8 circulante puede predecir el riesgo de cáncer de pulmón, debido a que está regulado positivamente antes del diagnóstico clínico. Además, los altos niveles de expresión del ARNm que codifica para la IL-8 se asociaron significativamente con etapas más avanzadas, metástasis en ganglios linfáticos distantes, una tasa de supervivencia más reducida y una recaída temprana del NSCLC (Smith et al., 1994; Yuan et al., 2002).

La inhibición de la señalización de IL-8 puede sensibilizar a las células tumorales a la quimioterapia convencional y a las nuevas estrategias terapéuticas. No obstante, se ha observado que la exposición prolongada a numerosos agentes quimioterapéuticos induce la expresión y secreción de IL-8. Se ha demostrado que estos agentes inducen la regulación transcripcional al alza de los genes que codifican para IL-8 y para las dos isoformas del receptor a IL-8. Por otra parte, como consecuencia de que la señalización de IL-8 está acoplada a la regulación de genes de la familia Bcl-2 y IAP, la inhibición de esta vía sensibiliza a las células tumorales a la muerte celular (Wilson, Purcell, Seaton et al., 2008).

Ligando 1 de muerte programada (PD-L1)

El ligando 1 de muerte programada (PD-L1), también denominado CD274 u homólogo 1 de B7, es una proteína que está codificada por el gen *PDCDL1* ubicado en la posición p24.1 del cromosoma 9 en seres humanos. PD-L1 es una proteína transmembranal que posee función reguladora y fue identificado por primera vez en 1999 en la Clínica Mayo. Se ha observado que favorece la supresión de las respuestas inmunológicas en procesos como la presentación de antígenos a linfocitos, trasplantes y procesos patológicos como enfermedades autoinmunes, infecciones y cáncer (NCBI, 2021; Dong et al., 1999).

Por su parte, la proteína PD-1 descrita por primera vez en 1992 por Honjo y colaboradores, se expresa principalmente en células del sistema inmunológico y tiene dos ligandos: PD-L1 y PD-L2. La interacción de la vía PD-1/PD-L2 presenta una afinidad 2 a 6 veces mayor en comparación con la interacción de la vía PD-

1/PD-L1, sin embargo, PD-L1 es el ligando principal de PD-1. Honjo y Dong permitieron que Freeman y colaboradores demostraran que PD-1 está vinculado a PD-L1, la función específica de la interacción entre estas dos proteínas se observó en ratones con deficiencia de PD-1, los cuales desarrollaron enfermedades autoinmunes que variaban según la naturaleza genética de los ratones. Estos resultados demostraron que la interacción PD-1/PD-L1 desempeña un papel importante en la supresión de las respuestas de linfocitos T *in vivo* (Honjo et al., 1992; Youngnak et al., 2003; Freeman et al., 2000).

El sistema inmunológico reconoce y emite señales de defensa frente a antígenos extraños, este proceso induce la proliferación de linfocitos T CD4⁺ y T CD8⁺ específicos para esos antígenos. La unión de PD-L1 a PD-1 transmite una señal inhibitoria a los linfocitos T con la finalidad de reducir su proliferación y diferenciación a células efectoras. En este sentido, se ha observado que PD-L1 se encuentra sobreexpresado en un gran número de células tumorales, y que el bloqueo de esta proteína a través de anticuerpos monoclonales reduce significativamente el crecimiento y la proliferación de células cancerosas en presencia de células inmunológicas (Chemnitz et al., 2004; Dong et al., 2002).

- **Estructura y función de PD-L1**

PD-L1 es una glucoproteína transmembranal de 290 aminoácidos que consta de dos dominios extracelulares de tipo IgV (D1) e IgC (D2), una secuencia señal, un dominio transmembranal hidrofóbico y un dominio intracelular corto anfipático que contiene secuencias filogenéticamente conservadas que regulan su señalización intracelular. IgV presenta un dominio similar a los anticuerpos con regiones similares a las CDR (Regiones Determinantes de Complementariedad) que forman el sitio de unión a PD-1. PD-L1 está anclado a la membrana celular por una secuencia transmembranal, seguida de una región intracelular que contiene tres secuencias conservadas: los motivos RMLDVEKC, DTSSK y QFEET. En un estudio del 2017, se demostró que esta región intracelular transduce señales protectoras y de supervivencia para las células tumorales frente a los efectos citotóxicos de IFN- β , estas funciones protectoras están mediadas por señales

asociadas con los motivos RMLDVEKC y DTSSK, más que con el motivo QFEET, cuya eliminación no alteró los efectos protectores de PD-L1 sobre las células tumorales (Figura 14) (Keir et al., 2008; Gato-Cañas et al., 2017).

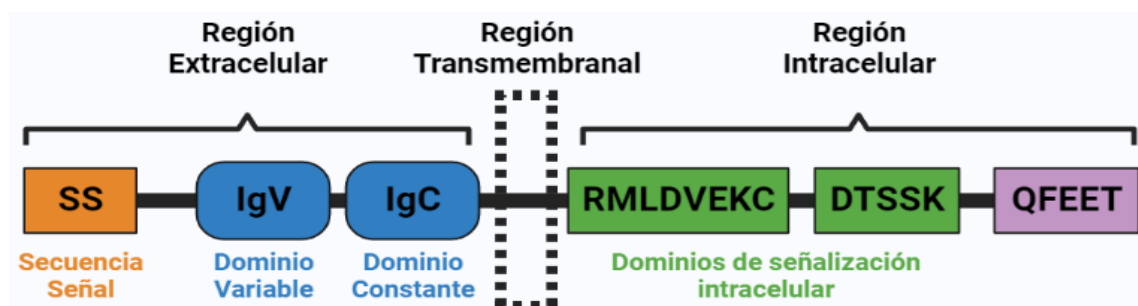


Fig 14. Estructura gráfica de PD-L1. El dominio IgV permite que PD-L1 se una a PD-1, además, los dominios de señalización intracelular son mediadores de la protección y la regulación negativa contra las respuestas citotóxicas de linfocitos T (Modificado de Gato et al., 2017).

Diversas investigaciones han demostrado la existencia de diferentes formatos de PD-L1, estas formas de PD-L1 han sido descritas como PD-L1 membranal (mPD-L1), PD-L1 citoplasmático (cPD-L1), PD-L1 nuclear (nPD-L1) y PD-L1 soluble (sPD-L1), además, se ha propuesto que el formato de PD-L1 afecta de manera diferente la inmunidad contra el cáncer (Wu et al., 2019; Ghebeh et al., 2010).

De manera general se han descrito dos funciones principales que favorecen la progresión tumoral inducida por PD-L1. Canónicamente, es una potente molécula inmunosupresora que inhibe la activación de linfocitos T específicos de tumores al unirse a su receptor PD-1, el formato mPD-L1 establece sus efectos inhibitorios al unirse a PD-1, promoviendo la secreción de IL-10 en lugar de IL-2. La región intracelular de PD-1 está compuesta por secuencias motivo de cambio basados en tirosina (ITSM) y de una secuencia motivo de inhibición basadas en tirosina (ITIM), La señal de PD-1 solo se genera cuando se entrecruza con un receptor de linfocitos B o T y la estimulación del TCR fosforila residuos de tirosina dentro de los motivos ITIM e ITSM presentes en la región intracelular de PD-1, el cual recluta a las fosfatasa SHP-1 y SHP-2 y provoca la desfosforilación de moléculas de

señalización río abajo de CD28 y del TCR, tales como CD3 ζ y ZAP70 (Figura 15) (Escors et al., 2018; Boussiotis et al., 2014; Yokosuka et al., 2012).

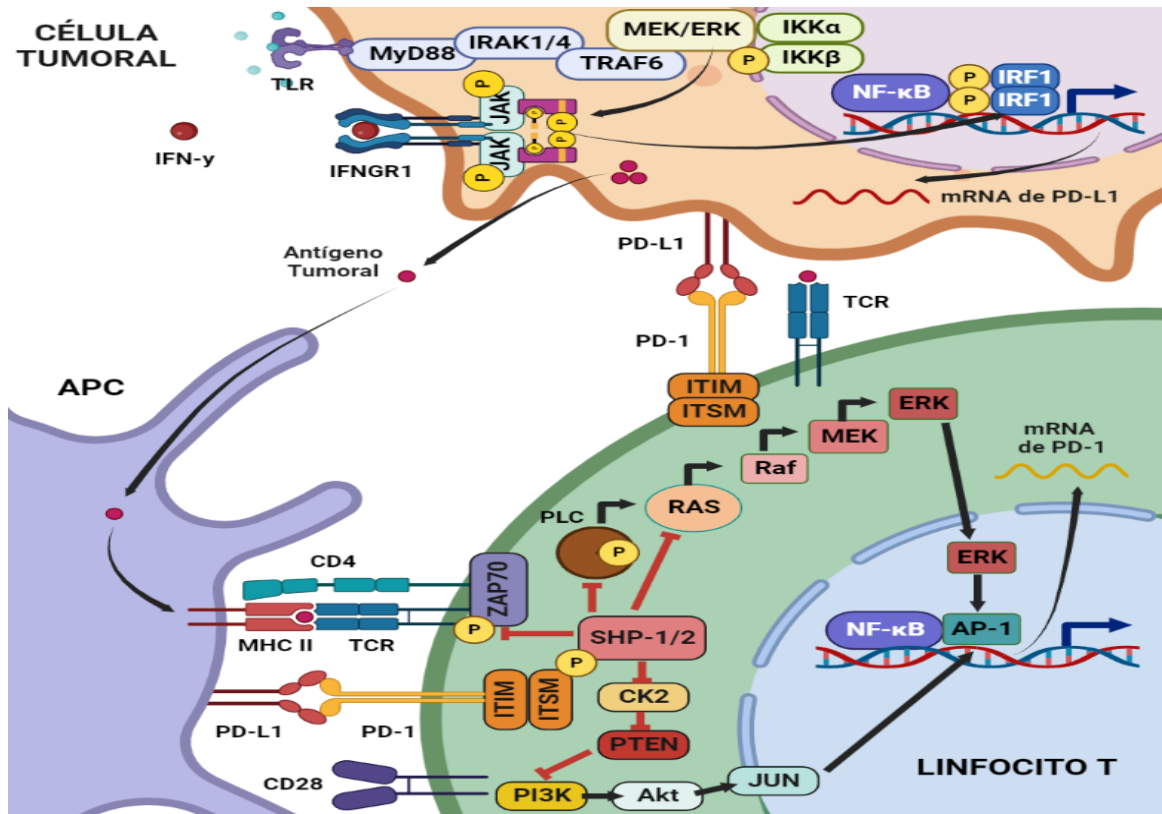


Fig 15. Efectos supresores generados por la interacción PD-L1/PD-1. La proliferación y diferenciación se ven reducidas por los efectos inhibitorios de SHP-1 y SHP-2 sobre las vías de señalización activadoras río abajo en los linfocitos T (Modificado de Kythreotou et al., 2017).

Por otra parte, de manera no canónica se ha descrito que el formato mPD-L1 también puede desencadenar la activación de señales intracelulares que promueven la supervivencia de las células tumorales, además de regular las respuestas al estrés en el microambiente tumoral y conferir resistencia a los estímulos pro-apoptóticos de manera independiente a su unión con PD-1. Más recientemente, se ha demostrado un posible papel de PD-L1 como un factor de transcripción al translocarse al núcleo de las células tumorales y promover la expresión y secreción de Gas6 para activar la vía de señalización MerTK en el

cáncer de pulmón de células no pequeñas (Gato-Cañas et al., 2017; Du et al., 2020).

Está ampliamente demostrado que PD-L1 favorece la progresión tumoral al suprimir la actividad del sistema inmunológico, sin embargo, se sabe muy poco acerca de los efectos que ejerce PD-L1 en las propias células tumorales. En este sentido, Alkaabi y colaboradores demostraron el papel de PD-L1 independiente de su unión al receptor PD-1 en células de Cáncer de Mama Triple Negativo, MDA-MB 231. Este estudio consistió en eliminar la expresión de PD-L1 mediante la técnica CRISPR-Cas9 utilizando tres diseños de partículas lentivirales. Los investigadores demostraron que la eliminación de PD-L1 inhibió significativamente la proliferación, la formación de colonias y la capacidad migratoria e invasiva de las células MDA-MB 231, además, redujo el crecimiento tumoral in vivo en la membrana corioalantoidea (MCA) de embrión de pollo. De igual forma y como se mencionó anteriormente, Du y colaboradores en el 2020, demostraron que PD-L1 podía translocarse al núcleo a través de su interacción con KPNB1 (Carioferina β), se observó que el formato nPD-L1 se acopló al factor de transcripción Sp1 para promover la expresión del ARNm que codifica para Gas6 y posteriormente estimular su secreción, iniciando la activación de la cascada de señalización Gas6/MerTK y promoviendo la proliferación de las células HCC827 y H1299. Estos hallazgos demostraron por primera vez la posible función de PD-L1 como factor de transcripción en la promoción de la capacidad proliferativa del NSCLC (Alkaabi et al., 2023; Du et al., 2020).

- **Regulación de la expresión de PD-L1**

Clásicamente, PD-L1 se expresa en células de origen mieloide tales como células dendríticas y macrófagos, sin embargo, se ha informado acerca de su expresión en células tumorales. La expresión de PD-L1 está regulada positivamente en diversas líneas de células cancerígenas debido a la amplia variedad de estímulos inflamatorios presentes en el microambiente tumoral (Ritprajak & Azuma, 2015).

La expresión de PD-L1 está regulada principalmente mediante dos vías de señalización; la vía Ras/MEK/ERK y la vía PI3K/Akt, además, esta expresión se puede clasificar en constitutiva e inducible, dependiendo de la naturaleza de los estímulos provenientes. En las células tumorales, la expresión constitutiva de PD-L1 está inducida por alteraciones en las vías de señalización que regulan a genes oncogénicos o genes supresores de tumores, por activación de factores de transcripción mutados o por alteraciones genómicas y amplificación de genes mutados. Por su parte, la expresión inducible de PD-L1 se refiere a la activación de señales inflamatorias reguladas por el mismo PD-L1 de células tumorales o provenientes de las células inmunitarias presentes en el microambiente tumoral. Las investigaciones han demostrado que diversas citocinas pueden inducir la expresión de PD-L1, tales como IFN- γ , TNF- α , IL-6 e IL-4 (Ju et al., 2020; Sun et al., 2018).

Diversas células tumorales expresan altos niveles de PD-L1 constitutivo, lo cual se explica mediante la activación oncogénica de las vías de señalización que incluyen Ras/MEK/ERK, JAK/STAT y PI3K/Akt. La regulación positiva de PD-L1 mediada por la activación descontrolada de estas vías les permite a las células tumorales adaptarse a los ambientes inflamatorios al contrarrestar las respuestas del sistema inmunológico mediante la supresión de la activación de los linfocitos T, además, recientemente se ha demostrado que la hipoxia y los mecanismos epigenéticos que involucran la actividad de los microARN también presentes en el microambiente tumoral están relacionados con la regulación de la expresión de PD-L1 (Ju et al., 2020; Noman et al., 2014).

- ***PD-L1 constitutivo***

Está demostrado que los reordenamientos genómicos, incluyendo la amplificación y la translocación en la región p24.1 del cromosoma 9, están ampliamente relacionados con el aumento en los niveles de expresión de PD-L1 en una amplia gama de células tumorales. Por ejemplo, se ha observado una alta frecuencia en el aumento de número de copias de PD-L1 en el linfoma primario de células B

(63%), linfoma de Hodgkin (40%) y cáncer de mama triple negativo (29%) (Green et al., 2010; Barrett et al., 2015).

Las modificaciones epigenéticas que involucran la actividad de los microARN, las modificaciones de histonas y la acetilación y metilación de la región promotora regulan la unión de factores de transcripción a los elementos del ADN, modificando la conformación de la cromatina y regulando la expresión de PD-L1. La acetilación de histonas recluta proteínas de la familia BET que contienen bromodominios encargados de reconocer residuos de lisina acetilada, estos se asocian a los loci de *PDCDL1* y mejoran la actividad transcripcional del ARNm de PD-L1. Por otra parte, se ha informado que la metilación de la región promotora de PD-L1 regula negativamente la expresión de PD-L1 en varios tipos de cáncer, incluyendo la leucemia mieloide aguda, glioblastoma, cáncer colorrectal y cáncer de próstata. El metanálisis sobre la metilación del promotor de PD-L1 tiene relevancia clínica para predecir la eficacia o el fracaso de las terapias de bloqueo de puntos de control inmunitario como el complejo PD-1/PD-L1, se ha observado que en los pacientes tratados con fármacos dirigidos al bloqueo de PD-L1, el aumento en la metilación de la región promotora de PD-L1 se relacionó positivamente con la tasa de supervivencia general de los pacientes y la supervivencia sin recurrencia de enfermedad (Zhu et al., 2016; Goltz et al., 2017).

Otro mecanismo regulador de la expresión de PD-L1 ha sido descrito a través de los efectos que ejercen los microARN (miARN o miR). Estas moléculas son pequeñas secuencias de ARN no codificantes conformadas entre 20 a 24 nucleótidos aproximadamente, constituyen una extensa familia de factores reguladores postranscripcionales al unirse a la región 3'-UTR de los ARN mensajeros (ARNm) e inhibir la traducción de proteínas mediante el silenciamiento o la degradación del ARNm, funcionando como un gen epigenético endógeno. Aunque generalmente se encargan de silenciar genes diferentes de los cuales han sido transcritos, también se ha demostrado la existencia de miARN con función promotora o coactivadora para la expresión de otros genes. Estudios recientes han demostrado que la expresión desregulada de miARN contribuye a la

promoción de la capacidad metastásica y a la evasión inmunitaria en el microambiente tumoral, de esta manera, las células tumorales son capaces de silenciar o eliminar la expresión de miARN que reducen la expresión de PD-L1, estableciendo un mecanismo novedoso de evasión inmunitaria del cáncer (Kumar & Sharawat, 2018; Wang et al., 2017).

La expresión de los puntos de control inmunitario también está regulada por la activación de vías de señalización intrínsecas en las células tumorales. Se ha demostrado que la alteración de diversas vías de señalización oncogénicas contribuye a establecer las características del proceso tumorigénico. Múltiples factores de transcripción regulan la expresión de PD-L1, estos incluyen MYC, STAT3, NF- κ B y AP-1. Específicamente, la sobreexpresión del oncogén MYC se ha observado en aproximadamente el 70% de procesos tumorigénicos, además, Casey y colaboradores demostraron que MYC se une directamente a la región promotora del gen *PDCDL1* para potenciar la expresión de PD-L1, y que la supresión del oncogén MYC resulta en una disminución significativa en la expresión del ARNm de PD-L1 y, por lo tanto, la expresión de PD-L1 a nivel superficial (Topalian, Drake & Pardoll, 2012; Casey et al., 2016).

También se han implicado a las proteínas de choque térmico (HSP) en la regulación de los puntos de control inmunitarios. Zavareh y colaboradores demostraron que la inhibición de HSP90 mediante el tratamiento con Ganetespib redujo significativamente los niveles de expresión superficial de PD-L1 en la línea celular MC-38 de carcinoma de colon y en macrófagos derivados de monocitos. Mecánicamente, la inhibición de HSP90 redujo la expresión de MYC y de STAT3, lo cual condujo a la reducción en la expresión de PD-L1 (Zavareh et al., 2021).

- ***PD-L1 inducible***

La expresión de PD-L1 inducible se refiere principalmente a la regulación por señales extracelulares, donde se incluyen citocinas, factores de crecimiento y condiciones de hipoxia extracelular. La expresión de PD-L1 inducida por IFN- γ es el principal mecanismo de expresión de PD-L1 por elementos de origen

extracelular. Las vías de señalización Ras/MAPK y Jak-STAT-IFR están reguladas por la activación de PKD1/2, además, la activación del factor NF- κ B también está muy asociada con la expresión de PD-L1 inducida por IFN- γ y TNF- α . Al aumentar la expresión de PD-L1 después de la activación de la respuesta inmunitaria inducida por el proceso tumorigénico, la evasión de las respuestas inmunitarias mediadas por el complejo PD-L1/PD-1 se describen como un mecanismo de 'resistencia adaptativa' (Parsa et al., 2007).

La interleucina 17 (IL-17) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) son citocinas coexpresadas por los linfocitos T helper 17 en muchos tumores. Un estudio realizado en 2017 demostró la capacidad de la IL-17 y el TNF- α para inducir la expresión de PD-L1 en el cáncer de próstata y cáncer de colon humano, los investigadores observaron que IL-17 no fue capaz de inducir la expresión del ARNm de PD-L1, sin embargo, podía regular positivamente la expresión de la proteína PD-L1 en las líneas celulares LNCaP y HCT116. Por otra parte, TNF- α sí podía inducir la expresión del ARNm de PD-L1 y, además, también regulaba positivamente la expresión superficial de PD-L1 en ambas líneas celulares. Tanto IL-17 como TNF- α fueron capaces de activar las vías de señalización PI3K/Akt, NF- κ B y Ras/MAPK en la línea celular HCT116, siendo el TNF- α significativamente más efectivo para activar la vía NF- κ B (Wang, Yang, Huang et al., 2017).

En 2014, Noman y colaboradores informaron que la región HRE de *PDCDL1* es un objetivo directo de HIF-1 α , en este sentido, se demostró que la hipoxia provocó una regulación positiva de PD-L1 en las células supresoras derivadas de mieloide, esta condición también se observó en macrófagos, células dendríticas y células tumorales (Noman et al., 2014).

- **PD-L1 en cáncer**

Las células tumorales muestran altos niveles de expresión de PD-L1 como resultado de la activación de vías de señalización oncogénicas, esto favorece su adaptación a los microambientes inflamatorios crónicos al contrarrestar las respuestas inmunitarias. La primera evidencia de una señalización intrínseca de

PD-L1 independiente de su unión a PD-1 fue publicada por Azuma y colaboradores en 2008, demostraron que PD-L1 proporciona resistencia directamente a las células tumorales contra los estímulos apoptóticos (Dunn et al., 2002; Azuma et al., 2008).

En 2023, Jing-Liu y colaboradores observaron que la eliminación de IL-8 y NOX4 redujo la expresión de PD-L1 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas. Además, los pacientes con niveles de expresión de IL-8 y NOX4 más altos mostraron una tasa de supervivencia más corta en comparación con aquellos con niveles de IL-8 y NOX4 más bajos en respuesta a la terapia anti-PD-L1. Estos resultados demostraron que NOX4 es capaz de inducir la expresión de PD-L1 a través de la vía YY-1/IL-8/PD-L1 (Jing-Liu et al., 2023).

En 2019, Li y colaboradores evaluaron la relación entre la expresión de PD-L1 y parámetros como la Supervivencia General (SG), Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE) y Supervivencia Libre de Recurrencia (SLR). Se observó que la expresión de PD-L1 estaba asociada significativamente con una reducción en la SG de 1131 pacientes con cáncer colorrectal, de igual manera, la expresión de PD-L1 se asoció significativamente con una SLE más corta en 452 pacientes y una pobre SLR en 657 pacientes con cáncer colorrectal (Li, He, Zhou et al., 2019).

También se ha demostrado que la expresión de PD-L1 en el cáncer de próstata favorece el desarrollo y la progresión tumoral. Yang y colaboradores examinaron 33 tumores derivados de cáncer de próstata de ratones que no expresaban el factor PTEN. Los ratones se dividieron en grupos que expresaban IL-17rc o ratones *Knock out* que no expresaban IL-17rc, y ratones alimentados con una dieta normal o ratones alimentados con una dieta rica en grasas hasta las 30 semanas. Los investigadores observaron que los tumores de ratones que expresaban IL-17rc poseían niveles de expresión significativamente más altos de PD-L1, PD-1 e incluso PD-L2 en comparación con los tumores de ratones IL-17rc *Knock out*, de igual manera, los ratones obesos que habían recibido una dieta alta en grasas expresaban niveles significativamente más altos de PD-L1, PD-1 y PD-L2 comparados con los ratones alimentados con una dieta baja en grasas. Este

aumento en los niveles de expresión de PD-L1, PD-1 y PD-L2 se correlacionó positivamente con el aumento en el número de tumores invasivos de cáncer de próstata en los ratones obesos y ratones con expresión de IL-17rc funcional en comparación con los ratones magros y ratones IL-17rc *Knock out* respectivamente (Yang, Zhang, Liu et al., 2016).

La mayoría de los tumores primarios son capaces de secretar exosomas en el microambiente tumoral y se ha demostrado que los exosomas poseen una amplia variedad de características que mejoran el nicho premetastásico. Generalmente, la mayoría de las características protumorales están mediadas por el ARNm intracelular, los microARN y la carga proteica contenida en los exosomas, sin embargo, se ha demostrado que el PD-L1 exosomal localizado en la superficie de los exosomas se ha asociado con la progresión tumoral en una amplia variedad de neoplasias malignas (Morrissey & Yan, 2020).

En ese sentido, se ha demostrado que el Glioblastoma genera vesículas extracelulares que pueden desempeñar un papel importante en la progresión tumoral. Ricklefs y colaboradores demostraron que las vesículas extracelulares de Glioblastoma bloquean la activación y proliferación de linfocitos T en respuesta a la estimulación de los receptores de linfocitos T. PD-L1 se expresó en exosomas derivados de Glioblastoma con el potencial de unirse directamente a PD-1, un anticuerpo anti-PD-1 revirtió significativamente el bloqueo de la activación de los linfocitos T mediado por exosomas, pero solo cuando PD-L1 se encontraba presente en los exosomas. Se observó que PD-L1 estaba presente en los exosomas derivados de pacientes con Glioblastoma donde se correlacionó con volúmenes tumorales de 60 cm (Ricklefs et al., 2018).

- **PD-L1 en cáncer de mama**

La regulación positiva de PD-L1 es un proceso complejo y multifactorial que involucra diversos procesos en las células tumorales. Uno de los mecanismos de regulación de PD-L1 es la amplificación del gen que codifica para PD-L1, por ejemplo, Goodman y colaboradores realizaron un estudio de frecuencias de la

expresión de PD-L1 en 118,187 muestras de tumores de diferentes tipos histopatológicos, observaron que los cánceres de mama humanos se encuentran entre los tumores malignos con una frecuencia relativamente alta de amplificación de PD-L1 con un 2%. Entre los tipos histopatológicos de cáncer de mama, solo los tipos triple negativo y HER-2 positivo presentan amplificación del gen PD-L1 en 9p24.1, no obstante, es importante reconocer que la amplificación del gen y la expresión proteica de PD-L1 no siempre están correlacionados positivamente (Goodman et al., 2018).

La regulación de PD-L1 también se ve favorecida a través de la activación de vías de señalización intrínsecas que han sido alteradas y que están involucradas en la supervivencia, la progresión y la capacidad metastásica del cáncer. En este contexto, Mittendorf y colaboradores demostraron un mecanismo de regulación de PD-L1 en el cáncer de mama triple negativo, los investigadores observaron que la eliminación de PTEN a través de un siARN desencadenó una expresión significativamente mayor de PD-L1 en la superficie de las células tumorales. Además, la inhibición de la vía PI3K/Akt usando el inhibidor MK-2206 resultó en una disminución en los niveles de expresión de PD-L1. Estos resultados demostraron aún más la vinculación entre el factor PTEN y la vía de señalización PI3K/Akt y su importancia en la regulación de PD-L1 en las células tumorales, incluyendo las células de cáncer de mama (Mittendorf et al., 2014).

La vía de señalización Wnt, tanto canónica como no canónica, representa una de las vías claves para diversos tipos de tumores malignos. Se ha demostrado que la activación de la vía Wnt, específicamente en el cáncer de mama triple negativo, los niveles de expresión de PD-L1 aumentaron en las células de cáncer de mama que presentaban características de células madre medidas por la expresión de marcadores celulares como ALDH1 y CD44v6, además, el tratamiento de estas células con inhibidores selectivos de Wnt disminuían significativamente los niveles de expresión de PD-L1. Sorprendentemente, las muestras de cáncer de mama triple negativo humano contenían elementos tumorales en donde la expresión de

PD-L1 se correlacionó positivamente con la expresión de los marcadores ALDH1 y CD44v6 (Serman et al., 2014; Castagnoli et al., 2019).

Otro estudio realizado por Liu y colaboradores reveló que el tratamiento con E2 (Estradiol) inhibía la expresión del ARNm de PD-L1 en la línea celular MCF-7 positivas para ER α , pero con poca concentración de hormonas. Además, la expresión de ER α en la línea celular MDA-MB 231 triple negativo redujo la expresión de ARNm y proteína de PD-L1. Consistentemente, el análisis de datos obtenidos de la TCGA reveló una correlación inversa entre la expresión de ER α y la expresión de PD-L1 en el cáncer de mama positivo para ER α . Sin embargo, las investigaciones previas de Yang y colaboradores muestran resultados contrastantes al observar que el tratamiento con E2 aumentó la expresión de la proteína PD-L1 en la línea celular MCF-7 a través de la activación de la vía de señalización PI3K/Akt, estos resultados fueron confirmados mediante el uso de inhibidores de PI3K (LY294002) y de Akt (AZD5363), lo cual condujo a una reducción en la expresión de PD-L1 (Liu et al., 2018; Yang et al., 2017).

Aunque inicialmente el cáncer de mama no era considerado un cáncer inmunogénico, múltiples estudios han demostrado la expresión de PD-L1 en las células de cáncer de mama. Estos estudios también han demostrado que la expresión de PD-L1 es mucho más frecuente en los cánceres de mama triple negativos y HER2 positivos, los cuales se consideran altamente inmunogénicos. Las asociaciones entre la expresión de PD-L1 y las características clinicopatológicas de pacientes con cáncer han sido analizadas en múltiples casos de diferentes tipos de cáncer, demostrando la correlación que existe entre los niveles de expresión de PD-L1 y las tasas de supervivencia general, libre de enfermedad y libre de recurrencias (Barrett et al., 2018; Zhang et al., 2017; Baptista et al., 2016).

JUSTIFICACIÓN

Durante el año 2022, el cáncer de mama se ubicó como el cáncer de mayor incidencia a nivel mundial en la población adulta mayor de 20 años, representando aproximadamente el 12% de la incidencia total, y la cuarta causa de mortalidad con aproximadamente 666,000 muertes. En México, se estima que durante el 2022 se registraron 49,795 defunciones femeninas causadas por tumores malignos, de las cuales 8,195 fueron por cáncer de mama, ocupando el primer lugar en la tasa de mortalidad (GLOBOCAN, 2022; INEGI, 2023).

Entre los diferentes tipos de cáncer de mama, el cáncer de mama triple negativo, a pesar de ser el de menor incidencia (15-20% de los casos diagnosticados), muestra un comportamiento clínico agresivo, comúnmente desarrolla metástasis y no existe un tratamiento farmacológico eficaz. Además, la condición inflamatoria que va de leve a moderada presente en el microambiente tumoral es un factor que favorece el desarrollo de la metástasis, por lo que resulta importante discernir el mecanismo molecular a través del cual, las diferentes citocinas proinflamatorias, incluyendo la IL-8, exacerban el potencial metastásico de las células tumorales provenientes de cáncer de mama. También se ha observado que las células tumorales que expresan PD-L1 son capaces de evadir la respuesta inmune del organismo, asegurando su supervivencia y transformación maligna. Los pacientes con cáncer de mama que expresan PD-L1 presentan una tasa de supervivencia general reducida y mayor capacidad proliferativa y migratoria de células tumorales (Spring et al., 2020; Zhang et al., 2017; Dou et al., 2020).

Se ha identificado la existencia de una correlación positiva entre IL-8 y PD-L1, por ejemplo, Jing-Liu y colaboradores, observaron que la supresión de IL-8 induce una reducción significativa en la expresión de PD-L1 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas, mejorando con ello, su pronóstico de supervivencia (Jing-Liu et al., 2023).

Actualmente, se desconoce si la presencia de IL-8 puede promover la expresión de PD-L1 en células de cáncer de mama triple negativo y, si la presencia de PD-

L1 favorece su potencial metastásico, específicamente, su capacidad proliferativa y migratoria. Por lo tanto, el propósito del presente trabajo es investigar la relación directa y funcional entre IL-8 y PD-L1 y el efecto de ambos elementos sobre la línea celular MDA-MB 231, proponiendo con ello un nuevo blanco farmacológico para el tratamiento del cáncer de mama triple negativo.

HIPÓTESIS

Interleucina-8 (IL-8) exacerba el potencial metastásico de las células de cáncer de mama triple negativo, MDA-MB 231, al favorecer el nivel de expresión de PD-L1.

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el mecanismo molecular a través del cual, IL-8 exacerba el potencial metastásico de las células de cáncer de mama triple negativo, MDA-MB 231.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la presencia del ARNm que codifica para las isoformas del receptor a IL-8 (IL-8R).
- Evaluar si la presencia de IL-8 influye sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231.
- Investigar si la presencia de IL-8 regula la expresión del ARNm que codifica para PD-L1.
- Determinar si PD-L1 influye sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231.
- Dilucidar de manera inicial, las vías de señalización involucradas en el efecto que ejerce IL-8 sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231.

METODOLOGÍA

Cultivo Celular de MDA-MB 231

Las células MDA-MB 231 son una línea celular de cáncer de mama proveniente de adenocarcinoma de mama que se emplean para el estudio experimental *in vitro* del cáncer de mama triple negativo. Estas células crecen en calidad de monocapa, por lo tanto, se cultivaron en matraces de poliestireno de 25 cm² de superficie, con medio de cultivo Advanced-DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS), 1% de L-glutamina y 1% de una mezcla de antibióticos y antimicóticos. Se incubaron a 37°C en una atmósfera húmeda y una mezcla de 5% de CO₂ y 95% de aire. El medio de cultivo se renovó cada 48 horas y al quinto día, las células fueron sometidas a un proceso de tripsinización, con el objetivo de generar el cultivo madre y sembrar las células en cajas Petri individuales de 8 cm² de superficie para desarrollar las estrategias experimentales previamente planteadas.

Ensayo de expresión de ARNm

- **Extracción de ARN**

Una vez que las células alcanzaron una confluencia de aproximadamente 70% en las cajas Petri, se procedió a iniciar el tratamiento con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml durante 48 horas. Al finalizar el tratamiento, se llevó a cabo la extracción de ARN total por medio del kit comercial FavorPrep™, Tissue total RNA Mini (Favorgene, Biotech Corp., China) siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez concluida la extracción se determinó la concentración y calidad del ARN por espectrofotometría (Biophotometer, Eppendorf, Alemania) a una longitud de onda de 260 nm y un cociente obtenido entre la absorbancia a 260-280 nm. Para considerarse una muestra de calidad, el valor de este cociente se estableció entre 1.6 y 2 y con una concentración de ≥ 250 µg/ml.

- **Síntesis de cDNA (Retrotranscripción)**

La retro-transcripción se llevó a cabo empleando el kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, EUA), para lo cual se siguió el

procedimiento indicado por el fabricante. Posteriormente, los tubos de reacción se colocaron en un termociclador marca Mastercycler gradient (Eppendorf, Alemania) y se aplicaron las siguientes condiciones: 10 minutos a 25°C, 2 horas a 37°C, 10 minutos a 85°C y finalmente a 4°C.

- **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

A partir del cDNA que se obtuvo de la retro-transcripción se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando el kit comercial *DreamTaq* PCR Master Mix (Thermo Scientific, EUA), siguiendo las indicaciones del proveedor, con un volumen total de reacción de 20 µl. Los cebadores que se emplearon se muestran en la siguiente tabla:

Cebadores	Dirección	Secuencia	Tamaño (pb)
PD-L1	Forward	GGTGCTTGGTCTCCTCTATAAC	321
	Reverse	GCAGTCTGAGGTCTGCTATTT	
IL-8R α (CXCR1)	Forward	AGCAGCCAAGACAAACAACTT	468
	Reverse	CAGATCCACAGATGTGGGAT	
IL-8R β (CXCR2)	Forward	CTTTTCTACTAGATGCCGC	417
	Reverse	AGATGCTGAGACATATGAATTT	
E-Cadherina	Forward	TGGAGGAATTCTTGCTTTGC	488
	Reverse	CGTACATGTCAGCCAGCTTC	
α -SMA	Forward	CTCAGCAGTAGTAACGAAGGAA	421
	Reverse	GACCCTGAAGTACCCGATAGA	

Vimentina	Forward	AGAACCTGCAGGAGGCAGAAGAAT	201
	Reverse	CTTCCATTTACGCATCTGGTA	
Snail 1	Forward	CCTTCGTCCTTCTCCTCTACTT	388
	Reverse	GGCACTGGTACTTCTTGACATC	
Zeb	Forward	TTCAGCATCACCAGGCAGTC	736
	Reverse	GAGTGGAGGAGGCTGAGTAG	
Twist	Forward	GGCTCAGCTACGCCTTCTC	452
	Reverse	TCCTTCTCTGGAAACAATGACA	
Snail 2	Forward	CTCTCTCCTCTTTCCGGATACT	236
	Reverse	CAGTGCAGCTGCTTATGTTTG	
ITGA2	Forward	CGTTCCAGACAGTACAGTACAGCTAAC	273
	Reverse	GCTCTGTGGTCTACATCAATCTC	
ITGB1	Forward	TGATCCTGTGTCCCATTGTAAG	531
	Reverse	GTCAGTCCCTGGCATGAATTA	
β -actina	Forward	CAAGAGATGGCCACGGCTGCT	234
	Reverse	TCCTTCTGCATCCTGTCGGCA	

Tabla 1. Secuencia y tamaño de los oligonucleótidos empleados durante la Reacción en Cadena de la Polimerasa. Las secuencias de cada juego de oligonucleótidos fueron obtenidas a partir de las secuencias genómicas almacenadas en la base de datos NCBI y diseñadas mediante el proveedor de ácidos nucleicos personalizados IDT (Integrated DNA Technologies).

- **Electroforesis en Gel de Agarosa**

A partir de los productos generados por la Reacción en Cadena de la Polimerasa se realizó la separación electroforética según el tamaño y la carga de las muestras. Para este procedimiento, se utilizaron geles de agarosa preparados al 1.2% de concentración (0.6 gr de agarosa y 50 ml de buffer TAE 1X), y se

corrieron en una cámara de electroforesis de CBS Scientific bajo las siguientes condiciones: 65 Voltios durante 80 minutos. Posteriormente, las imágenes del gel fueron digitalizadas en un fotodocumentador de geles, Chemidoc (Bio Rad, EUA) empleando el programa Quantitive One 4.2.0 (Bio Rad, EUA) para su posterior densitometría.

- **Análisis Densitométrico**

La densitometría de los geles se realizó mediante el programa *Image J* que es proporcionado de manera gratuita por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (del inglés, NIH). Mediante este programa se seleccionaron las bandas de ARNm presentes en el gel y se calculó el área bajo la curva. El fundamento de este análisis se basa en el hecho de que una mayor intensidad luminosa de la banda nos genera una mayor cantidad de píxeles y, por lo tanto, esto nos indica un mayor nivel de expresión del ARNm de los elementos de interés.

Ensayo de Proliferación

El ensayo de proliferación se realizó mediante la cuantificación de células en ausencia y presencia de IL-8 a una concentración de 40 ng/ml durante 48 horas. Una vez concluido el tratamiento, las células fueron cosechadas mediante suspensión celular y, se realizaron diluciones en una relación 4:1 (40 µl del colorante vital azul de tripano y 10 µl de la suspensión celular cosechada) para realizar el conteo de células viables. Este procedimiento fue realizado mediante el uso de un hemocitómetro o cámara de Neubauer. El fundamento de esta técnica de exclusión se basa en el hecho de que el colorante vital Azul de Tripano no puede atravesar la membrana plasmática de las células viables, por lo tanto, solo se contabilizan las células claras. Los resultados del conteo celular fueron expresados como el número de células/ml y los datos obtenidos fueron normalizados con respecto a la condición control.

Ensayo de Migración

El ensayo de migración también se realizó en ausencia y presencia de IL-8 empleando cámaras *Transwell*, las cuales contienen una membrana de Tereftalato de Polietileno con poros de 8 μm de diámetro. Para este ensayo también se estableció una concentración de 40 ng/ml de IL-8 durante 48 horas para evaluar el efecto de esta citocina sobre la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231. Una vez finalizado el tratamiento, se realizó un conteo celular en cámara de Neubauer y se realizaron cálculos para sembrar una cantidad de aproximadamente 30,000 células en los insertos de las cámaras *Transwell*. Las condiciones se establecieron de la siguiente manera: en la parte inferior de la cámara se agregaron 750 μl de medio Advanced-DMEM completo y 40 ng/ml de IL-8 (exceptuando la condición control), mientras que en los insertos se agregaron 300 μl de una mezcla entre suspensión celular y medio Advanced-DMEM libre de suero fetal bovino y 40 ng/ml de IL-8 (exceptuando la condición control). Una vez que las células fueron sembradas en los insertos, se colocaron en una incubadora bajo las siguientes condiciones, 37°C en una atmósfera húmeda y una mezcla de 5% de CO₂ y 95% de aire durante 18 horas. Finalmente, mediante el uso de un hisopo de algodón se retiró el exceso de medio de cultivo de los insertos, las células que migraron fueron fijadas con una dilución 1:1 de metanol-acetona y teñidas con el colorante cristal violeta. Se tomaron cuatro microfotografías de manera aleatoria por cada condición en un microscopio de campo claro con el objetivo 10x y fueron analizadas y contabilizadas empleando el programa *Image J*.

Ensayo de Silenciamiento de PD-L1

El ensayo de silenciamiento de PD-L1 se realizó mediante la transfección de un pool de tres siARN de 19 a 25 nucleótidos específicos para inhibir la expresión génica de PD-L1 (PD-L1 siRNA (h): sc-39699), el cual se obtuvo a partir del desarrollador de productos biológicos, Santa Cruz Biotechnology Inc. El proceso de transfección se realizó utilizando el reactivo de transfección Lipofectamina™

RNAiMAX (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se establecieron 6 condiciones experimentales y se sembraron aproximadamente 100,000 células/pozo en placas de 6 pozos. La transfección del PD-L1 siRNA (h) se realizó 24 horas después del sembrado bajo las siguientes condiciones: 191 μ l de Medio Opti-MEM reducido en suero, 5 μ l del reactivo de transfección Lipofectamina™ RNAiMAX y 4 μ l del pool de siARN específico para PD-L1. Adicionalmente, se estableció bajo los mismos volúmenes, una condición de control negativo o scramble mediante la transfección de la secuencia de 20-25 nucleótidos Control siRNA-A: sc-37007, esto para verificar la precisión del silenciamiento específico del PD-L1 siRNA. Por su parte, se agregó un mix de 195 μ l de Medio Opti-MEM reducido en suero y 5 μ l del reactivo de transfección Lipofectamina™ RNAiMAX en la condición control para mantener una igualdad de condiciones. Para asegurar que la transfección fuese efectiva, el ensayo se realizó en presencia de Medio Advanced DMEM libre de antibiótico-antimicótico. Posteriormente, las células se incubaron a 37°C en una atmósfera húmeda y una mezcla de 5% de CO₂ y 95% de aire durante 24 horas y, transcurrido este tiempo, se intercambié el medio inicial por Medio Advanced DMEM completo, así mismo, se añadieron 40 ng/ml de IL-8 solo en aquellas condiciones bajo tratamiento de esta citocina. Finalmente, las células se incubaron por 48 horas adicionales, realizando un recambio de medio y tratamiento cada 24 horas. La evaluación de la transfección y el silenciamiento se realizó mediante un ensayo de expresión génica por RT-PCR utilizando los primers PD-L1 (h)-PR: sc-39699-PR (425 pb) obtenidos a partir de Santa Cruz Biotechnology Inc.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico y las gráficas de los resultados fueron elaborados utilizando el software Sigma Plot 12.5. Para evaluar las diferencias entre los diferentes grupos experimentales se empleó la prueba estadística *t* de Student, utilizando un valor de significancia estadística menor a 0.05 ($p \leq 0.05$). Las gráficas obtenidas son el resultado del valor promedio $\pm$ el error estándar de una *n* de al menos tres experimentos independientes.

RESULTADOS

Las células MDA-MB 231 expresan el ARNm que codifica para las dos isoformas del receptor a IL-8, así como para PD-L1

Con el objetivo inicial de demostrar la viabilidad del presente trabajo de investigación, evaluamos si nuestro modelo de estudio, la línea celular MDA-MB 231, expresaba el ARNm que codifica para el receptor a IL-8, así como PD-L1. La IL-8 es capaz de asociarse a dos receptores: CXCR1 (IL-8R α) y CXCR2 (IL-8R β), los cuales derivan del mismo gen. Se realizó el ensayo de expresión génica, la figura 16 muestra que las células MDA-MB 231 expresan de manera significativa, el ARNm que codifica para ambas isoformas del receptor a IL-8, así como PD-L1.

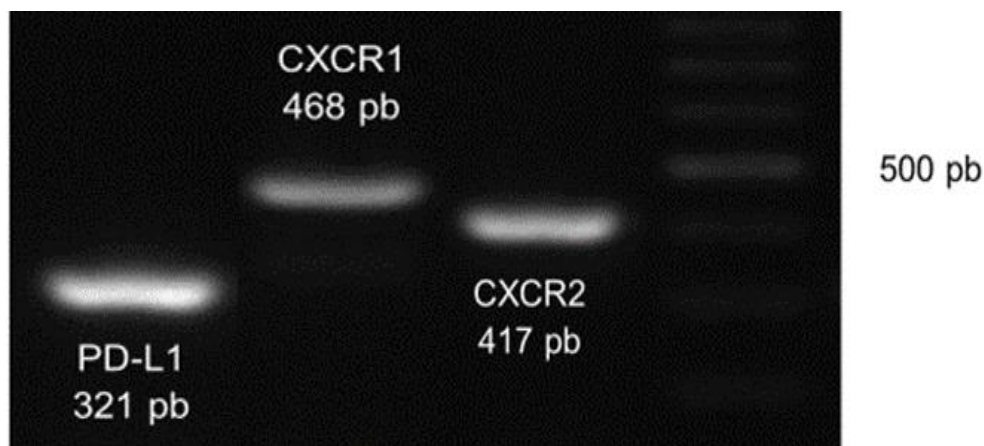


Fig 16. Expresión del ARNm que codifica para PD-L1 y para ambos receptores de IL-8. Fotografía de un gel de agarosa que muestra la expresión del ARNm que codifica para PD-L1, así como la expresión del ARNm que codifica para las isoformas del receptor a IL-8 en las células MDA-MB 231.

La expresión de las isoformas del receptor a IL-8 no es regulada por IL-8.

De manera complementaria, evaluamos si la presencia de IL-8 era capaz de modificar el nivel de expresión del ARNm que codifica para alguna de las dos isoformas del receptor a IL-8 (CXCR1 y CXCR2). Para tal fin, se consideraron dos condiciones experimentales, un grupo control y un grupo tratado con IL-8 a una

concentración de 40 ng/ml por 48 horas. Una vez, finalizado el tratamiento, analizamos el nivel de expresión del ARNm para cada una de las dos isoformas del receptor. Se observó que la presencia de IL-8, no modifica el nivel de expresión de ninguna de las dos isoformas (Figura 17).

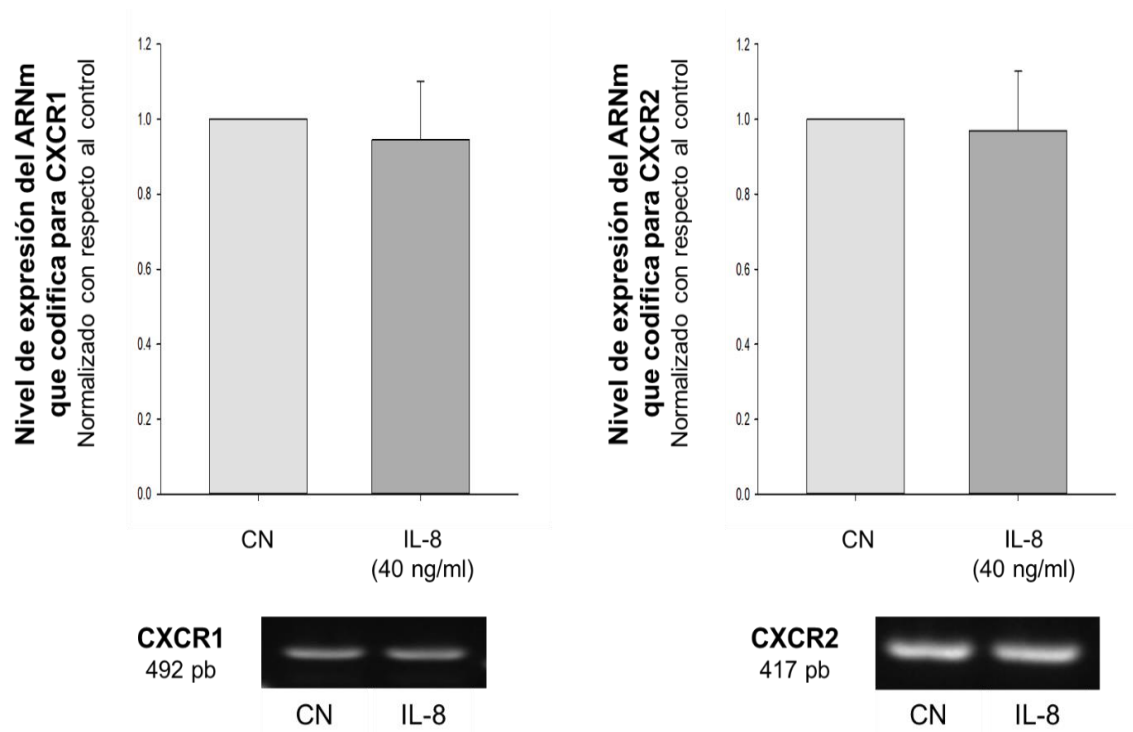


Fig 17. Expresión relativa del ARNm que codifica para las dos isoformas del receptor a IL-8. Las células MDA-MB 231 fueron tratadas con IL-8 (40 ng/ml) durante 48 horas, el tratamiento no modificó la expresión del ARNm de CXCR1/2. $n=4$.

IL-8 exacerba la capacidad proliferativa de las células MDA-MB 231

Después de haber confirmado la presencia del ARNm que codifica para ambas isoformas del receptor a IL-8 (CXCR1 y CXCR2) en las células MDA-MB 231, decidimos evaluar si el tratamiento con esta citocina proinflamatoria era capaz de modificar su capacidad proliferativa. Las células MDA-MB 231 fueron sembradas en cajas Petri de 35 mm y una vez que alcanzaron una confluencia del 60% fueron tratadas con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml por 48 horas. Una vez

finalizado el tratamiento se realizó el conteo celular mediante el uso de una cámara de Neubauer y el colorante vital azul de tripano. La figura 18 muestra que la presencia de IL-8 induce un incremento significativo del 20%, sobre el número de células de cáncer de mama triple negativo con respecto a la condición control.

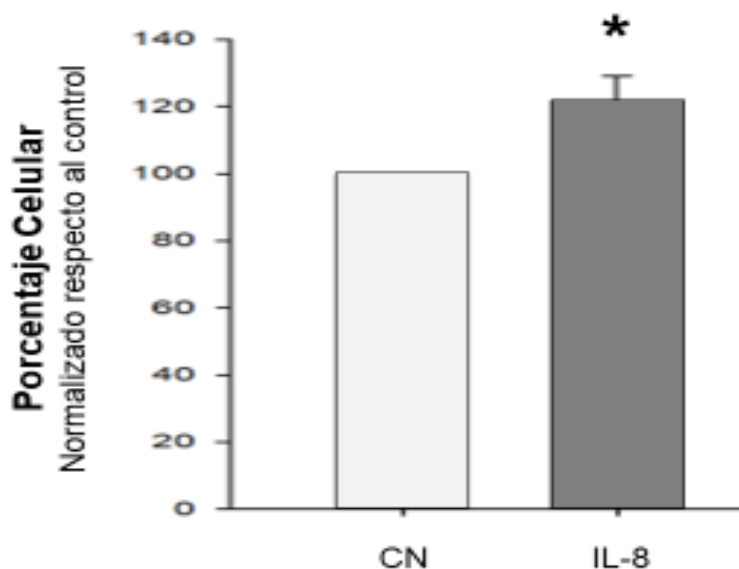


Fig 18. IL-8 modificó la proliferación de las células MDA-MB 231. Las células fueron tratadas con IL-8 (40 ng/ml) durante 48 horas. Se observa un aumento estadísticamente significativo sobre la capacidad proliferativa. $n=4$. ($*p \leq 0.05$).

IL-8 incrementa la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231

Otra de las propiedades esenciales en cuanto al potencial metastásico de las células tumorales se refiere, es la capacidad migratoria. Por lo tanto, decidimos evaluar esta propiedad en nuestro modelo experimental a partir de un ensayo de migración semicuantitativo empleando cámaras *Transwell*. Para tal efecto, las células MDA-MB 231 fueron pretratadas con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml por 48 horas en cajas Petri de 35 mm, una vez transcurrido el tiempo, las células fueron cosechadas y cuantificadas, se transfirieron 30,000 células en los insertos de las cámaras *Transwell*, manteniéndose por otras 16 horas en presencia de IL-8. Una vez finalizado este tiempo, las células que migraron fueron fijadas, teñidas con cristal violeta y contadas. La figura 19 muestra microfotografías de la

superficie de los insertos de la cámara transwell, observándose las células que migraron. La presencia de IL-8 incrementa de manera significativa, casi el doble, el número de células que migraron con respecto a la condición control.

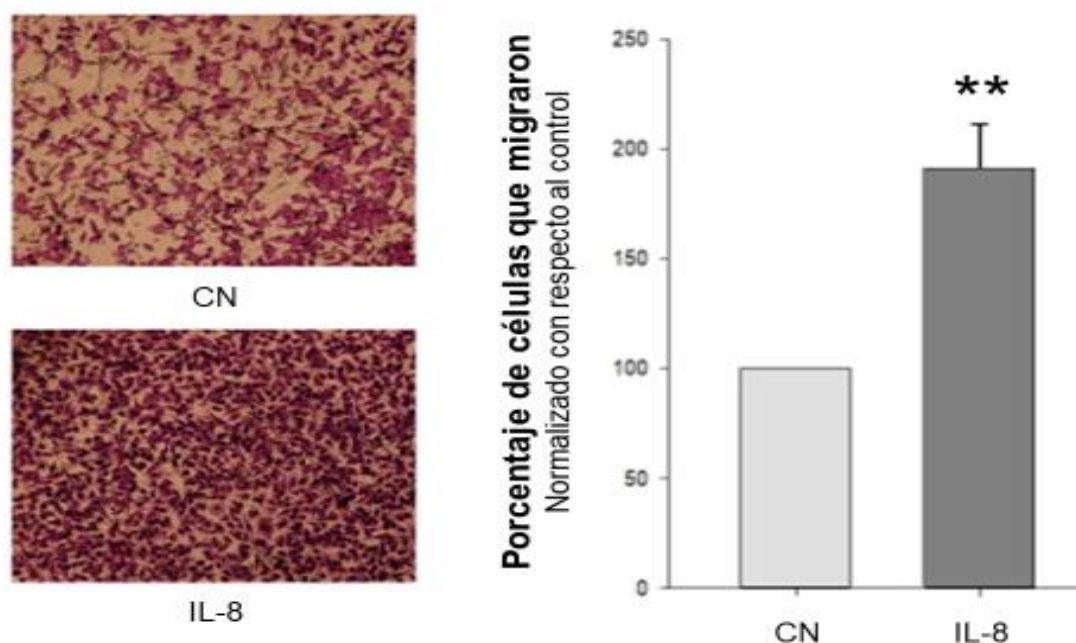


Fig 19. IL-8 exacerba la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231. Las células MDA-MB 231 se pretrataron con IL-8 (40 ng/ml) durante 48 horas. Se observa un aumento estadísticamente significativo sobre la migración celular. $n=4$. (** $p \leq 0.01$).

IL-8 regula el nivel de expresión de marcadores moleculares asociados al fenotipo mesénquimal en las células MDA-MB 231

La Transición Epitelio-Mesénquima es un fenómeno biológico en el que las células de fenotipo epitelial, pierden su polaridad y sus contactos celulares, transformándose progresivamente en células con fenotipo mesenquimal, que les permite moverse y migrar a otros sitios. Este proceso es fundamental en el proceso de metástasis. En relación a los resultados obtenidos en los ensayos de migración, evaluamos si el tratamiento con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml durante 48 horas modificaba la expresión del ARNm de algunos marcadores moleculares relacionados a la transición epitelio-mesénquima. Evaluamos por RT-

PCR de punto final, el nivel de expresión del ARNm que codifica para E-Cadherina (marcador molecular asociado al fenotipo epitelial), así como de Vimentina y α -SMA (marcadores moleculares asociados al fenotipo mesenquimal). La figura 20 muestra que la presencia de IL-8 reduce de manera significativa el nivel de expresión de E-Cadherina, mientras que incrementa el nivel de expresión de α -SMA y de Vimentina (Figura 21). Estos resultados muestran con claridad, que la presencia de IL-8 exacerba la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231 al favorecer la transición epitelio-mesénquima.

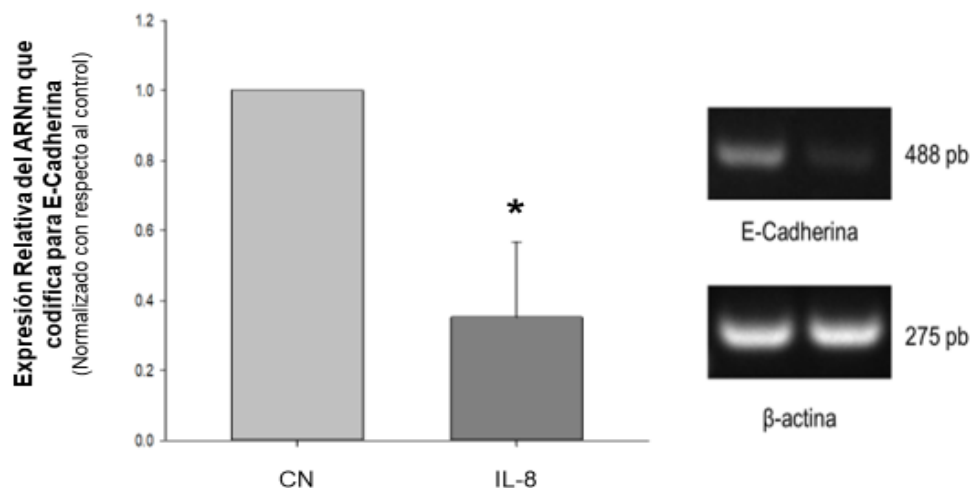


Fig 20. Efecto de IL-8 sobre la expresión de E-Cadherina. Este marcador molecular asociado al fenotipo epitelial se reduce durante la migración. IL-8 redujo significativamente el nivel de expresión del ARNm que codifica para E-Cadherina. $n=4$. (* $p \leq 0.05$).

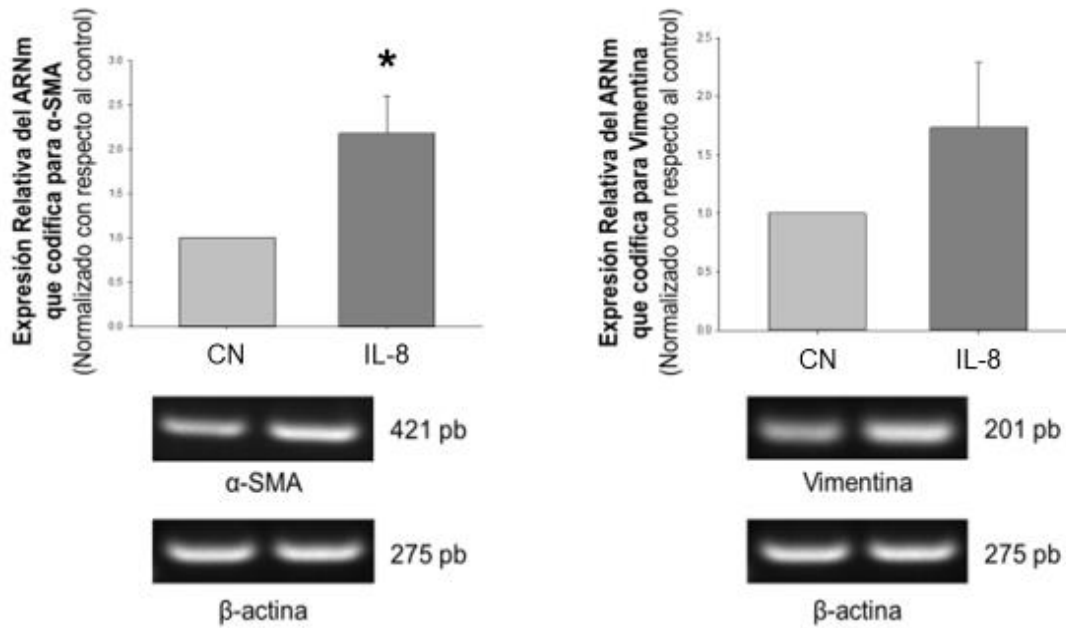


Fig 21. Efecto de IL-8 sobre la expresión de α -SMA y Vimentina. Vimentina y α -SMA son marcadores moleculares asociados al fenotipo mesenquimal, los cuales aumentan durante la migración. IL-8 aumentó significativamente el nivel de expresión del ARNm que codifica para α -SMA y reguló al alza el nivel de expresión del ARNm que codifica para Vimentina. $n=4$. (* $p \leq 0.05$).

IL-8 regula el nivel de expresión de factores de transcripción asociados a la transición epitelio-mesénquima en las células MDA-MB 231

La expresión de los marcadores moleculares asociados al fenotipo epitelial y mesénquimal, es regulada por diferentes factores de transcripción asociados a la transición epitelio-mesénquima, tales como Snail1, Snail2, Zeb y Twist. En este sentido, evaluamos si IL-8 también modificaba la expresión de estos factores de transcripción. Se observó que el tratamiento con IL-8 a 40 ng/ml por 48 horas aumentó significativamente el nivel de expresión del ARNm que codifica para Snail1 y Twist, pero no modificó los niveles de expresión del ARNm que codifica para Snail2 y Zeb (Figura 22).

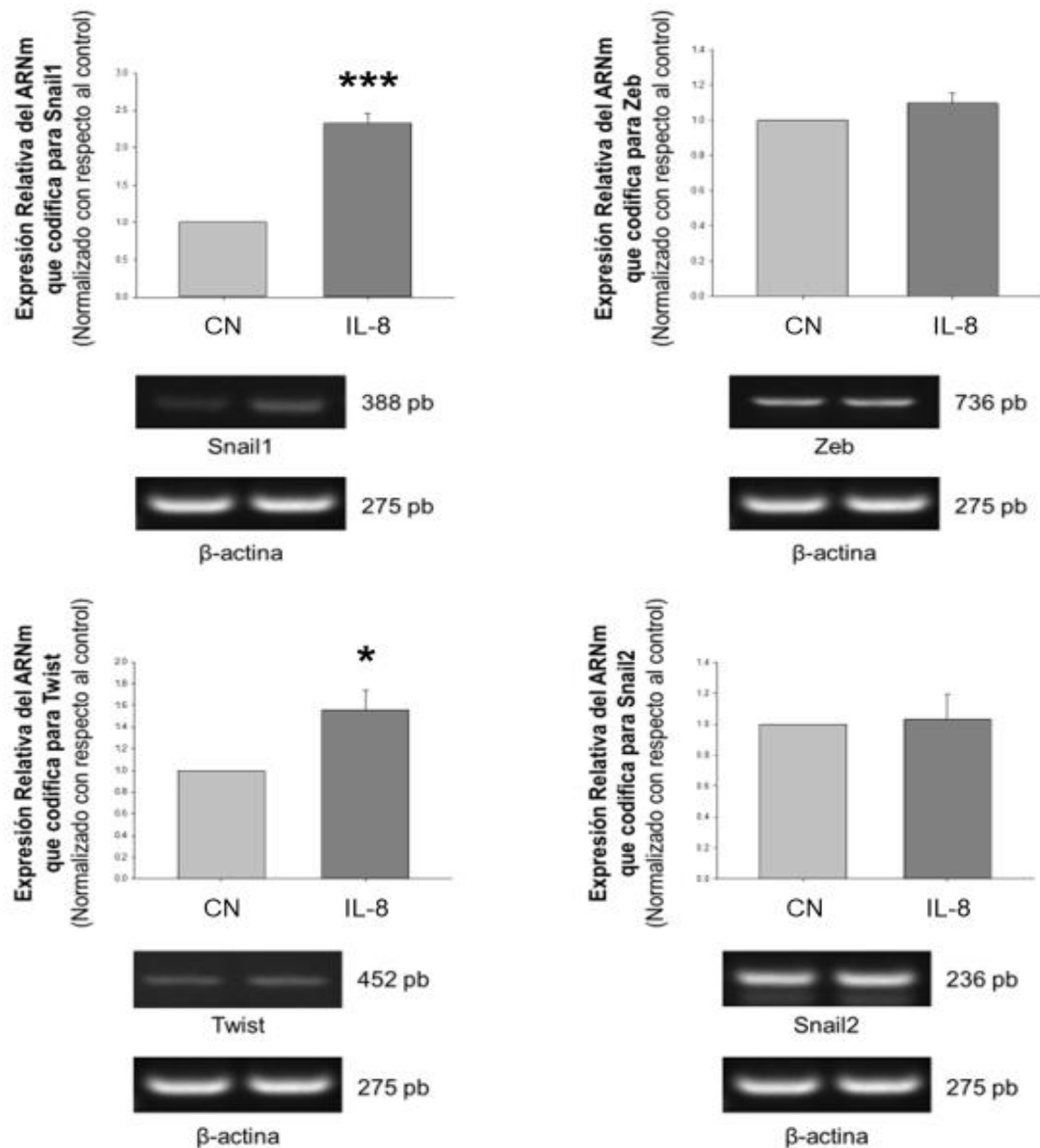


Fig 22. Efecto de IL-8 sobre la expresión de factores de transcripción reguladores de la Transición Epitelio-Mesénquima. IL-8 aumentó significativamente el nivel de expresión del ARNm que codifica para Snail1 y Twist, pero no modificó el nivel de expresión del ARNm que codifica para Snail2 y Zeb. $n=4$. (* $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$).

IL-8 favorece el potencial metastásico de las células MDA-MB 231

El que IL-8 favorezca la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231, sugiere que potencia la metastasis tumoral. En este sentido, se evaluó la expresión del

ARNm que codifica para la Integrina $\alpha 2$ (ITGA2) y la Integrina $\beta 1$ (ITGB1), proteínas relacionadas con el aumento de la metástasis en distintos tipos de cáncer. La figura 23 muestra que el tratamiento con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml por 48 horas reguló positivamente la expresión de ambas integrinas. Estos resultados confirman que IL-8 favorece el potencial metastásico de las células MDA-MB 231, aunque se desconoce el mecanismo molecular involucrado.

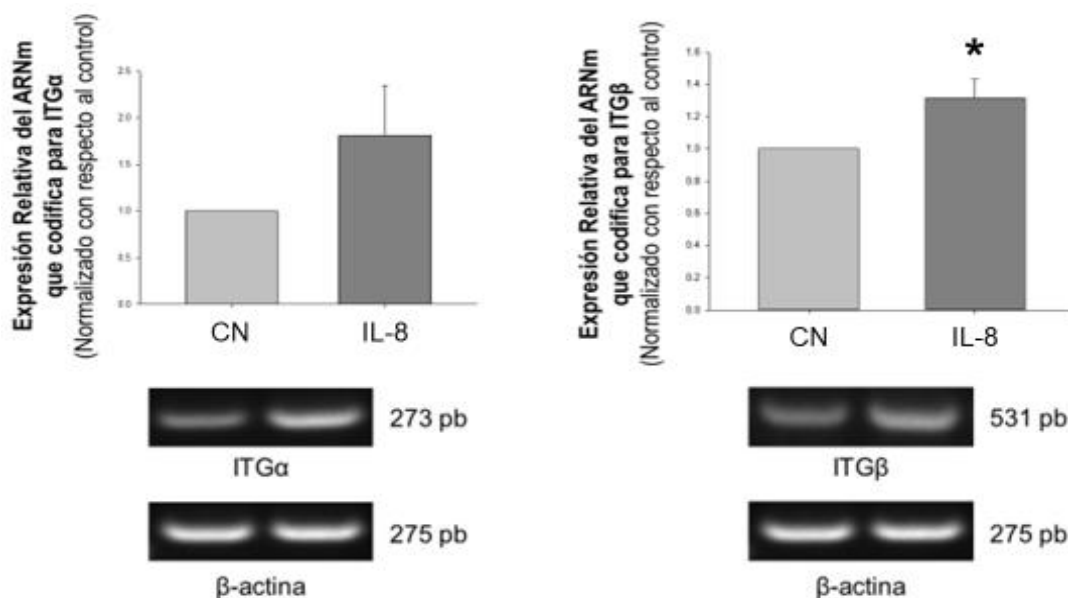


Fig 23. Efecto de IL-8 sobre la expresión de ITGA e ITGB. ITGA e ITGB favorecen la migración al interactuar con la matriz extracelular y promover los contactos célula-célula. IL-8 aumentó significativamente el nivel de expresión del ARNm que codifica para ITGA2 y reguló al alza el nivel de expresión del ARNm que codifica para ITGB1. $n=4$. (* $p \leq 0.05$).

IL-8 induce un aumento en los niveles de expresión del ARNm que codifica para PD-L1 en las células MDA-MB 231

Un elemento que se ha descrito en la última década como un potente promotor del potencial metastásico de células tumorales es el ligando 1 de muerte programada o PD-L1. Se ha demostrado en condiciones *in vivo*, que PD-L1 junto con su receptor PD-1, inhiben la respuesta del sistema inmune a la presencia de células tumorales, evitando su eliminación, sin embargo, poco se sabe de PD-L1 sobre su función como elemento de señalización intrínseca en las células tumorales. Diversas evidencias han mostrado la relación positiva entre los niveles de

expresión de IL-8 y los niveles de expresión de PD-L1 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas, sin embargo, se desconoce si esta relación está presente en el cáncer de mama triple negativo. Por lo tanto, evaluamos si el tratamiento con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml por 48 horas, alteraba los niveles de expresión del ARNm que codifica para PD-L1 en las células MDA-MB 231. La figura 24 muestra de manera clara, que la presencia de IL-8 induce un incremento significativo en los niveles de expresión de PD-L1, más de un 50% de aumento con respecto a la condición control.

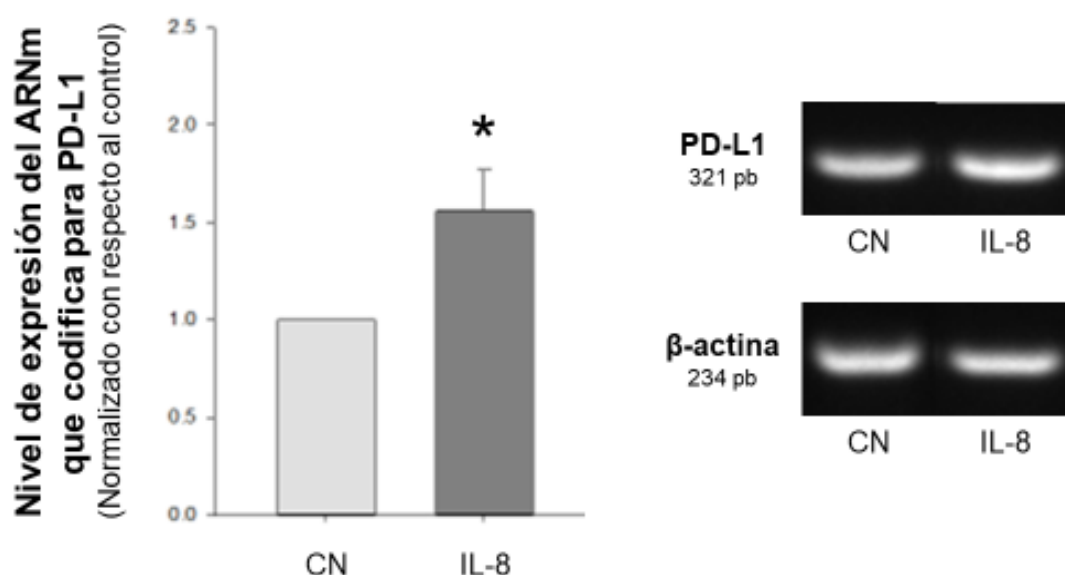


Fig 24. Efecto de IL-8 sobre la expresión del ARNm que codifica para PD-L1. Las células MDA-MB 231 fueron tratadas con IL-8 durante 48 horas. Se observa que IL-8 induce un aumento significativo en la expresión del ARNm que codifica para PD-L1. $n=4$. ($*p \leq 0.05$).

El silenciamiento de PD-L1 reduce el efecto estimulador que ejerce la IL-8 sobre la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231

Considerando como un hecho que la IL-8 induce un incremento en la capacidad proliferativa y migratoria, así como en la expresión de PD-L1 en las células MDA-MB 231, se decidió investigar si el efecto inducido por IL-8 sobre la proliferación y

migración era mediado al menos parcialmente por PD-L1. Para lo cual, se implemento la técnica de silenciamiento del ARNm que codifica para PD-L1, conocida como *Knock-down*. Inicialmente, se evaluó la efectividad del silenciamiento de PD-L1, manteniendo las células MDA-MB 231 en tres condiciones experimentales: control, transfectadas con un ARN de interferencia inespecífico (scramble) y con un ARN de interferencia específico para PD-L1 (siARN PD-L1). Posterior a las 48 horas de la transfección se determinó por RT-PCR el nivel de expresión de PD-L1. La figura 25 muestra que el silenciamiento de PD-L1 fue exitoso en las células MDA-MB 231, prácticamente desapareciendo el ARNm que codifica para PD-L1.

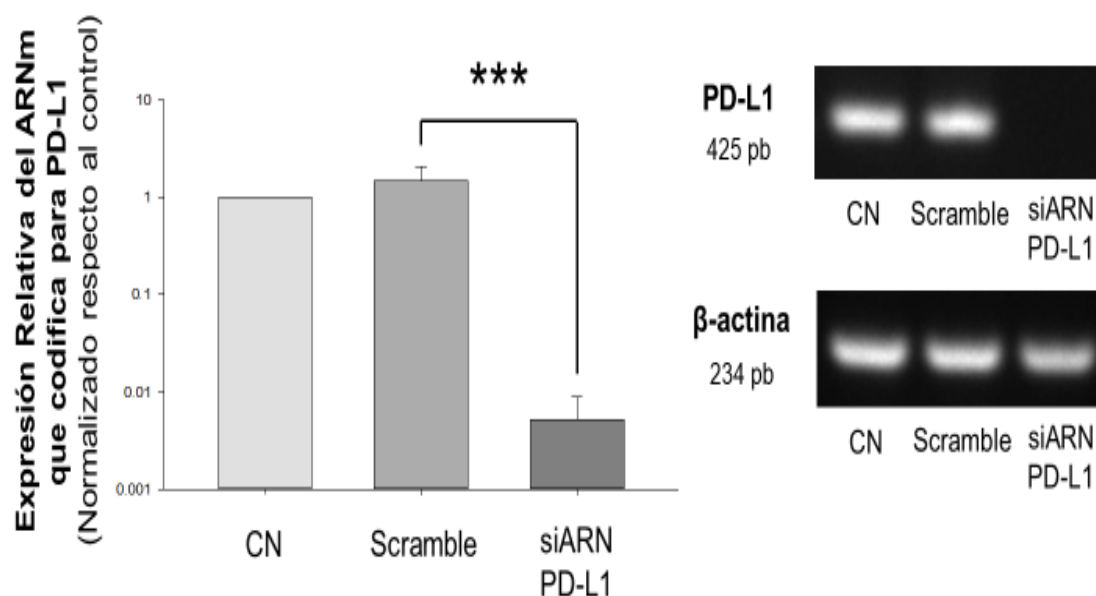


Fig 25. Evaluación de la transfección sobre la expresión del ARNm de PD-L1 en las células MDA-MB 231. Se observa que la transfección con el siARN-PD-L1 fue exitosa al disminuir significativamente los niveles de expresión del ARNm que codifica para PD-L1. $n=3$. (***) $p \leq 0.001$.

Una vez que estandarizamos la técnica de silenciamiento de PD-L1, investigamos su efecto sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231, tanto en presencia como en ausencia de IL-8. Esto nos ayudará a determinar si existe una relación funcional entre el efecto de IL-8 y la probable participación de PD-L1.

La figura 26 muestra el efecto estimulador que ejerce IL-8 sobre la capacidad proliferativa de las células MDA-MB 231, sin embargo, el silenciamiento de PD-L1 no afecta dicha capacidad tanto en la condición control, como en presencia de IL-8. Esto nos sugiere que el efecto estimulador de IL-8 sobre la capacidad proliferativa es independiente de PD-L1.

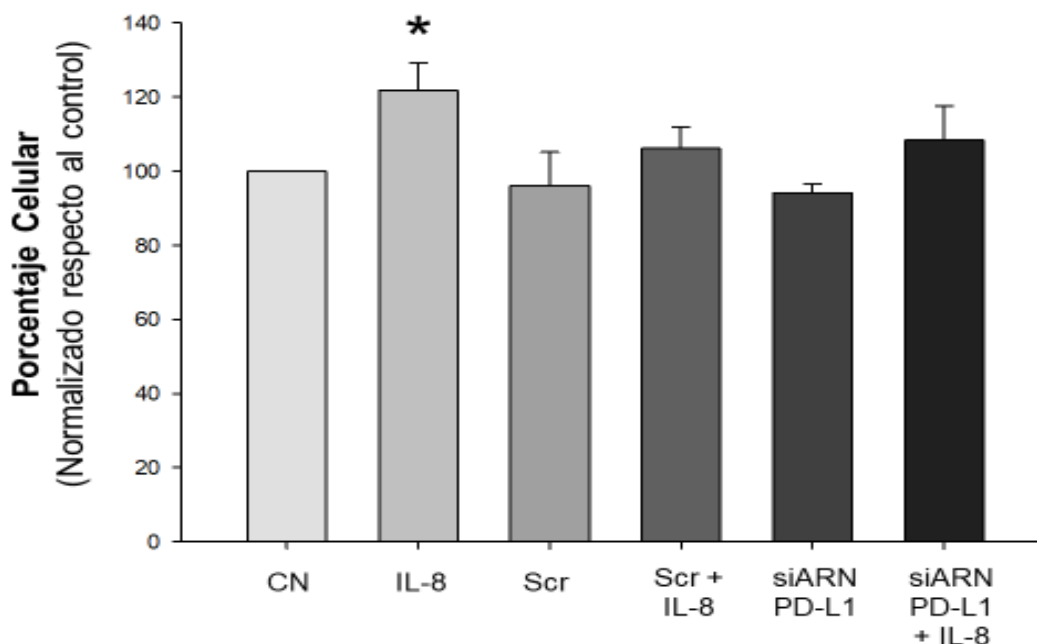


Fig 26. Efecto del knockdown de PD-L1 sobre la capacidad proliferativa. El silenciamiento de PD-L1 no modificó la proliferación celular, sin embargo, se observa una tendencia hacia la baja y este efecto se ve recuperado en presencia de IL-8. $n=3$. (* $p \leq 0.05$).

De manera contraria a lo observado en la capacidad proliferativa, el silenciamiento de PD-L1 reduce de manera significativa la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231 en condiciones control. Como se puede observar en la figura 27, el silenciamiento de PD-L1 abate por completo el efecto estimulador inducido por IL-8 sobre la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231. Este hallazgo deja en claro, que el efecto inductor de IL-8 sobre la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231 es dependiente de PD-L1, desconociéndose el mecanismo molecular involucrado.

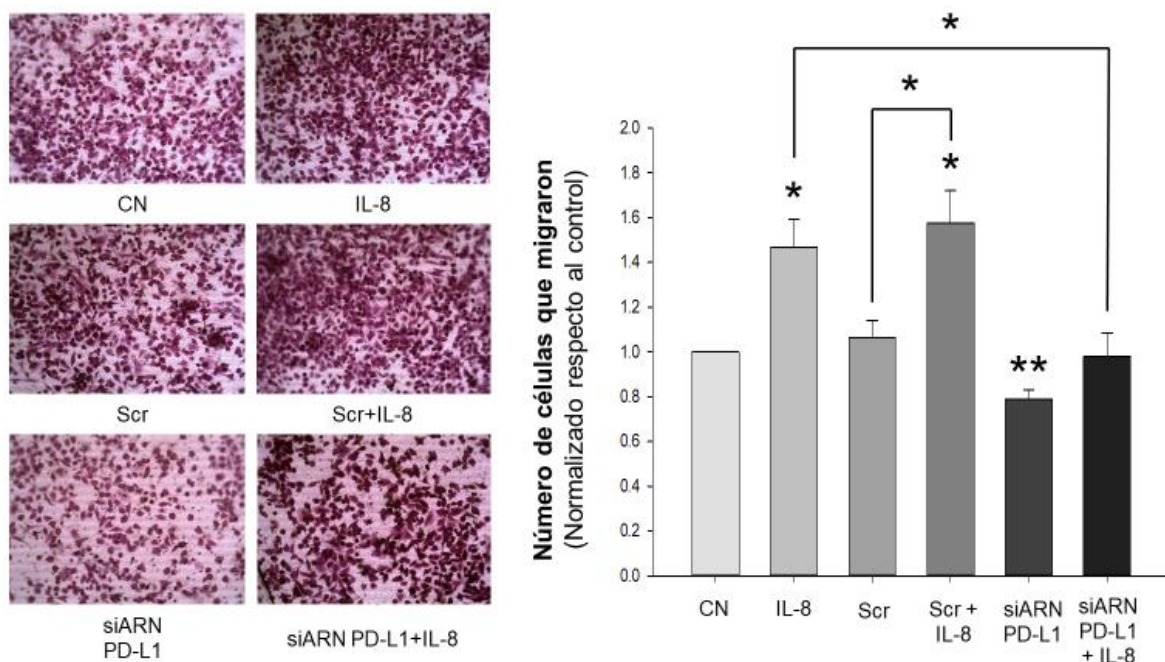


Fig 27. Efecto del knockdown de PD-L1 sobre la capacidad migratoria. El silenciamiento de PD-L1 redujo de manera significativa la migración celular y, el tratamiento con IL-8 (40 ng/ml) bajo esta condición recuperó ligeramente la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231. $n=3$. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$).

IL-8 regula la expresión de PD-L1 a través de las vías de señalización PI3K/Akt y JAK/STAT

Se ha descrito que la regulación de la expresión de PD-L1 en células tumorales se da a través de mecanismos tanto constitutivos como inducibles, lo cual mantiene de manera estable los niveles de expresión de esta proteína. Así mismo, dentro del microambiente tumoral se ha observado que las principales vías de señalización reguladoras de PD-L1 son la vía PI3K/Akt/NF- κ B, JAK/STAT, HIF-1 α y, más recientemente descrita, la vía Wnt/ β -Catenina. Por su parte, la mecánica en la señalización de las isoformas del receptor a IL-8 dependen ampliamente de las proteínas G al ser receptores de siete segmentos transmembranales, los cuales pueden activar vías de señalización como PI3K/Akt, PLC, JAK/STAT y Rho GTPasas, modulando de esta manera una gran variedad de propiedades y funciones del potencial metastásico de células tumorales como la proliferación,

migración, invasión, supervivencia, angiogénesis y evasión inmunitaria (Ju et al., 2020; Sun et al., 2018; Luppi et al., 2007; Guo et al., 2017).

Debido a lo observado en nuestros resultados, donde el tratamiento con IL-8 promovió un aumento en los niveles de expresión del ARNm que codifica para PD-L1 y, derivado de las vías de señalización activadas por la interacción IL-8/CXCR1/2 y que al mismo tiempo regulan la expresión de PD-L1 como se mencionó anteriormente, nos propusimos evaluar dos de las vías compartidas entre IL-8 y PD-L1, la vía PI3K/Akt y la vía JAK/STAT.

Para dilucidar la vía de señalización involucrada en la relación funcional entre la IL-8 y PD-L1, las células MDA-MB 231 fueron tratadas con inhibidores específicos para cada una de estas dos vías de señalización, Wortmanina (5 μ M), un inhibidor de la vía PI3K/Akt y, AG490 (25 μ M), un inhibidor de la vía JAK/STAT, en presencia y ausencia de IL-8. La figura 28 muestra que el tratamiento con Wortmanina reduce significativamente la expresión del ARNm de PD-L1, por su parte, al tratar a las células con AG490, se observa una tendencia hacia la baja sin ser significativo. Por otra parte, cuando las células son pretratadas con Wortmanina y AG490 y posteriormente se adiciona IL-8, se observa una reducción aún más prominente en la expresión de PD-L1, que la observada en condición control. Este último resultado deja en claro la participación de estas dos vías de señalización en la expresión de PD-L1 inducida por IL-8.

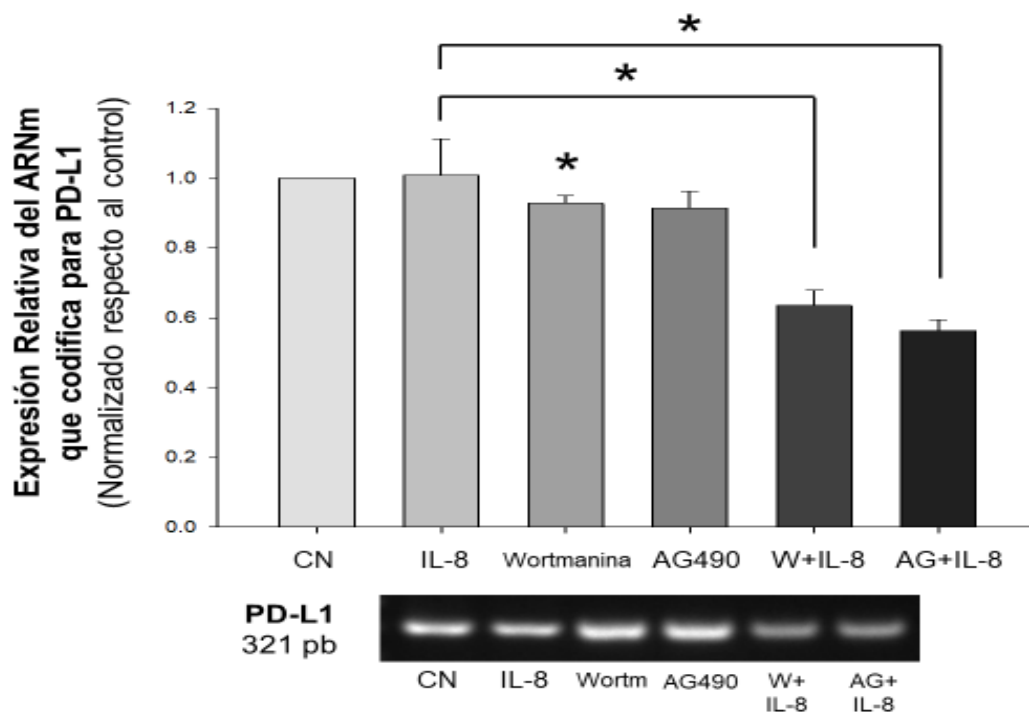


Fig 28. La expresión de PD-L1 inducida por IL-8 está regulada por las vías PI3K/Akt y JAK/STAT. El tratamiento con Wortmanina reduce significativamente el nivel de expresión constitutivo del ARNm que codifica para PD-L1, por otra parte, tanto Wortmanina como AG490 inhiben significativamente el efecto inducible de IL-8 sobre la expresión del ARNm que codifica para PD-L1 (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

DISCUSIÓN

El cáncer de mama sigue representando un grave problema de salud pública a nivel mundial, ocupando el segundo lugar en tasas de incidencia y cuarto lugar en tasas de mortalidad hasta el último reporte publicado por GLOBOCAN en el año 2022. En cuanto a las características fenotípicas, el cáncer de mama triple negativo sigue siendo el subtipo más complejo y de peor pronóstico, además de que los tratamientos disponibles en la actualidad siguen siendo insuficientes para tratar los tumores de cáncer de mama triple negativo irresecables o recurrentes (GLOBOCAN, 2022; Li et al., 2022).

Es de vital importancia destacar el hecho de que el cáncer de mama triple negativo hace alusión a un término de carácter operativo para clasificar a los subtipos de cáncer negativos para la expresión de ER, PR y HER-2, el cual se derivó del hecho de que, a mediados del año 2000 la única terapia sistémica disponible para pacientes con esta enfermedad era la quimioterapia. Actualmente, se ha detallado que los pacientes con cáncer de mama triple negativo difieren enormemente en sus características histológicas, genómicas, comportamiento clínico y respuesta al tratamiento (Derakhshan & Reis-Filho, 2022).

Estas diferencias a nivel genotípico observadas entre los pacientes con cáncer de mama triple negativo se ven altamente influenciadas por la presencia de una condición inflamatoria crónica asociada al desarrollo y progresión tumoral. La inflamación crónica se caracteriza por un daño tisular prolongado, proliferación inducida por el daño y simultáneamente una reparación tisular, en este contexto, la proliferación celular se correlaciona con la metaplasia y, la displasia, un trastorno de la proliferación que conduce a una desregulación del crecimiento celular, se presenta posteriormente y es considerado el evento previo al desarrollo de un carcinoma. Un gran número de investigaciones han tratado de dilucidar los mecanismos moleculares que vinculan la inflamación y el cáncer, de esta manera, se han identificado esquemáticamente dos vías relacionadas con el proceso oncogénico, por un lado la vía intrínseca, donde los factores genéticos que causan

neoplasias inician la expresión desregulada de moléculas asociadas a la inflamación que determinan la heterogeneidad del microambiente inflamatorio y, por otro lado, la vía extrínseca, donde las condiciones inflamatorias facilitan el desarrollo tumoral (Cordon-Cardo & Prives, 1999; Aggarwal et al., 2009).

Como parte de los elementos presentes en la vía extrínseca, se encuentran las citocinas proinflamatorias, las cuales fungen como las principales reguladoras de la inflamación promotora de tumores. En la actualidad, existe una plétora de evidencias que demuestran el papel directo de las citocinas provenientes de leucocitos y células tumorales sobre la progresión cancerígena. Dentro de la gran variedad de citocinas, se ha observado que principalmente la IL-6, la IL-1 β , el TNF- α y el IFN- γ promueven ampliamente la capacidad proliferativa, migratoria, invasiva, clonogénica y angiogénica, no obstante, a pesar de la presencia de IL-8 como un factor quimiotáctico en el microambiente tumoral de diversos tipos de cáncer, el mecanismo que ejerce esta quimiocina en la promoción del potencial metastásico no se ha esclarecido por completo en el cáncer de mama (Ahmad et al., 2018; Vidal-Vanaclocha et al., 2000).

Con estos antecedentes, nos propusimos evaluar cuál es el efecto que ejerce IL-8 sobre la capacidad proliferativa y migratoria de las células de cáncer de mama triple negativo. Inicialmente, quisimos observar la expresión a nivel de ARNm que codifica para las dos isoformas del receptor a IL-8, CXCR1 y CXCR2. En nuestro modelo celular se expresa el ARNm que codifica para estas proteínas, lo cual coincide con lo reportado por Singh y colaboradores, donde observaron la presencia de estos receptores y, que la inhibición de su señalización reduce la actividad de células madre de cáncer de mama positivo y negativo a HER-2. Además, nuestros resultados también coinciden con lo observado por Bi y colaboradores, quienes observaron un elevado nivel de expresión del ARNm para CXCR1/2 en células de cáncer de hígado. Por otra parte, también nos interesó evaluar el posible efecto de IL-8 sobre la regulación de la expresión del ARNm que codifica para sus dos receptores, esto como un posible mecanismo de retroalimentación negativa a través de la internalización del receptor. En este

contexto, se sabe que CXCR1 y CXCR2 son receptores de siete segmentos transmembranales acoplados a proteínas G, los cuales son regulados a través de la internalización del receptor mediado por β -arrestinas cuando el estímulo por el ligando es prolongado, por lo tanto, evaluamos la expresión del ARNm de ambos receptores en presencia y ausencia de IL-8, observando que el tratamiento con el ligando no modificó la expresión de estos receptores. Este comportamiento podría estar dado por una actividad constitutiva de estos receptores y/o sus genes, debido a que en células tumorales se ve interrumpida la internalización del receptor aun cuando la señalización mediada por IL-8 es constante, asimismo, se ha descrito que una condición de hipoxia característica del proceso carcinogénico en muchos tipos de cáncer es un factor determinante para mantener estables los niveles de ARNm que codifican para estos receptores, no obstante, hacen falta más investigaciones para comprender el mecanismo de regulación de CXCR1/2 de manera dependiente o independiente de su ligando en células tumorales (Singh et al., 2012; Bi et al., 2019; Korbecki et al., 2022).

Recientemente, múltiples investigaciones se han centrado en investigar el papel de IL-8 en la progresión tumoral de diversos tipos de cáncer, observando que esta quimiocina desencadena efectos positivos sobre la proliferación, migración, invasión y angiogénesis. Debido a esto, como parte de los objetivos se decidió evaluar el papel de esta citocina proinflamatoria en la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231. Las células fueron tratadas con IL-8 a una concentración de 40 ng/ml durante 48 horas, observando que la IL-8 fue capaz de modificar tanto la proliferación como la migración celular en el tiempo de exposición a esta citocina.

Nuestros resultados coinciden con una amplia variedad de artículos en los cuales se han reportado efectos promotores de IL-8 sobre la capacidad proliferativa y migratoria de células tumorales. Por ejemplo, Ma y colaboradores en 2023 observaron que las células MKN-45 provenientes de cáncer gástrico deficientes de FAK (del inglés, *Focal Adhesion Kinase*) también presentaban una disminución en la expresión de IL-8 y, esto estaba correlacionado con una disminución de la

capacidad proliferativa y migratoria. Por su parte, en 2020, Shen y colaboradores observaron que la sobreexpresión del microARN miR-106a reducía significativamente la expresión de IL-8 en líneas de cáncer de próstata y, a su vez, esto reducía la proliferación, migración e invasión de células PC3 y DU145. En 2023, Hong-Huang y colaboradores observaron que el tratamiento con IL-8 promovió la proliferación, migración e invasión de las células MDA-MB 231 a las 48 horas y que el tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-CXCL8 revertía estos efectos. Cabe destacar que en estos resultados, los mejores efectos sobre la proliferación se observaron a una concentración de 10 ng/ml. Por otra parte, Ding y colaboradores observaron que el tratamiento con XCT-790, un antagonista de los receptores $ERR\alpha$, redujo significativamente la expresión de IL-8 en las células SW480 provenientes de cáncer colorrectal, pero no la expresión de IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-18, IFN- γ ni TGF- β y, a su vez, esto se asoció con una disminución de la proliferación y migración. Contrariamente a nuestros resultados y a lo reportado en los artículos mencionados anteriormente, Freund y colaboradores observaron que el tratamiento con IL-8 a 50 ng/ml y 150 ng/ml no modificó la proliferación, pero sí la migración e invasión de las células ZR-75 y MDA-MB 231. Estos resultados demuestran ampliamente el papel que desempeña IL-8 sobre la capacidad proliferativa y migratoria de diversas líneas tumorales, sugiriendo que podría ser un blanco terapéutico principal en el diseño de nuevos tratamientos contra el cáncer de mama triple negativo (Ma et al., 2023; Shen et al., 2020; Hong-Huang et al., 2023; Ding et al., 2017; Freund et al., 2003).

En el contexto de la condición inflamatoria crónica, otro de los elementos que participa durante este proceso es la proteína de control inmunitario PD-L1 que, de manera canónica, se caracteriza por ser un inhibidor de la activación de los linfocitos T y regular la actividad de la respuesta inmune, no obstante, se ha observado que en el microambiente tumoral contribuye a promover la inflamación y la inmunoevasión. Con lo expresado anteriormente, la inmunoterapia surge como una tendencia inevitable para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. La razón de esta estrategia terapéutica es debido a la capacidad del sistema inmunitario para eliminar a las células tumorales, así como el papel de los

anticuerpos para reconocer neoantígenos y/o proteínas presentes en la membrana de células cancerígenas. No obstante, las interacciones entre el sistema inmunitario y el cáncer se rigen a través de vías biológicas sumamente complejas, a pesar de la idea clásica de que las células inmunológicas deberían reconocer a las células tumorales como entidades “extrañas”, basándose en el perfil mutacional que presentan, el equilibrio natural y principal de esta interacción recae en la tolerancia inmunológica, un proceso en el cual las células tumorales se hacen pasar como células “propias”. La tolerancia se regula mediante linfocitos T reguladores, citocinas inmunosupresoras y más recientemente, a través del descubrimiento de vías denominadas “puntos de control inmunitario”. De esta manera, el bloqueo de los puntos de control inmunitario mediante la administración de anticuerpos monoclonales ha demostrado ofrecer beneficios parciales a los pacientes con algún tipo de cáncer en particular (Li et al., 2022; Topalian et al., 2012).

Uno de los puntos de control inmunitario más estudiados en la actualidad es el eje PD-1/PD-L1. En los últimos años, muchos investigadores se han centrado en investigar el papel de este eje debido a su notable eficacia clínica, respuesta prolongada y baja toxicidad. Particularmente, se ha estudiado con mayor profundidad el efecto que ejerce PD-L1 sobre la capacidad metastásica de las células tumorales de manera dependiente a su unión con PD-1, este mecanismo es a través de la inactivación de linfocitos T, lo cual permite la inmunoevasión de células tumorales y subsecuentemente favorece la progresión del tumor primario. Relacionado con este proceso, Ricklefs y colaboradores observaron que el PD-L1 expresado en la superficie de exosomas derivados de células de Glioblastoma era capaz de unirse a PD-1 expresado en linfocitos T e inhibir su proliferación y diferenciación. Por otra parte, un metaanálisis realizado por Li y colaboradores demostró que a mayores niveles de expresión de PD-L1 se presenta una menor tasa de supervivencia general en pacientes con cáncer colorrectal (Sanmamed & Chen, 2018; Ricklefs et al., 2018; Li et al., 2019).

A pesar del conocimiento que se tiene sobre el papel de PD-L1 en la supresión de la respuesta inmune antitumoral, diversas investigaciones han mostrado indicios de un papel intrínseco a los tumores de PD-L1 en la regulación de la transición epitelio-mesénquima, la metástasis y la quimiorresistencia, sin embargo, el papel de este punto de control inmunitario sobre estas características del potencial metastásico se encuentran menos definidos en la actualidad. Con estos antecedentes, surge la idea de determinar el posible papel de PD-L1 de manera no canónica, es decir, de forma independiente a la unión con su receptor PD-1 en condiciones *in vitro*, donde nuestro modelo experimental, las células de cáncer de mama triple negativo MDA-MB 231, se encuentran en un medio libre de células inmunológicas PD-1+.

Por lo tanto, en este trabajo evaluamos de manera inicial la expresión a nivel de ARNm de PD-L1, se extrajo el ARN total de las células MDA-MB 231 y evaluamos la expresión génica mediante RT-PCR de punto final. De esta manera, observamos que nuestro modelo celular expresa el ARNm que codifica para PD-L1, este primer resultado concuerda con lo observado por Dong y colaboradores a partir de un análisis de las bases de datos U133A, U133Plus2 y TCGA, donde la expresión del ARNm de PD-L1 se reguló positivamente y de manera constante en cáncer de mama, pulmón, ovario, próstata, hígado, entre otros tipos de cáncer. Así mismo, concuerda con el trabajo de Alkaabi y colaboradores, en el cual muestran que la línea celular MDA-MB 231 presenta una expresión elevada de PD-L1 comparado con una nula expresión de esta proteína en las líneas celulares de cáncer de mama dependientes de hormonas, T47D y MCF7 y la línea celular epitelial mamaria no tumoral MCF10A. Por otra parte, nuestros resultados contrastan con el trabajo de Chen y colaboradores, donde observaron que PD-L1 no se expresó en 16 de 17 cultivos de líneas celulares provenientes de melanomas y en un cultivo de una línea celular proveniente de cáncer de pulmón de células no pequeñas (Dong et al., 2018; Alkaabi et al., 2023; Chen et al., 2019).

Un número creciente de estudios ha sugerido que PD-L1 se expresa ampliamente en diversos tumores sólidos y, aunque el valor pronóstico de la expresión de PD-

L1 aún resulta controvertido, se ha demostrado que una alta expresión en los niveles de ARNm y proteína de esta molécula están asociados a un aumento en la capacidad proliferativa, migratoria, invasiva y de supervivencia de múltiples tipos de cáncer. Por ejemplo, en 2022, Lin y colaboradores observaron que la reducción en la expresión de PD-L1 inhibió significativamente la capacidad migratoria e invasiva de células de carcinoma folicular de tiroides, además, encontraron que la expresión de miR-199a-5p reducía la progresión tumoral de estas células y, que este efecto, estaba mediado a través de la regulación negativa de la expresión de PD-L1. Otro hallazgo fue reportado por Feng y colaboradores en 2024, donde observaron que la proteína ZNF250 derivada de fibroblastos asociados al cáncer (CAFs) reguló positivamente la expresión de PD-L1 en un modelo celular de carcinoma hepatocelular y, además, los exosomas derivados de CAFs que eran deficientes de ZNF250 inhibieron la proliferación, migración, invasión y evasión inmunitaria mediante la regulación negativa de la expresión de PD-L1 en el mismo modelo celular. Por su parte, Xie y colaboradores en 2025 observaron que PD-L1 se encontraba sobreexpresado en células de glioblastoma humano y, esta condición promovió la viabilidad, proliferación, migración e invasión de estas células mediante la activación del eje GP130/JAK2/STAT3/IRAK2/NF- κ B/IL-6 (Lin et al., 2022; Feng et al., 2024; Xie et al., 2025).

Con los resultados mencionados anteriormente, queda en evidencia el efecto promotor de PD-L1 sobre el potencial metastásico de diversas líneas celulares de cáncer, lo cual empeora el pronóstico de los pacientes. Por lo tanto, en el presente trabajo nos propusimos evaluar el efecto del silenciamiento de PD-L1 sobre la capacidad proliferativa y migratoria. En relación a esto, observamos que posterior a la transfección con siARN-PD-L1 se presentó una disminución significativa en la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231 a las 48 horas de tratamiento con respecto a la condición control, pero no se observaron cambios significativos sobre la capacidad proliferativa, aunque se presenta una tendencia a la baja. De esta manera, a través de nuestros resultados queda en evidencia que PD-L1 juega un papel clave en la migración y regulación de la transición epitelio-mesénquima en las células de cáncer de mama triple negativo. En consonancia con nuestros

resultados, Abounar y colaboradores demostraron que el *knockout* de PD-L1 mediante la técnica de CRISPR/Cas9 en células A549 y H1975 provenientes de cáncer de pulmón de células no pequeñas fue capaz de arrestar el ciclo celular en la fase G0/G1 y reducir la capacidad migratoria, asimismo, la supresión en la expresión de esta proteína sensibilizó a las células al tratamiento con Paclitaxel, lo que a su vez aumentó la muerte por apoptosis. Por su parte, Li-Wenjuan y colaboradores observaron una mayor expresión de PD-L1 en células A549 y H1299 en comparación con las células epiteliales pulmonares normales, esta alta expresión estaba asociada a un estadio TNM más avanzado y a un aumento de la metástasis, en contraparte, al inhibir la expresión de PD-L1 se redujeron significativamente los marcadores moleculares relacionados con la transición epitelio-mesénquima y angiogénesis, tales como MMP9, N-Cadherina y VEGFA, mientras que la expresión de E-Cadherina se vio aumentada, dando paso a una regresión al fenotipo epitelial. En 2018, Qiu y colaboradores demostraron que la inhibición de la expresión génica de PD-L1 suprimió el desarrollo y progresión de células de Glioblastoma en modelos ortotópicos de Glioblastoma en roedores, además, los investigadores observaron que el PD-L1 intrínseco del Glioblastoma fue capaz de regular ampliamente el proceso de transición epitelio-mesénquima de manera dependiente a la activación de la vía Ras/MEK/ERK (Abounar et al., 2024; Li-Wenjuan et al., 2024; Qiu et al., 2018).

Con los resultados obtenidos hasta este punto y bajo consideración de los elementos presentes en el microambiente tumoral que, además, han demostrado ejercer un papel promotor sobre la progresión tumoral, surgió la idea de evaluar una posible conexión del eje IL-8/PD-L1 sobre el potencial metastásico de las células MDA-MB 231 y, en relación a esto, demostrar cuáles eran las posibles vías de señalización río abajo de CXCR1/2 involucradas en regular la expresión de PD-L1, lo cual no ha sido esclarecido en nuestro modelo celular. Uno de los antecedentes principales relacionados con la conexión entre IL-8 y PD-L1 fue descrito por Lin y colaboradores en 2019, donde demostraron que un aumento en la expresión de IL-8 estaba correlacionado con un aumento en la expresión de PD-L1 tanto a nivel de ARNm como de proteína y, a su vez, esta correlación estaba

asociada a una peor tasa de supervivencia general de pacientes con cáncer gástrico. Por su parte, Jing-Liu y colaboradores describieron un novedoso mecanismo en células de Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas resistentes a los TKI-EGFR. Inicialmente, observaron que estas células presentaban una sobreexpresión de NOX4 y, al suprimir la expresión de esta proteína, los niveles de expresión de IL-8 disminuían y, posteriormente, los niveles de expresión de PD-L1 también se veían hacia la baja, por lo tanto, estos resultados demostraron una conexión entre el eje NOX4/IL-8/PD-L1 en la resistencia a los TKI y la evasión de la respuesta inmunitaria. Por otro lado, Lou y colaboradores en 2024 observaron a través de cocultivos de células MKN45 provenientes de cáncer gástrico con Fibroblastos Asociados al Cáncer (CAFs) un aumento en la expresión de PD-L1, la cual era inducida por la secreción de IL-8 proveniente de CAFs. Mecánicamente, el aumento de PD-L1 por IL-8 estaba mediado a través de la activación de las vías p38, JNK y NF- κ B, lo cual fue confirmado al tratar a las células con Repertaxina, un inhibidor de los receptores CXCR1/2, y observar una reducción en los niveles de expresión de PD-L1 y el bloqueo de las vías mencionadas. En 2018, Sun y colaboradores demostraron que las Células Madre Mesenquimales de Cáncer Gástrico (CMMCG) eran capaces de aumentar la expresión de PD-L1 en Células de Cáncer Gástrico (CG), lo cual resultaba en un aumento de la resistencia a los efectos citotóxicos mediados por Linfocitos T CD8+, además, observaron que este aumento de PD-L1 estaba mediado por la activación de las vías de señalización STAT3 y mTOR inducidas por IL-8. Otra de las características esenciales de las células tumorales es el microambiente hipóxico, en este sentido, Song y colaboradores observaron que los macrófagos hipóxicos contribuyeron a la proliferación, migración y progresión del ciclo celular de células de cáncer de esófago. Demostraron que la condición de hipoxia incrementó la secreción de IL-8 por parte de los macrófagos a través de la regulación positiva en la expresión del factor de transcripción HIF-1 α y, además, la IL-8 secretada facilitó la expresión de PD-L1 (Lin et al., 2019; Jing-Liu et al., 2023; Lou et al., 2024; Sun et al., 2018; Song et al., 2023).

Nuestros datos demuestran una relación directa entre IL-8 y los niveles de expresión de PD-L1 en el cáncer de mama triple negativo, la cual está mediada a través de la activación de la vía PI3K/Akt y, posiblemente NF- κ B, lo cual coincide con lo mencionado anteriormente y reportado por Lou y colaboradores en cáncer gástrico. Por otro lado, demostramos que la conexión IL-8/PD-L1 también se ve influenciada por la activación de la vía JAK/STAT, coincidiendo con lo descrito por Sun y colaboradores. Cabe destacar que, hasta donde sabemos, este es el primer hallazgo que demuestra una regulación directa de la expresión del ARNm que codifica para PD-L1 inducida por IL-8 a través de la activación de las vías PI3K/Akt y JAK/STAT río abajo de CXCR1/2 en células de cáncer de mama triple negativo.

Así mismo, cabe resaltar que la interacción entre IL-8 y PD-L1 es capaz de modular diferentes propiedades del potencial metastásico como la proliferación, migración, quimiorresistencia y evasión de la respuesta inmune, así como un aumento de la metástasis y una reducción en la tasa de supervivencia general, tal como se mencionó anteriormente. Aquí hemos demostrado que esta conexión incide significativamente sobre la capacidad migratoria y proliferativa de las células de cáncer de mama triple negativo, MDA-MB 231, observando en esta última propiedad una tendencia sin ser significativa. No obstante, surge la necesidad de dilucidar los posibles mecanismos mediante los cuales PD-L1, de manera intrínseca, influye sobre la migración celular. En relación a esto, recientemente se ha considerado que la localización nuclear de PD-L1 se asocia con la progresión tumoral, pero las funciones nucleares específicas de PD-L1 no están descritas por completo. Ante este nuevo reto, Reddy y colaboradores demostraron en células de cáncer de ovario, que PD-L1 es capaz de unirse al promotor de los genes que codifican para IL-8, Bcl3 y STAT1 asociado con un aumento en la acetilación de histonas y el reclutamiento de la ARN Polimerasa II a estos promotores. Estos hallazgos proporcionan una función novedosa de PD-L1 en células tumorales, lo cual podría contribuir a la resistencia a la inmunoterapia en algunos tipos de cáncer, por lo tanto, surge como perspectiva evaluar las funciones nucleares de PD-L1 y su posible papel como factor de transcripción sobre el potencial metastásico en células de cáncer de mama triple negativo.

CONCLUSIONES

1. Las células MDA-MB 231 expresan el ARNm que codifica para el receptor a IL-8 así como para PD-L1.
2. IL-8 exagera la capacidad proliferativa y migratoria de las células MDA-MB 231.
3. IL-8 favorece la transición epitelio-mesénquima en las células MDA-MB 231, incrementando su potencial metastásico.
4. IL-8 incrementa el nivel de expresión del ARNm que codifica para PD-L1, siendo este efecto mediado por las vías de señalización PI3K/Akt y JAK/STAT.
5. La expresión de PD-L1 regula positivamente la capacidad migratoria de las células MDA-MB 231, pero no afecta su capacidad proliferativa.
6. El efecto inducido por IL-8 sobre la capacidad migratoria en las células MDA-MB 231 es dependiente de la expresión de PD-L1.

REFERENCIAS

1. Abounar, S., El-Nikhely, N., Turkowski, K., Savai, R. & Saeed, H. (2024). CRISPR/Cas-Mediated Knockdown of PD-L1 and KRAS in Lung Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 25 (16).
2. Aggarwal, B., Vijayalekshmi, R. & Sung, B. (2009). Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin Cancer Res*. Vol. 15 (2). pp. 425-430.
3. Ahmad, N., Ammar, A., Storr, S., Green, A., Rakha, E., et al. (2018). IL-6 and IL-10 are associated with good prognosis in early stage invasive breast cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. Vol. 67 (4). pp. 537-549.
4. Alkaabi, D., Arafat, K., Sulaiman, S., Al-Azawi, A. & Attoub, S. (2023). PD-1 Independent Role of PD-L1 in Triple-Negative Breast Cancer Progression. *Int J Mol Sci*. Vol. 24 (7).
5. Araki, S., Omori, Y., Lyn, D., Singh, R., Meinbach, D., et al. (2007). Interleukin-8 is a molecular determinant of androgen independence and progression in prostate cancer. *Cancer Res*. Vol 67. pp. 6854-6862.
6. Azuma, T., Yao, S., Zhu, G., Flies, A., Flies, S., & Chen, L. (2008). B7-H1 is a ubiquitous antiapoptotic receptor on cancer cells. *Blood*. Vol. 111 (7). pp. 3635-3643.
7. Baggiolini, M., Dewald, B. & Moser, B. (1997). Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol*. Vol 15. pp. 675-705.
8. Balkwill, F. & Mantovani, A. (2001). Inflammation and cancer: back to Virchow?. *The Lancet*. Vol. 357 (9255). pp. 539-545.
9. Baptista, M., Sarian, L., Derchain, S., Pinto, G. & Vassallo, J. (2016). Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Human Pathology*. Vol. 47 (1). pp. 78-84.
10. Barrea, L., Muscogiuri, G., Frias-Toral, E., Laudisio, D., Pugliese G., et al. (2021). Nutrition and immune system: From the Mediterranean diet to dietary supplementary through the microbiota. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. Vol. 61. pp. 3066-3090.
11. Barrett, M., Anderson, K., Lenkiewicz, E., Andreozzi, M., Cunliffe, H., et al. (2015). Genomic amplification of 9p24.1 targeting JAK2, PD-L1, and PD-L2 is enriched in high-risk triple negative breast cancer. *Oncotarget*. Vol. 6 (28). pp. 26483-26493.
12. Barrett, M., Lenkiewicz, E., Malasi, S., Basu, A., Yearley, J., et al. (2018). The association of genomic lesions and PD-1/PD-L1 expression in resected triple-negative breast cancers. *Breast Cancer Research*. Vol. 20 (1).
13. Beck, B., Driessens, G., Goossens, S., Kass-Youssef, K., Kuchnio, A., et al. (2011). A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours. *Nature*. Vol. 478 (7369). pp. 399-403.
14. Benelli, R., Stigliani, S., Minghelli, S., Carlone, S. & Ferrari, N. (2013). Impact of CXCL1 overexpression on growth and invasion of prostate cancer cell. *The Prostate*. Vol. 73 (9). pp. 941-951.
15. Bi, H., Zhang, Y., Wang, S., Fang, W., He, W., et al. (2019). Interleukin-8 promotes cell migration via CXCR1 and CXCR2 in liver cancer. *Oncology Letters*. Vol. 18 (4). pp. 4176-4184.
16. Bingham, S., Day, N., Luben, R., Ferrari, P., Slimani, N., et al. (2003). Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): An observational study. *Lancet*. Vol. 361. pp. 1496-1501.

17. Bochet, L., Lehuédé, C., Dauvillier, S., Wang, Y., Dirat, B., et al. (2013). Adipocyte-derived fibroblasts promote tumor progression and contribute to the desmoplastic reaction in breast cancer. *Cancer Research*. Vol. 73 (18). pp. 5657-5668.
18. Boussiotis, V., Chatterjee, P. & Li, L. (2014). Biochemical signaling of PD-1 on T cells and its functional implications. *The Cancer Journal*. Vol. 20. pp. 265-271.
19. Brat, D., Bellail, A. & Van Meir, E. (2005). The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neuro Oncol*. Vol 7. pp. 122-133.
20. Brenner, A., Preston, D., Sakata, R., Sugiyama, H., De Gonzalez, A., et al. (2018). Incidence of Breast Cancer in the Life Span Study of Atomic Bomb Survivors: 1958-2009. *Radiat. Res*. Vol. 190.
21. Brewer, H., Jones, M., Schoemaker, M., Ashworth, A. & Swerdlow, A. (2017). Family History and Risk of Breast Cancer: An Analysis Accounting for Family Structure. *Breast Cancer Res. Treat*. Vol. 165. pp. 193-200.
22. Brown, R., Bigelow, P., Dubin, J. & Mielke, J. (2023). High Dietary Phosphorus Is Associated with Increased Breast Cancer Risk in a U.S. Cohort of Middle-Aged Women. *Nutrients*. Vol. 15.
23. Burn, J., Sheth, H., Elliott, F., Reed, L., Macrae, F., et al. (2020). Cancer prevention with aspirin in hereditary colorectal cancer (Lynch syndrome), 10-year follow-up and registry-based 20-year data in the CAPP2 study: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. Vol. 395 (10240). pp. 1855-1863.
24. Casey, S., Tong, L., Li, Y., Do, R., Walz, S., et al. (2016). MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. *Science*. Vol. 352 (6282). pp. 227-231.
25. Castagnoli, L., Cancila, V., Córdoba-Romero, S., Faraci, S., Talarico, G., et al. (2019). WNT signaling modulates PD-L1 expression in the stem cell compartment of triple-negative breast cancer. *Oncogene*. Vol. 38 (21). pp. 4047-4060.
26. CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades). (2020). ¿Qué es el Cáncer de mama?. Recuperado de: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/what-is-breast-cancer.htm
27. Chemnitz, J., Parry, R., Nichols, K., June, C. & Riley, J. (2004). SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *Journal of Immunology*. Vol. 173 (2). pp. 945-954.
28. Chen, S., Crabill, G. A., Pritchard, T. S., et al. (2019). Mechanisms regulating PD-L1 expression on tumor and immune cells. *Journal for immunotherapy of cancer*. Vol. 7 (305).
29. Cheng, W. L., Wang, C. S., Huang, Y. H., Tsai, M. M., Liang, Y. & Lin, K. H. (2011). Overexpression of CXCL1 and its receptor CXCR2 promote tumor invasion in gastric cancer. *Ann Oncol*. Vol. 22 (10). pp. 2267-2276.
30. Cheng, Y., Ma, X., Wei, Y. & Wei, X. (2019). Potential roles and targeted therapy of the CXCLs/CXCR2 axis in cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. Vol 1871. pp. 289–312.
31. Chlebowski, R., Chen, Z., Anderson, G., Rohan, T., Aragaki, A., et al. (2005). Ethnicity and Breast Cancer: Factors Influencing Differences in Incidence and Outcome. *JNCI J. Natl. Cancer Inst*. Vol. 97. pp. 439-448.
32. Chow, K. & Gale, M. (2015). SnapShot: Interferon Signaling. *Cell*. Vol. 163 (7).
33. Coglian, V., Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B. & El Ghissassi, F. (2005). Carcinogenicity of Combined Oestrogen-Progestagen Contraceptives and Menopausal Treatment. *Lancet Oncol*. Vol. 6. pp. 552-553.
34. Cordon-Cardo, C., & Prives, C. (1999). At the crossroads of inflammation and tumorigenesis. *J Exp Med*. Vol. 190 (10). pp. 1367-1370.

35. De Palma, M., Biziato, D. & Petrova, T. (2017). Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*. Vol. 17 (8). pp. 457-474.
36. DeSantis, C., Ma, J., Gaudet, M., Newman, L., Miller, K., et al. (2019). Breast Cancer Statistics, 2019. *CA Cancer J. Clin.* Vol. 69. pp. 438-451.
37. de Visser, K. & Joyce, J. (2023). The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell*. Vol. 41 (3). pp. 374-403.
38. Derakhshan, F. & Reis-Filho, J. (2022). Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. *Annu Rev Pathol*. Vol. 24 (17). pp. 181-204.
39. Ding, S., Tang, Z., Jiang, Y., Huang, H., Luo, P., et al. (2017). IL-8 Is Involved in Estrogen-Related Receptor α -Regulated Proliferation and Migration of Colorectal Cancer Cells. *Dig Dis Sci*. Vol. 62 (12). pp. 3438-3446.
40. Dong, H., Strome, S., Salomao, D., Tamura, H., Hirano, F., et al. (2002). Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nature Medicine*. Vol. 8 (8). pp. 793-800.
41. Dong, H., Zhu, G., Tamada, K. & Chen, L. (1999). B7-H1, a third member of the B7 family co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nature Medicine*. Vol. 5 (12). pp. 1365-1369.
42. Dong, P., Xiong, Y., Yue, J., Hanley, S. J. & Watari, H. (2018). Tumor-Intrinsic PD-L1 Signaling in Cancer Initiation, Development and Treatment: Beyond Immune Evasion. *Frontiers on Oncology*. Vol. 8 (386).
43. Dou, D., Ren, X., Han, M., Xu, X., Ge, X., Gu, Y. & Wang, X. (2020). Cancer-Associated Fibroblasts-Derived Exosomes Suppress Immune Cell Function in Breast Cancer via the miR-92/PD-L1 Pathway. *Frontiers in Immunology*. Vol. 11.
44. Dunn, G., Bruce, A., Ikeda, H., Old, L., & Schreiber, R. (2002). Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*. Vol. 3 (11). pp. 991-998.
45. Du, W., Zhu, J., Zeng, Y., Liu, T., Zhang, Y., et al. (2020). KPNB1-mediated nuclear translocation of PD-L1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation via the Gas6/MerTK signaling pathway. *Cell death & differentiation*. Vol. 28. pp. 1284-1300.
46. Dvorák, H. F. (1986). Tumors: wounds that do not heal. *N Engl J Med*. Vol. 315. pp. 1650-1659.
47. Elinav, E., Nowarski, R., Thaïss, C. A., Hu, B., Jin, C. & Flavell, R. (2013). Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. Vol. 13 (11). pp. 759-771.
48. Elio, R. & Teresa, N. (2003). Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am. J. Clin. Nutr.* Vol. 78. pp. 559-569.
49. Escors, D., Gato-Cañas, M., Zuazo, M., Arasanz, H., García-Granda, M., et al. (2018). The intracellular signalosome of PD-L1 in cancer cells. *Signal Transduct Target Ther*. Vol. 3 (26).
50. Feng, H., Liu, J., Jia, H., Bu, X., Yang, W. & Su, P. (2024). Cancer-associated fibroblasts-derived exosomal ZNF250 promotes the proliferation, migration, invasion, and immune escape of hepatocellular carcinoma cells by transcriptionally activating PD-L1. *J Biochem Mol Toxicol*. Vol. 38 (9).
51. Fernando, R., Castillo, M., Litzinger, M., Hamilton, D. & Palena, C. (2011). IL-8 signaling plays a critical role in the epithelial-mesenchymal transition of human carcinoma cells. *Cancer Res*. Vol 71. pp. 5296-5306.
52. Fousek, K., Horn, L. & Palena, C. (2020). Interleukin-8: A chemokine at the intersection of cancer plasticity, angiogenesis, and immune suppression. *Pharmacology & Therapeutics*. Vol 219.

53. Frankiw, L. & Li, G. (2022). The tumor microenvironment's role in malignant progression and treatment response. *Cancer letters*. Vol. 548.
54. Freeman, G., Long, A., Iwai, Y., Bourque, K., Chernova, T., et al. (2000). Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 192. pp. 1027-1034.
55. Freund, A., Chauveau, C., Brouillet, J. P., Lucas, A., Lacroix, M., et al. (2003). IL-8 expression and its possible relationship with estrogen-receptor-negative status of breast cancer cells. *Oncogene*. Vol. 22 (2). pp. 256-265.
56. Fujikawa, M., Koma, Y. I., Hosono, M., Urakawa, N., Tanigawa, K., et al. (2021). Chemokine (C-C Motif) Ligand 1 Derived from Tumor-Associated Macrophages Contributes to Esophageal Squamous Cell Carcinoma Progression via CCR8-Mediated Akt/Proline-Rich Akt Substrate of 40 kDa/Mammalian Target of Rapamycin Pathway. *The American Journal of Pathology*. Vol. 191 (4). pp. 686-703.
57. Gao, Y., Lu, J., Zeng, C., Yang, J., Huang, B., et al. (2020). IL-10 suppresses IFN- γ -mediated signaling in lung adenocarcinoma. *Clin Exp Med*. Vol. 20 (3). pp. 449-459.
58. Gato-Cañás, M., et al. (2017). PD-L1 signals through conserved sequence motifs to overcome interferon-mediated cytotoxicity. *Cell Rep*. Vol. 20. pp. 1818-1829.
59. Ghebeh, H., Lehe, C., Barhoush, E., Al-Romaih, K., Tulbah, A., et al. (2010). Doxorubicin downregulates cell surface B7-H1 expression and upregulates its nuclear expression in breast cancer cells: role of B7-H1 as an anti-apoptotic molecule. *Breast Cancer Research*. Vol. 12 (4).
60. GLOBOCAN. (2022). Tipos de Cáncer más comunes en 2022. Recuperado de: <https://infogram.com/globocan-2020-1h9j6gg7xdp8v4g?live>
61. Goltz, D., Gevensleben, H., Grünen, S., et al. (2017). PD-L1 (CD274) promoter methylation predicts survival in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. Vol. 31. pp. 738-743.
62. Gomez, S. L., Quach, T., Horn-Ross, P., Pham, J., Cockburn, M., et al. (2010). Hidden Breast Cancer Disparities in Asian Women: Disaggregating Incidence Rates by Ethnicity and Migrant Status. *Am. J. Public. Health*. Vol. 100.
63. Goodman, A., Piccioni, D., Kato, S., Boichard, A., Wang, H., et al. (2018). Prevalence of PDL1 Amplification and Preliminary Response to Immune Checkpoint Blockade in Solid Tumors. *JAMA Oncology*. Vol. 4 (9). pp. 1237-1244.
64. Green, M., Monti, S., Rodig, S., Juszczynski, P., Currie, T., et al. (2010). Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. Vol. 116. pp. 3268-3277.
65. Greten, F., Eckmann, L., Greten, T., Park, J., Li, Z. W., et al. (2004). IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell*. Vol. 118. pp. 285-296.
66. Greten, F. & Grivennikov, S. (2019). Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity*. Vol. 51 (1). pp. 27-41.
67. Guo, Y., Zang, Y., Lv, L., Cai, F., Qian, T., et al. (2017). IL-8 promotes proliferation and inhibition of apoptosis via STAT3/AKT/NF- κ B pathway in prostate cancer. *Molecular Medicine Reports*. Vol. 16 (6). pp. 9035-9042.
68. Hanahan, D. & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. Vol. 144 (5). pp. 646-674.
69. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*. Vol. 12 (1). pp. 31-46.

70. Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., et al. (2019). Breast Cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. Vol. 5 (66).
71. Hatch-McChesney, A. & Smith, T. J. (2023). Nutrition, Immune Function, and Infectious Disease in Military Personnel: A Narrative Review. *Nutrients*. Vol. 15 (23).
72. Hong-Huang, R., Wang, Z., Hong, J., et al. (2023). Targeting cancer-associated adipocyte-derived CXCL8 inhibits triple-negative breast cancer progression and enhances the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy. *Cell Death Dis*. Vol. 14 (703).
73. Honjo, T., Ishida, Y., Agata, Y. & Shibahara, K. (1992). Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *The EMBO Journal*. Vol. 11. pp. 3887-3895.
74. Huang, D., Xue, J., Li, S. & Yang, D. (2017). Oxaliplatin and infliximab synergize to induce regression of colon cancer. *Oncol Lett*. Vol. 15 (2). pp. 1517-1522.
75. INEGI. (2023). Estadísticas a propósito del día mundial de la lucha contra el cáncer de mama. Recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2020/Cancermama20>
76. Iwata, M., Haraguchi, R., Kitazawa, R., Ito, C., Ogawa, K., et al. (2024). Reduced chemokine C-C motif ligand 1 expression may negatively regulate colorectal cancer progression at liver metastatic sites. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. Vol. 28 (7). pp. 1-20.
77. Jiang, Y., Wang, Y., Liang, L., Gao, Y., Chen, J., et al. (2015). IL-37 mediates the antitumor activity in renal cell carcinoma. *Med Oncol*. Vol. 32 (11).
78. Jing-Liu, W., Wang, L., Mei-Zhou, F., Wen-Liu, S., Wang, W., et al. (2023). Elevated NOX4 promotes tumorigenesis and acquired EGFR-TKIs resistance via enhancing IL-8/PD-L1 signaling in NSCLC. *Drug Resistance Updates*. Vol. 70.
79. Ju, X., Zhang, H., Zhou, Z. & Wang, Q. (2020). Regulation of PD-L1 expression in cancer and clinical implications in immunotherapy. *American Journal of Cancer Research*. Vol. 10 (1). pp. 1-11.
80. Kast, K., Link, T., Friederich, K., Petzold, A., Niedostatek, A., et al. (2015). Impact of breast cancer subtypes and patterns of metastasis on outcome. *Breast Cancer Research and Treatment*. Vol. 150. pp. 621-629.
81. Keenan, T., Moy, B., Mroz, E. A., Ross, K., Niemierko, A., et al. (2015). Comparison of the Genomic Landscape Between Primary Breast Cancer in African American Versus White Women and the Association of Racial Differences With Tumor Recurrence. *JCO*. Vol. 33. pp. 3621-3627.
82. Keir, M., Butte, M., Freeman, G. & Sharpe, A. (2008). PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. Vol. 26. pp. 677-704.
83. Key, T., Appleby, P., Barnes, I. & Reeves, G. (2002). Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group Endogenous Sex Hormones and Breast Cancer in Postmenopausal Women: Reanalysis of Nine Prospective Studies. *J Natl Cancer Inst*. Vol. 94. pp. 606-616.
84. Kiri, S. & Ryba, T. (2024). Cancer, metastasis, and the epigenome. *Molecular Cancer*. Vol. 23 (154).
85. Knall, C., Young, S., Nick, J., et al. (1996). Interleukin-8 regulation of the Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase pathway in human neutrophils. *J. Biol Chem*. Vol 271. pp. 2832-2838.
86. Korbecki, J., Kupnicka, P., Chlubek, M., Gorący, J., Gutowska, I. & Baranowska-Bosiacka, I. (2012). CXCR2 Receptor: Regulation of Expression, Signal Transduction, and Involvement in Cancer. *Int J Mol Sci*. Vol. 23 (4).

87. Kraman, M., Bambrough, P., Arnold, J., Roberts, E., Magiera, L., et al. (2010). Suppression of antitumor immunity by stromal cells expressing fibroblast activation protein- α . *Science*. Vol. 330 (6005). pp. 827-830.
88. Kryczek, I., Lin, Y., Nagarsheth, N., Peng, D., Zhao, L., et al. (2014). IL-22+ CD4+ T cells promote colorectal cancer stemness via STAT3 transcription factor activation and induction of the methyltransferase DOT1L. *Immunity*. Vol. 40. pp. 772-784.
89. Kumar, S. & Sharawat, S. (2018). Epigenetic regulators of programmed death-ligand 1 expression in human cancers. *Translational Research*.
90. Lane-Claypon, J. (1926). A Further Report on Cancer of the Breast, With Special Reference to Its Associated Antecedent Conditions. *Reports on Public Health and Medical Subjects* No. 32.
91. Lang, K., Niggemann, B., Zanker, K. & Entschladen, F. (2002). Signal processing in migrating T24 human bladder carcinoma cells: role of the autocrine interleukin-8 loop. *Int. J. Cancer*. Vol 99. pp. 673-680.
92. Larsen, S. B., Cowley, C., Sajjath, S., et al. (2021). Establishment, maintenance, and recall of inflammatory memory. *Cell Stem Cell*. Vol. 28 (10). pp. 1758-1774.
93. Li, W., Wu, J., Jia, Q., Shi, Y., Li, F., et al. (2024). PD-L1 knockdown suppresses vasculogenic mimicry of non-small cell lung cancer by modulating ZEB1-triggered EMT. *BMC Cancer*. Vol. 24 (1).
94. Li, Y., He, M., Zhou, Y., Yang, C., Wei, S., et al. (2019). The Prognostic and Clinicopathological Roles of PD-L1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 28.
95. Li, Y., Zhang, H., Merkhher, Y., Chen, L., Liu, N., et al. (2022). Recent Advances in Therapeutic Strategies for Triple-Negative Breast Cancer. *J. Hematol. Oncol*. Vol. 15 (121).
96. Li, Z., Ding, Y., Liu, J., Wang, J., Mo, F., et al. (2022). Depletion of tumor associated macrophages enhances local and systemic platelet-mediated anti-PD-1 delivery for post-surgery tumor recurrence treatment. *Nat Commun*. Vol. 13 (1).
97. Lin, C., He, H., Liu, H., Li, R., Chen, Y., et al. (2019). Tumour-associated macrophages-derived CXCL8 determines immune evasion through autonomous PD-L1 expression in gastric cancer. *Gut*. Vol. 68 (10). pp. 1764-1773.
98. Lin, J., Qiu, Y., Zheng, X., et al. (2022). The miR-199a-5p/PD-L1 axis regulates cell proliferation, migration and invasion in follicular thyroid carcinoma. *BMC Cancer*. Vol. 22 (756).
99. Liu, L., Shen, Y., Zhu, X., Lv, R., Li, S., et al. (2018). ER α is a negative regulator of PD-L1 gene transcription in breast cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol. 505. pp. 157-161.
100. Liu, Q., Li, A., Tian, Y., Wu, J. D., Liu, Y., et al. (2016). The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. Vol. 31. pp. 61-71.
101. Liu, V., Dietrich, A., Kasperek M. S., Benhaqi, P., Schneider M. R., et al. (2015). Extrinsic intestinal denervation modulates tumor development in the small intestine of Apc (Min/+) mice. *J Exp Clin Cancer Res*. Vol. 34 (1).
102. Lou, M., Iwatsuki, M., Wu, X., Zhang, W., Matsumoto, C. & Baba, H. (2024). Cancer-Associated Fibroblast-Derived IL-8 Upregulates PD-L1 Expression in Gastric Cancer Through the NF- κ B Pathway. *Ann Surg Oncol*. Vol. 31 (5). pp. 2983-2995.
103. Lugano, R., Ramachandran, M. & Dimberg, A. (2020). Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cellular and molecular life sciences*. Vol. 77 (9). pp. 1745-1770.
104. Luo, A., Meng, M., Wang, G., Han, R., Zhang, Y., et al. (2020). Myeloid-Derived Suppressor Cells Recruited by Chemokine (C-C Motif) Ligand 3 Promote the Progression of

- Breast Cancer via Phosphoinositide 3-Kinase-Protein Kinase B-Mammalian Target of Rapamycin Signaling. *J Breast Cancer*. Vol. 23 (2). pp. 141-161.
105. Luppi, F., Longo, A., de Boer, W., Rabe, K., Hiemstra, P. (2007). Interleukin-8 stimulates cell proliferation in non-small cell lung cancer through epidermal growth factor receptor transactivation. *Lung Cancer*. Vol 56. pp. 25-33.
 106. Luster, A. (1998). Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med*. Vol 338. pp. 436-445.
 107. Lynch, E., Ostermeyer, E., Lee, M. K., Arena, J. F., Ji, H., et al. (1997). Inherited Mutations in PTEN That Are Associated with Breast Cancer, Cowden Disease, and Juvenile Polyposis. *Am J Human Genet*. Vol. 61. pp. 1254-1260.
 108. Maffuz-Aziz, A., Labastida-Almendaro, S., Espejo-Fonseca, A. & Rodríguez-Cuevas, S. (2017). Características clinicopatológicas del cáncer de mama en una población de mujeres en México. *Cirugía y Cirujanos*. Vol. 85 (3). pp. 201-207.
 109. Malkin, D., Li, F. P., Strong, L. C., Fraumeni, J. F., Nelson, C. E., et al. (1990). Germ Line P53 Mutations in a Familial Syndrome of Breast Cancer, Sarcomas, and Other Neoplasms. *Science*. Vol. 250. pp. 1233-1238.
 110. Manore, S., Doheny, D., Wong, G. & Lo, H. W. (2022). IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: Biology and Treatment. *Front Oncol*. Vol. 12.
 111. Matsushima, K., Baldwin, E. & Mukaida, N. (1992). Interleukin-8 and MCAF: novel leukocyte recruitment and activating cytokines. *Chem. Immunol*. Vol 51. pp. 236-265.
 112. Matthews, N. & Watkins, J. F. (1978). Tumour-necrosis factor from the rabbit. I. Mode of action, specificity and physicochemical properties. *Br J Cancer*. Vol. 38 (2). pp. 302-309.
 113. Maxwell, P., Gallagher, R., Seaton, A., Wilson, C., Scullin, P., et al. (2007). HIF-1 and NF-kappaB-mediated upregulation of CXCR1 and CXCR2 expression promotes cell survival in hypoxic prostate cancer cells. *Oncogene*. Vol. 26 (52). pp. 7333-7345.
 114. Ma, Y., Fu, Y., Fan, X., et al. (2023). FAK/IL-8 axis promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells. *Gastric Cancer*. Vol. 26. pp. 528-541.
 115. MAYO Clinic. (2024). Cáncer. Recuperado de: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/cancer/symptoms-causes/syc-20370588>
 116. Meier-Abt F. & Bentires-Alj, M. (2014). How Pregnancy at Early Age Protects against Breast Cancer. *Trends Mol. Med*. Vol. 20. pp. 143-153.
 117. Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P. A., Harshman, K., et al. (1994). A Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene BRCA1. *Science*. Vol. 266. pp. 66-71.
 118. Mittendorf, E., Philips, A., Meric-Bernstam, F., Qiao, N., Wu, Y., et al. (2014). PD-L1 Expression in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Immunology Research*. Vol. 2 (4). pp. 361-370.
 119. Momenimovahed, Z. & Salehiniya, H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer*. Vol. 10 (11). pp. 151-164.
 120. Morrissey, S. & Yan, J. (2020). Exosomal PD-L1: Roles in Tumor Progression and Immunotherapy. *Trends in Cancer*.
 121. NCBI. (2021). CD274 molecule [*Homo sapiens* (human)]. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=29126>
 122. NIH. (2015). Factores de riesgo de cáncer. Recuperado de: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo>

123. Noman, M., Desantis, G., Janji, B., Hasmim, M., Karray, S., et al. (2014). PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *The Journal of Experimental Medicine*. Vol. 211 (5). pp. 781-790.
124. OMS (Organización Mundial de la Salud). (2025). Cáncer de mama. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
125. Ozdemir, B., Pentcheva-Hoang, T., Carstens, J., Zheng, X. F., Wu, C. C., et al. (2014). Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*. Vol. 25 (6). pp. 719-734.
126. Ozga, A., Chow, M. & Luster, A. (2021). Chemokines and the immune response to cancer. *Immunity*. Vol. 54 (5). pp. 859-874.
127. Parent, A., Teilmann, G., Juul, A., Skakkebaek, N., Toppari, J. & Bourguignon, J. (2003). The Timing of Normal Puberty and the Age Limits of Sexual Precocity: Variations around the World, Secular Trends, and Changes after Migration. *Endocr. Rev.* Vol. 24. pp. 668-693.
128. Parsa, A., Waldron, J., Panner, A., Crane, C., Parney, I., et al. (2007). Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7–H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nature Medicine*. Vol. 13. pp. 84-88.
129. Perou, C., Sorlie, T., Eisen, M., van de Rijn, M., Jeffrey, S., et al. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. Vol. 406. pp. 747-752.
130. Pestka, S., Krause, C. D. & Walter, M. (2004). Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev.* Vol. 202.
131. Pharoah, P., Guilford, P. & Caldas, C. (2001). Incidence of Gastric Cancer and Breast Cancer in CDH1 (E-Cadherin) Mutation Carriers from Hereditary Diffuse Gastric Cancer Families. *Gastroenterology*. Vol. 121. pp. 1348-1353.
132. Polyak, K. (2007). Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest*. Vol. 117 (11). pp. 3155-3163.
133. Porter, P. L., Lund, M., Lin, M. G., Yuan, X., Liff J. M., et al. (2004). Racial Differences in the Expression of Cell Cycle-Regulatory Proteins in Breast Carcinoma. *Cancer*. Vol. 100. pp. 2533-2542.
134. Putoczki, T., Thiem, S., Loving, A., Busuttill, R., Wilson, N. J., et al. (2013). Interleukin-11 is the dominant IL-6 family cytokine during gastrointestinal tumorigenesis and can be targeted therapeutically. *Cancer Cell*. Vol. 24. pp. 257-271.
135. Qing, T., Mohsen, H., Marczyk, M., Ye, Y., O'Meara, T., et al. (2020). Germline variant burden in cancer genes correlates with age at diagnosis and somatic mutation burden. *Nat. Commun.* Vol. 11.
136. Qiu, X. Y., Hu, D. X., Chen, W. Q., Chen, R. Q., Qian, S. R., et al. (2018). PD-L1 confers glioblastoma multiforme malignancy via Ras binding and Ras/Erk/EMT activation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. Vol. 1864 (5) pp. 1754-1769.
137. Ramin, C., Withrow, D., Davis-Lynn, B., Gierach, G. & Berrington de González, A. (2021). Risk of Contralateral Breast Cancer According to First Breast Cancer Characteristics among Women in the USA, 1992-2016. *Breast Cancer Res*. vol. 23.
138. Raz, Y., Cohen, N., Shani, O., Bell, R., Novitskiy, S., et al. (2018). Bone marrow-derived fibroblasts are a functionally distinct stromal cell population in breast cancer. *J Exp Med*. Vol. 215 (12). pp. 3075-3093.
139. Reddy, S., Sham, R., Smith, K., Gaire, B., Vancura, A. & Vancurova, I. (2025). Immune checkpoint protein PD-L1 promotes transcription of angiogenic and oncogenic proteins IL-8, Bcl3, and STAT1 in ovarian cancer cells. *J Biol Chem*. Vol. 301 (4).

140. Ricklefs, F., Alayo, Q., Krenzlin, H., Mahmoud, A., Speranza, M., et al. (2018). Immune evasion mediated by PD-L1 on glioblastoma-derived extracellular vesicles. *Science Advances*. Vol. 4 (3).
141. Ritprajak, P. & Azuma, M. (2015). Intrinsic and extrinsic control of expression of the immunoregulatory molecule PD-L1 in epithelial cells and squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. Vol. 51. pp. 221-228.
142. Robles-Agudo, F., Sanz-Segovia, F., López-Arrieta, J. M. & Beltrán de la Ascensión, M. (2005). Alimentación y cáncer. *Revista Española de Geriátria y Gerontología*. Vol. 40. pp. 184-194.
143. Rothwell, P., Wilson, M., Price, J., Belch, J., Meade, T. & Mehta, Z. (2012). Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet*. Vol. 379. pp. 1591-1601.
144. Samocha, A., Doh, H., Kessenbrock, K. & Roose, J. P. (2019). Unraveling Heterogeneity in Epithelial Cell Fates of the Mammary Gland and Breast Cancer. *Cancers*. Vol. 11 (10).
145. Sanmamed, M. F. & Chen, L. (2018). A Paradigm Shift in Cancer Immunotherapy: From Enhancement to Normalization. *Cell*. Vol. 175 (2). pp. 313-326.
146. Serman, L., Nikuseva-Martic, T., Serman, A. & Vranic, S. (2014). Epigenetic alterations of the Wnt signaling pathway in cancer: a mini review. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol. 14 (4). pp. 191-194.
147. Shen, P., Sun, G., Zhao, P., Dai, J., Zhang, X., et al. (2020). MicroRNA-106a suppresses prostate cancer proliferation, migration and invasion by targeting tumor-derived IL-8. *Transl Cancer Res*. Vol. 9 (5). pp. 3507-3517.
148. Shiovitz, S. & Korde, L. (2015). Genetics of Breast Cancer: A Topic in Evolution. *Ann. Oncol*. Vol. 26. pp. 1291-1299.
149. Singh, J. K., Bundred, N. J., Simoes, B. M., Shergill, A., Landberg, G., et al. (2012). Targeting CXCR1/2 significantly reduces breast cancer stem cell activity and increases the efficiency of inhibiting HER2 via HER2-dependent and independent mechanisms. *Clinical Cancer Research*. Vol. 19 (3). pp. 643-656.
150. Smith, D., Polverini, P., Kunkel, S., Orringer, M., Whyte, R., et al. (1994). Inhibition of interleukin 8 attenuates angiogenesis in bronchogenic carcinoma. *J. Exp. Med*. Vol 179. pp. 1409-1415.
151. Song, S., Zhang, Y., Duan, X., Liu, C., Du, Y., et al. (2023). HIF-1 α /IL-8 axis in hypoxic macrophages promotes esophageal cancer progression by enhancing PD-L1 expression. *Cancer Gene Ther*. Vol. 30 (2). pp. 358-367.
152. Spring, L., Fell, G., Arfe, A., Sharma, C., Greenup, R., et al. (2020). Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and survival: a comprehensive meta-analysis. *Clinical Cancer Research*. Vol. 26. pp. 2838-2848.
153. Strieter, R. (2002). Interleukin-8: a very important chemokine of the human airway epithelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. Vol 283. pp. 688-689.
154. Suárez-Carmona, M., Lesage, J., Cataldo, D. & Gilles, C. (2017). EMT and inflammation: inseparable actors of cancer progression. *Mol Oncol*. Vol. 11. pp. 805-823.
155. Sun, C., Mezzadra, R. & Schumacher, T. (2018). Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. *Immunity*. Vol. 48 (3). pp. 434-452.
156. Topalian, S., Drake, C. & Pardoll, D. (2012). Targeting PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate antitumor immunity. *Current Opinion in Immunology*. Vol. 24. pp. 207-212.

157. Ubellacker, J. M., Tasdogan, A., Ramesh, V., Shen, B., Mitchell, E. C., et al. (2020). Lymph protects metastasizing melanoma cells from ferroptosis. *Nature*. Vol. 585 (7823). pp. 113-118.
158. Uehara, H., Troncoso, P., Johnston, D., Bucana, C., Dinney, C., Dong, Z., et al. (2005). Expression of interleukin-8 gene in radical prostatectomy specimens is associated with advanced pathologic stage. *Prostate*. Vol 64. pp. 40-49.
159. Vidal-Vanaclocha, F., Fantuzzi, G., Mendoza, L., Fuentes, A., Anasagasti, M., et al. (2000). IL-18 regulates IL-1 β -dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 97 (2). pp. 734-739.
160. Wang, H., Chang, Z., Cai, G., Yang, P., Chen, J., et al. (2021). The novel indomethacin derivative CZ-212-3 exerts antitumor effects on castration-resistant prostate cancer by degrading androgen receptor and its variants. *Acta Pharmacol Sin*. Vol. 43 (4). pp. 1024-1032.
161. Wang, Q., Lin, W., Tang, X., Li, S., Guo, L., et al. (2017). The Roles of microRNAs in Regulating the Expression of PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 18 (12).
162. Wang, X., Yang, L., Huang, F., Zhang, Q., Liu, S., et al. (2017). Inflammatory cytokines IL-17 and TNF- α up-regulate PD-L1 expression in human prostate and colon cancer cells. *Immunology Letters*. Vol. 184. pp. 7-14.
163. Wang, X., Zhang, L., Zhou, Y., Wang, Y., Wang, X., et al. (2024). Chronic Stress Exacerbates the Immunosuppressive Microenvironment and Progression of Gliomas by Reducing Secretion of CCL3. *Cancer Immunol Res*. Vol. 12 (5). pp. 516-529.
164. Wang, Z., Zeng, F. L., Hu, Y. W., Wang, X. Y., Zhao, F. L., et al. (2022). Interleukin-37 promotes colitis-associated carcinogenesis via SIGIRR-mediated cytotoxic T cells dysfunction. *Signal Transduct Target Ther*. Vol. 20. pp. 7-19.
165. Wilson, C., Purcell, C., Seaton, A., Oladipo, O., Maxwell, P., et al. (2008). Chemotherapy-induced CXC-chemokine/CXC-chemokine receptor signaling in metastatic prostate cancer cells confers resistance to oxaliplatin through potentiation of nuclear factor- κ B transcription and evasion of apoptosis. *J Pharmacol Exp Ther*. Vol. 327 (3). pp. 746-759.
166. Won, D. H., Kown, S. M., Cho, M. R., Nam, S. Y., Lee, B. J., et al. (2011). Growth Inhibition of Colon Cancer through Inactivation of STAT3 Pathway by IL-10 and IL-1 α Released from Murine Macrophages. *Journal of Biomedical and Translational Research*. Vol. 12 (4). pp. 181-193.
167. Wu, G., Lai, J., Huang, N. & Wen, X. (1997). Oct-1 and CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) bind to overlapping elements within the interleukin-8 promoter. The role of Oct-1 as a transcriptional repressor. *J Biol Chem*. Vol 272. pp. 2396-2403.
168. Wu, Y., Chen, W., Xu, Z. & Gu, W. (2019). PD-L1 Distribution and Perspective for Cancer Immunotherapy-Blockade, Knockdown, or Inhibition. *Front Immunol*. Vol. 10.
169. Wu, Z., Xia, F. & Lin, R. (2024). Global burden of cancer and associated risk factors in 204 countries and territories, 1980–2021: a systematic analysis for the GBD 2021. *J Hematol Oncol*. Vol. 17 (119).
170. Xie, X., Bai, J., Peng, Y., Chen, P., Zhang, Z., et al. (2025). PD-L1 autoregulation promotes the proliferation, migration and invasion of glioblastoma cells via GP130/JAK2/STAT3/IRAK2/IL6 signaling pathway. *Scientific Reports*. Vol. 15 (35186).
171. Xie, Y., Liu, F., Wu, Y., Zhu, Y., Jiang, Y., et al. (2025). Inflammation in cancer: therapeutic opportunities from new insights. *Molecular Cancer*. Vol. 24 (51).
172. Yang, L., Huang, F., Mei, J., Wang, X., Zhang, Q., et al. (2017). Posttranscriptional Control of PD-L1 Expression by 17 β -Estradiol via PI3K/Akt Signaling Pathway in ER α -

- Positive Cancer Cell Lines. *International Journal of Gynecological Cancer*. Vol. 27 (2). pp. 196-205.
173. Yang, S., Zhang, Q., Liu, S., Wang, A. & You, Z. (2016). PD-1, PD-L1 and PD-L2 expression in mouse prostate cancer. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*. Vol. 4 (1). pp. 1-8.
 174. Yao, C., Lin, Y., Chua, M., Ye, C. S., Bi, J., et al. (2007). Interleukin-8 modulates growth and invasiveness of estrogen receptor-negative breast cancer cells. *Int J Cancer*. Vol. 121 (9). pp. 1949-1957.
 175. Yokosuka, T., Takamatsu, M., Kobayashi-Imanishi, W., et al. (2012). Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *The Journal Experimental Medicine*. Vol. 209. pp. 1201-1217.
 176. Youngnak, P., Kozono, Y., Kozono, H., Iwai, H., Otsuki, N., et al. (2003). Differential binding properties of B7-H1 and B7-DC to programmed death-1. *Biochem Biophys Res Commun*. Vol. 307. pp. 672-677.
 177. Yuan, A., Yu, C., Luh, K., Kuo, S., Lee, Y. & Yang, P. (2002). Aberrant p53 expression correlates with expression of vascular endothelial growth factor mRNA and interleukin-8 mRNA and neoangiogenesis in non-small-cell lung cancer. *J. Clin Oncol*. Vol. 20. pp. 900-910.
 178. Yuan, S., Almagro, J. & Fuchs, E. (2024). Beyond genetics: driving cancer with the tumour microenvironment behind the wheel. *Nat Rev Cancer*. Vol. 24 (4). pp. 274-286.
 179. Yuan, S., Stewart, K., Yang, Y., Abdusselamoglu, M. D., Parigi, S. (2022). Ras drives malignancy through stem cell crosstalk with the microenvironment. *Nature*. Vol. 612 (7940). pp. 555-563.
 180. Yum, M. K., Han, S., Fink, J., Sam-Wu, S. H., Dabrowska, C., et al. (2021). Tracing oncogene-driven remodelling of the intestinal stem cell niche. *Nature*. Vol. 594 (7863). pp. 442-447.
 181. Zachariae, C., Oppenheim, J., Mukaida, N. & Matsushima, K. (1991). Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol*. Vol. 9. pp. 617-648.
 182. Zavareh, R., Spangenberg, S., Woods, A., Martínez-Peña, F. & Lairson, L. (2021). HSP90 Inhibition Enhances Cancer Immunotherapy by Modulating the Surface Expression of Multiple Immune Checkpoint Proteins. *Cell Chemical Biology*. Vol. 28. pp. 1-11.
 183. Zhang, M., Sun, H., Zhao, S., Wang, Y., Pu, H., Wang, Y. & Zhang, Q. (2017). Expression of PD-L1 and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*. Vol. 8 (19). pp. 31347-31354.
 184. Zhang, T., Tseng, C., Zhang, Y., Sirin, O., Corn, P., Li-Ning-Tapia, E., et al. (2016). CXCL1 mediates obesity-associated adipose stromal cell trafficking and function in the tumour microenvironment. *Nat Commun*. Vol. 7.
 185. Zhao, T., Jin, F., Xiao, D., Wang, H., Huang, C., et al. (2020). IL-37/ STAT3/ HIF-1 α negative feedback signaling drives gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Theranostics*. Vol. 10 (9). pp. 4088-4100.
 186. Zhu, H., Bengsch, F., Svoronos, N., Rutkowski, M., Bitler, B., et al. (2016). BET Bromodomain Inhibition Promotes Anti-tumor Immunity by Suppressing PD-L1 Expression. *Cell Reports*. Vol. 16 (11). pp. 2829-2837.
 187. Zuccari, D., Leonel, C., Castro, R., Gelaleti, G., Jardim, B., Moscheta, M., et al. (2012). An immunohistochemical study of interleukin-8 (IL-8) in breast cancer. *Acta Histochem*. Vol. 114. pp. 571-576.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

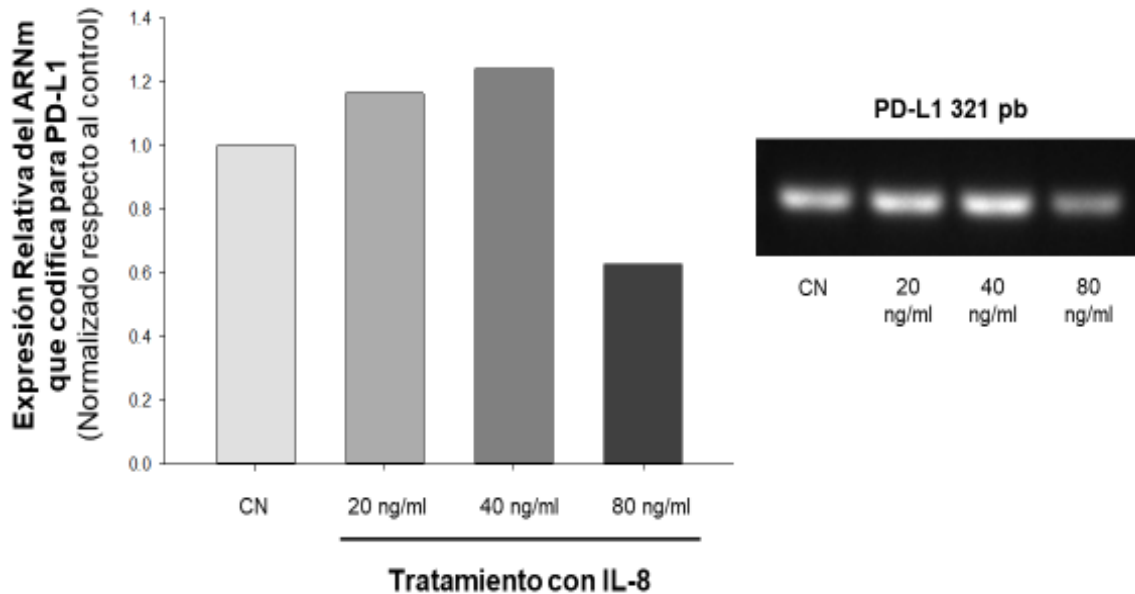


Fig 14. Nivel de Expresión del ARNm que codifica para PD-L1. Las células MDA-MB 231 fueron tratadas con IL-8 a diferentes concentraciones durante 48 horas. Se observa un mayor nivel de expresión de PD-L1 a la concentración de 40 ng/ml con respecto a la condición control.

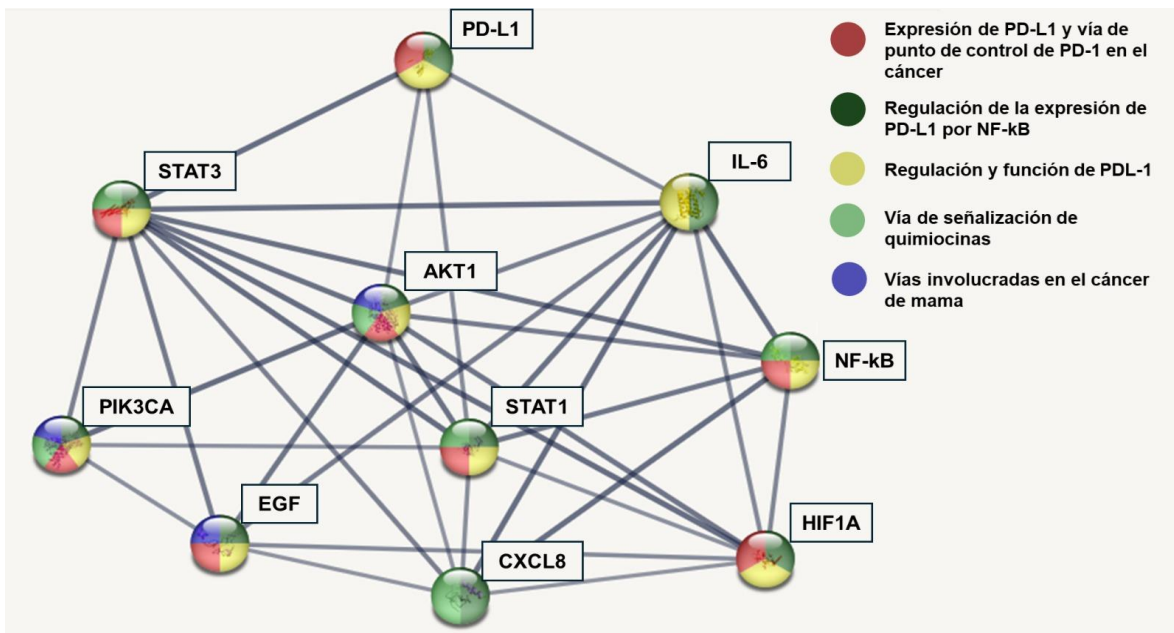


Fig 15. Red de Interacción Molecular y Vías de Señalización asociadas a la regulación de la expresión de PD-L1 y citocinas proinflamatorias. Utilizando la base de datos STRING, se realizó un análisis bioinformático para identificar las vías asociadas a la regulación de PD-L1, así como los posibles elementos que pudieran estar regulados por esta proteína.