

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

**Estudio del efecto de la señalización del IFN-gamma
sobre el perfil de proteasas en células de glioblastoma**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN CIENCIAS GENÓMICAS**

P R E S E N T A :

ENRIQUE OROPEZA MARTÍNEZ

DIRECTORA

DRA. ÁNGELES CONCEPCIÓN TECALCO CRUZ

**POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS**

Ciudad de México, septiembre de 2024.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS ©

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

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

INTEGRACIÓN DEL JURADO

Presidente: Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Secretario: Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Vocal: Dra. Elisa Irene Azuara Liceaga

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Plantel de Adscripción:

PLANTEL DEL VALLE, UACM

Directora

Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

LECTORES DE TESIS

Dra. Maria Elizabeth Álvarez Sánchez

Licenciatura en Ciencias Genómicas

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Dra. Elisa Azuara Liceaga

Licenciatura en Ciencias Genómicas

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Dra. Helena Solleiro Villavicencio

Licenciatura en Ciencias Genómicas

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Este proyecto se llevó a cabo en el cubículo A-38 del área de Ciencias Genómicas del Plantel del Valle y en el laboratorio 224N del Instituto de Fisiología Celular (IFC)-UNAM. Fue apoyado por CCyT-UACM (CCyT-2024-CON-07).

AGRADECIMIENTOS

ACADÉMICOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de la Ciudad de México y al Posgrado en Ciencias Genómicas por haberme dado la oportunidad de estudiar la licenciatura en Ciencias Genómicas. Agradezco el apoyo en la elaboración de la tesis por los Proyectos de Investigación del Colegio de Ciencia y Tecnología (CCyT) de la UACM con el número de folio: CCyT-2024-CON-07.

Extiendo mi sincero agradecimiento a la **Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz**, cuyo apoyo y guía han sido fundamentales para la realización de este proyecto. Agradezco a la Dra. Marina Macías Silva por su invaluable colaboración, proporcionando el espacio físico y la infraestructura necesarios en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM para el desarrollo experimental de este proyecto.

Agradezco por su apoyo en las observaciones y asesoramientos a:

Dr. Josué O. Ramírez Jarquín (Instituto de Fisiología Celular-UNAM).

Dra. Bibiana Ortega Domínguez (Instituto de Fisiología Celular-UNAM).

Biol. Marcela Sosa Garrocho (Instituto de Fisiología Celular-UNAM).

Mtra. Eva Guadalupe Palacios Serrato.

Lic. Karen Haidee Medina Abreu.

Lic. Danna Paola Ixyalit Aguirre Casimiro.

Agradezco a las doctoras:

Dra. Elizabeth Álvarez Sánchez (UACM).

Dra. Elisa Azuara Liceaga (UACM).

Dra. Helena Solleiro Villavicencio (UACM).

Por haberme brindado clases profundamente enriquecedoras y por dedicar su tiempo en revisar este trabajo. Agradezco sus valiosas observaciones y su compromiso en formar parte de mi proyecto. Su contribución ha sido fundamental, estoy inmensamente agradecido.

AGRADECIMIENTOS

PERSONALES

Agradezco profundamente a la Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz, cuya guía y sabiduría han contribuido en mi travesía académica. Sus increíbles clases no solo iluminaron mi entendimiento, sino que también estimularon mi pasión por el conocimiento. Cada lección impartida fue una puerta hacia nuevos mundos. Agradezco por haberme brindado la oportunidad de ser parte de su grupo de investigación. Trabajar bajo su tutela ha sido un honor indescriptible, su confianza en mí ha sido un regalo invaluable, un reflejo de su generosidad. Valoro inmensamente su tiempo y esfuerzo, cada minuto que dedicó a guiarme y a corregir mis errores, cada consejo que me ofreció con paciencia y dedicación. Sus lecciones permanecerán conmigo, recordando siempre la importancia de la dedicación, la pasión y el amor por el conocimiento. ¡Muchas gracias!

Agradezco a cada uno de mis compañeros que fueron parte esencial de mi trayectoria académica. Gracias a todos por contribuir a que cada día de estudio se convirtiera en una experiencia enriquecedora, en un viaje compartido hacia el conocimiento y el crecimiento personal. Su presencia y amistad crearon un ambiente agradable y estimulante. En especial, quiero expresar mi profunda gratitud a mis queridas compañeras de laboratorio, Karen Haidee Medina Abreu y Eva Guadalupe Palacios Serrato. Su apoyo incondicional y su generosidad fueron pilares fundamentales en mi formación.

Dedico y agradezco profundamente este trabajo a mis queridos padres, Magdalena Martínez Contreras y Eduardo Adolfo Oropeza Villavicencio, a mis amadas hermanas, Itzel Oropeza Martínez y Aditi Oropeza Martínez, a mis sobrinos, Dionicio Corchado Mendoza Oropeza, Diego Saldaña Oropeza y Gonzalo Saldaña Oropeza. Su amor y apoyo incondicional han sido la base sobre la cual he construido mis sueños.

Índice

<i>Agradecimientos personales</i>	5
<i>Agradecimientos personales</i>	6
<i>Resumen</i>	18
<i>I. Introducción</i>	19
1. El sistema nervioso	19
1.1 Subdivisiones del sistema nervioso	20
1.2 Las células del sistema nervioso	22
2. Glioblastoma	25
2.1 Localización del glioblastoma	26
2.2 Epidemiología del glioblastoma	26
2.3 Diagnóstico del glioblastoma	29
2.4 Tratamiento del glioblastoma	30
3. Factores de riesgo del glioblastoma	32
<i>II. Antecedentes particulares</i>	34
1. El microambiente tumoral	34
2. El IFN-γ	36
2.1 La vía canónica del IFN- γ	37
2.2 Función del IFN- γ en cáncer	38
2.3 La regulación transcripcional mediada por la vía del IFN- γ	40
3. Las proteasas en el organismo humano	41
3.1 Las proteasas y el glioblastoma	44
<i>III. Hipótesis</i>	49

IV. Justificación _____	49
V. Objetivo general _____	50
VI. Objetivos particulares _____	50
VII. Estrategia experimental _____	51
1. Estrategia experimental en muestras de pacientes _____	51
2. Estrategia experimental en línea celular de glioblastoma _____	52
VIII. Materiales y métodos _____	53
1. Muestras de pacientes con glioblastoma _____	53
1.1 Análisis de expresión génica y abundancia de las proteasas en glioblastoma _____	53
con respecto al tejido sano _____	53
1.2 Análisis de la supervivencia de los pacientes con glioblastoma con base en _____	54
la expresión de las proteasas. _____	54
1.3 Análisis de correlación de la expresión génica entre las proteasas y los _____	54
elementos de la vía del IFN- γ _____	54
2. Análisis bioinformático _____	55
2.1 Análisis del potencial de regulación del IFN- γ sobre la expresión de las _____	55
proteasas presentes en cáncer. _____	55
2.2 Análisis del interactoma _____	55
2.3 Predicción de localización subcelular _____	55
3. Línea celular derivada de glioblastoma _____	56
3.1 Líneas celulares y estimulación con IFN- γ _____	56
3.2 Análisis de migración _____	56
3.3 Extracción de proteínas intracelulares y extracelulares _____	56
3.4 Microarreglo de proteínas _____	57
3.5 Inmunofluorescencia _____	58

4. Análisis de datos	59
4.1 Análisis estadístico	59
4.2 Densitometría del microarreglo de proteínas	59
4.3 Imágenes de inmunofluorescencia	59
4.4 Análisis bibliográfico de la actividad de las proteasas seleccionadas	60
IX. Resultados	61
1. La participación de las proteasas en cáncer y en glioblastoma	61
1.1 Las proteasas involucradas en cáncer	61
1.2 Las proteasas involucradas en glioblastoma	62
2. Análisis de las proteasas en muestras de pacientes con glioblastoma	65
2.1 Análisis de la expresión génica de las proteasas en glioblastoma con respecto al tejido normal	65
2.2 Análisis de abundancia proteica de las proteasas en tejido sano con respecto al tejido de glioblastoma	71
2.3 Análisis de la supervivencia en pacientes con glioblastoma sobre la abundancia de las proteasas	75
3. Las proteasas y su potencial regulación por la vía del IFN-γ	77
3.1 Correlación de los elementos de la vía del IFN- γ con las proteasas seleccionadas	77
3.2 Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ	80
4. Análisis de las proteasas en la línea celular de glioblastoma.	84
4.1 Efecto del tratamiento con IFN- γ sobre la migración en células de glioblastoma.	84
4.2 Análisis de la modulación de la expresión de las proteasas por la vía del IFN- γ en la línea celular de glioblastoma	85

4.4 Actividad reportada de las proteasas identificadas por ser moduladas _____	89
por IFN- γ en células de glioblastoma A-172 _____	89
4.5 Interactoma de las proteasas moduladas por IFN- γ _____	91
5. Estudio de la proteasa CTSL _____	92
5.1 La expresión génica, la abundancia proteica y la supervivencia de CTSL en _____	92
muestras de pacientes _____	92
5.2 Predicción de la localización subcelular de CTSL _____	93
5.3 La distribución subcelular de CTSL en células de glioblastoma. _____	94
5.4 Efecto de la señalización del IFN- γ sobre la distribución subcelular de CTSL _____	96
en células de glioblastoma. _____	96
X. Discusión _____	101
XI. Conclusiones _____	107
XII. Perspectivas _____	108
XIII. Bibliografía _____	109
XIV. Anexos _____	123

Índice de tablas

Tabla 1. Elementos de la vía de señalización canónica del IFN- γ .	38
Tabla 2. Las proteasas presentes en cáncer.	61
Tabla 3. Las proteasas identificadas y no identificadas en glioblastoma.	63
Tabla 4. Correlación entre los elementos de la vía del IFN- γ y las proteasas.	80
Tabla 5. Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ .	82
Tabla 6. Actividad de las proteasas moduladas por el IFN- γ .	90

Índice de figuras

Figura 1. El encéfalo y sus funciones. _____	20
Figura 2. Subdivisiones del sistema nervioso. _____	21
Figura 3. La neurona. _____	23
Figura 4. Las células gliales. _____	24
Figura 5. Neuroimagen y características histológicas del glioblastoma. _____	25
Figura 6. Localización del glioblastoma en el SNC. _____	26
Figura 7. Frecuencia relativa de tumores del sistema nervioso central. _____	27
Figura 8. Incidencia del glioblastoma por edad y sexo. _____	28
Figura 9. Incidencia de tumores del SNC a nivel mundial. _____	29
Figura 10. El glioblastoma en un paciente de 61 años. _____	31
Figura 11. Tratamientos para el glioblastoma. _____	32
Figura 12. El microambiente tumoral del glioblastoma. _____	34
Figura 13. Vía de señalización canónica del IFN- γ . _____	37
Figura 14. La función dual de la vía canónica del IFN- γ en cáncer. _____	39
Figura 15. La regulación de la MMP-9 por la vía del IFN- γ . _____	40
Figura 16. Las cinco clases de proteasas. _____	42
Figura 17. Distribución de las cinco clases de proteasas en la célula. _____	43
Figura 18. Las proteasas en el microambiente tumoral. _____	44

Figura 19. Las proteasas en el cáncer. _____	46
Figura 20. Proteasas asociadas al cáncer y reportadas en el glioblastoma. _____	64
Figura 21. Variaciones en la expresión de las proteasas en tejido de glioblastoma (GEPIA). _____	65
Figura 22. Variaciones en la expresión de las proteasas en tejido de glioblastoma (UALCAN). _____	66
Figura 23. La expresión de 35 proteasas comparando el tejido sano contra el glioblastoma. _____	69
Figura 24. Proteasas que modifican su expresión en glioblastoma. _____	70
Figura 25. Abundancia proteica de las proteasas en tejido de glioblastoma con respecto al tejido sano. _____	72
Figura 26. Proteasas que modifican su abundancia en glioblastoma. _____	73
Figura 27. Firma de proteasas presentes en glioblastoma. _____	74
Figura 28. Supervivencia de pacientes con glioblastoma que tienen altos y bajos niveles de las proteasas. _____	76
Figura 29. Supervivencia de los pacientes con glioblastoma en base al nivel de expresión de las proteasas. _____	76
Figura 30. Correlación de los elementos de la vía de señalización del IFN- γ con las proteasas. _____	79
Figura 31. Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ . _____	81
Figura 32. Análisis de las proteasas en muestras de pacientes con glioblastoma. _____	83
Figura 33. El IFN- γ incrementa la migración de las células A-172 derivadas del glioblastoma. _____	84

Figura 34. El IFN- γ modula la abundancia de las proteasas en la línea celular A-172 derivada de glioblastoma. _____	86
Figura 35. Variación en la abundancia de las proteasas con y sin estímulo de IFN- γ en la línea celular A-172 derivada de glioblastoma. _____	87
Figura 36. El IFN- γ modula la abundancia de las proteasas en glioblastoma. _____	88
Figura 37. Proteasas moduladas por IFN- γ en línea celular derivada de glioblastoma. _____	89
Figura 38. Interactoma de las proteasas moduladas por IFN- γ . _____	91
Figura 39. Los resultados de la CTSL en muestras de pacientes con glioblastoma. _____	92
Figura 40. Predicción de la localización subcelular de la CTSL. _____	93
Figura 41. Localización de CTSL en línea celular A-172 de glioblastoma. _____	94
Figura 42. Colocalización de CTSL y marcadores mitocondriales. _____	95
Figura 43. Localización subcelular de CTSL en células de glioblastoma estimuladas con y sin IFN- γ . _____	99
Figura 44. Localización subcelular de pSTAT y CTSL en células de glioblastoma estimuladas con y sin IFN- γ . _____	100
Figura 45. Modelo propuesto sobre la regulación de la expresión de la proteasa por IFN- γ . _____	106

Abreviaturas

ADAM8	Desintegrina y metaloproteinasa 8
ADAM9	Desintegrina y metaloproteinasa 9
ADAMTS1	Desintegrina y metaloproteinasa con motivos de trombospondina 1
ADAMTS13	Desintegrina y metaloproteinasa con motivos de trombospondina 13
DNA	Del inglés ácido desoxirribonucleico
CBTRUS	Del inglés Central Brain Tumor Registry of the United States
cDNA	Del inglés ácido desoxirribonucleico complementario
CTSA	Catepsina A
CTSB	Catepsina B
CTSC	Catepsina C
CTSD	Catepsina D
CTSE	Catepsina E
CTSL1	Catepsina L1
CTSL2	Catepsina L2 o V
CTSO	Catepsina O
CTSS	Catepsina S
CTSZ	Catepsina Z
DPP4	Dipeptidil peptidasa-4
ECM	Matriz extracelular
EMT	Transición epitelio-mesénquima
FET-PET	Del inglés FET-positron-emission tomography

HA	Ácido hialurónico
IFN- γ	Interferón gamma.
IFN γ R	Receptor del interferón gamma.
IL-10	Interleucina - 10
IL-6	Interleucina-6
KLK10	Calicreína 10
KLK11	Calicreína 11
KLK13	Calicreína 13
KLK3	Calicreína 3
KLK5	Calicreína 5
KLK6	Calicreína 6
KLK7	Calicreína 7
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MME	Neprilisina
MMP1	Metaloproteinasas de matriz 1
MMP10	Metaloproteinasas de matriz 10
MMP12	Metaloproteinasas de matriz 12
MMP13	Metaloproteinasas de matriz 13
MMP2	Metaloproteinasas de matriz 2
MMP3	Metaloproteinasas de matriz 3
MMP7	Metaloproteinasas de matriz 7
MMP8	Metaloproteinasas de matriz 8
MMP9	Metaloproteinasas de matriz 9

MRI	Imagen por resonancia magnética
NK	Células asesinas naturales
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAH	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
PCSK9	Proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9
PLAU	Uroquinasa
PRTN3	Proteinasa 3
PSEN1	Presenilina 1
SN	Sistema nervioso
SNC	Sistema nervioso central
SNP.	Sistema nervioso periférico
TC	tomografía computarizada
TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta
TME.	Microambiente tumoral
TSNA	Nitrosamina específica del tabaco
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

Resumen

El glioblastoma, un tipo de tumor cerebral primario altamente agresivo, representa un desafío clínico significativo debido a su naturaleza y su pronóstico fatal, ya que representa una esperanza de vida promedio de sólo 15 meses para los pacientes afectados. Este cáncer se caracteriza por un entorno inflamatorio que favorece su desarrollo y progresión. Dentro de este contexto inflamatorio, se encuentran diversas citocinas, entre las cuales destaca el interferón gamma (IFN- γ). El IFN- γ al unirse a su complejo receptor transmembranal, desencadena una cascada de señalización que culmina en la activación del factor de transcripción STAT-1. Este último regula la expresión de diversos genes, algunos de ellos asociados con efectos pro- y anti-tumorigénicos dependiendo del tipo de cáncer. En glioblastoma, el IFN- γ parece primordialmente promover la progresión oncogénica. Sin embargo, no se conoce completamente si la señalización del IFN- γ podría modular los niveles de expresión de las proteasas, enzimas con múltiples implicaciones en el cáncer, como la migración celular, que es un evento fundamental en la progresión tumoral. En este proyecto, se determinó una firma de proteasas desreguladas en glioblastoma en comparación con el tejido de cerebro saludable utilizando bases de datos de cáncer humano. Además, se han identificado varias proteasas que son moduladas por el IFN- γ en el contexto del glioblastoma, mediante un microarreglo de proteínas para la detección de proteasas. Al respecto, se demostró que el IFN- γ favorece la migración de las células A-172, lo cual podría estar relacionado con la modulación de los niveles de proteasas por la señalización del IFN- γ . De los datos obtenidos, se seleccionó la catepsina L (CTSL), una proteasa asociada con la progresión tumoral. Los resultados sugieren que la señalización del IFN- γ incrementa los niveles de CTSL en células de glioblastoma, principalmente en el compartimento citoplasmático y mitocondrial. Estos hallazgos esclarecen los mecanismos moleculares involucrados en la patogénesis del glioblastoma, mediados por la señalización del IFN- γ . Además, abren la puerta a futuras investigaciones orientadas hacia la generación de nuevas vías terapéuticas potenciales y/o nuevas formas de diagnóstico para el glioblastoma.

I. Introducción

1. El sistema nervioso

El sistema nervioso (SN) es un componente complejo dentro del cuerpo humano, constituido por una variedad de órganos y células especializadas, cuyo objetivo principal radica en la transmisión de información y el manejo de las funciones fisiológicas del organismo. Este complejo sistema está integrado por el encéfalo, la médula espinal y los nervios periféricos (Bea, 1999). El encéfalo recibe, analiza y coordina las señales nerviosas de diversas regiones sensoriales, lo que lo convierte en el centro de control del organismo. Este órgano altamente complejo produce impulsos nerviosos eléctricos para controlar las respuestas motoras y autónomas del cuerpo (Poirier, 2004; Bea, 1999). La médula espinal es esencial para conectar el encéfalo con el resto del cuerpo, ya que facilita la conexión y coordinación de las respuestas motoras y sensoriales al actuar como un canal de transmisión de impulsos nerviosos. Además, contiene circuitos neuronales capaces de producir respuestas automáticas sin la intervención directa del cerebro (Poirier, 2004; Bea, 1999). Los nervios periféricos, por otro lado, son estructuras complejas responsables de transmitir los impulsos nerviosos entre el encéfalo, la médula espinal y los diversos tejidos del cuerpo. La comunicación efectiva y la ejecución de órdenes motoras y sensoriales son garantizadas por este amplio sistema de redes biológicas (Poirier, 2004; Bea, 1999).

La organización funcional del sistema nervioso está estructurada para llevar a cabo las reacciones electroquímicas sirven para transmitir información, proceso conocido como sinapsis. Este mecanismo involucra muchas moléculas, como neurotransmisores y circuitos neuronales especializados, que se encargan de coordinar adecuadamente la función en diferentes regiones del encéfalo, para integrar la información sensorial y realizar respuestas motoras (Poirier, 2004; Bea, 1999).

La evolución ha dotado al cerebro más de un trillón de neuronas, lo que ha creado estructuras sofisticadas que permiten la interpretación de la realidad, el desarrollo de la autoconciencia, el almacenamiento de recuerdos y el fomento de la creatividad (Robin, 2020). La figura 1

proporciona una visión clara y simplificada de las diversas partes que componen el encéfalo, tales como el lóbulo parietal, frontal, temporal, occipital, cerebelo y el tronco encefálico; asimismo, se señalan algunas de las funciones específicas que desempeña cada una de estas regiones cerebrales (Llorens *et al.*, 2023).

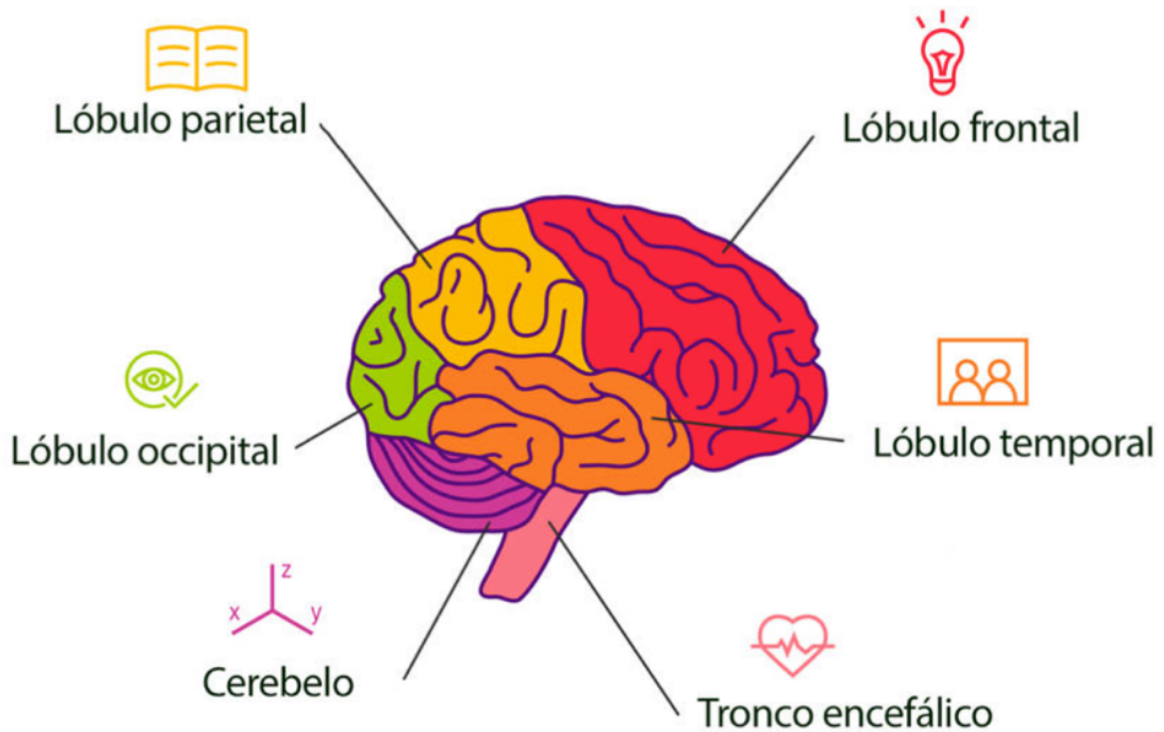


Figura 1. El encéfalo y sus funciones. El lóbulo parietal es responsable de comprender el entorno, el lóbulo occipital ayuda a interpretar la información visual, el lóbulo frontal es el encargado del intelecto, el lóbulo temporal de la memoria, el tronco encefálico es responsable de regular sus funciones vitales como la frecuencia cardíaca, el cerebelo es el encargado de la coordinación motora y el equilibrio. Imagen tomada de Llorens y Marín, 2023.

1.1 Subdivisiones del sistema nervioso

El sistema nervioso se divide principalmente en dos sistemas: el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP), cada uno desempeñando funciones específicas y complementarias (Rosselli y Mónica, 2003). En la figura 2, se presentan de manera visual los elementos que conforman tanto el sistema nervioso central como el periférico.

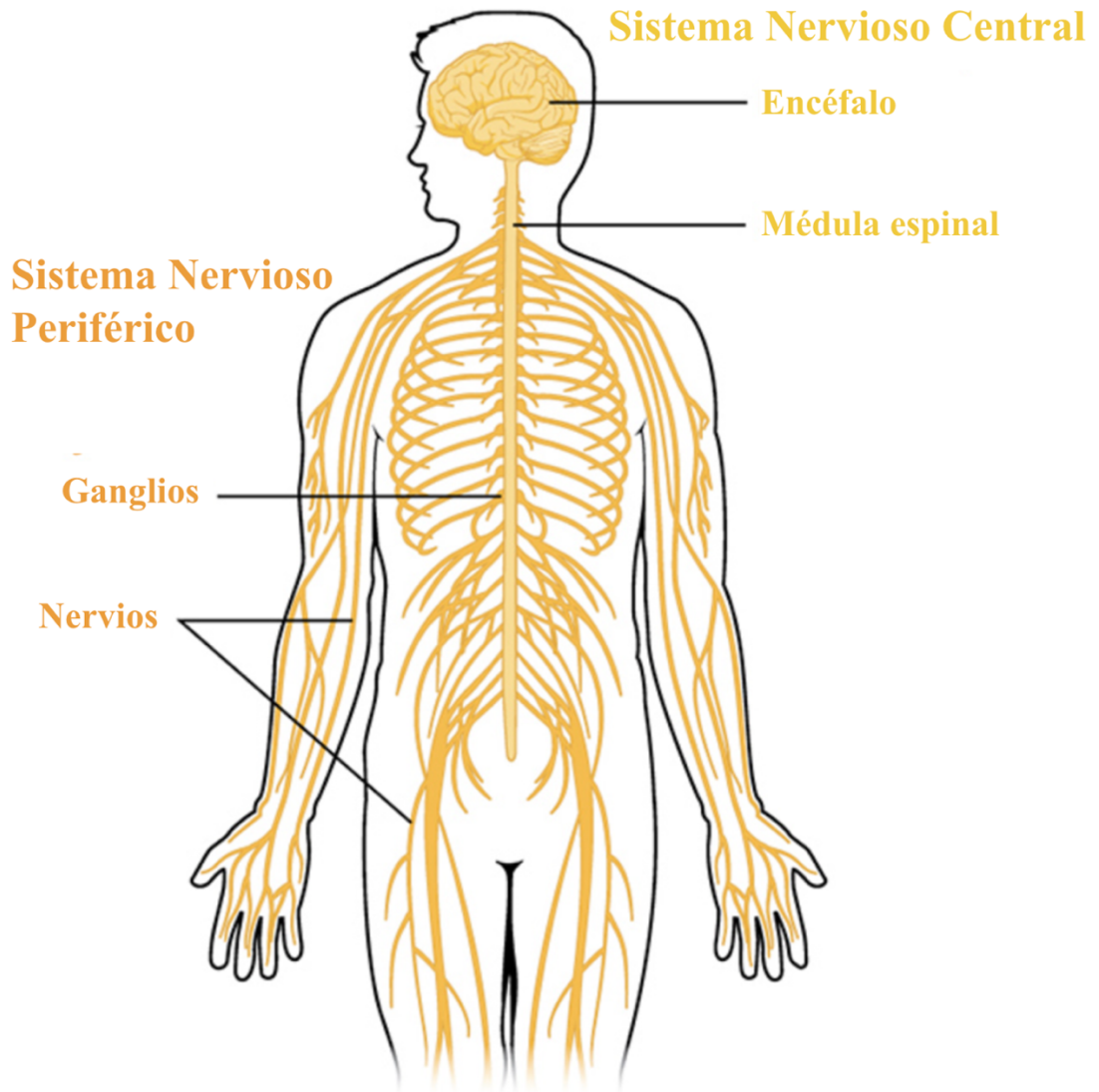


Figura 2. Subdivisiones del sistema nervioso. Las dos subdivisiones que presenta el sistema nervioso son: Sistema Nervioso Central, conformada por el cerebro y la médula espinal. Sistema Nervioso Periférico, conformado por los ganglios y los nervios. Imagen modificada de Peripheral Nervous System, 2018.

El sistema nervioso central, compuesto por el encéfalo y la médula espinal, participa en la integración y la toma de decisiones (Robin *et al*, 2020). Funciona como el centro de procesamiento de información, recibiendo, analizando y respondiendo a los estímulos sensoriales. Esta capacidad de procesamiento es fundamental para coordinar las respuestas del organismo a su entorno (Thau *et al*, 2022).

Por otro lado, el sistema nervioso periférico está conformado por los nervios craneanos y espinales (Rosselli y Mónica, 2003). Se caracteriza por extenderse más allá del sistema nervioso

central e incluye todo el tejido nervioso que no forma parte de él. Consta de nervios que comunican información entre el cerebro y otras partes del cuerpo, así como nervios conectados a la médula espinal (Farley *et al*, 2014).

El sistema nervioso periférico es principalmente responsable de recopilar información sensitiva del entorno y enviarla al sistema nervioso central para que la procese. Posteriormente, el sistema nervioso periférico envía órdenes motoras a los tejidos y órganos apropiados, lo que permite una respuesta coordinada (Robin *et al*, 2020).

1.2 Las células del sistema nervioso

El sistema nervioso se constituye a partir de dos tipos fundamentales de células, las neuronas y las células gliales. Las neuronas, pilares esenciales del sistema nervioso, presentan una estructura caracterizada por tres componentes principales: las dendritas, el cuerpo celular y el axón (Farley *et al*, 2014). La disposición cohesionada de axones conforman lo que conocemos como nervios (NIH, 2024).

La figura 3A ilustra la morfología distintiva de una neurona. Estas células especializadas poseen la notable capacidad de ser eléctricamente excitables, lo cual permite la transmisión de señales a través de sinapsis hacia otras neuronas, órganos o células efectoras (Ludwig *et al*, 2023). En la figura 3B, se representa gráficamente la interacción sináptica entre dos neuronas, evidenciando la complejidad y la precisión de este fenómeno. Aunque comúnmente se reconoce a la neurona como la unidad elemental de este sistema, resulta importante destacar que las células gliales desempeñan funciones de suma importancia, las cuales se mencionan a continuación (NIH, 2024).

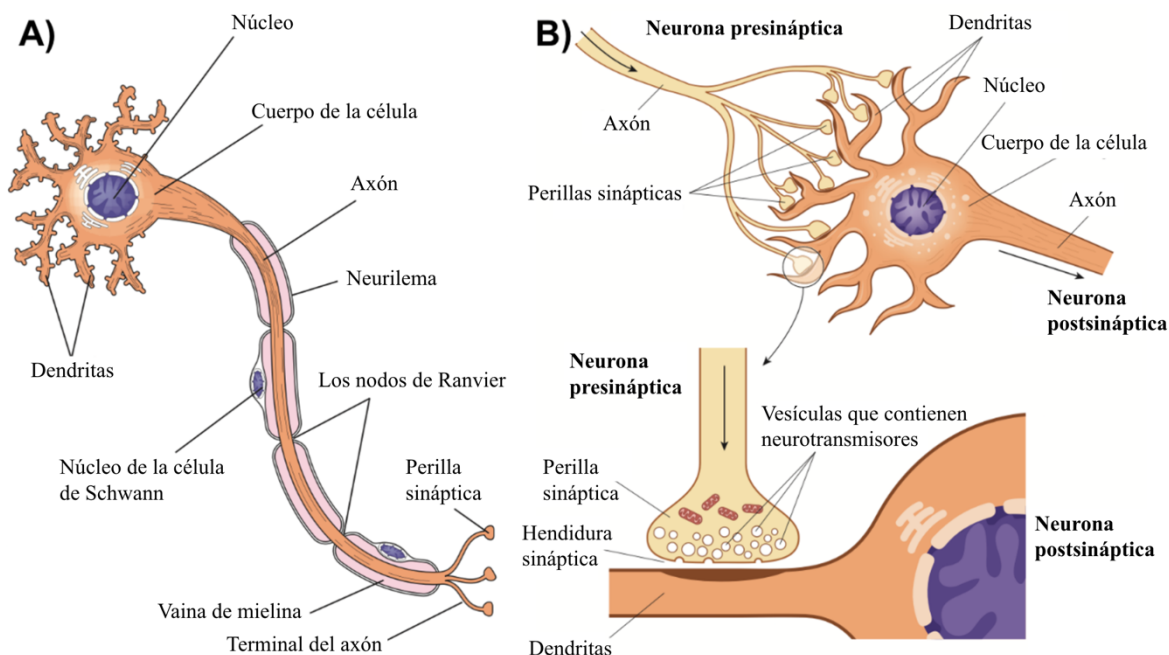


Figura 3. La neurona. A) Estructura de la neurona, compuesta por el núcleo, el cuerpo celular, las dendritas, el axón, entre otros componentes que se muestran en la figura. B) Interacción sináptica entre la neurona presináptica y postsináptica. Imagen modificada de Farley *et al*, 2014.

Las células gliales desempeñan un papel vital en el mantenimiento y respaldo del entorno neural. Su contribución esencial radica en proporcionar un respaldo estructural y metabólico, contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis cerebral. Las células gliales, abarcando un espectro diverso de funciones, se definen como todas aquellas que pertenecen al sistema nervioso, pero no son neuronas. Estas células desempeñan roles críticos, como la mielinización, la formación y remodelación sináptica, el reciclaje de neurotransmisores, el soporte trófico y la gestión de la barrera hematoencefálica (Rawji *et al*, 2023). La figura 4 destaca visualmente los distintos tipos de células gliales, ilustrando su variada contribución al entorno neural.

En el SNC, las células gliales más prominentes son los astrocitos y oligodendrocitos, mientras que, en el sistema nervioso periférico, las células de Schwann ocupan un lugar destacado (Ludwig *et al*, 2023; Jessen, 2004).

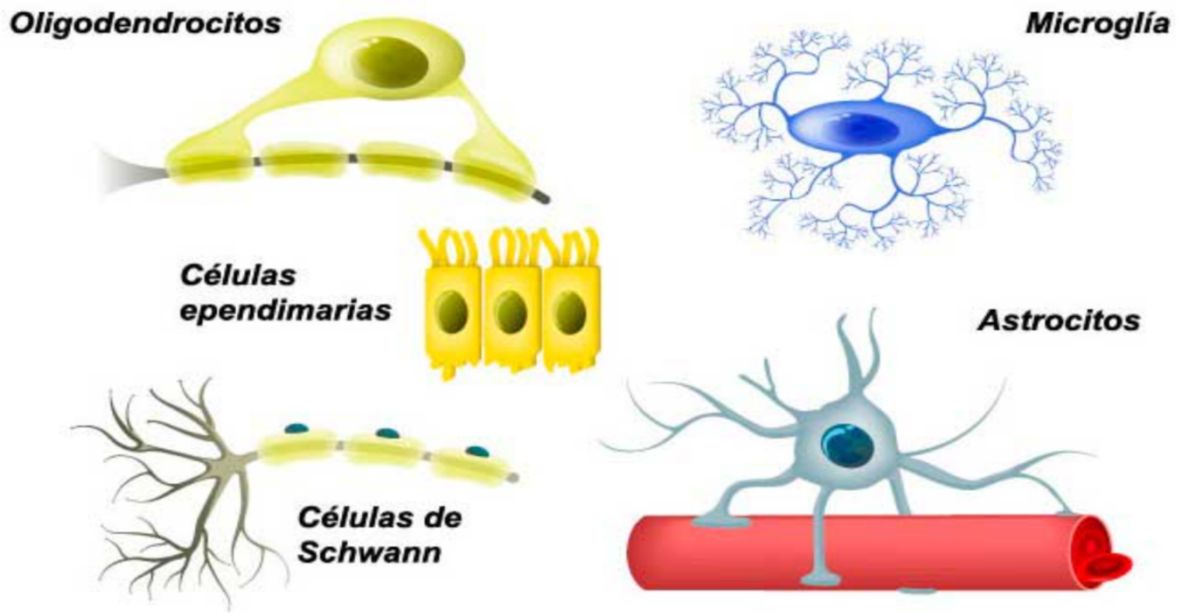


Figura 4. Las células gliales. Los oligodendrocitos, la microglía, las células ependimarias, las células de Schwann y los astrocitos son las principales células gliales. Imagen modificada de Colegio Cautivas Correntinas, 2020.

Oligodendrocitos y células de Schwann desempeñan un papel crucial en la generación de mielina, fundamental para incrementar la velocidad de transmisión neuronal. Los astrocitos, por su parte, establecen conexiones íntimas con el compartimento dendrítico, participando activamente en la regulación sináptica. Además, su conexión a los capilares permite la organización del soporte metabólico necesario para el funcionamiento neuronal óptimo (Ludwig *et al*, 2023; Jessen, 2004).

En el caso de axones de menor calibre, las células de Schwann no mielinizantes forman fibras de Remak, destacando la versatilidad funcional de las células gliales. Este intrincado tejido celular, a menudo pasado por alto, revela la importancia de las células gliales en la salud y función del sistema nervioso (Rey *et al*, 2023).

Cuando las células gliales han acumulado mutaciones genéticas. Estas mutaciones afectan los mecanismos de regulación celular, llevando a un crecimiento y división descontrolados de las células, lo que resulta en la formación de un tumor (Stiles, 2008). En el presente trabajo se enfocará en el estudio del glioblastoma.

2. Glioblastoma

El glioblastoma es considerado el tumor cerebral primario más frecuente y más agresivo en adultos, se origina a partir de astrocitos (Grochans *et al*, 2022; Wirsching *et al*, 2016). Representa el 15% de los tumores del sistema nervioso central y el 50.1% de las neoplasias malignas (Giles *et al*, 2023; Gimple *et al*, 2019).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado mediante técnicas histológicas y moleculares combinadas al glioblastoma como un tumor de grado 4, lo que quiere decir que es altamente agresivo debido a su notable invasión, lo que dificulta la erradicación completa mediante cirugía y promueve la recurrencia tumoral. La invasión característica del glioblastoma se atribuye en parte a su capacidad de migración pronunciada para infiltrar los tejidos circundantes, un proceso mediado por la transición epitelio-mesenquimal (EMT) (Bi *et al*, 2023). A nivel histológico, el glioblastoma se caracteriza por presentar necrosis y proliferación endotelial (Wirsching *et al*, 2016), como se puede visualizar el glioblastoma en la figura 5.

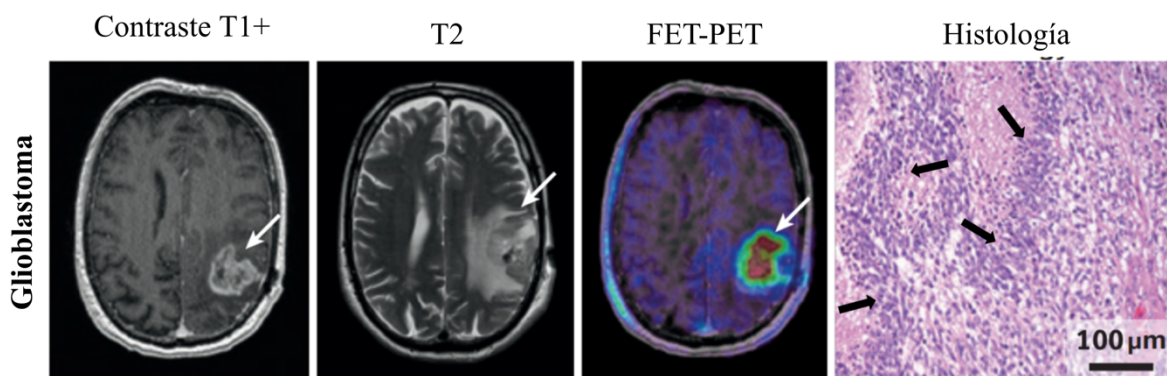


Figura 5. Neuroimagen y características histológicas del glioblastoma. El glioblastoma visualizado con resonancia magnética potenciada con gadolinio ponderada en T1 con más contraste y T2. Imagen tomada con tomografía por emisión de positrones con 18-fluoruro-fluoro-etil-tirosina (FET-PET). Características histológicas en sitios teñidos con hematoxilina-eosina. Las flechas señalan al glioblastoma. Imagen modificada de Weller *et al*, 2015.

2.1 Localización del glioblastoma

El glioblastoma es más común en el compartimento supratentorial que en el compartimento subtentorial. El lóbulo frontal es el sitio de localización más frecuente para este tipo de tumores dentro del compartimento supratentorial. Por otro lado, el glioblastoma es relativamente infrecuente en áreas como el cerebelo y el tronco del encéfalo (Grochans *et al*, 2022). Debido a su singularidad anatómica y su potencial impacto en las funciones cerebrales, estas ubicaciones menos comunes plantean desafíos diagnósticos y terapéuticos adicionales. Para una evaluación precisa y un manejo clínico efectivo de esta devastadora enfermedad neuro-oncológica, es necesario comprender detalladamente la distribución regional del glioblastoma. Se puede ver de manera gráfica las diversas localizaciones del glioblastoma en la figura 6.

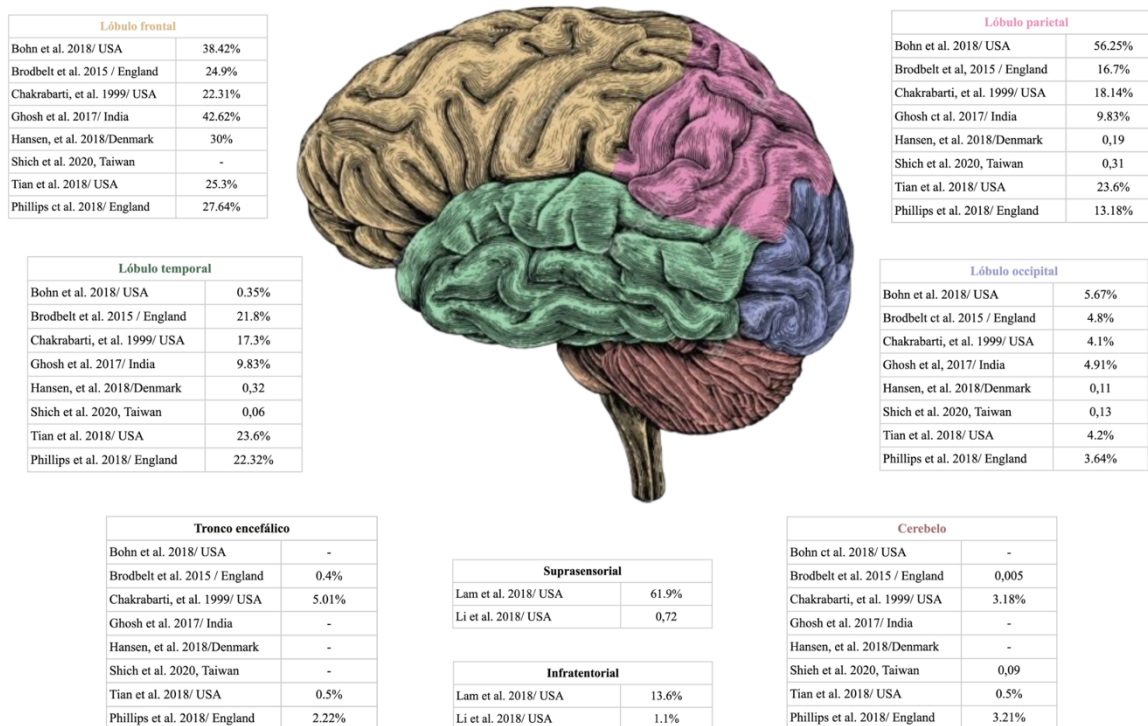


Figura 6. Localización del glioblastoma en el SNC. El glioblastoma puede presentarse en una diversidad de sitios en el sistema nervioso central, la figura muestra las regiones donde este tipo de tumores se presenta con su respectivo porcentaje, cabe mencionar que el daño cerebral superpuesto al cerebro, así como otros, que no se muestran en la figura, por ello la suma de los porcentajes no es 100%. Imagen modificada de Grochans *et al*, 2022.

2.2 Epidemiología del glioblastoma

Los tumores que afectan al SNC constituyen el 2% de todas las neoplasias. Este grupo de tumores presenta una diversidad amplia, que abarca desde lesiones bien diferenciadas y relativamente benignas, como los meningiomas, hasta aquellas altamente invasivas y poco diferenciadas, como el glioblastoma. La incidencia global de tumores primarios en el SNC se sitúa en 10.82 por cada 100,000 personas al año. La epidemiología de estos tumores es compleja, y varios metaanálisis que exploran sus características demográficas y clínicas básicas encuentran una marcada heterogeneidad (Alegría *et al*, 2017). La figura 7 muestra la frecuencia relativa de diversos tipos de tumores del SNC con base al registro en Estados Unidos del 2007 al 2011.

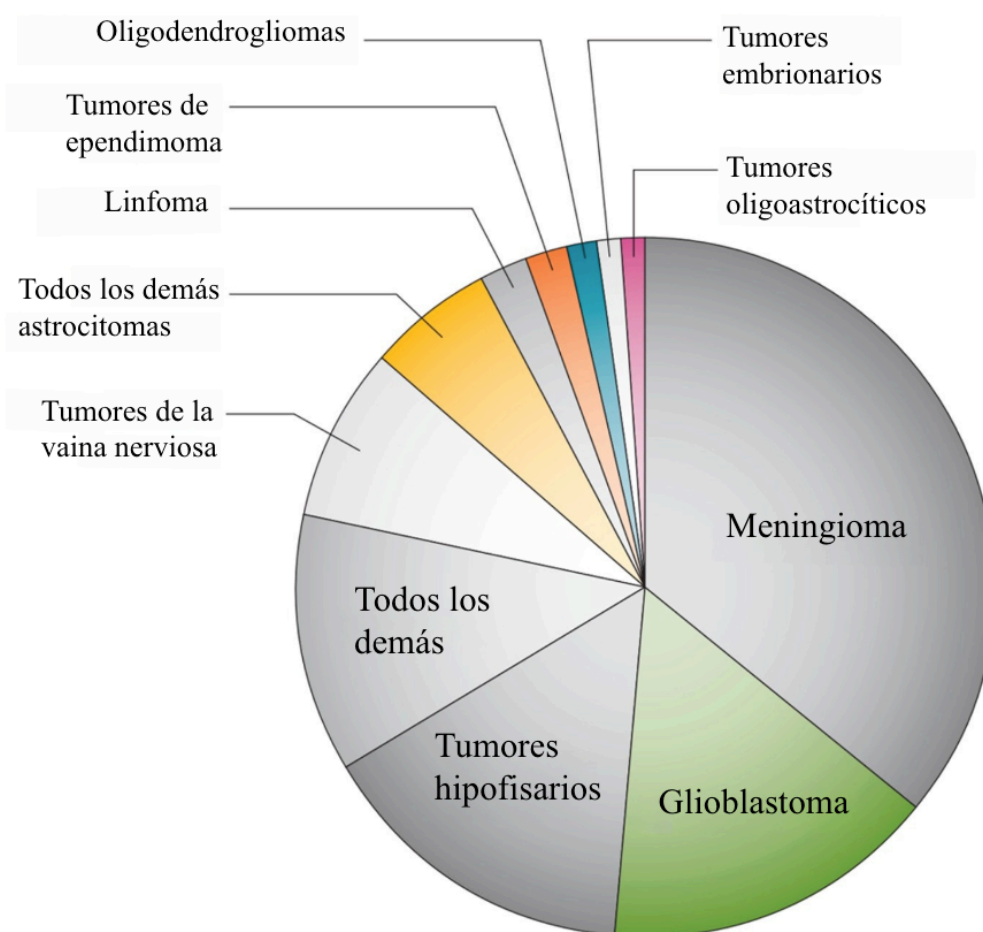


Figura 7. Frecuencia relativa de tumores del sistema nervioso central. La gráfica de pastel muestra los tipos de tumores SNC agrupados histológicamente por su frecuencia relativa con base al Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS) del año 2007 al 2011. Imagen modificada de Weller *et al*, 2015.

El glioblastoma presenta una incidencia estimada de 3 a 5 casos por cada 100,000 personas al año en los Estados Unidos (Erices *et al*, 2023). En México, la información sobre la incidencia

específica del glioblastoma es limitada. No obstante, la incidencia total de tumores cerebrales primarios es de 21.42 casos por cada 100,000 habitantes, aumentando a 81.16 casos por cada 100,000 personas mayores de 85 años (Contreras, 2017). El pronóstico para los pacientes con glioblastoma es desfavorable, con una mediana de supervivencia de aproximadamente 15 meses (Lai *et al*, 2023). Además, el glioblastoma tiene la tasa de mortalidad más alta entre los tumores cerebrales más comunes en humanos (Bi *et al*, 2023).

El glioblastoma suele ser diagnosticado en personas mayores, con una edad media al momento de la detección de alrededor de 64 años. La frecuencia de esta afección cerebral aumenta con la edad y alcanza su punto máximo entre los 75 y 84 años. Después de los 85 años, la frecuencia disminuye. También se evidencia una variación en la edad al momento del diagnóstico entre el glioblastoma primario y el secundario, siendo el primero relacionado con una edad promedio de alrededor de 55 años, mientras que el segundo se encuentra en personas más jóvenes, con una edad promedio de alrededor de 40 años. Es importante señalar que el glioblastoma es poco común en los niños (Tamimi y Juweid, 2017). En la figura 8 se puede ver de manera gráfica, la incidencia del glioblastoma con base en la edad y el sexo.

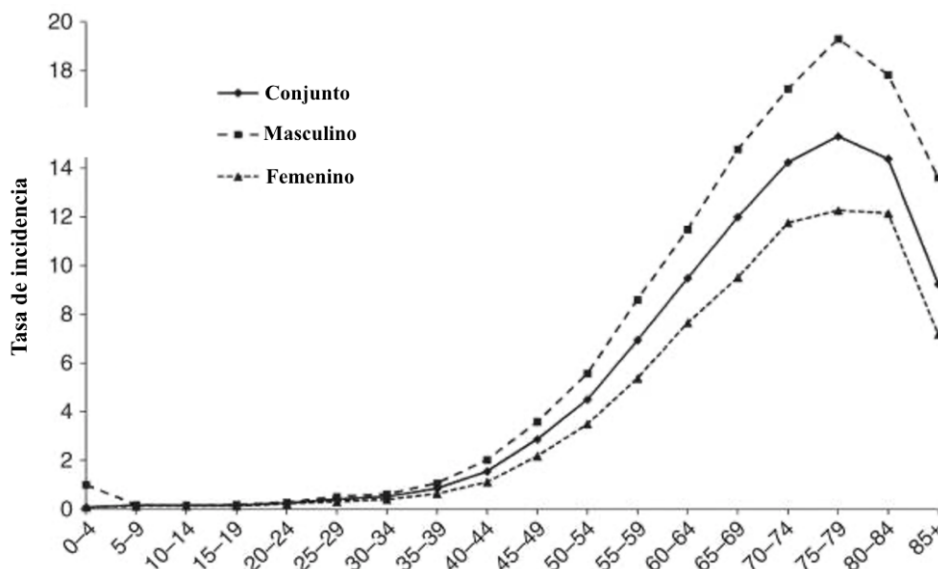


Figura 8. Incidencia del glioblastoma por edad y sexo. Tasas de incidencia del glioblastoma entre los años 2006 al 2010 con base a la edad y el sexo. Imagen modificada de Tamimi y Juweid, 2017.

La incidencia más reciente con base en los datos de la Organización Mundial de la Salud, para el glioblastoma, no está disponible, sin embargo, se puede obtener los datos de los tumores del

sistema nervioso central y si se ajustan los parámetros, como la edad, un factor importante como anteriormente se comentó, podemos tener una aproximación de su incidencia. La incidencia aproximada del glioblastoma a nivel mundial destaca por tener países con una alta tasa, tales como países europeos en mayor medida, Australia, el norte de África, América del Norte, Brasil, Argentina y países de Medio Oriente. Mientras que los países con menor incidencia se incluyen, el centro de África, México, India, Indonesia, Japón (Ferlay *et al*, 2024). En la figura 9 se visualiza un mapa de calor con la incidencia de los tumores del SNC en personas mayores de 65 años.

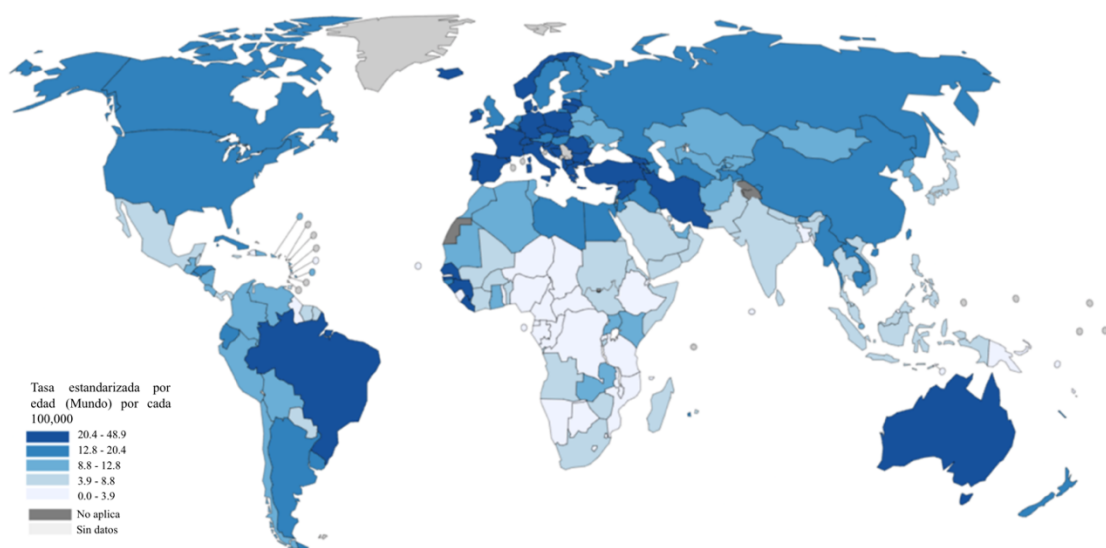


Figura 9. Incidencia de tumores del SNC a nivel mundial. Mapa de calor que muestra la tasa estandarizada por edad (mundial) por cada 100,000 personas, tomando en cuenta ambos sexos, con una edad de 65 a más de 85, datos del año 2022. Imagen modificada de Ferlay *et al*, 2024.

2.3 Diagnóstico del glioblastoma

El glioblastoma tiene un diagnóstico complejo y poco reproducible, con una incapacidad de predecir con precisión la sensibilidad o resistencia a los regímenes de quimioterapia (De Vleeschouwer *et al*, 2017). Esto se debe a que tiene una alta tasa de recurrencia, una alta heterogeneidad y plasticidad celular intratumoral y una naturaleza infiltrativa y migratoria de las células. Cuando se trata de una enfermedad frecuente, los tumores recurrentes con frecuencia divergen evolutivamente del tumor original, con impulsores y sensibilidades diferentes, lo que

limita la capacidad informativa de las biopsias iniciales (Gimple *et al*, 2019). La evaluación por imágenes desempeña un papel fundamental en el abordaje diagnóstico y terapéutico de diversas afecciones neurológicas. Entre las modalidades más utilizadas se encuentran (Mesfin *et al*, 2023):

Tomografía Computarizada de Cabeza. La TC de cabeza es utilizada para la detección y evaluación de hallazgos intracraneales agudos, como hemorragias, edemas y asimetrías en el tejido cerebral (Mesfin *et al*, 2023).

Imagen por Resonancia Magnética Cerebral: La MRI cerebral destaca por su sensibilidad en la identificación de características de los tumores cerebrales. Los tumores de bajo grado suelen no presentar realce, mientras que los de alto grado pueden exhibir realce en diferentes niveles. Además, la MRI es altamente eficaz en la evaluación del edema cerebral, siendo crucial en la planificación terapéutica y en la valoración de la respuesta a procedimientos como cirugía, radioterapia y quimioterapia (Mesfin *et al*, 2023).

Radiografía de Tórax: La radiografía de tórax adquiere importancia en pacientes recién diagnosticados con tumores cerebrales, permitiendo una adecuada evaluación metastásica. Basándose en la historia clínica y el examen físico del paciente, se considera especialmente relevante en casos de tabaquismo (Mesfin *et al*, 2023).

2.4 Tratamiento del glioblastoma

El glioblastoma requiere un tratamiento multidisciplinario que incluye cirugía, radioterapia y quimioterapia, en la figura 11 se hace un resumen gráfico de los tratamientos. Cada método terapéutico es esencial en el manejo de esta enfermedad, con el objetivo de reducir la carga tumoral y obtener muestras para un diagnóstico preciso y establecer un plan de tratamiento ideal (Alegría *et al*, 2017; Sales *et al*, 2022). A continuación, se describirán algunos de los tratamientos implementados:

Cirugía. La resección quirúrgica del tumor sigue siendo la opción principal de tratamiento, especialmente cuando se combina con radioquimioterapia adyuvante (Sales *et al*, 2022). La finalidad de la cirugía no es solamente disminuir la cantidad de tumores, sino que también busca obtener tejido para realizar un diagnóstico más preciso y establecer un plan de tratamiento más adecuado. Para los tumores primarios del sistema nervioso central que buscan una resección completa, el tratamiento quirúrgico es la opción preferida. El tumor solo se puede tratar si es inaccesible o se encuentra en un área elocuente, como la corteza motora, o las áreas sensoriales (Alegría *et al*, 2017). Se puede ver en la figura 10 la cirugía de un paciente con glioblastoma.

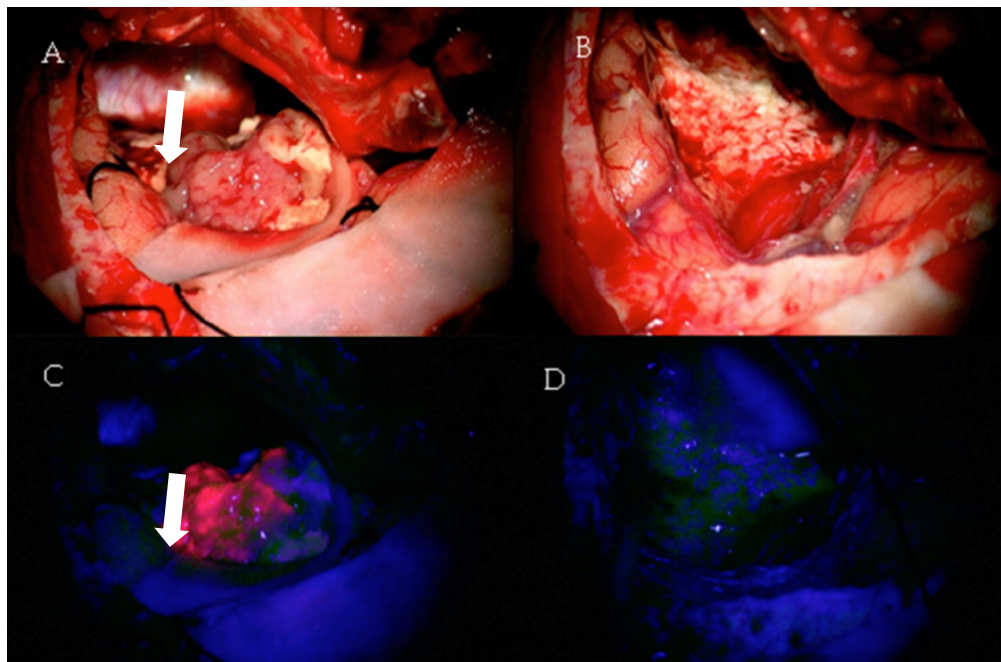


Figura 10. El glioblastoma en un paciente de 61 años. (A, C) Imagen antes de la cirugía. (B, D) Imagen después de la cirugía. En las figuras inferiores se muestran las mismas imágenes, pero con fluorescencia. Las flechas blancas señalan al tumor. Imagen tomada de Sales *et al*, 2022.

Radioterapia. El glioblastoma suele recibir radioterapia como tratamiento adicional, los cuales pueden ser tres, braquiterapia, radiocirugía estereotáctica y radioterapia convencional. La radioterapia tradicional se compone de una serie de tratamientos diarios, basados en ondas de alta energía, como los rayos X, que oscilan entre 25 y 35 por un período de 5 a 7 semanas, y se adapta a la patología y la ubicación del tumor. Por el contrario, la radiocirugía estereotáctica requiere una sesión de un día, pero se puede prolongar a dos o tres días más. Para tumores recurrentes, generalmente se utiliza como tratamiento paliativo. Por último, la braquiterapia

implica colocar un implante radioactivo directamente dentro del tumor (Alegría *et al*, 2017). La radioterapia ocupa un papel integral en el tratamiento del glioblastoma. Las características específicas del tumor y del paciente, como la edad y el estado funcional, determinan cómo se debe aplicar la radioterapia y cómo se debe administrar (Cabrera *et al*, 2016).

Quimioterapia. La temozolomida es el fármaco de elección en el tratamiento del glioblastoma, actuando sobre la metilación del DNA y promoviendo la apoptosis celular. Su combinación con radioterapia ha demostrado mejorar significativamente la supervivencia a largo plazo. Además, se están investigando otros agentes quimioterapéuticos como el bevacizumab, el imatinib y el irinotecan, que muestran promesas en la inhibición de factores de crecimiento tumorales y en el control de la progresión tumoral (Lai *et al*, 2023)

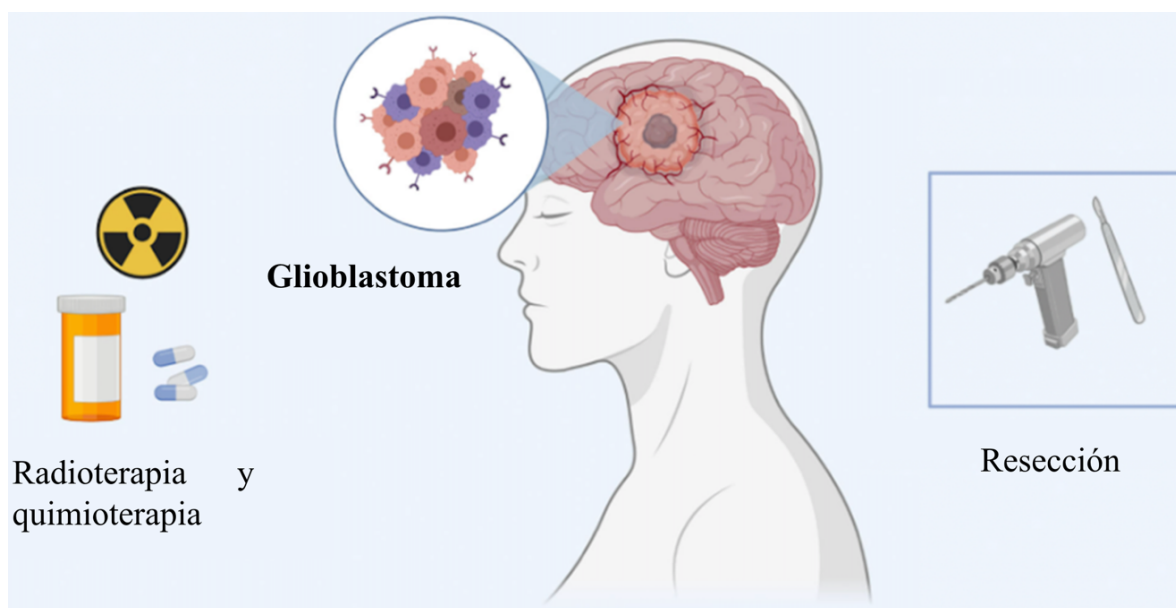


Figura 11. Tratamientos para el glioblastoma. Los tratamientos estándares del glioblastoma son tres, la extirpación quirúrgica, la radioterapia y la quimioterapia, para tener un mejor pronóstico se combinan los tratamientos anteriores. Imagen modificada de Aguilera *et al*, 2022.

3. Factores de riesgo del glioblastoma

Los factores de riesgo que se han asociado con el glioblastoma son diversos, entre los cuales se encuentran los siguientes:

Tabaquismo y nitrosaminas. El cigarro es un agente que está involucrado en una gran variedad de enfermedades, entre ellas el cáncer, sin embargo, en el caso del glioblastoma hacen falta estudios para poder determinar su relación, empero se ha identificado que entre los componentes del tabaco se encuentran las nitrosaminas específicas del tabaco (TSNA) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), los cuales son capaces de penetrar la barrera hematoencefálica, provocando daños en el SNC (Grochans *et al*, 2022).

Las mutaciones no hereditarias. Las células somáticas debido a errores en la replicación del DNA o por exposición a mutágenos ambientales, pueden provocar la transformación celular y la progresión del cáncer, lo cual puede promover el desarrollo del glioblastoma, se investiga a genes que cuentan con la mayor densidad de mutaciones sin sentido para relacionarlos con la progresión del glioblastoma (De Vleeschouwer *et al*, 2017).

La inflamación crónica. La inflamación es un proceso fisiológico que involucra a una gran variedad de procesos inmunológicos, entre ellos se encuentra la modulación de células y moléculas involucradas en destruir las células alteradas, para evitar la formación de tumores. Sin embargo, cuando la inflamación se vuelve crónica produce un efecto contrario, ya que puede involucrarse en el desarrollo de tumores, se ha encontrado que la inflamación crónica puede dañar el DNA, produciendo mutaciones que terminan produciendo el desarrollo de la neoplasia, además la inflamación crónica contribuye mediante mecanismos moleculares que están involucrados en la evasión de la respuesta inmune en las células tumorales (Grochans *et al*, 2022).

Otros factores de riesgo para el desarrollo del glioblastoma son: el sueño, la melatonina, el consumo de alcohol, factores nutricionales, productos químicos, pesticidas, obesidad, radiación ionizante (Grochans *et al*, 2022).

II. Antecedentes particulares

1. El microambiente tumoral

El microambiente tumoral (TME) es una red compleja compuesta por una población heterogénea de células cancerosas, junto con citocinas solubles, células estromales asociadas y la matriz extracelular (MEC), los cuales contribuyen a la heterogeneidad y la dinámica del glioblastoma (Lai *et al*, 2023).

El TME, se puede ver representado en la figura 12, el cual desempeña un papel en la progresión tumoral, mediante señales que impulsan la proliferación, la invasión y la resistencia (Wolf *et al*, 2019). El estroma tumoral es un componente fundamental involucrado en la evasión inmune, la invasión, la metástasis, la proliferación celular, la angiogénesis, y la resistencia a la terapia (Tagirasa y Yoo, 2022).

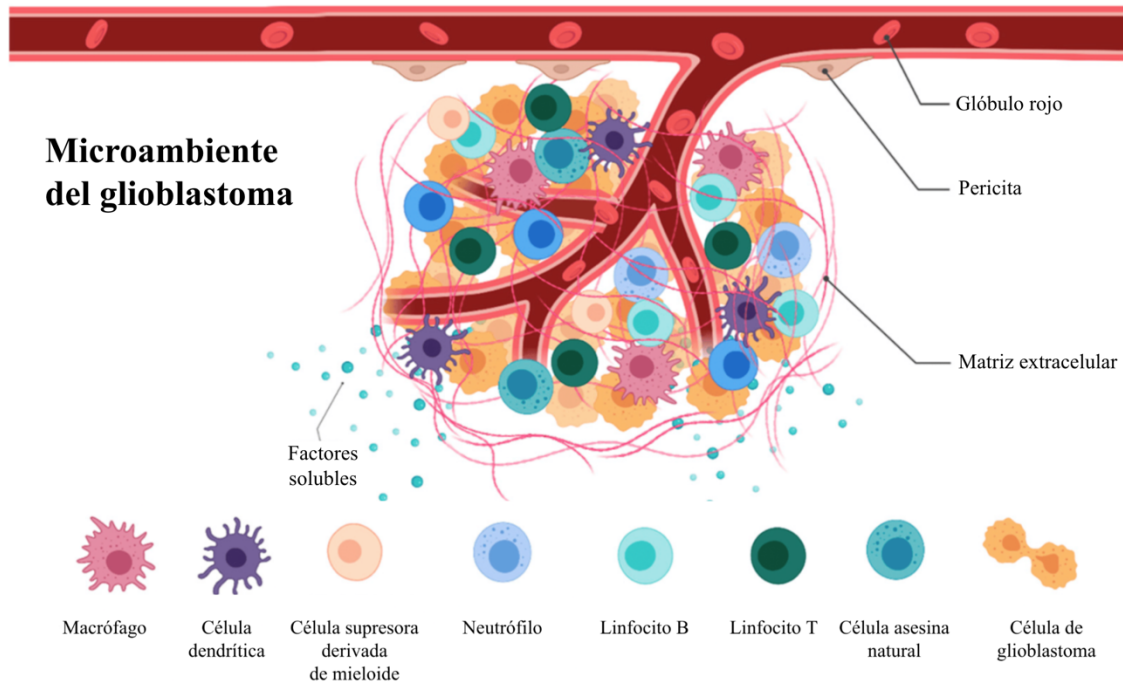


Figura 12. El microambiente tumoral del glioblastoma. Representación del TME del glioblastoma, los componentes que lo conforman son los macrófagos, las células dendríticas, células supresoras derivadas de mieloideas, neutrófilos, linfocitos B y T, células asesinas naturales y las células de glioblastoma. Imagen modificada de Dapash *et al*, 2021.

La MEC está compuesta por diversos polisacáridos y proteínas, representando el 20% del volumen total del cerebro humano (Lam *et al*, 2019). La MEC tiene como función fisiológica el desarrollo y funcionamiento del cerebro, sin embargo, en contexto del glioblastoma la ECM se modifica, lo cual provoca un aumento de su rigidez asociada al tumor, un ejemplo de esto es el aumento de la expresión de CD44, siendo blanco de unión de la metaloproteinasas de matriz 9 (MMP9) y el principal receptor de superficie para el ácido hialurónico (HA) (Dapash *et al*, 2021).

El TME está modulado por la interacción de las células cancerosas, por la expresión génica, la secreción de diversas moléculas de señalización, como citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y por proteasas (Tagirasa y Yoo, 2022).

El glioblastoma tiene involucrada a la inflamación crónica en su TME, lo que provoca que tenga una mayor resistencia a las terapias y un peor pronóstico. Por otro lado, las células del glioblastoma mediante procesos moleculares expresan y secretan quimiocinas y citocinas inmunosupresoras (Roesler *et al*, 2021). Por ejemplo, la IL-10, una citocina antiinflamatoria, inhibe la síntesis de otras citocinas, contribuye a la inhibición de las células presentadoras de antígenos, frena la proliferación de células T y promueve la activación de las células T reguladoras (Widodo *et al*, 2021). Por otro lado, el TGF- β inhibe la proliferación de células T contribuyendo de esta manera a la inmunosupresión (Pickup *et al*, 2013).

El IFN- γ (IFN-gamma) es una citocina proinflamatoria que está presente en el TME, su función en el cáncer es dual, ya que puede desempeñar un papel tanto antitumoral como protumoral; su efecto será dependiendo del tipo específico de tumor, la intensidad de la señalización, su concentración, así como las características presentes en el TME, todas estas características hacen que el IFN- γ a través de la interacción con células inmunológicas actúen contra o para aumentar la malignidad (Castro *et al*, 2018).

El IFN- γ a través de sus receptores transmembranales activa la ruta de JAK/STAT1, para modular la expresión de sus genes blanco. Se ha demostrado que los elementos de la vía del IFN- γ se encuentran incrementados en glioblastoma (Zamora, 2024).

2. El IFN- γ

En el cuerpo humano frecuentemente surgen células malignas, en consecuencia, este debe montar una defensa, facilitada por el sistema inmunológico, que asuma el reconocimiento y la erradicación de cualquier entidad que suponga ser una amenaza para el organismo (Ding *et al*, 2022). El sistema inmunológico abarca componentes innatos, que operan con una capacidad limitada de reconocimiento y de esta forma facilitando la movilización de efectores celulares y proteicos como frente defensivo. Por otro lado, el sistema inmunológico cuenta con componentes adaptativos que se especializan en el reconocimiento preciso y la erradicación de amenazas específicas (Ding *et al*, 2022).

Las citocinas son proteínas mensajeras empleadas por el sistema inmunológico para la regulación de diversos procesos. Entre las citocinas se encuentran a los interferones también denominados IFN, las cuales son un grupo de moléculas de señalización que están involucradas en la regulación positiva de la respuesta inmune. Los interferones son cruciales para combatir las infecciones virales, pero también juegan un papel importante en la supresión de tumores, su función se basa en la regulación positiva del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de Clase I y II, la transducción de señales y la activación de células inmunitarias, como macrófagos y células NK (asesinas naturales) (Khanna *et al*, 2023).

Los interferones se dividen en tres subtipos principales: IFN- α , IFN- β y el IFN- γ . Los IFN- α y IFN- β pertenecen a la subclase de interferón tipo 1 y el IFN- γ pertenece a la subclase de interferón tipo 2. Se ha descubierto más recientemente una tercera subclase de interferones, específicamente el tipo 3, que incluye el IFN- λ (Khanna *et al*, 2023). El IFN- γ , conocido por su actividad en la inmunidad innata y adaptativa, es el único miembro del grupo del IFN tipo II. Es secretado principalmente por células NK, células T CD4 + y células CD8 + (Salas *et al*, 2023). Las funciones que desarrolla el IFN- γ son la regulación de la inmunidad, la orquestación del tráfico de leucocitos, la proliferación celular, la apoptosis, además de exhibir propiedades antibacterianas y anticancerígenas, sin embargo, también posee efectos protumorigénicos en contextos específicos de cáncer (Schroder *et al*, 2004; Bhat *et al*, 2018).

2.1 La vía canónica del IFN- γ

El IFN- γ es una citocina, que al unirse a su complejo receptor promueve cambios conformacionales que promueven la activación de STAT-1, que actúa como factor de transcripción responsables de la regulación de la expresión génica (Boehm *et al*, 1997; Zaidi y Merlino, 2011). La figura 13 ilustra de manera gráfica la vía de señalización del IFN- γ .

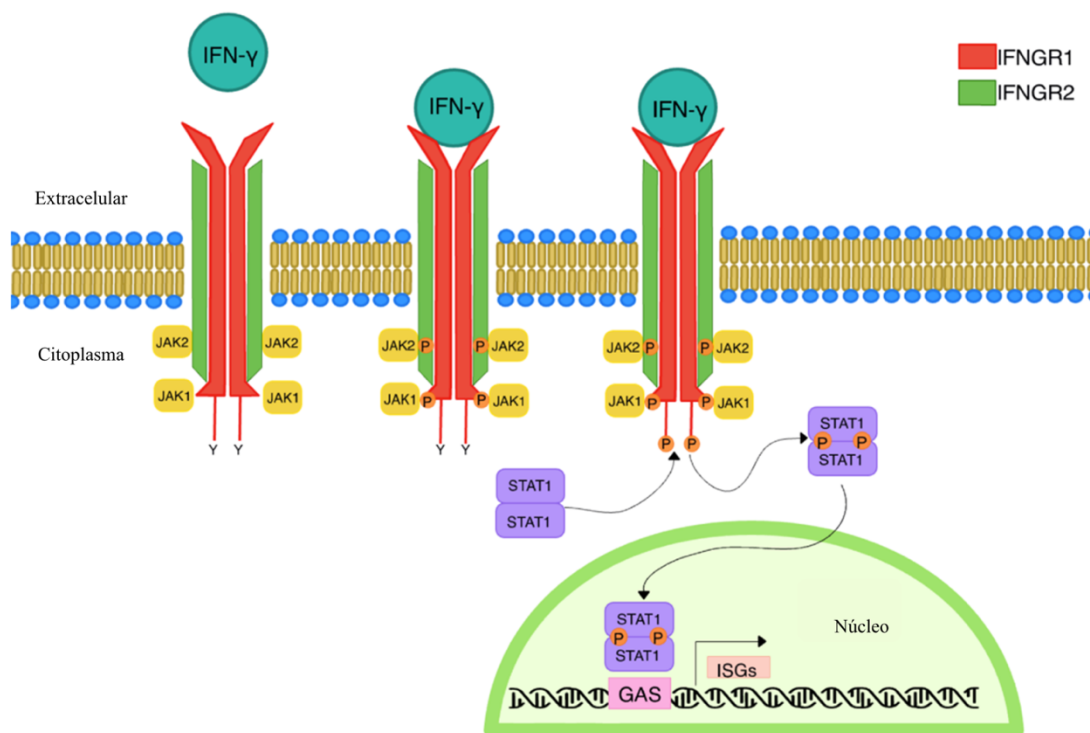


Figura 13. Vía de señalización canónica del IFN- γ . Cuando el IFN- γ se une a su receptor heterotetramérico, compuesto por IFNGR1 e IFNGR2, desencadena la transfosforilación de JAK1 y JAK2, así como la fosforilación de IFNGR1, lo que lleva al reclutamiento de STAT1. Posteriormente, STAT1 es fosforilado por las proteínas JAK. Una vez fosforilado, STAT1 se traslada al núcleo, donde regula la transcripción de genes que poseen motivos de secuencia activados por gamma (GAS) en sus regiones promotoras. Imagen modificada de Tecalco *et al*, 2024.

El receptor del IFN- γ se compone de dos subunidades, IFN γ R1 e IFN γ R2, que exhiben distintas funcionalidades en condiciones específicas. El IFN γ R1 sirve como proteína de cadena de unión a ligando y demuestra una expresión moderada en casi todas las superficies celulares. Por el contrario, IFN γ R2 tiene niveles de expresión notablemente bajos, sujetos a estímulos externos para su regulación, este receptor posee una función fundamental en la estabilización del receptor del IFN- γ y la activación de la quinasa JAK2 (Bach *et al*, 1997). Por otro lado, las proteínas

JAK1 y JAK2 son enzimas que tienen una importante regulación a nivel citoplasmático, estas enzimas fosforilan a STAT-1 en su residuo Y701 lo que lleva a la reorientación de STAT1 en una forma antiparalela, donde el dominio SH2 de cada proteína STAT1 se une al residuo pY701 de la otra proteína. Posteriormente, el complejo pSTAT1:pSTAT1 se desacopla del receptor IFNGR1, seguido de una fosforilación final en su residuo S727, completando el proceso de activación. Finalmente, el complejo pSTAT1:pSTAT1 se transloca al núcleo, donde se une a secuencias consenso en el DNA denominadas GAS (*Gamma Activated Sequences*) que están localizadas en las regiones promotoras de un gran número de genes denominados ISGs (*Interferon Stimulated Genes*) (Salas *et al*, 2023). En la tabla 1 se muestran los elementos que componen a la vía canónica del IFN- γ .

Tabla 1. Elementos de la vía de señalización canónica del IFN- γ .

Elemento	Gene ID	Descripción	Referencia
IFNGR1	3459	Cadena de unión al ligando alfa del receptor de interferón gamma.	(GenBank, 2024)
IFNGR2	3460	Cadena beta de interferón gamma.	(GenBank, 2024)
JAK1	3716	Tirosina cinasa no receptora	(GenBank, 2024)
JAK2	3717	Tirosina cnasa no receptora	(GenBank, 2024)
STAT1	6772	Transductor de señal y activador de la transcripción	(GenBank, 2024)

2.2 Función del IFN- γ en cáncer

El IFN- γ cuenta con una actividad dual en el cáncer, que depende del tipo de cáncer, la concentración de IFN- γ , la persistencia del estímulo del IFN- γ . Estos efectos contribuyen a que el IFN- γ por medio de su vía de señalización canónica o no canónica, regule la transcripción de diversos genes que tienen una función fundamental en el control o en la progresión tumoral (Salas *et al*, 2023).

El IFN- γ desempeña mecanismos moleculares para desarrollar sus funciones duales en cáncer. Entre sus efectos protumorales se encuentra la superinducción de la indolamina oxidasa (IDO)-1 y el ligando 1 de muerte programada (PD-L1), que tiende a inmunosuprimir la respuesta inmune. Por otra parte, cuando se transcribe el factor regulador de interferón 1 (IRF1), en respuesta a IFN- γ , desempeña un papel antitumoral al inducir señales apoptóticas (Salas *et al*, 2023). En la figura 14 se ilustran los mecanismos duales del IFN- γ .

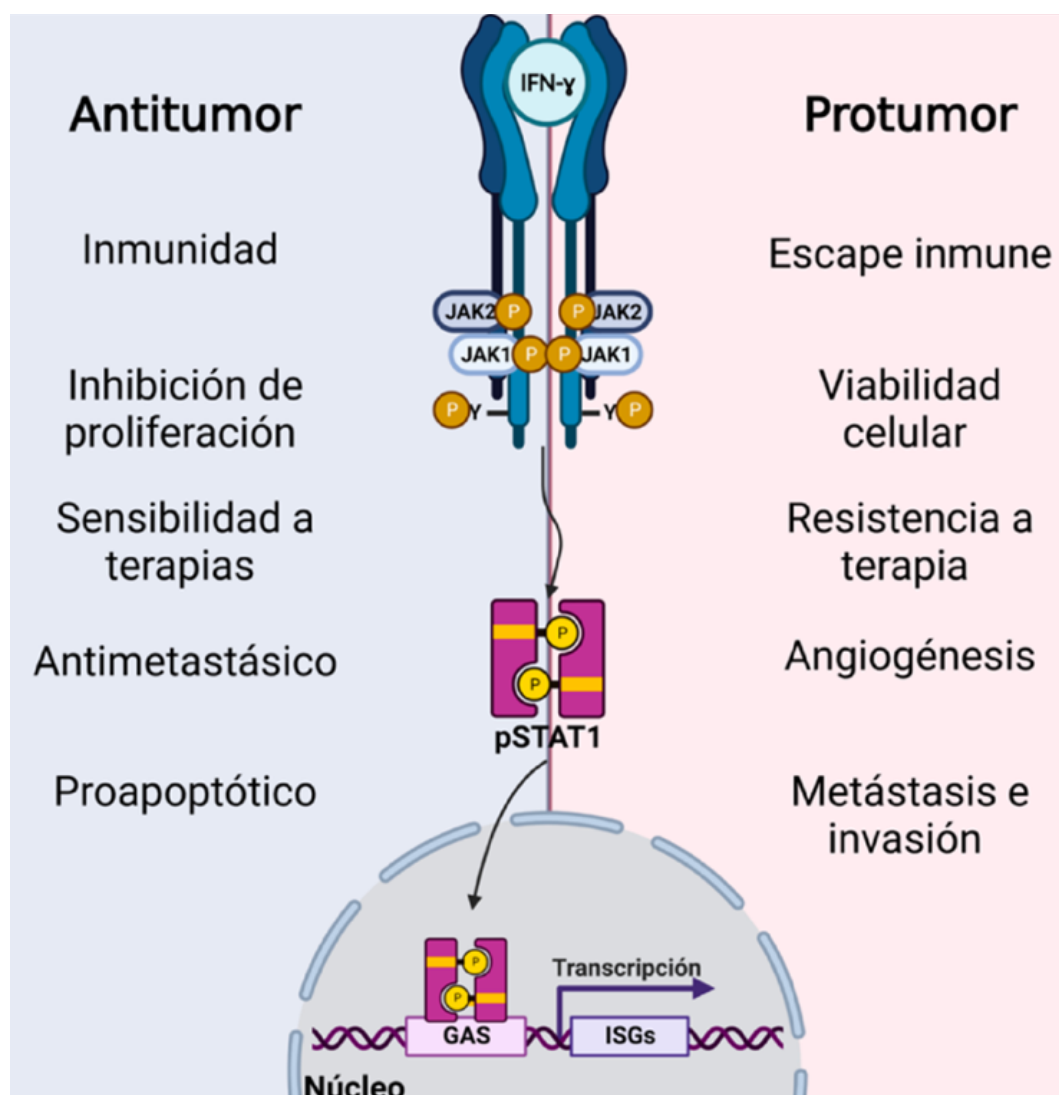


Figura 14. La función dual de la vía canónica del IFN- γ en cáncer. El IFN- γ puede desempeñar papeles que promueven el tumor o que lo combaten, esto dependerá de diversas circunstancias, cuando desempeña su papel antitumor, activa la respuesta inmune, inhibe la proliferación, la metástasis e induce apoptosis en las células tumorales, en contraparte cuando el IFN- γ tiene actividades protumorales suprime la respuesta inmune aumenta la viabilidad celular. Imagen tomada de Salas *et al*, 2023.

2.3 La regulación transcripcional mediada por la vía del IFN- γ

El IFN- γ interviene en la señalización intracelular mediante la transducción de señales que activan al factor de transcripción STAT1, que modula la expresión de diversos genes (Kopach *et al.*, 2014). Particularmente en células derivadas de glioblastoma A-172, mediante un microarreglo de cDNA, se identificaron 92 genes asociados a cáncer expresados diferencialmente, de los cuales 63 genes están regulados positivamente, y 29 genes regulados negativamente en respuesta al tratamiento con IFN- γ en una concentración de 100 ng/ml. De manera interesante, entre ellos, se identificó al gen que codifica para la proteasa **CTSO**, cuya expresión fue inducida por el IFN- γ (Pérez, 2023). No obstante, se ha estudiado poco la regulación de las proteasas por medio de la vía del IFN- γ . En un estudio *in vitro* en una línea celular de astroglioma humano (CRT-MG), que tiene como origen una lesión neoplásica del lóbulo frontal, se observó que el IFN- γ regula negativamente a **MMP9**, además de disminuir su abundancia proteica y su actividad, con una dependencia de STAT-1 (Ma *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2005). Se puede ver de manera gráfica en la figura 15 la propuesta de la regulación del IFN- γ sobre la **MMP-9**.

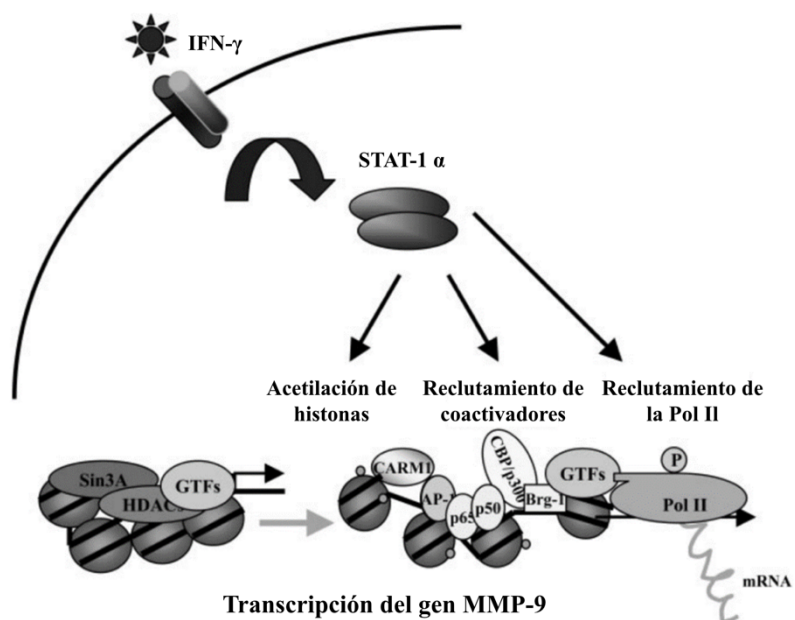


Figura 15. La regulación de la MMP-9 por la vía del IFN- γ . La regulación negativa del IFN- γ sobre la MMP-9 es dependiente de STAT-1. El mecanismo molecular propuesto es por medio la inhibición del ensamblaje del complejo de transcripción MMP-9 suprimiendo la asociación CBP/p300 y la acetilación H3/H4 e inhibiendo el reclutamiento de Pol II. Imagen modificada de Ma *et al.*, 2005.

La regulación de **MMP-9** por medio del IFN- γ también se ha identificado en monocitos, ya que esta citocina regula negativamente la síntesis y liberación de **MMP-9** (Nguyen *et al*, 2005). En otro estudio se demostró que los niveles expresión de **MMP-1** y **MMP-3** fueron hasta ocho veces mayores con un tratamiento de 100 U/ml de IFN- γ en queratinocitos epidérmicos humanos (Tamai *et al*, 1995). En el caso de la **MMP7**, el IFN- γ aumentó su expresión en fibroblasto de pulmón (Vu *et al*, 2019). Sin embargo, no se conocen más evidencias de la modulación de proteasas por IFN- γ en glioblastoma.

Curiosamente, el IFN- γ no solo regula a las proteasas por su vía de señalización, sino que las proteasas pueden regular al IFN- γ . En un estudio se demostró que la **MMP-12** regula negativamente la actividad de IFN- γ mediante un corte proteolítico de STAT-1 en su carboxilo terminal, el cual es un sitio conservado evolutivamente, lo que ocasiona que se inhibe la fosforilación en la Y701 y de esta manera se regula negativamente su actividad (Dufour *et al*, 2018).

3. Las proteasas en el organismo humano

En el ser humano se han identificado entre 500 a 600 proteasas diferentes (Vergnolle, 2016). Estas enzimas se dividen en cinco clases principales, las cuales son; serina proteasa, cisteína proteasa, treonina proteasa, aspártico proteasas y metaloproteasas. Esta clasificación se basa en los mecanismos químicos de catálisis, además, hay proteasas de varios tipos catalíticos, algunos de los cuales son desconocidos. Las proteasas se agrupan en familias de acuerdo con las similitudes en sus secuencias de aminoácidos primarios, que luego se combinan en clanes estructurales (Habič *et al*, 2021).

La figura 16 se ilustra las proporciones de cada clase de las proteasas, siendo las metaloproteasas, serina y cisteína proteasa las clases más grandes (Almeida *et al*, 20021).

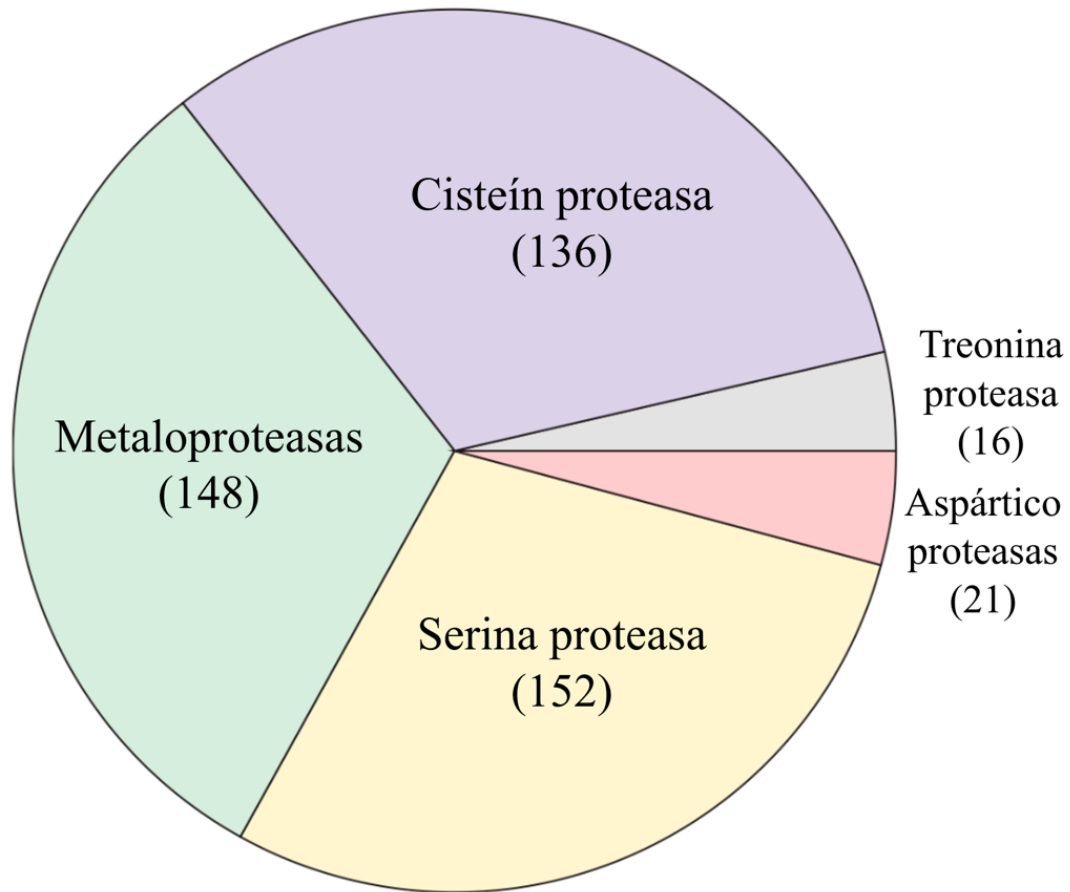


Figura 16. Las cinco clases de proteasas. Las proteasas se dividen en cinco clases, en las cuales hay aproximadamente 152 serina proteasas, 148 metaloproteasas, 136 cisteína proteasas, 21 aspártico proteasas y 16 treonina proteasas. Imagen modificada de Almeida *et al*, 2021.

Las metaloproteasas se caracterizan por la presencia de un ion metálico catalítico en el sitio activo de la enzima y representan el grupo de proteasas más grande en humanos, su familia incluye a las, MMP que son metaloproteasas de matriz, las ADAM que son desintegrina y metaloproteína y las ADAMTS, son ADAM con motivo de trombospondina. Las metaloproteasas se les caracteriza por participar en la remodelación de la ECM, eliminación de los ectodominios de otras proteínas transmembrana, la liberación y activación de factores de crecimiento unidos a la matriz y sus precursores, por ejemplo, TGF- β y el VEGF, entre otros (Habič *et al*, 2021). Las catepsinas por otro lado tienen un peso molecular entre 14 y 650 kDa (Cubo *et al*, 2000), son en su mayoría proteasas lisosomales principalmente responsables del catabolismo de las proteínas intracelulares, que en algunas ocasiones pueden ser liberadas de los lisosomas o de la célula (Habič *et al*, 2021).

Las proteasas se dividen dependiendo su residuo catalítico, las cuales son: las cisteína proteasas, catepsinas B, C, F, H, K, L, O, S, V, W y X, las proteasas aspárticas, catepsinas D y E y las serina proteasas catepsinas A y G (Habič *et al*, 2021).

Las proteasas realizan su función tanto dentro como fuera de la célula, las serina proteasas están en su mayoría en el espacio extracelular, mientras que las cisteína proteasas están mayoritariamente en el espacio intracelular en condiciones fisiológicas (Vergnolle, 2016). En la figura 17 se ilustra de manera gráfica la distribución de las cinco clases de proteasas en la célula.

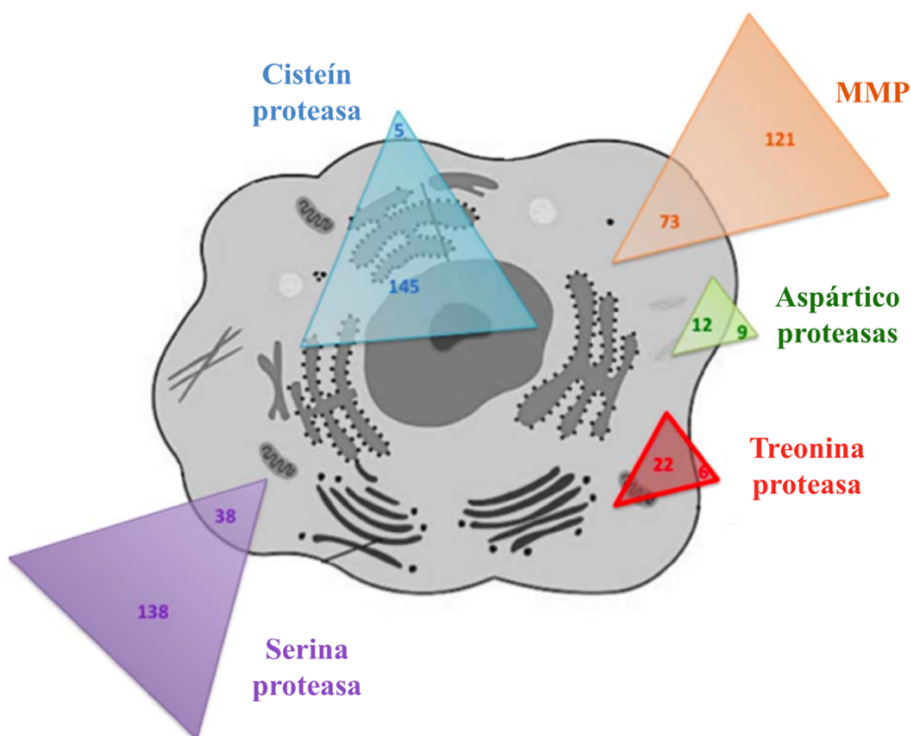


Figura 17. Distribución de las cinco clases de proteasas en la célula. Las proteasas pueden realizar su función tanto en el espacio intra como extracelular, las serina proteasas intracelulares son 38, mientras que extracelulares son 138, las metaloproteasas intracelulares son 73, mientras que extracelulares son 121, las cisteína proteasas intracelulares son 145, mientras que extracelulares son 5, las aspártico proteasas intracelulares son 9 y extracelulares son 22 y las treonina proteasas intracelulares son 22 y extracelular son 6. Imagen modificada de Vergnolle, 2016.

Las proteasas son enzimas que realizan cortes en los enlaces peptídicos de las proteínas. Estas enzimas se pueden clasificar según su función en dos tipos principales: exopeptidasas, que cortan los extremos de las proteínas, y endopeptidasas, que cortan dentro de la cadena

polipeptídica (Barrett, 2001). Las funciones fisiológicas de las proteasas son esenciales en procesos biológicos como la digestión y la homeostasis intestinal (Vergnolle, 2016).

3.1 Las proteasas y el glioblastoma

Las proteasas están estrictamente reguladas a través de múltiples niveles, como la expresión génica, su activación, las modificaciones postraduccionales, el tráfico intracelular, además de existir inhibidores que ayudan a mantener un equilibrio en las redes proteolíticas, ya que si no hay regulación aparecen diversas enfermedades, entre ellas el cáncer (Habič *et al*, 2021).

En el cáncer se ha identificado a diversas proteasas que contribuyen a la malignidad de las células, ya que éstas están involucradas en la remodelación de la MEC, en efectos inmunosupresores, en la regulación de factores de crecimiento, así como citocinas, en la modulación de respuestas inflamatorias y la desregulación de redes proteolíticas (Tagirasa y Yoo, 2022). En la figura 18 se ilustra la compleja interacción entre las proteasas y el TME.

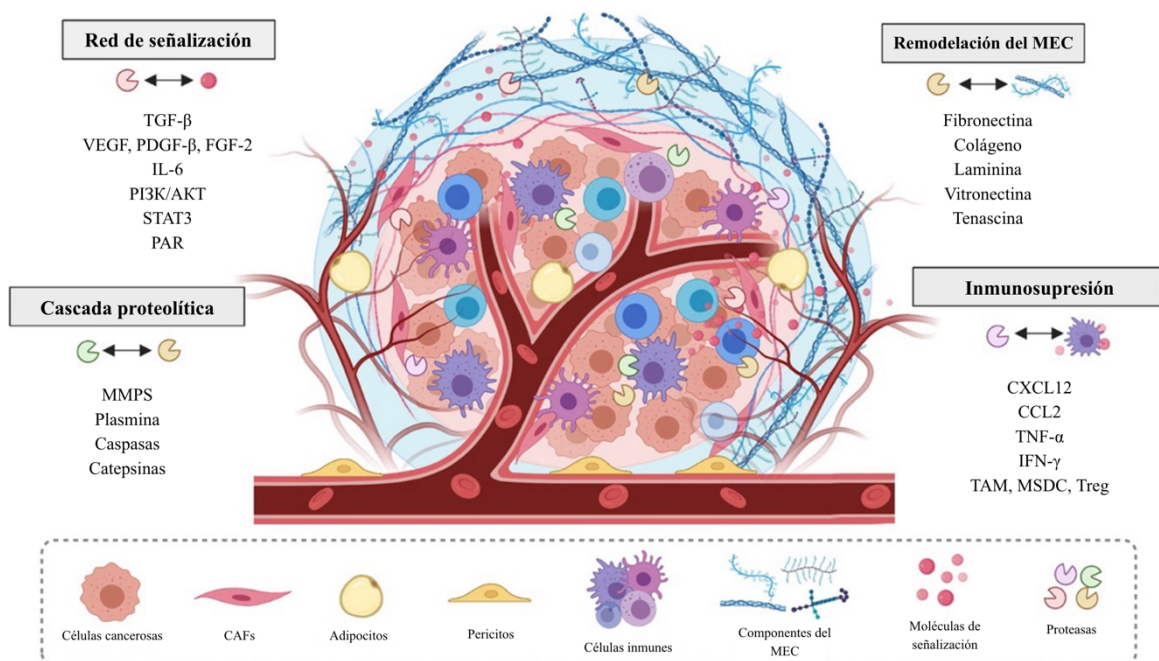


Figura 18. Las proteasas en el microambiente tumoral. Las proteasas tienen un papel fundamental en el TME, regulando vías de señalización, cascadas proteolíticas, además son pieza fundamental en la remodelación de la MEC y contribuyen en la inmunosupresión. Imagen modificada de Tagirasa y Yoo, 2022.

Las diferentes familias de proteasas desempeñan funciones en la progresión y malignidad del cáncer (Vizovisek *et al*, 2021). Las MMPs son especialmente estudiadas por su papel en la degradación de la MEC, facilitando la invasión tumoral y la metástasis (Kessenbrock *et al*, 2010). En el caso de las serina proteasas, como el activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA), también participan en la degradación de componentes de la MEC y en la activación de otras proteasas, estas enzimas son cruciales en procesos como la invasión tumoral, la angiogénesis y la metástasis (Gondi *et al*, 2007).

Las cisteína proteasas, incluyendo las catepsinas, contribuyen a la progresión del cáncer a través de la degradación de la MEC y la modulación del TME, además intervienen en la proteólisis intracelular y extracelular, afectando la proliferación celular, la apoptosis y la respuesta inmune (Kramer *et al*, 2017). Por otro lado, las proteasas aspárticas, como la catepsina D, están implicadas en la progresión del cáncer mediante la degradación, el procesamiento de proteínas, la proliferación, la migración e invasión celular (Berchem *et al*, 2002).

Finalmente, las treonina proteasas, especialmente el proteasoma, son esenciales para la degradación de proteínas mal plegadas o dañadas y para la regulación del recambio proteico (Collins *et al*, 2017). En el contexto del cáncer, la actividad del proteasoma suele estar aumentada para satisfacer las altas demandas de síntesis y degradación de proteínas en las células tumorales de rápida proliferación, los inhibidores del proteasoma, como el bortezomib, se han desarrollado como terapias anticancerígenas, demostrando eficacia en el tratamiento del mieloma múltiple y ciertos tipos de linfoma al inducir la apoptosis de las células malignas (Manasanch *et al*, 2017); Chen *et al*, 2011).

En la figura 19 se ilustra a las cinco familias de las proteasas que participación en diversos mecanismos del cáncer.

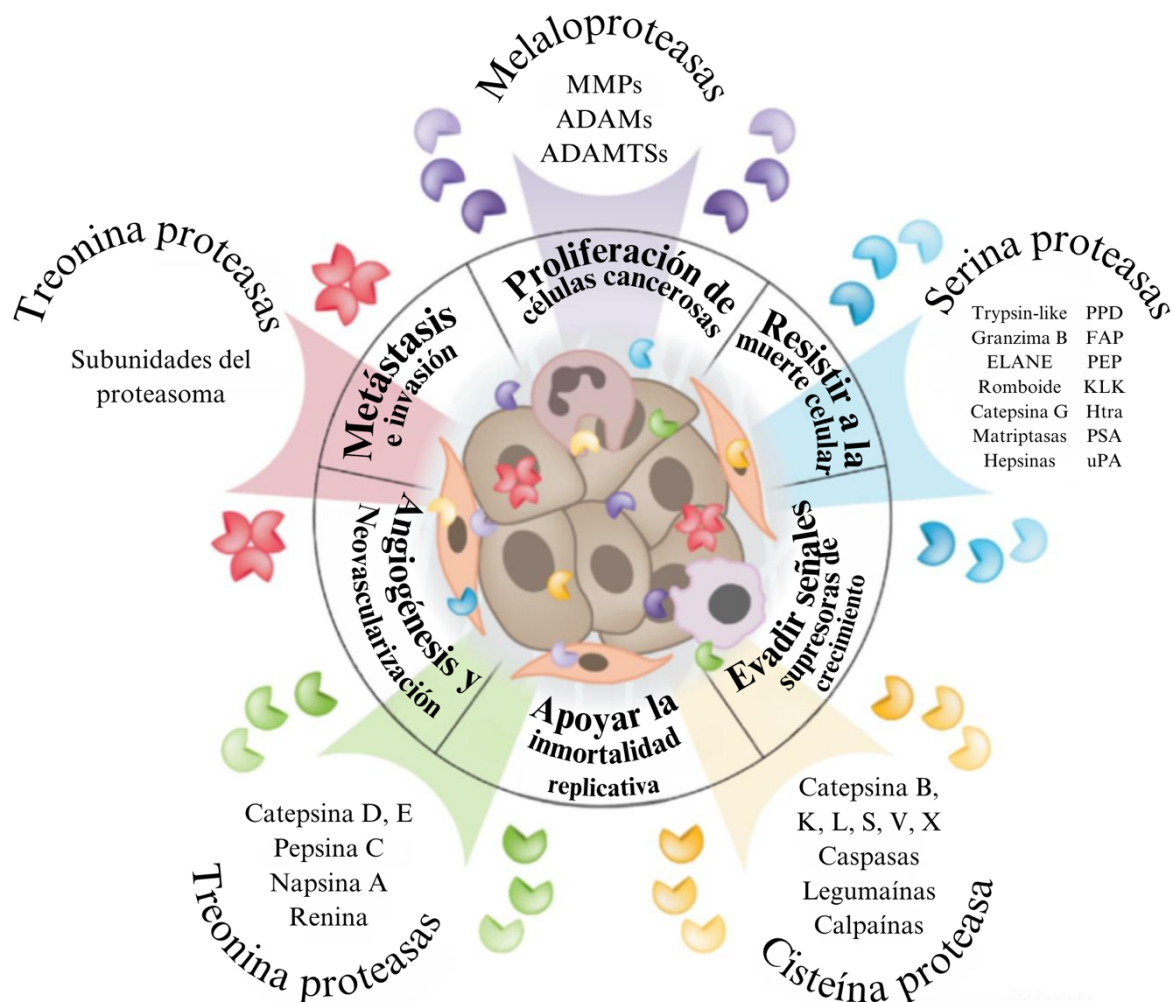


Figura 19. Las proteasas en el cáncer. Las proteasas realizan una gran diversidad de funciones en cáncer, se ilustra a las clases de las proteasas y su relación con el cáncer que se ha encontrado. Imagen modificada de Vizovisek *et al*, 2021.

Varias proteasas muestran una desregulación y participación significativa en el glioblastoma. Por ejemplo, se ha determinado que **ADAM8** influye en la progresión del glioblastoma al regular la angiogénesis mediada por osteopontina (Li *et al*, 2020). Además, **ADAMTS13** se ha identificado como un modulador de la migración de células endoteliales en el glioblastoma (Lee *et al*, 2013). La expresión de **CTSB** en glioblastoma es seis veces mayor que en tejidos cerebrales normales, lo que resalta su posible papel en la patogénesis de este tumor (Ma *et al*, 2022).

La inhibición de **CTSD** se ha demostrado que mejora la radiosensibilidad de las células de glioblastoma al atenuar la autofagia, lo que sugiere un enfoque terapéutico potencial (Zheng *et al*, 2020). No obstante, algunas proteasas también se han señalado por su valor como marcadores pronósticos sin funciones oncogénicas claras. Por ejemplo, las proteasas **KLK6**, **KLK7** y **KLK9** se han asociado con la supervivencia del paciente, aunque los mecanismos moleculares subyacentes aún no se conocen (Drucker *et al*, 2015).

El sistema **uPA/uPAR**, que se sobreexpresa en muchos tipos de cáncer, desempeña un papel crucial en la invasión del glioblastoma. Estudios previos han demostrado que la regulación negativa de **uPA/uPAR** inhibe la invasión de células cancerosas en líneas celulares de glioblastoma (Raghu *et al*, 2011). Por otro lado, la **presenilina 1** inhibe la invasividad de las células de glioblastoma al promover la escisión de sortilina (Yang *et al*, 2021).

Otros estudios han mostrado la sobreexpresión de **ADAM9** en glioblastoma (Geng *et al*, 2020) y la función relevante de **ADAMTS1** en la organización de redes de tipo endotelial y en la respuesta a la hipoxia en ausencia de esta proteasa (Serrano *et al*, 2020). **ADAMTS13** también se expresa en células de glioblastoma y astrocitoma, modulando la migración de células endoteliales (Manfai *et al*, 2013).

La **CTSA** muestra una expresión significativamente mayor en tejidos de glioma en comparación con tejidos paraneoplásicos, sugiriendo su papel en la progresión del glioma (Zhang *et al*, 2022). De manera similar, la **CTSB** y la **CTSC** están sobreexpresadas en glioblastoma y otros tumores (Ma *et al*, 2022; Cheng *et al*, 2022). La inhibición de la **CTSD** mejora la radiosensibilidad de las células de glioblastoma al atenuar la autofagia (Zheng *et al*, 2020).

Además, la inhibición de la **CTSL** aumenta significativamente la apoptosis en células U251, lo que podría indicar su potencial terapéutico (Dong *et al*, 2022). La eliminación de **CTSS** reduce la viabilidad celular y aumenta la sensibilidad a Temozolomida, medicamento de quimioterapia, en glioblastoma (Fei *et al*, 2020).

La **MMP-1** mejora la tumorigenicidad y la angiogénesis relacionada con el tumor, estando inversamente asociada con la expresión de TIMP-4 en glioblastoma (Pullen *et al*, 2012). La metilación del promotor **MMP-2**, evaluada en diferentes grados de glioma, sugiere que una forma activa de **MMP-2** está involucrada en varios procesos patológicos durante la formación de gliomas (Sincevičiūtė *et al*, 2018). Los niveles plasmáticos de **MMP-2** y **MMP-9** también se consideran biomarcadores de la actividad de bevacizumab en pacientes con glioblastoma recurrente (Jiguet *et al*, 2022).

Finalmente, la sobreexpresión de **MMP10** se asocia con un peor pronóstico en glioblastoma, correlacionándose con una supervivencia global y una supervivencia sin recurrencia más deficientes (Girgis *et al*, 2012). Las células madre cancerosas del glioblastoma también expresan **MMP-13**, mostrando una alta actividad invasiva (Inoue *et al*, 2010).

Los antecedentes planteados sugieren que el IFN- γ podría modular el transcriptoma y el proteoma de las células derivadas de glioblastoma y tener un efecto global pro-tumorigénico (Zamora *et al*, 2024; Pérez, 2023). Sin embargo, no se conocen todos los genes blanco de la señalización del IFN- γ . Por lo tanto, es importante investigar si existe una desregulación de diversas proteasas en glioblastoma en comparación con el tejido de cerebro saludable, y si la señalización del IFN- γ podría afectar los niveles de expresión de las proteasas, enzimas que tienen un papel importante en el cáncer, como lo es el control de la invasión tumoral. De esta forma, en este proyecto se plantea contestar las siguientes preguntas de investigación:

- 1) ¿Se puede asociar un perfil de proteasas desreguladas en glioblastoma con la progresión de este cáncer y la baja supervivencia de los pacientes?
- 2) ¿Los niveles de algunas proteasas son modulados por la señalización del IFN- γ en células de glioblastoma?
- 3) ¿Existe alguna proteasa candidata modulada por la señalización del IFN- γ asociada con la progresión del glioblastoma?

III. Hipótesis

Existe un perfil de expresión de proteasas característico en glioblastoma, que incluye algunas proteasas capaces de ser moduladas por la señalización del IFN- γ .

IV. Justificación

El glioblastoma, un tipo de cáncer cerebral extremadamente agresivo que tiene una alta tasa de mortalidad, es uno de los problemas más importantes en los adultos mayores y a pesar de los avances en la comprensión de la enfermedad, así como el desarrollo de tratamientos, este tipo de cáncer sigue siendo una necesidad urgente de estudios exhaustivos. La enfermedad se diagnostica con frecuencia cuando se encuentra en una etapa muy avanzada, y la mayoría de los tratamientos actuales son paliativos, destinados a aliviar los síntomas y ralentizar el progreso de la enfermedad. La falta de detección temprana y de tratamientos eficaces es una de las principales razones para continuar investigando sobre el glioblastoma. La identificación temprana de biomarcadores y factores moleculares es crucial para mejorar el diagnóstico y los tratamientos.

Una forma de abordar esta problemática es empezar desde la investigación básica a nivel molecular, identificando alteraciones en mecanismos clave que favorezcan el desarrollo y progresión tumoral. De esta manera, en este trabajo, se pretende explorar la modulación de las proteasas por la vía de señalización del IFN- γ . Considerando que algunas proteasas están asociadas a la progresión del glioblastoma, de demostrarse su inducción por la señalización del IFN- γ , constituirá un eje de señalización pro-tumorigénico, el cual podría más adelante, abordarse como un blanco de estrategias de detección y de tratamiento.

V. Objetivo general

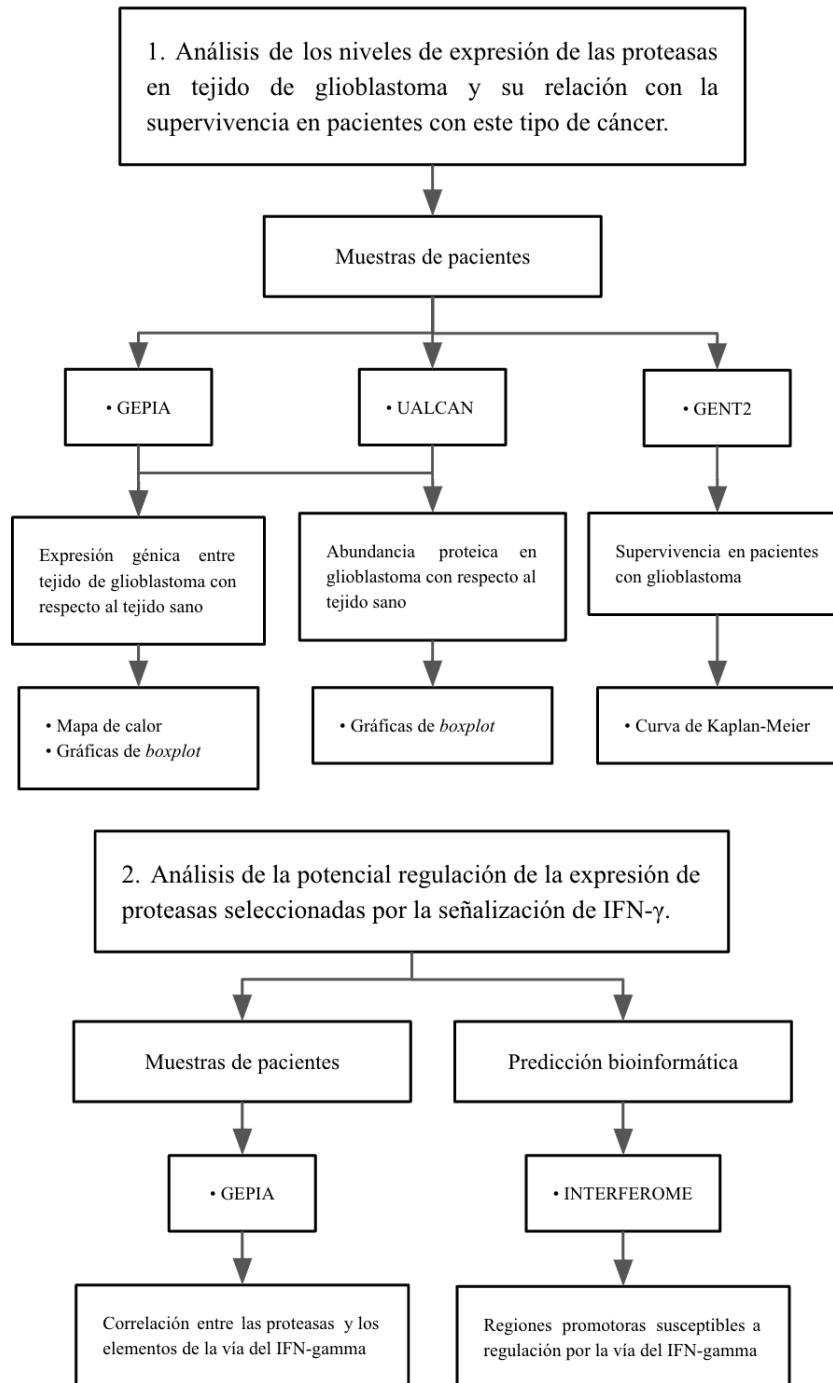
Definir un perfil de proteasas desreguladas en glioblastoma, y determinar el efecto de la activación de la vía de señalización del IFN- γ en su modulación de su abundancia.

VI. Objetivos particulares

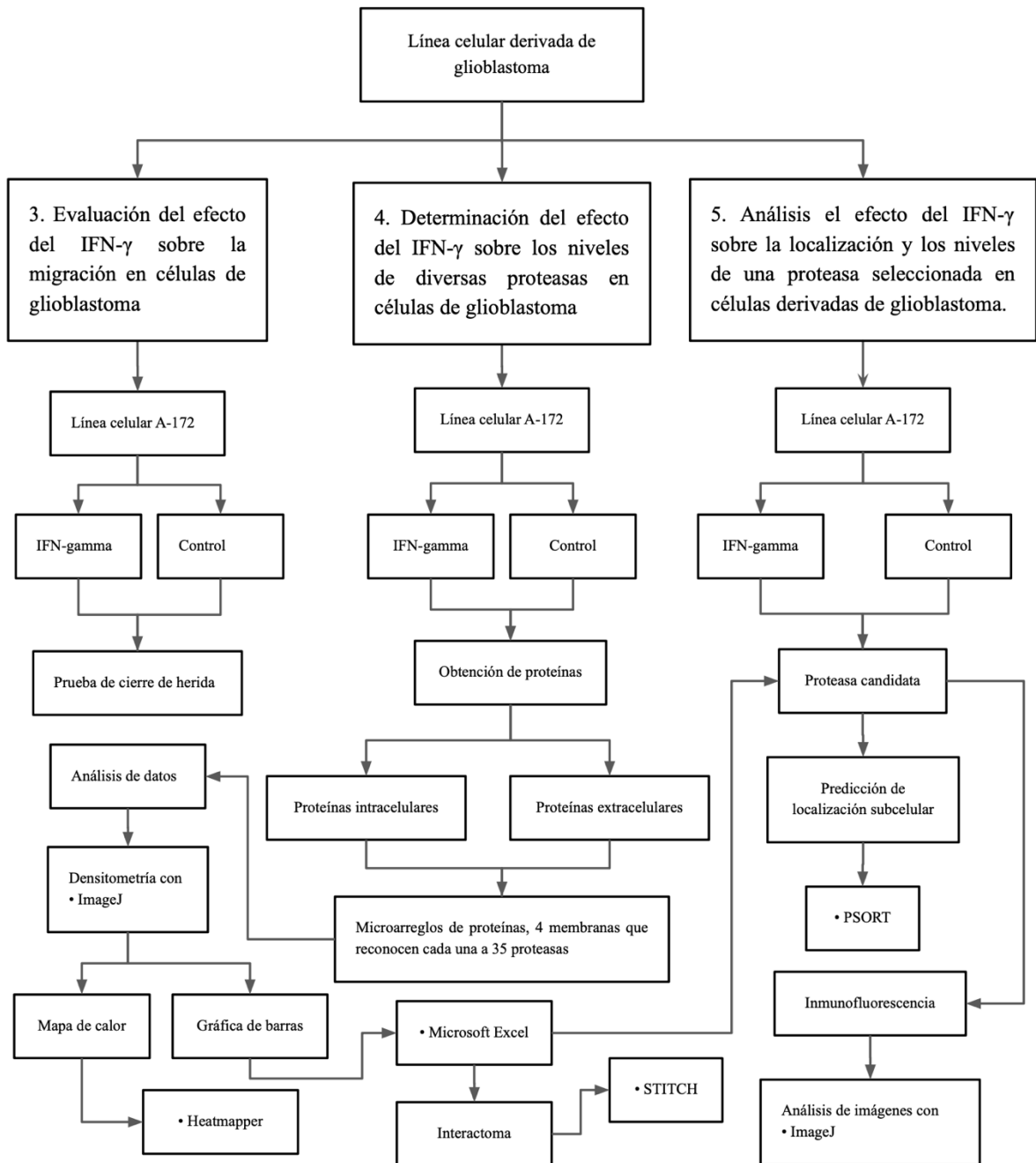
1. Analizar los niveles de expresión de las proteasas en tejido de glioblastoma y su relación con la supervivencia en pacientes con este tipo de cáncer.
2. Investigar la potencial regulación de la expresión de proteasas seleccionadas por la señalización de IFN- γ .
3. Evaluar el efecto del IFN- γ sobre la migración en células de glioblastoma
4. Determinar el efecto del IFN- γ sobre los niveles de diversas proteasas en células de glioblastoma.
5. Analizar el efecto del IFN- γ sobre la localización y los niveles de una proteasa seleccionada en células derivadas de glioblastoma.

VII. Estrategia experimental

1. Estrategia experimental en muestras de pacientes



2. Estrategia experimental en línea celular de glioblastoma



VIII. Materiales y métodos

1. Muestras de pacientes con glioblastoma

1.1 Análisis de expresión génica y abundancia de las proteasas en glioblastoma con respecto al tejido sano

Se realizó una búsqueda bibliográfica en **PubMed** (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) de las proteasas que tienen importancia en cáncer utilizando las siguientes palabras clave: glioblastoma, *protease*, *tumor microenvironment*, *tumor*. Posteriormente, se realizó la misma búsqueda en glioblastoma. Se analizaron y se seleccionaron proteasas asociadas a cáncer para continuar con el estudio. Posteriormente, se analizó la expresión de las proteasas involucradas en cáncer en glioblastoma con respecto al tejido sano mediante un mapa de calor realizado en la plataforma de **UALCAN** (<https://ualcan.path.uab.edu>). El software **UALCAN** permite realizar investigaciones científicas con una gran diversidad de tareas relacionadas con el análisis de datos en el contexto del cáncer.

La validación cruzada se realizó mediante un mapa de calor creado en el software **GEPIA** (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>). La plataforma de **GEPIA** se sustenta con datos de RNA-seq de una gran cantidad de muestras, incluyendo 9,736 tumores y 8,587 muestras normales, provenientes de los proyectos como *The Cancer Genome Atlas Program* (TCGA) y *Genotype-Tissue Expression* (GTEx).

Posteriormente las proteasas involucradas en cáncer se les analizó su expresión génica individualmente empleando gráficas de *boxplot* utilizando la herramienta bioinformática **GEPIA** (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>). Las proteasas que poseen un cambio significativo entre el tejido sano y el glioblastoma se utilizaron para los siguientes análisis *in silico*, descartando todas aquellas que no cuentan con una significancia estadística, $p < 0.05$ (*).

Las proteasas con un cambio estadísticamente significativo se les analizó su expresión de proteína en glioblastoma con respecto al tejido sano utilizando el software **UALCAN**. Los resultados significativos con base a su valor $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***)).

1.2 Análisis de la supervivencia de los pacientes con glioblastoma con base en la expresión de las proteasas.

A las proteasas con cambio significativo se les analizó su supervivencia utilizando el programa **GENT2** (<http://gent2.appex.kr/gent2/>), el cual es una herramienta ampliamente usada para evaluar la supervivencia de pacientes en función de su perfil de expresión génica.

1.3 Análisis de correlación de la expresión génica entre las proteasas y los elementos de la vía del IFN- γ

Se analizó la correlación de las proteasas con cambio significativo con los elementos de la vía del IFN- γ , los cuales son STAT1, JAK1, JAK2, IFNGR1, IFNGR2, en glioblastoma, utilizando la herramienta bioinformática **GEPIA** (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>).

2. Análisis bioinformático

2.1 Análisis del potencial de regulación del IFN- γ sobre la expresión de las proteasas presentes en cáncer.

A las 35 proteasas presentes en cáncer se les analizó su potencial de regulación por medio de la señalización de IFN- γ con la herramienta bioinformática **INTERFEROME** (<http://www.interferome.org/interferome/home.jsp>). La cual es una plataforma de análisis para estudiar la regulación de la expresión de proteínas por la señalización de IFN- γ en el campo de la investigación biomédica y genómica.

2.2 Análisis del interactoma

El análisis del interactoma de las proteasas seleccionadas se realizó mediante la herramienta bioinformática **Stitch** (<http://stitch.embl.de/>). Un software para analizar las interacciones que podría haber entre proteínas, además de incluir a fármacos y otras moléculas que podrían estar interaccionando.

2.3 Predicción de localización subcelular

La predicción de la localización subcelular de la proteasa seleccionada se realizó con el software de **PSORT**, *Protein Subcellular Localization Prediction Tool*, (<https://www.genscript.com/psort.html>). **PSORT** es una herramienta bioinformática que predice la localización subcelular de proteínas utilizando algoritmos basados en la secuencia de aminoácidos y características de las proteínas. La secuencia de aminoácidos de la proteasa se obtuvo de la base de datos **UniProt** (<https://www.uniprot.org/>).

3. Línea celular derivada de glioblastoma

3.1 Líneas celulares y estimulación con IFN- γ

La línea celular A-172 se utilizó ya que se aisló del tejido cerebral de un paciente masculino de 53 años con glioblastoma. Además, se utilizó la línea celular U-373 proveniente de un tumor maligno de astrocitoma de glioblastoma. Las líneas celulares se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado con suero bovino fetal al 10% y antibióticos (penicilina/estreptomicina) en una concentración del 1%. Se incubaron en una atmósfera de CO₂ al 5% a 37°C. Los medios de cultivo fueron proporcionados por Invitrogen y ATCC.

Las células se incubaron durante 24 horas con IFN- γ humano 100 ng/mL y sin tratamiento, el IFN humano recombinante (285-IF-00) se adquirió de R&D Systems. Posteriormente se lavaron las células con PBS frío.

3.2 Análisis de migración

Para evaluar la capacidad de migración de las células de glioblastoma, tratadas y no tratadas con IFN- γ , se realizó una incisión en la monocapa celular después de 12 horas de cultivo, utilizando una punta de plástico de 1 mm. Se tomaron fotografías con el microscopio y cámara AmScope, a las 0, 24 y 48 horas tras la incisión.

3.3 Extracción de proteínas intracelulares y extracelulares

Se extrajeron las proteínas del medio extracelular y los extractos totales de la línea celular A-172 de glioblastoma estimulada con y sin estímulo de IFN- γ . Se utilizó el buffer de lisis TNTE 0.5% (Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, Triton-X-100 al 0,5 %) se usaron inhibidores de proteasas y fosfatasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Extractos totales. Se rasparon las células para obtener el extracto total de proteínas, y los lisados se recolectaron en tubos Eppendorf y se dejaron agitar durante 15 minutos a 4 °C. Luego se centrifugó a 13,200 rpm por 5 minutos a 4 °C, y se recuperó el sobrenadante que contenía el extracto total de proteínas.

Medio extracelular. Se recuperó el medio de cultivo para obtener las proteínas extracelulares, se añadió buffer de lisis TNTE con inhibidores de proteasas y fosfatasas para obtener las proteínas del medio extracelular.

3.4 Microarreglo de proteínas

Se utilizó el *kit Proteome Profiler Human Protease Array* con número de catálogo: ARY021B para medir la abundancia de las proteasas con y sin IFN- γ . Se utilizaron las cuatro membranas que vienen incluidas en el kit, para medir la abundancia de las proteínas en el medio extracelular y los extractos totales con y sin tratamiento de IFN- γ . Se realizó el procedimiento de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Las membranas del microarreglo se bloquearon con Array Buffer 6, mientras se bloqueaban se prepararon las muestras, las cuales fueron en dos condiciones, con estímulo de IFN- γ y sin estímulo, ambas condiciones se analizaron en el medio extracelular e intracelular de la línea celular A-172.

Las muestras se mezclaron e incubaron a temperatura ambiente con el cóctel de anticuerpos de detección de proteasas que viene incluido en el kit, posteriormente se retiró el Array Buffer 6 y se añadió la mezcla de proteína y el cóctel de anticuerpos de detección, posteriormente se dejó incubando toda la noche a 4 °C en un agitador de plataforma oscilante.

Las membranas al día siguiente se lavaron con 1X Wash Buffer por 10 minutos 3 veces, posteriormente se adicionó a las membranas 1X Streptavidin-HRP durante 30 minutos a temperatura ambiente en agitador de plataforma oscilante, después se lavaron las membranas. Posteriormente se mezclaron los reactivos Chemi Reagent Mix y se adicionó a cada membrana,

se dejó incubando durante 1 minuto para luego retirarlo, se cubrió con una envoltura de plástico y se retiró las burbujas de aire.

Las membranas cubiertas se incorporaron a un casete de película de autorradiografía y se expusieron en diferentes tiempos de exposición.

3.5 Inmunofluorescencia

Se emplearon placas de cultivo de seis pozos con cubreobjetos tratados con polilisina y sobre estos se sembraron las células A-172. Las células fueron incubadas tanto sin tratamiento como con tratamiento de IFN- γ a una concentración de 100 ng/mL durante 24 horas. Para las inmunofluorescencias que se les tiñeron las mitocondrias se añadió MitoTracker Red CMXRos (#9082) y se dejó incubando por 1 hora a 37 °C. Pasada la hora se retiró el medio de cultivo. Se lavaron con PBS y se fijaron con paraformaldehído al 4% a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se lavaron 3 veces con PBS. Para permeabilizarlas, se agregó Tritón X-100 al 0.1% (Tritón 10% 100 mL en 10 ml de H₂O) durante 8 minutos. Se lavaron 3 veces con PBS, seguido se bloquearon con albúmina al 1% (albúmina en 10 mL de H₂O) durante 1 hora. Luego del bloqueo, se incubaron las células toda la noche con el anticuerpo primario anti-CTSL y anti-pSTAT (diluido a 1:100). Se realizó una incubación con anticuerpo secundario (1:100) IgG antiratón Alexa Fluor 647 (ab150107, Abcam) durante 1 hora y media en la oscuridad.

Después se realizaron tres lavados con PBS y se montaron los cubreobjetos en portaobjetos con Hoechst para la tinción nuclear. Por último, las células fueron analizadas utilizando un microscopio de barrido láser confocal Olympus FV10i/Fluoview.

4. Análisis de datos

4.1 Análisis estadístico

El software GEPIA evalúa las diferencias en la expresión génica utilizando el método de análisis de varianza de una vía (one-way ANOVA). Para el análisis de correlación, emplea los métodos de Pearson, Spearman y Kendall. Por otro lado, la base de datos UALCAN utiliza la prueba t de Student para evaluar las diferencias en la abundancia proteica. En el caso de GENT2, se utilizan tanto la prueba t de Student como ANOVA para evaluar la supervivencia de los pacientes. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) y $p < 0.001$ (***)

4.2 Densitometría del microarreglo de proteínas

Los resultados se semi-cuantificaron utilizando el software **ImageJ** (<https://imagej.net/ij/>), los valores cuantificados se normalizaron con respecto a los spots de referencia del microarreglo, para posteriormente normalizar los resultados anteriores con respecto a los arreglos control, los cuales son los valores sin estímulo de IFN- γ .

Los datos normalizados del microarreglo se graficaron utilizando **Microsoft Excel**, el cual es una herramienta efectiva para obtener información a partir de grandes cantidades de datos. Posteriormente se elaboró un mapa de calor utilizando el software **Heatmapper** (<http://heatmapper.ca/expression/>), el cual es una plataforma que permite visualizar los datos en forma de mapas de calor a través de una interfaz gráfica. Los diagramas de Venn se elaboraron con el software **Venny** (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>).

4.3 Imágenes de inmunofluorescencia

Las imágenes de inmunofluorescencia fueron analizadas utilizando el software **ImageJ**, que permite interactuar con la intensidad de fluorescencia y la distribución de las señales fluorescentes.

4.4 Análisis bibliográfico de la actividad de las proteasas seleccionadas

Las proteasas que resultaron con cambio en los análisis de datos, se les investigó su actividad en la base de datos **PubMed** (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). Los artículos seleccionados proporcionaron información relevante sobre la actividad de las proteasas y los efectos biológicos relacionados. Se realizó un análisis exhaustivo de los datos para identificar tendencias, patrones para comprender su papel en glioblastoma y su relación con la modulación del IFN- γ .

IX. Resultados

1. La participación de las proteasas en cáncer y en glioblastoma

1.1 Las proteasas involucradas en cáncer

Las proteasas tienen participación en diversos tipos de tumores, principalmente 35 proteasas se han asociado con el contexto de cáncer. Se puede ver de manera particular a cada una de las proteasas en la tabla 2, donde se muestra el nombre del gen, de la proteasa, el número de identificación del gen y la referencia.

Tabla 2. Las proteasas presentes en cáncer.

Gen	Nombre de la Proteasa	Gen ID	Involucrada en cáncer	Referencias
<i>ADAM8</i>	ADAM8	101	Si	Mierke, 2023
<i>ADAM9</i>	ADAM9	8754	Si	Chou <i>et al</i> , 2020
<i>ADAMTS1</i>	ADAMTS1	9510	Si	Redondo <i>et al</i> , 2020
<i>ADAMTS13</i>	ADAMTS13	11093	Si	Colonne <i>et al</i> , 2022
<i>CTSA</i>	Catepsina A	5476	Si	Luo <i>et al</i> , 2022
<i>CTSB</i>	Catepsina B	1508	Si	Vasiljeva <i>et al</i> , 2006
<i>CTSC</i>	Catepsina C/DPPI	1075	Si	Xiao <i>et al</i> , 2021
<i>CTSD</i>	Catepsina D	1509	Si	Zhang <i>et al</i> , 2018
<i>CTSE</i>	Catepsina E	1510	Si	Chou <i>et al</i> , 2021
<i>CTSL1</i>	Catepsina L	1514	Si	Wang <i>et al</i> , 2021
<i>CTSS</i>	Catepsina S	1520	Si	Bararia <i>et al</i> , 2020
<i>CTSL2</i>	Catepsina V	1515	Si	Xia <i>et al</i> , 2022
<i>CTSZ</i>	Catepsina X/Z/P	1522	Si	Wang <i>et al</i> , 2011
<i>DPP4</i>	DPPIV/CD26	1803	Si	Zuo <i>et al</i> , 2023
<i>KLK3</i>	Calicreína 3/PSA	354	Si	Penney <i>et al</i> , 2011
<i>KLK5</i>	Calicreína 5	25818	Si	Chang <i>et al</i> , 2020

<i>KLK6</i>	Calicreína 6	5653	Si	Hwang <i>et al</i> , 2022
<i>KLK7</i>	Calicreína 7	5650	Si	Geng <i>et al</i> , 2020
<i>KLK10</i>	Calicreína 10	5655	Si	Hu <i>et al</i> , 2015
<i>KLK11</i>	Calicreína 11	11012	Si	Zhao <i>et al</i> , 2021
<i>KLK13</i>	Calicreína 13	26085	Si	Tokas <i>et al</i> , 2017
<i>MMP1</i>	MMP-1	4312	Si	Zhang <i>et al</i> , 2022
<i>MMP2</i>	MMP-2	4313	Si	Muniz <i>et al</i> , 2021
<i>MMP3</i>	MMP-3	4314	Si	Mehner <i>et al</i> , 2015
<i>MMP7</i>	MMP-7	4316	Si	Meng <i>et al</i> , 2022
<i>MMP8</i>	MMP-8	4317	Si	Juurikka <i>et al</i> , 2019
<i>MMP9</i>	MMP-9	4318	Si	Huang, 2018
<i>MMP10</i>	MMP-10	4319	Si	Zhang <i>et al</i> , 2014
<i>MMP12</i>	MMP-12	4321	Si	He <i>et al</i> , 2018
<i>MMP13</i>	MMP-13	4322	Si	Li <i>et al</i> , 2022
<i>MME</i>	Neprilisina/CD10	4311	Si	Mishra <i>et al</i> , 2016
<i>PSEN1</i>	presenilina-1	5663	Si	Gamez <i>et al</i> , 2023
<i>PCSK9</i>	Proteína convertasa 9	255738	Si	Quagliariello <i>et al</i> , 2023
<i>PRTN3</i>	Proteína 3	5657	Si	Hu <i>et al</i> , 2019
<i>PLAU</i>	uPA/uroquinasa	5328	Si	Chen <i>et al</i> , 2021

1.2 Las proteasas involucradas en glioblastoma

Posteriormente se realizó una investigación en la literatura sobre las proteasas que se han identificado en el glioblastoma. De las 35 proteasas, se han vinculado 28 genes que codifican proteasas: *ADAM8*, *ADAM9*, *ADAMTS1*, *ADAMTS13*, *CTSA*, *CTSB*, *CTSC*, *CTSD*, *CTSL*, *CTSS*, *CTSZ*, *DPP4*, *KLK3*, *KLK5*, *KLK6*, *KLK7*, *KLK13*, *MMP1*, *MMP2*, *MMP3*, *MMP7*, *MMP8*, *MMP9*, *MMP10*, *MMP12*, *MMP13*, *PSEN1*, *PLAU*. Las proteasas que no han sido identificadas en el glioblastoma son *CTSE*, *CTSV*, *KLK10*, *KLK11*, *MME*, *PCSK9*, *PRTN3*.

Se puede ver en la tabla 3 de manera particular a cada una de las proteasas que se han identificado y las que no se ha reportado en el glioblastoma.

Tabla 3. Las proteasas identificadas y no identificadas en glioblastoma.

Proteasa	Gen	Gene ID	En glioblastoma	Referencias
ADAM8	<i>ADAM8</i>	101	Si	Li <i>et al</i> , 2020
ADAM9	<i>ADAM9</i>	8754	Si	Geng <i>et al</i> , 2020
ADAMTS1	<i>ADAMTS1</i>	9510	Si	Serrano <i>et al</i> , 2020
ADAMTS13	<i>ADAMTS13</i>	11093	Si	Lee <i>et al</i> , 2013
Catepsina A	<i>CTSA</i>	5476	Si	Zhang <i>et al</i> , 2022
Catepsina B	<i>CTSB</i>	1508	Si	Ma <i>et al</i> , 2022
Catepsina C/DPPI	<i>CTSC</i>	1075	Si	Cheng <i>et al</i> , 2022
Catepsina D	<i>CTSD</i>	1509	Si	Zheng <i>et al</i> , 2020
Catepsina E	<i>CTSE</i>	1510	No	No
Catepsina L	<i>CTSL1</i>	1514	Si	Dong <i>et al</i> , 2022
Catepsina S	<i>CTSS</i>	1520	Si	Fei <i>et al</i> , 2020
Catepsina V	<i>CTSL2</i>	1515	No	No
Catepsina X/Z/P	<i>CTSZ</i>	1522	Si	Majc <i>et al</i> , 2022
DPPIV/CD26	<i>DPP4</i>	1803	Si	Matrasova <i>et al</i> , 2017
Calicreína 3/PSA	<i>KLK3</i>	354	Si	Chang <i>et al</i> , 2020
Calicreína 5	<i>KLK5</i>	25818	Si	Rabé <i>et al</i> , 2022
Calicreína 6	<i>KLK6</i>	5653	Si	Drucker <i>et al</i> , 2013
Calicreína 7	<i>KLK7</i>	5650	Si	Drucker <i>et al</i> , 2015
Calicreína 10	<i>KLK10</i>	5655	No	No
Calicreína 11	<i>KLK11</i>	11012	No	No
Calicreína 13	<i>KLK13</i>	26085	Si	Girgis <i>et al</i> , 2012
MMP-1	<i>MMP1</i>	4312	Si	Pullen <i>et al</i> , 2012
MMP-2	<i>MMP2</i>	4313	Si	Sincevičiūtė <i>et al</i> , 2018
MMP-3	<i>MMP3</i>	4314	Si	Yu <i>et al</i> , 2021
MMP-7	<i>MMP7</i>	4316	Si	Hagemann <i>et al</i> , 2012
MMP-8	<i>MMP8</i>	4317	Si	Hagemann <i>et al</i> , 2012
MMP-9	<i>MMP9</i>	4318	Si	Jiguet <i>et al</i> , 2022

MMP-10	<i>MMP10</i>	4319	Si	Girgis <i>et al</i> , 2012
MMP-12	<i>MMP12</i>	4321	Si	Hagemann <i>et al</i> , 2012
MMP-13	<i>MMP13</i>	4322	Si	Inoue <i>et al</i> , 2010
Neprilisina/CD10	<i>MME</i>	4311	No	No
presenilina-1	<i>PSEN1</i>	5663	Si	Yang <i>et al</i> , 2021
Proteína convertasa 9	<i>PCSK9</i>	255738	No	No
Proteinasa 3	<i>PRTN3</i>	5657	No	No
uPA/uroquinasa	<i>PLAU</i>	5328	Si	Raghu <i>et al</i> , 2011

Mediante una búsqueda bibliográfica se obtuvo que las proteasas más representativas en cáncer son 35, y en el contexto de glioblastoma son 28 (figura 20).

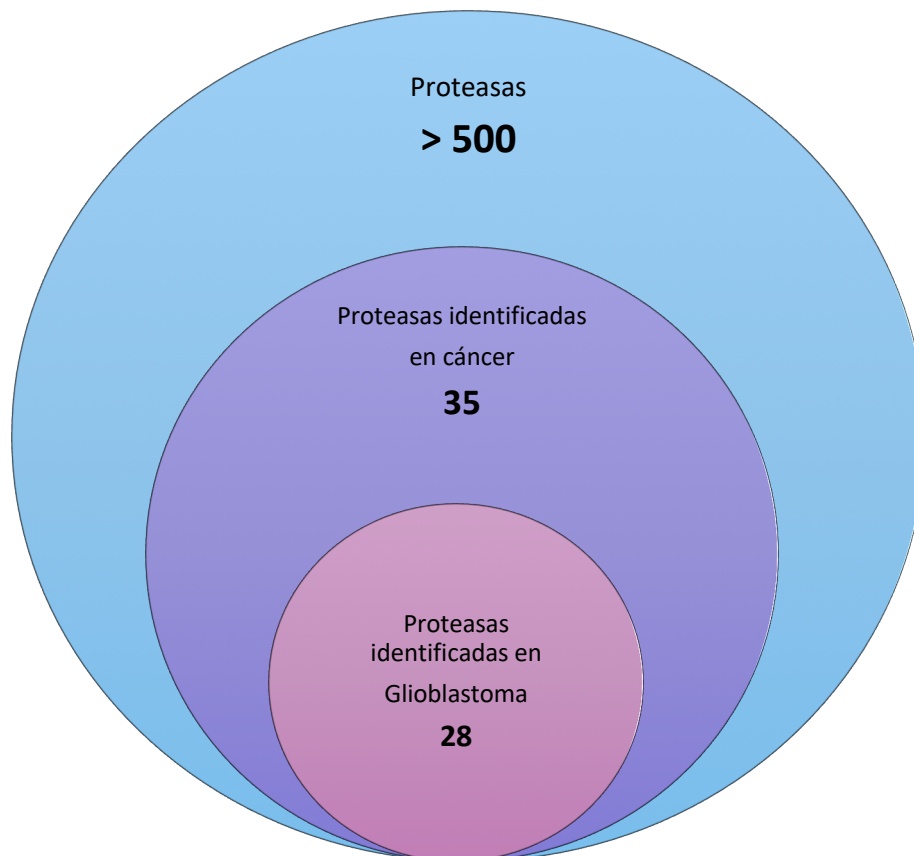


Figura 20. Proteasas asociadas al cáncer y reportadas en el glioblastoma. La gráfica de Euler muestra el número de proteasas vinculadas con el cáncer, que son 35, y las proteasas que se han identificado con el glioblastoma, que son 28.

2. Análisis de las proteasas en muestras de pacientes con glioblastoma

2.1 Análisis de la expresión génica de las proteasas en glioblastoma con respecto al tejido normal

A las proteasas se les analizó en muestras de pacientes su expresión génica en glioblastoma con respecto al tejido sano, para determinar si existe un cambio cualitativo. Los resultados se presentan en mapas de calor, usando el software **GEPIA**. En la figura 21 se puede ver gráficamente siete mapas de calor que analizan a las 35 proteasas presentes en cáncer.



Figura 21. Variaciones en la expresión de las proteasas en tejido de glioblastoma (GEPIA). El mapa de calor contempla 35 proteasas de las cuales se puede notar un cambio en 17 proteasas. Están resaltadas las proteasas que tienen un posible cambio en cuadros rojos.

Las proteasas que tienen un cambio visual son las siguientes: *PRTN3*, *PLAU*, *MMP9*, *ADAM9*, *ADAM8*, *ADAMTS13*, *KLK5*, *KLK7*, *KLK10*, *KLK11*, *MMP1*, *MMP2*, *MMP7*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSS*, *CTSZ*.

La validación cruzada de las 35 proteasas se realizó mediante un mapa de calor hecho en **UALCAN**. En la figura 22 se muestra un mapa de calor donde se puede visualizar que hay cambios en la expresión génica de las proteasas entre el glioblastoma y el tejido sano.

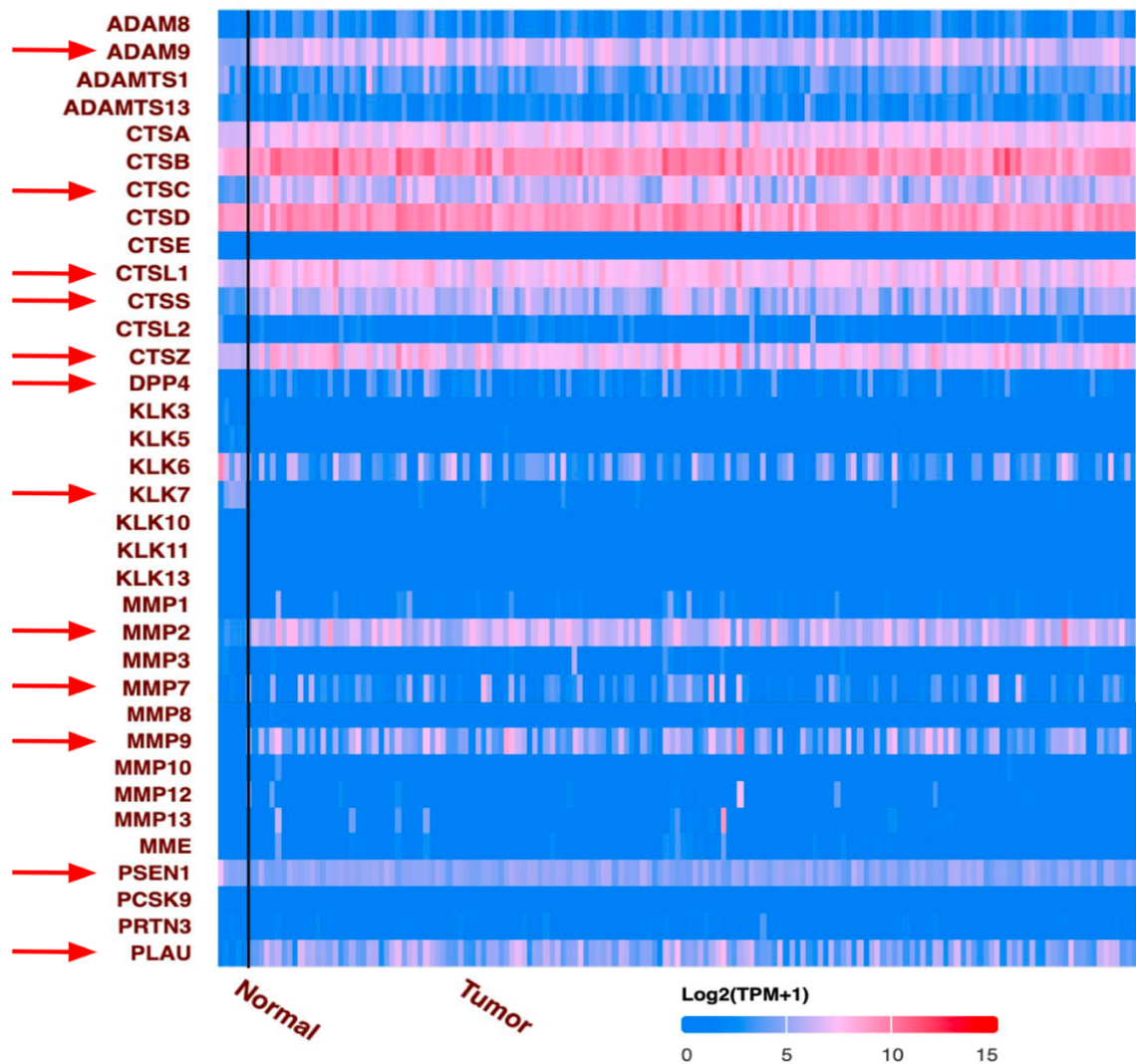
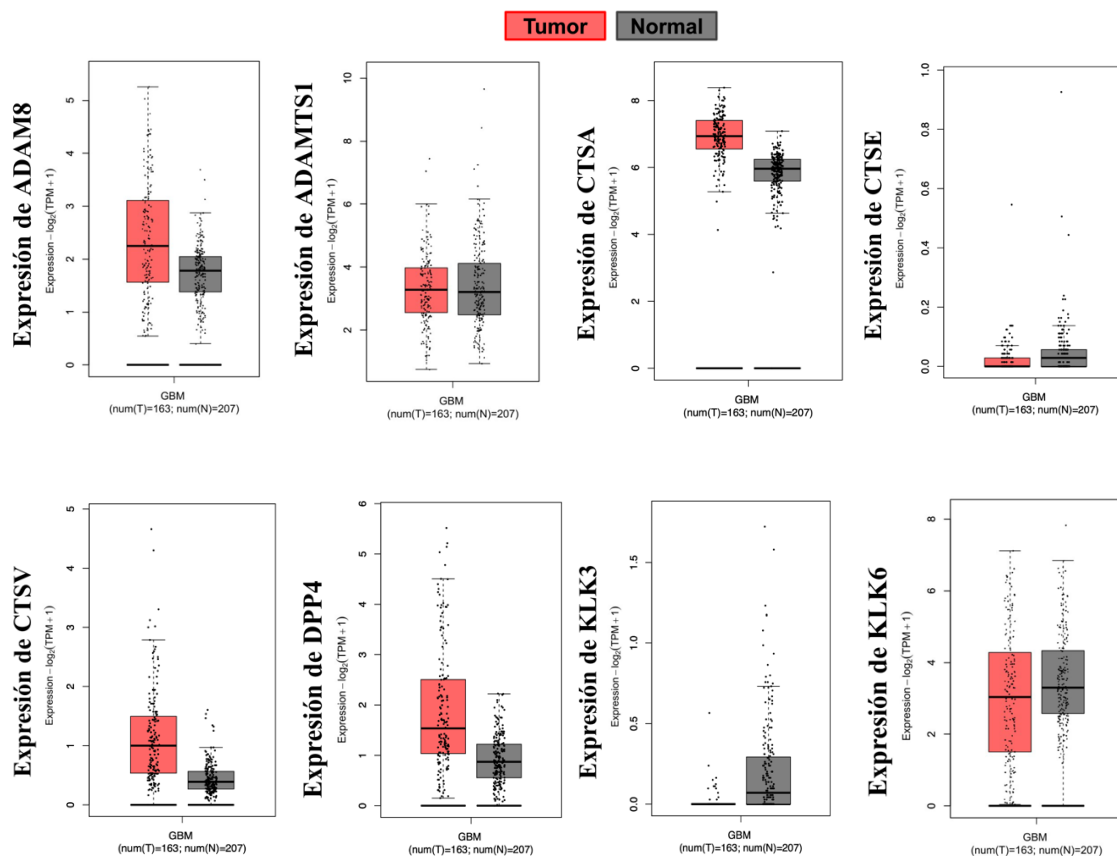


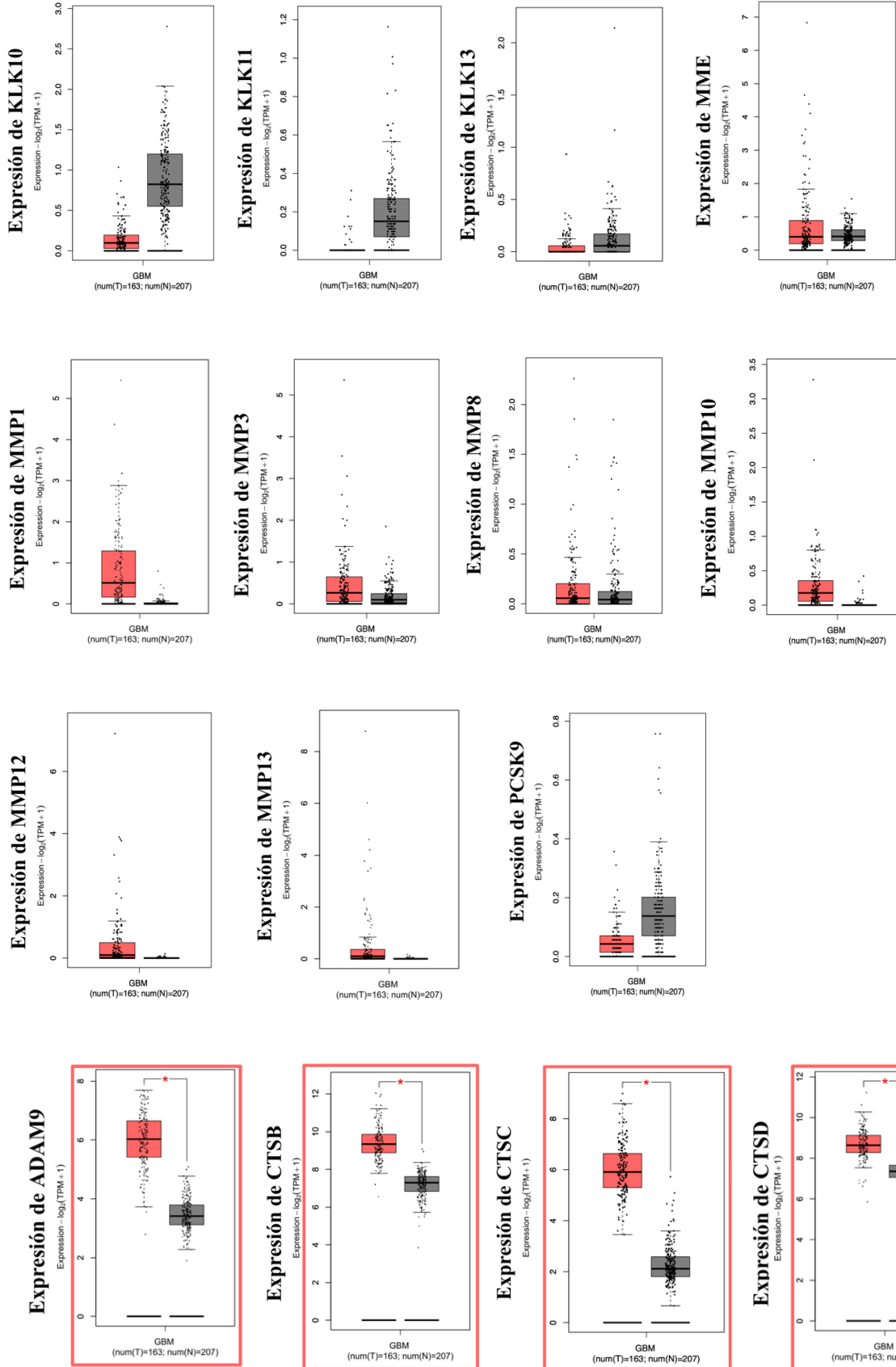
Figura 22. Variaciones en la expresión de las proteasas en tejido de glioblastoma (UALCAN). El mapa de calor contempla 35 proteasas de las cuales se puede notar un cambio en 12 proteasas. Las flechas rojas indican las proteasas que tienen un cambio notable en su expresión.

Las proteasas que presentan un cambio en su expresión al comparar el tejido sano con el de glioblastoma son las siguientes: *ADAM9*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSS*, *CTSZ*, *DDP4*, *KLK7*, *MMP2*, *MMP7*, *MMP9*, *PSENI*, *PLAU*.

Los mapas de calor nos ayudaron a poder ver de manera cualitativa los cambios que hay entre el tejido sano y en glioblastoma, lo que indica que el glioblastoma podría tener desreguladas a una variedad de proteasas.

Adicionalmente, se realizó un análisis de la expresión transcripcional de cada una de las 35 proteasas comparando muestras de pacientes con tejido sano y con glioblastoma. El software **GEPIA** fue el que se utilizó para este análisis, ya que tiene un número de muestras en tejido sano mayor en comparación con UALCAN. En la figura 23 se puede observar a cada una de las 35 proteasas representadas en gráficas de *boxplot*.





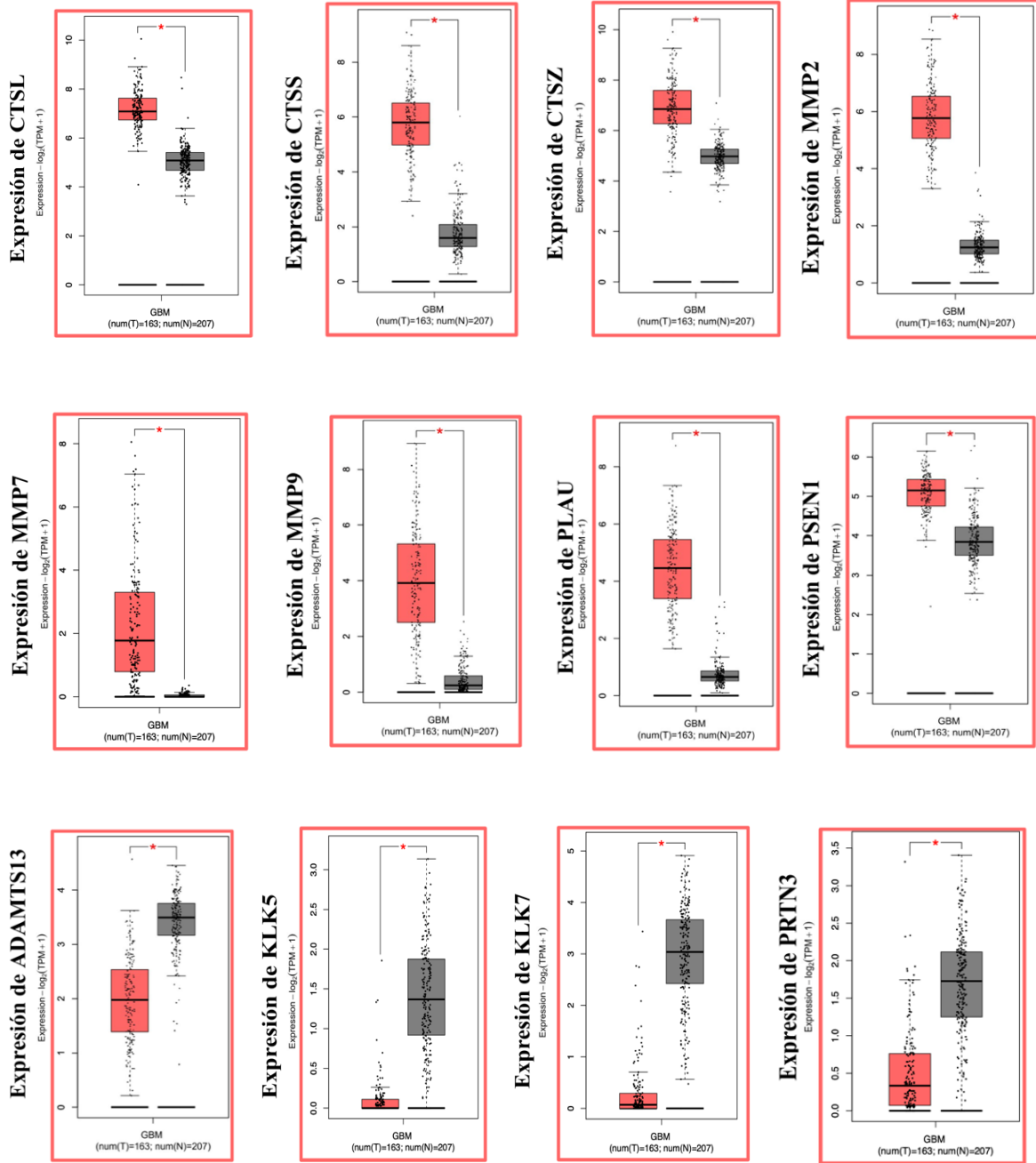


Figura 23. La expresión de 35 proteasas comparando el tejido sano contra el glioblastoma. Las gráficas de boxplot indican que hay 16 proteasas que tienen un cambio significativo y 19 que no tienen cambio estadísticamente confiable. Las gráficas que tienen color rojo representan la condición de tumor y las que tienen color gris representan la condición normal. Las gráficas encerradas en cuadros rojos representan las que tienen estadística significativa. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0.05$ (*). Se utilizó unifactorial (one-way ANOVA) para el análisis estadístico.

Los resultados indican que de 35 proteasas hay 16 que tienen un cambio significativo, las cuales son: *CTSB*, *MMP9*, *MMP2*, *CTSD*, *CTSS*, *ADAM9*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSZ*, *PSEN1*, *PLAU*, *MMP7*, *KLK5*, *KLK7*, *ADAMTS13*, *PRTN3*.

Las proteasas sobreexpresadas en tejido de glioblastoma con respecto al tejido sano son *CTSB*, *MMP9*, *MMP2*, *CTSD*, *CTSS*, *ADAM9*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSZ*, *PSEN1*, *PLAU*, *MMP7*, mientras que *KLK5*, *KLK7*, *ADAMTS13*, *PRTN3* están a la baja en glioblastoma con respecto al tejido sano. En la figura 24 se puede observar una gráfica de pastel de la de las 16 proteasas desreguladas.

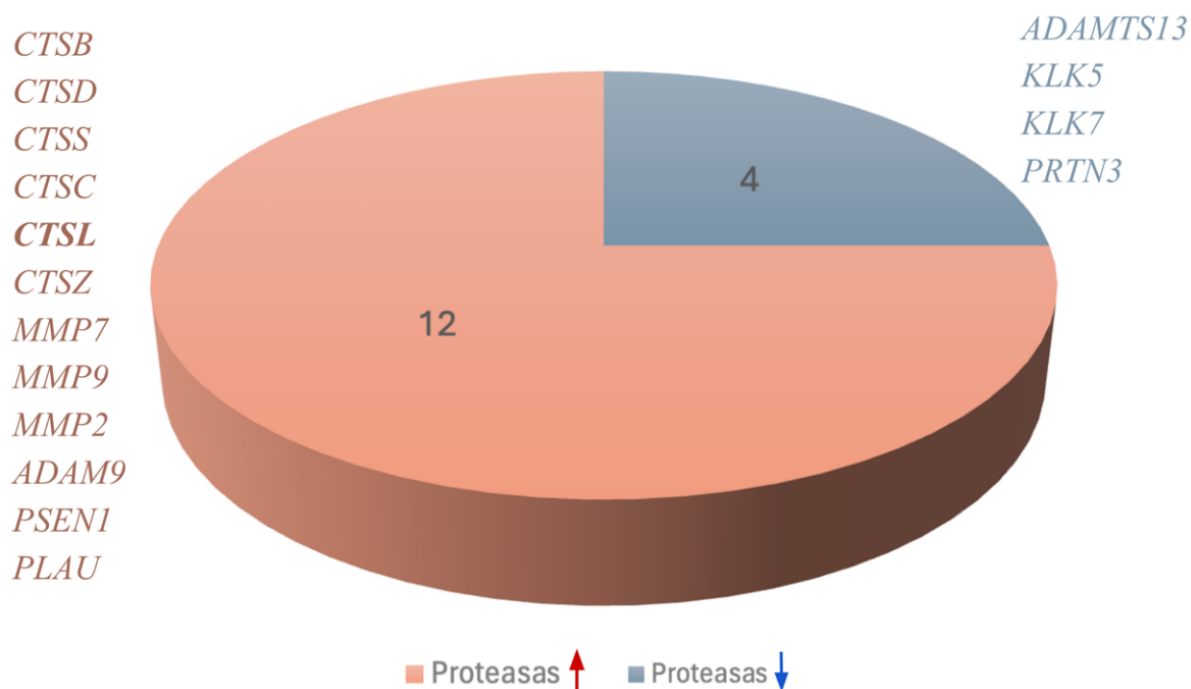
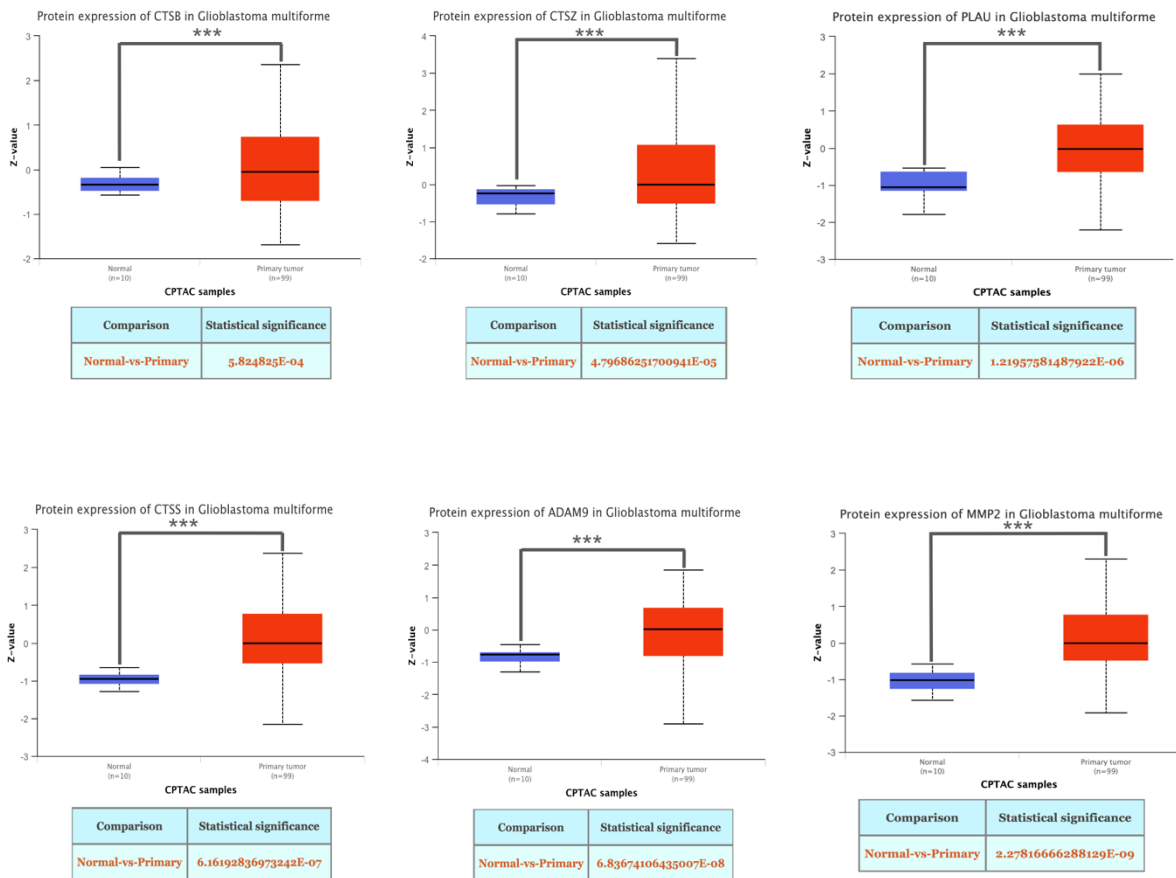


Figura 24. Proteasas que modifican su expresión en glioblastoma. Las proteasas sobreexpresadas en tejido de glioblastoma con respecto al tejido sano son 12, *CTSB*, *MMP9*, *MMP2*, *CTSD*, *CTSS*, *ADAM9*, *CTSC*, *CTSL*, *CTSZ*, *PSEN1*, *PLAU*, *MMP7*, mientras que 4 proteasas están a la baja, *KLK5*, *KLK7*, *ADAMTS13*, *PRTN3*.

2.2 Análisis de abundancia proteica de las proteasas en tejido sano con respecto al tejido de glioblastoma

A las proteasas que tuvieron cambio significativo en su expresión entre tejido sano con respecto al tejido de glioblastoma se seleccionaron para el análisis de abundancia proteica en glioblastoma con respecto al tejido normal, utilizando el software UALCAN.

Sin embargo, la base de datos UALCAN no cuenta con registro de las proteasas KLK5, KLK7, ADAMTS13, por lo que se desconoce su abundancia proteica en glioblastoma con respecto al tejido sano. En la figura 25 se puede ver de manera individual el cambio de la abundancia proteica de 13 proteasas representadas en gráficas de *boxplot*.



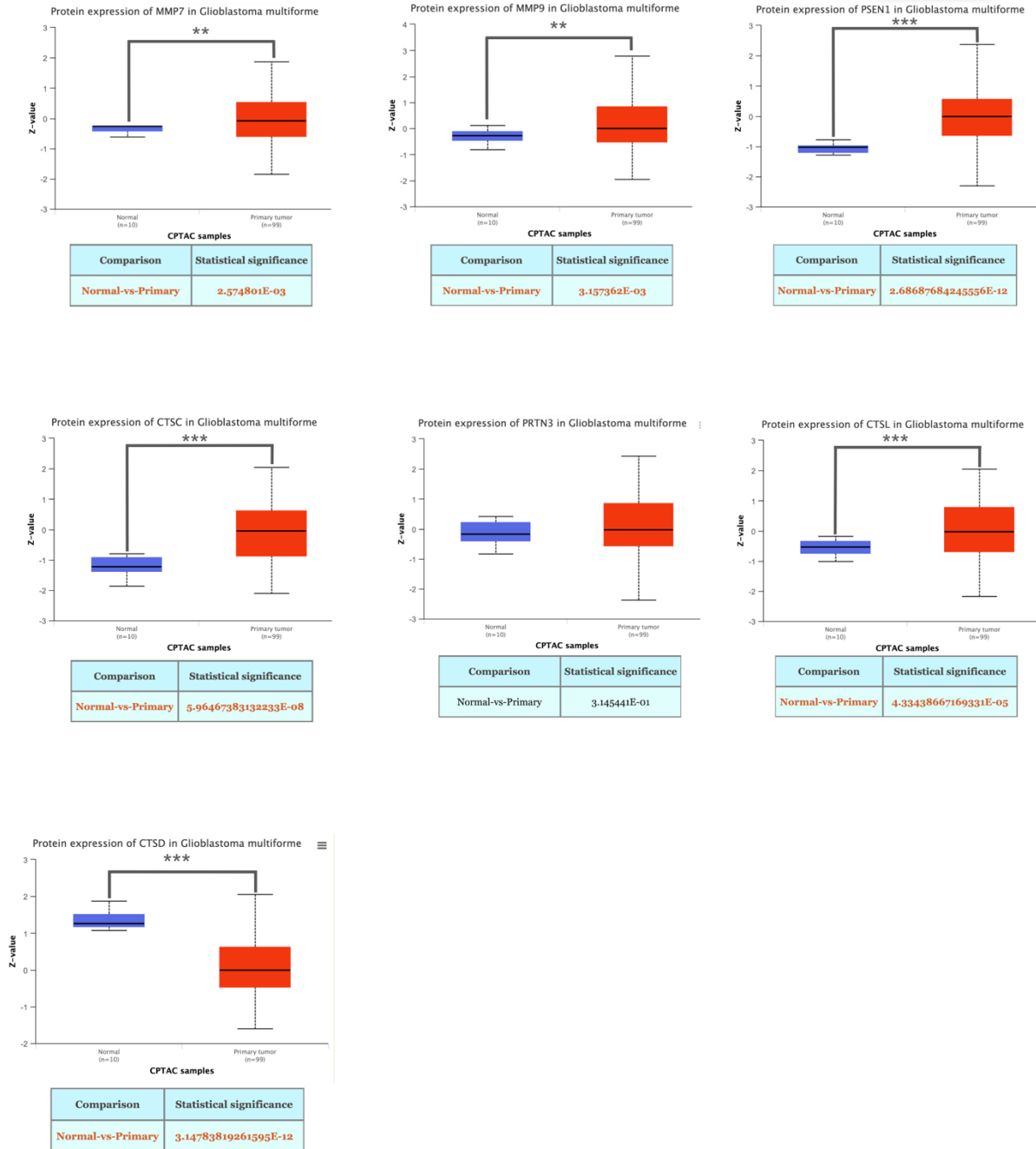


Figura 25. Abundancia proteica de las proteasas en tejido de glioblastoma con respecto al tejido sano. Se representan los resultados en gráficas de boxplot de 13 proteasas, las 3 restantes no cuentan con registro en el software de UALCAN. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***) . Se utilizó Prueba T para el análisis estadístico.

Los resultados indican que, de 16 proteasas analizadas, 12 tienen un cambio significativo, CTSB, CTSZ, PLAU, CTSC, CTSS, ADAM9, MMP2, MMP7, MMP9, PSEN1, CTSL, CTSD.

La figura 26 muestra una gráfica de pastel el análisis de la abundancia proteica en tejido sano con respecto al glioblastoma.

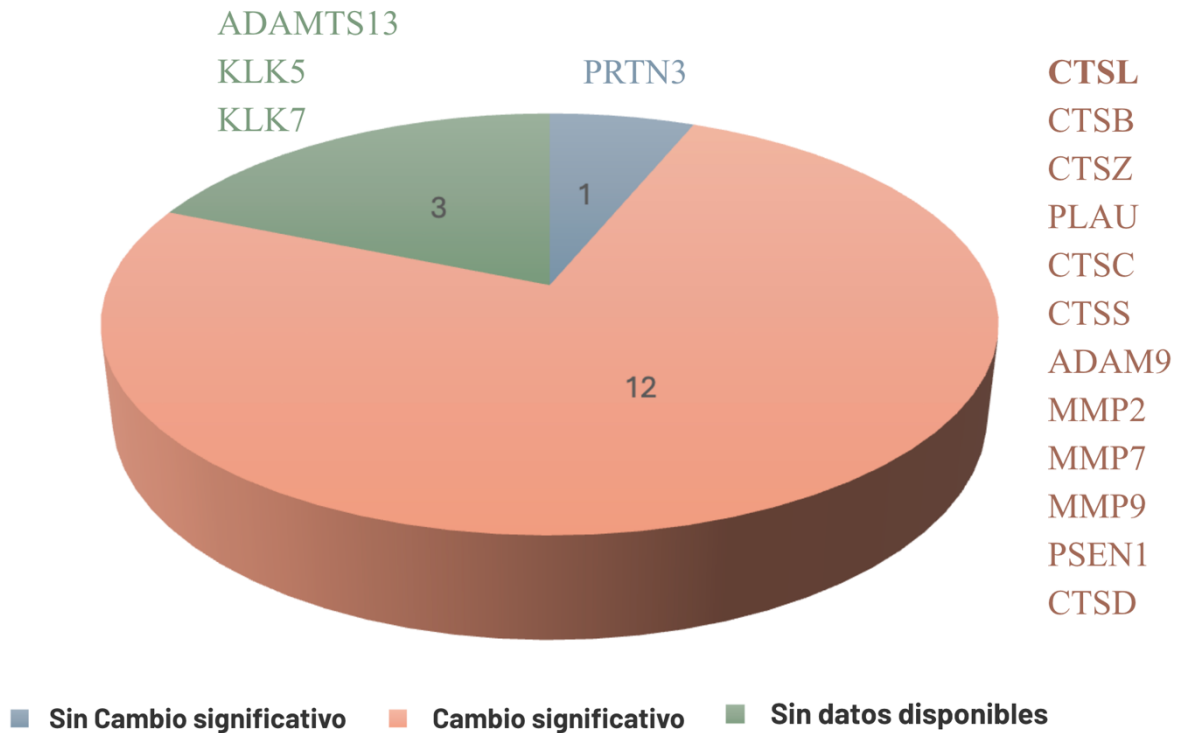


Figura 26. Proteasas que modifican su abundancia en glioblastoma. Las proteasas incrementadas en tejido de glioblastoma con respecto al tejido sano son 11, CTSL, CTSB, CTSZ, PLAU, CTSC, CTSS, ADAM9, MMP2, MMP7, MMP9, PSEN1, CTSD, mientras que la CTSD está disminuida, la proteasa PRTN3 no tiene cambio significativo y las proteasas ADAMTS13, KLK5 y KLK7 no cuentan con registro en la base de datos UALCAN.

Se realizó un análisis bioinformático de la expresión génica y abundancia proteica de proteasas utilizando muestras obtenidas tanto de pacientes diagnosticados con glioblastoma como de individuos con tejido cerebral sano como control. Se inició el estudio con un conjunto de 35 proteasas previamente identificadas como relevantes en el contexto del cáncer. De este conjunto, se observó que la expresión génica de 16 proteasas mostraba una significativa desregulación en comparación con el tejido sano. Además, se identificó que, de estas 16 proteasas con expresión génica alterada, 11 presentaban correlaciones con cambios en la abundancia proteica. En la figura 27 se puede ver gráficamente el resultado la expresión génica y la abundancia de las proteasas en glioblastoma con respecto al tejido sano.

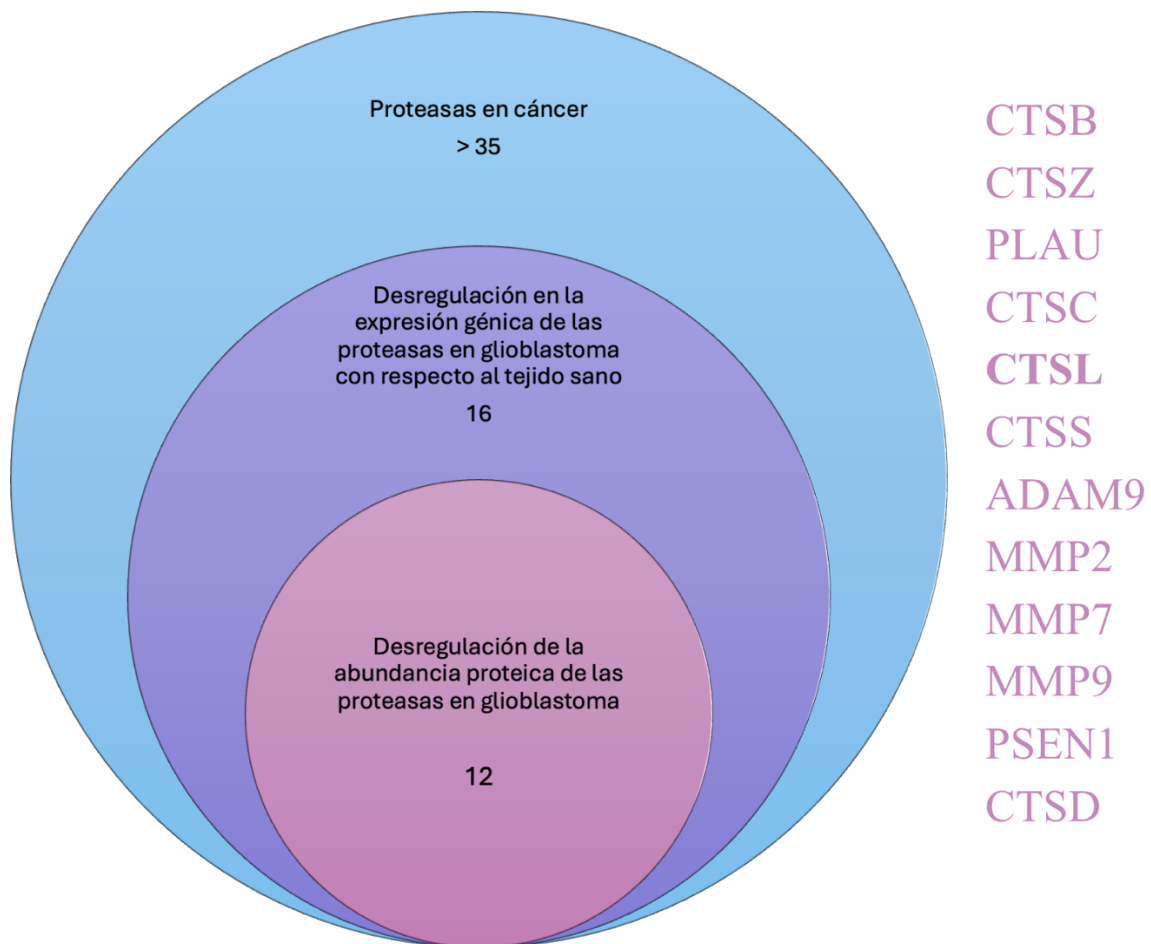
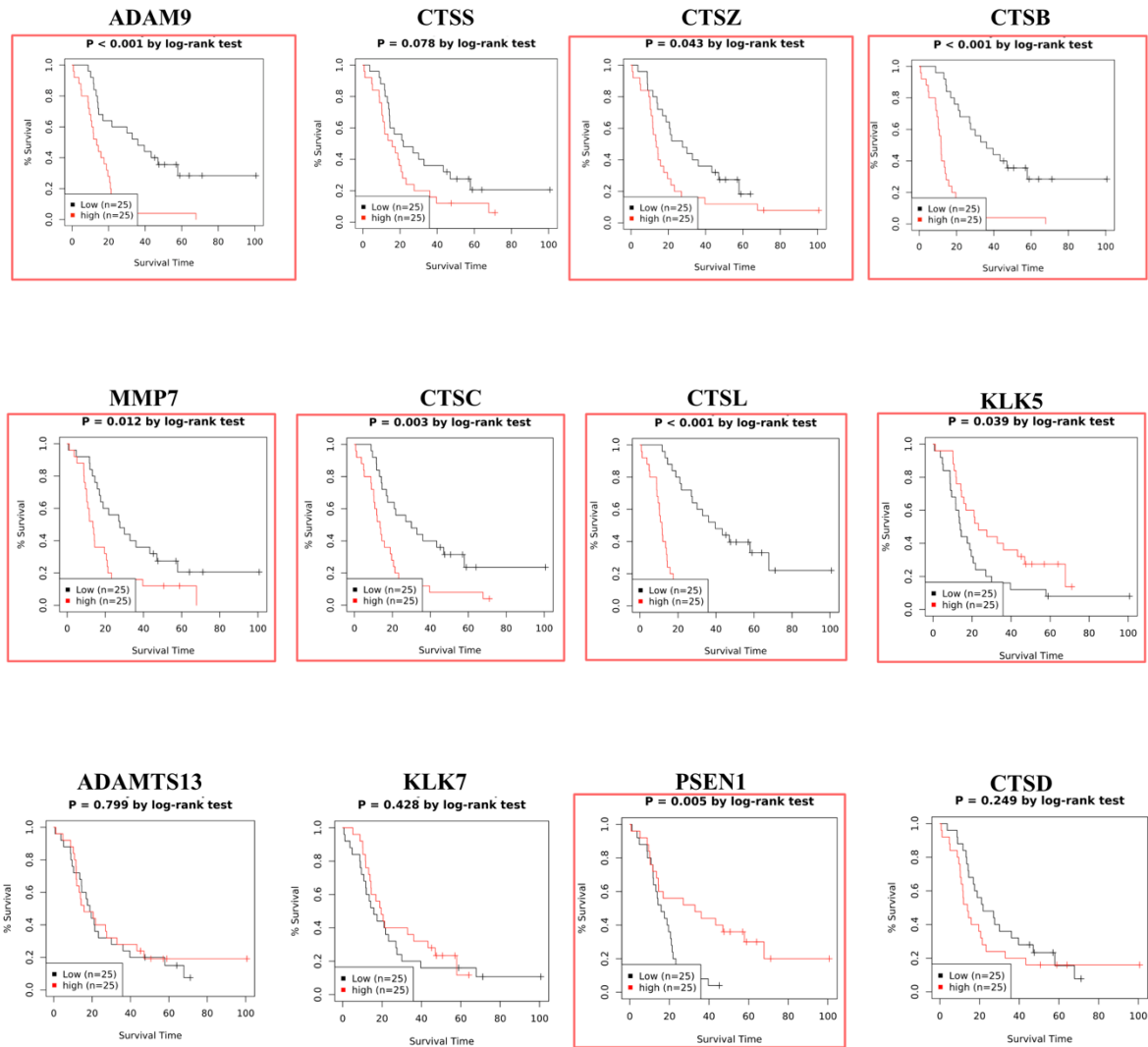


Figura 27. Firma de proteasas presentes en glioblastoma. La gráfica de Euler muestra las proteasas que tienen cambio significativo en la expresión génica, las cuales son 16 y las proteasas que tienen una confiabilidad estadística en la abundancia proteica que son 12.

2.3 Análisis de la supervivencia en pacientes con glioblastoma sobre la abundancia de las proteasas

Se realizó un análisis de supervivencia dirigido a cada una de las proteasas que tuvieron cambio significativo en la expresión génica. En la figura 28 se muestran de manera individual las gráficas de supervivencia de las 16 proteasas en pacientes con glioblastoma.



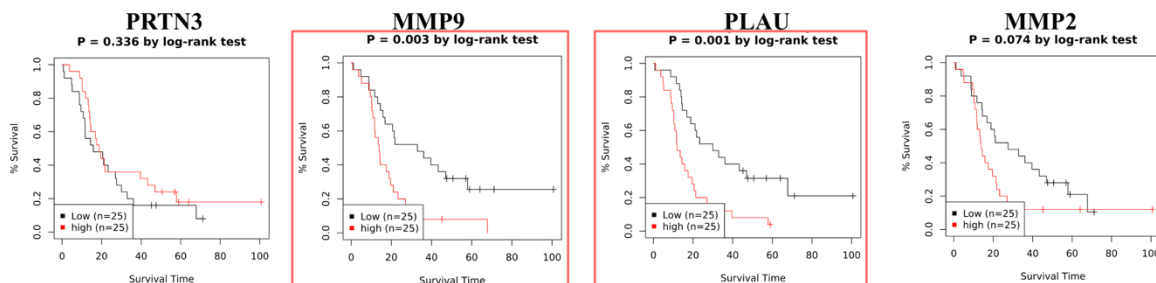


Figura 28. Supervivencia de pacientes con glioblastoma que tienen altos y bajos niveles de las proteasas. Curva de *Kaplan Meier* de los pacientes que tienen alta y baja abundancia de las 16 proteasas, las curvas que están encerradas en cuadros rojos representan las curvas de supervivencia que tienen estadística significativa. Se utilizó Prueba T para el análisis estadístico.

Se identificó que, de las 16 proteasas analizadas, 10 presentan significancia estadística para la supervivencia, las cuales son ADAM9, CTSZ, CTSB, MMP7, CTSC, CTSL, MMP9, PLAU, KLK5, PSEN1 (figura 29).

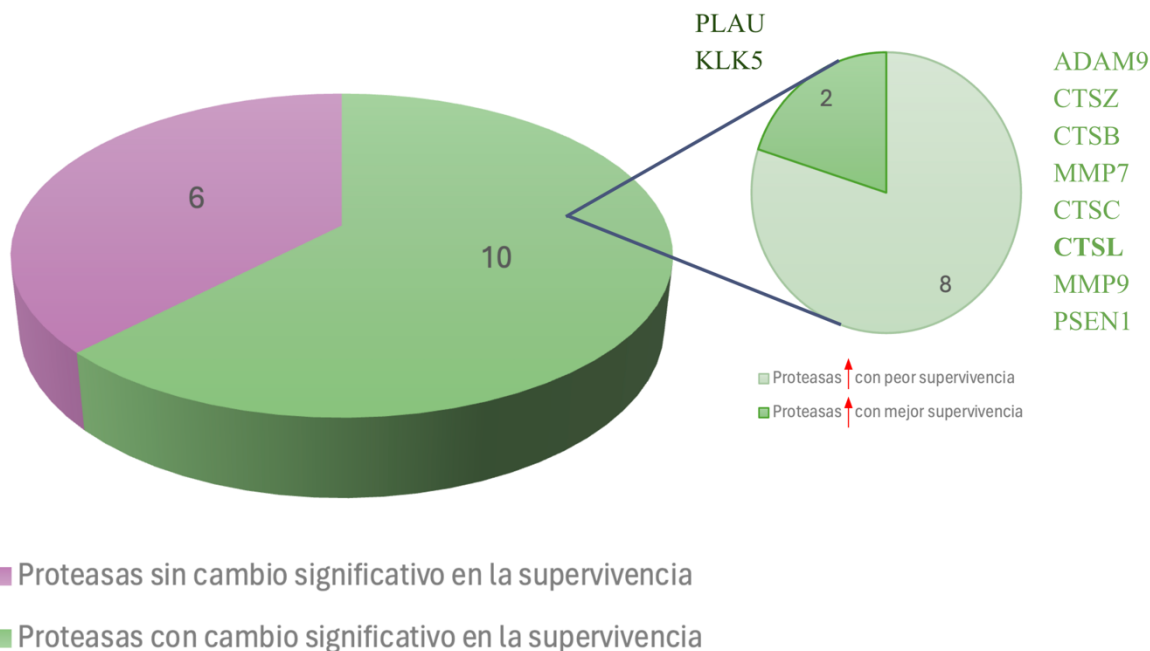


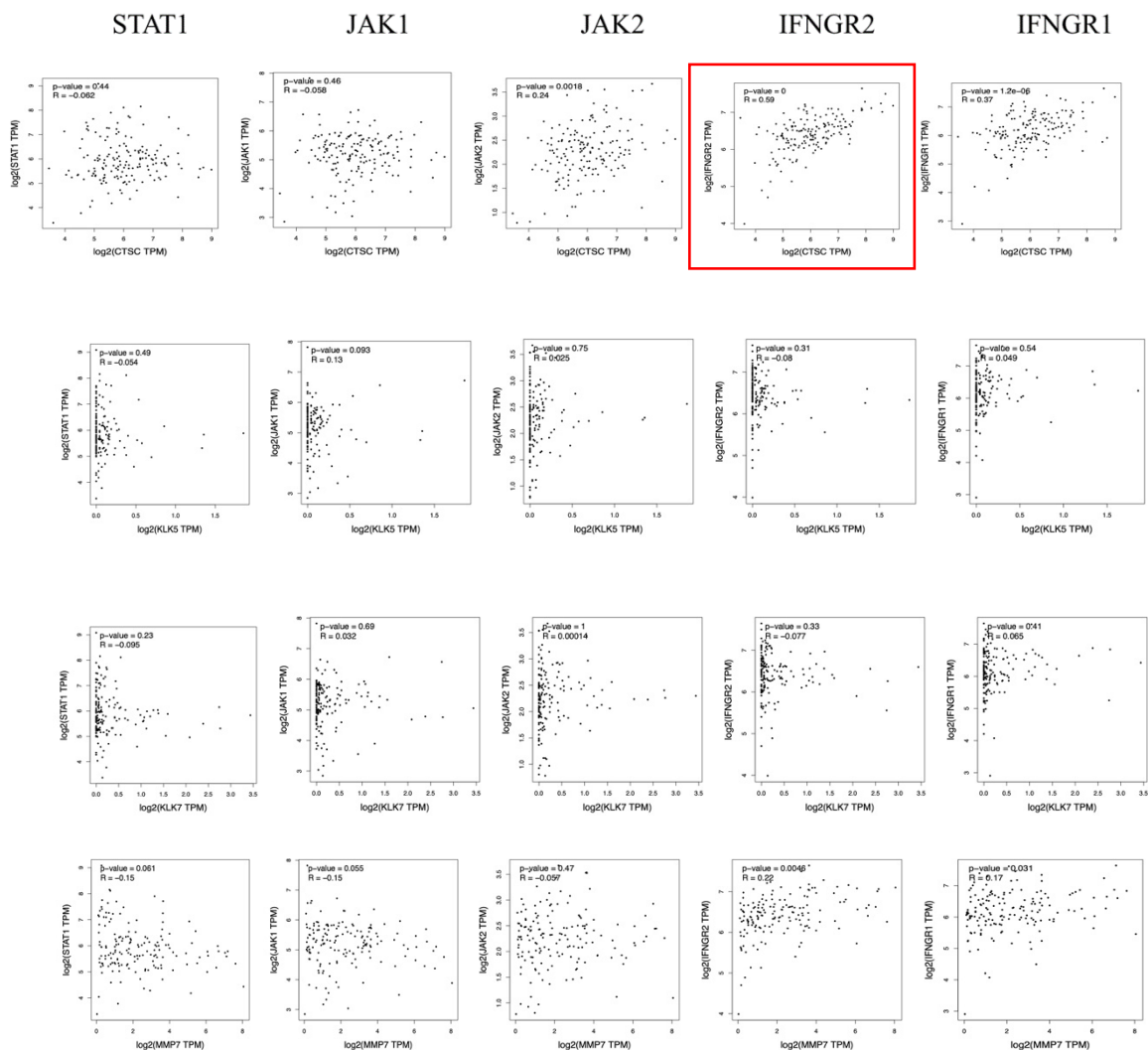
Figura 29. Supervivencia de los pacientes con glioblastoma en base al nivel de expresión de las proteasas. 10 tienen un cambio significativo en la supervivencia, las cuales son ADAM9, CTSZ, CTSB, MMP7, CTSC, CTSL, MMP9, PLAU, KLK5, PSEN1. Las proteínas sin cambio significativo son CTSD, CTSS, KLK5, KLK7, ADAMTS13, MMP2, PRNT4.

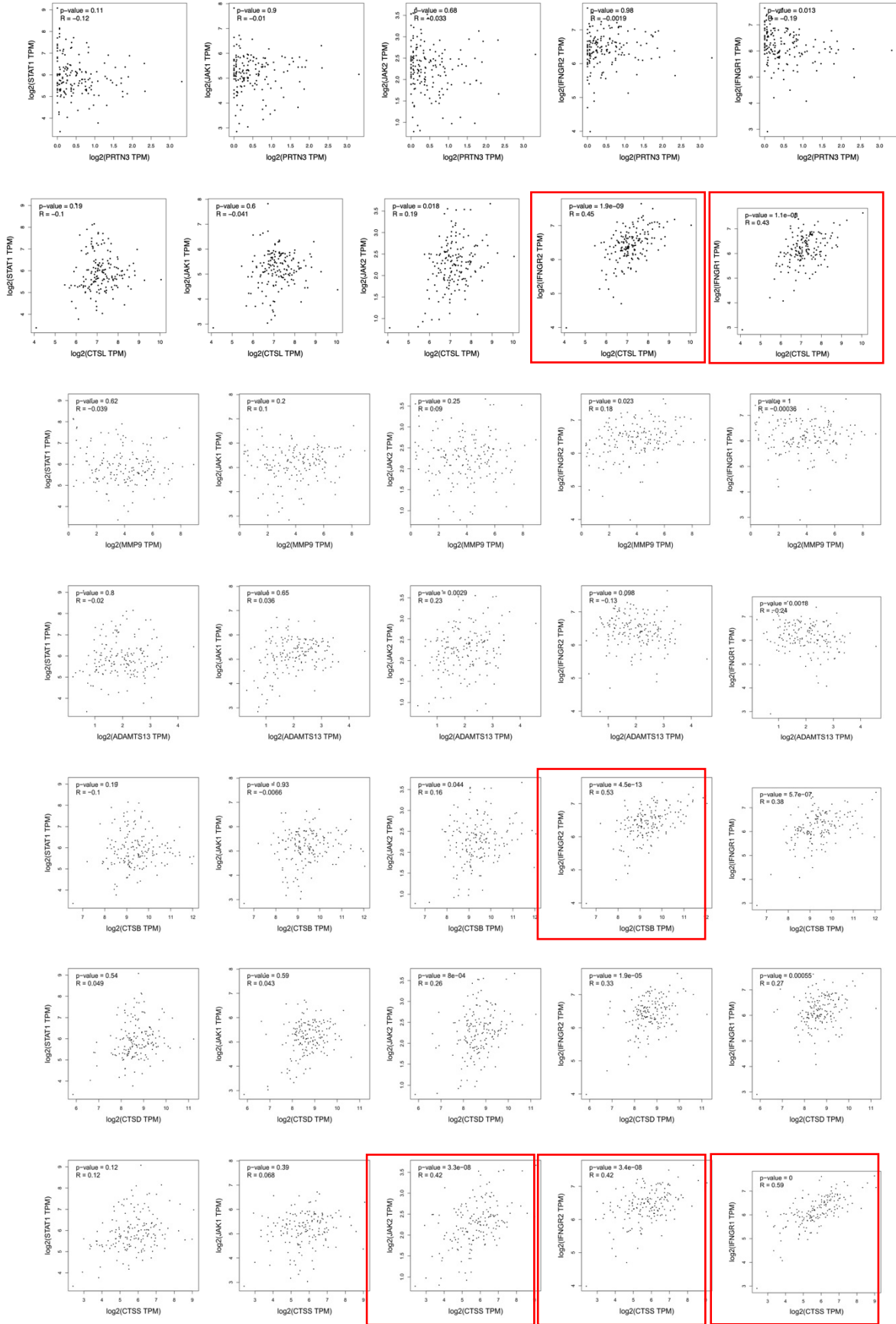
3. Las proteasas y su potencial regulación por la vía del IFN- γ

3.1 Correlación de los elementos de la vía del IFN- γ con las proteasas seleccionadas

Se analizó la correlación de los elementos de la vía del IFN- γ , los cuales son: STAT1, IFNGR1, IFNGR2, JAK1 y JAK2, con las 16 proteasas que tuvieron un cambio estadístico significativo. En la figura 30 se muestran las gráficas de dispersión de cada elemento con cada proteasa.

Elementos de la vía de señalización del IFN-gamma





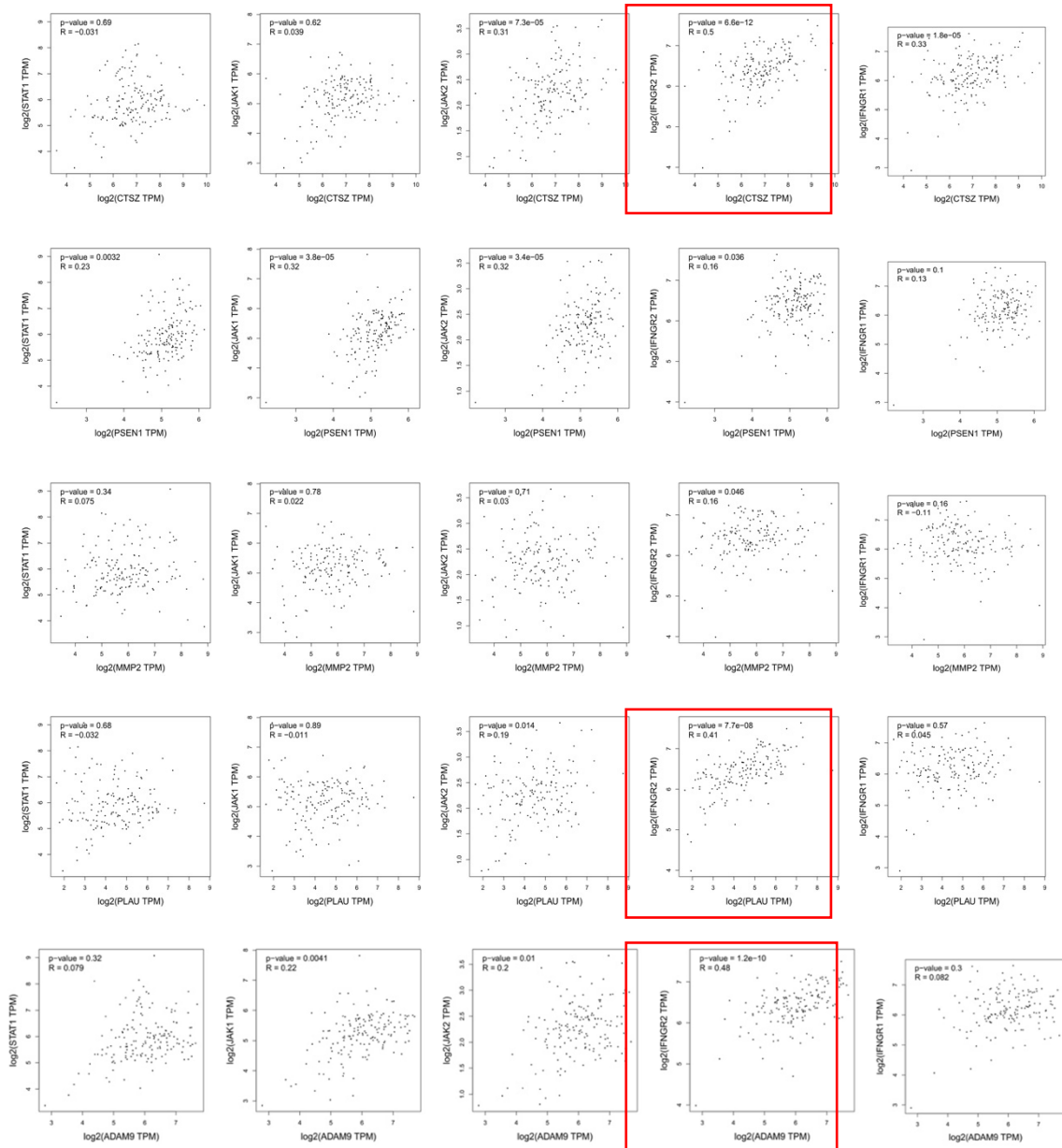


Figura 30. Correlación de los elementos de la vía de señalización *del IFN- γ* con las proteasas. Las gráficas de dispersión representan en el eje x a la abundancia de proteína y en el eje y la expresión del elemento de la vía de señalización de la vía del IFN- γ , son 16 proteasas y son 5 elementos de la vía de señalización. En cuadros rojos se marcan las gráficas que tienen un coeficiente de correlación de Pearson mayor a 0.40. Se utilizó ANOVA unifactorial (one-way ANOVA) para el análisis estadístico.

Las proteasas junto con los elementos de la vía del IFN- γ que mostraron un coeficiente de correlación de Pearson superior a 0.40 fueron considerados con una alta correlación y los que tuvieron menos de 0.40 se presentan con baja correlación, como se detalla en la tabla 4.

Tabla 4. Correlación entre los elementos de la vía del IFN- γ y las proteasas.

Proteasa	Elementos de la vía de señalización del IFN- γ				
	Valores R				
Nombre	STAT1	IFNGR1	IFNGR2	JAK1	JAK2
MMP7*	- 0.15	0.17	0.22	- 0.15	- 0.057
CTSC^	- 0.062	0.37	0.59	- 0.058	0.24
CTSL^	- 0.1	0.43	0.45	- 0.041	0.19
KLK5*	- 0.054	0.049	- 0.08	0.13	0.025
KLK7*	- 0.095	0.065	- 0.077	0.032	0.00014
PRTN3*	- 0.12	- 0.19	- 0.0019	- 0.01	- 0.033
MMP9*	- 0.039	- 0.00036	0.18	0.1	0.09
PLAU^	- 0.031	0.45	0.41	- 0.011	0.19
ADAM9^	0.079	0.082	0.48	0.22	0.2
ADAMTS13*	- 0.02	- 0.24	- 0.13	0.036	0.23
CTSB^	- 0.1	0.38	0.53	- 0.0066	0.16
CTSD*	0.049	0.27	0.33	0.043	0.26
CTSS^	0.12	0.59	0.42	0.068	0.42
CTSZ^	- 0.31	0.33	0.50	0.039	0.31
MMP2*	0.075	- 0.11	0.16	0.022	0.03
PSEN1*	0.23	0.13	0.16	0.32	0.32

* Proteasas que tienen correlación menor a 0.40 con los elementos de la vía del IFN- γ .

^ Proteasas que tienen correlación mayor a 0.40 con los elementos de la vía del IFN- γ .

Las proteasas con una correlación mayor a 0.40 son CTSC, CTSL, CTSB, CTSS, CTSZ, PLAU, ADAM9, mientras que las MMP2, ADAMTS13, MMP9, PRTN3, KLK7, KLK5, MMP7 representan a las proteasas que tienen correlación menor a 0.40.

3.2 Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ

Se hizo un análisis de predicción sobre la regulación de la expresión de las 35 proteasas por la vía de señalización del IFN- γ . En la figura 31 se puede ver a las regiones promotoras de las

proteasas y en cuadros de colores se representan los factores de transcripción que se pueden unir a la secuencia consenso para modular su expresión génica.

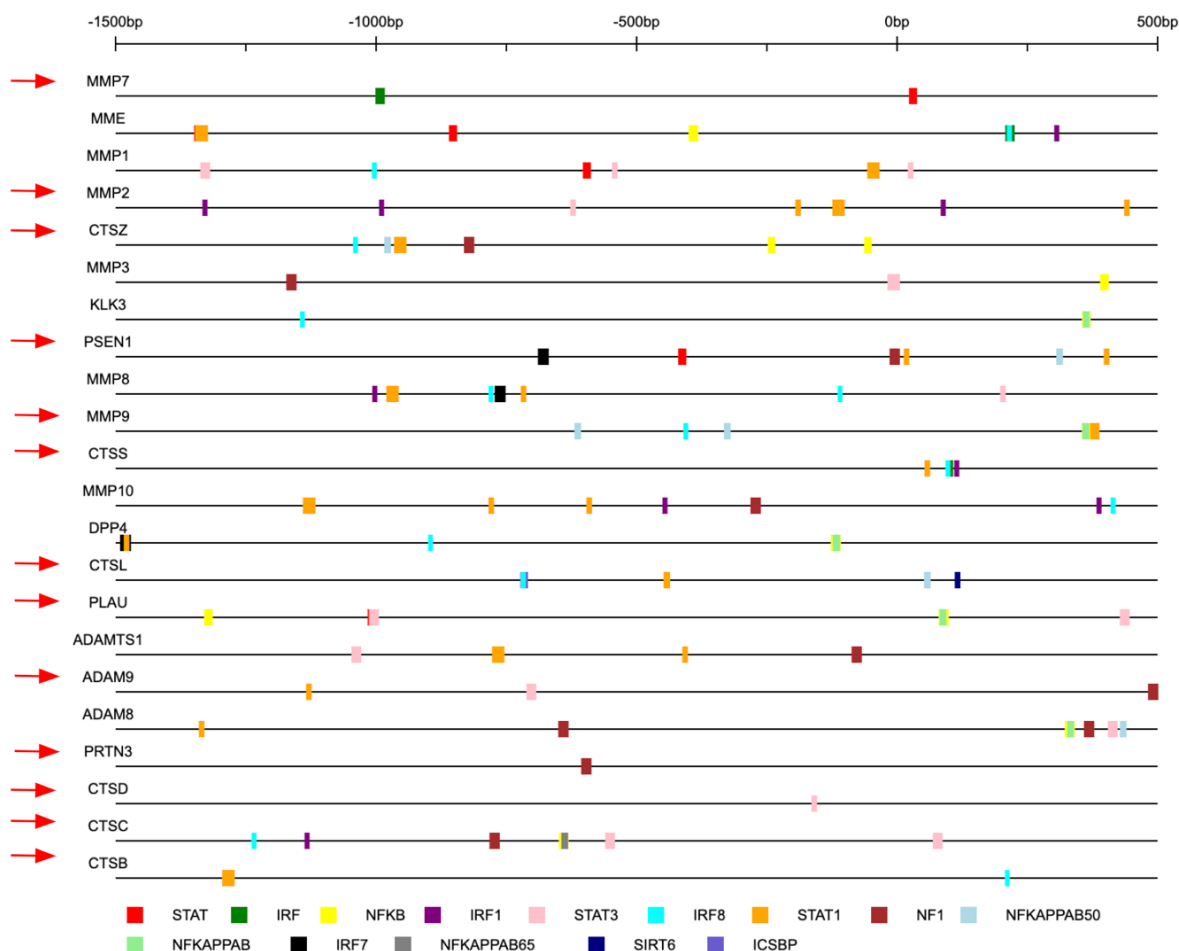


Figura 31. Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ . La imagen predice los sitios en los cuales se puede unir factores de transcripción en las regiones promotoras de las proteasas. En el apartado inferior se puede ver representado con colores los diferentes factores de transcripción que están involucrados a la vía del IFN- γ . Las flechas señalan las proteasas que presentan un cambio significativo en su expresión génica en glioblastoma respecto al tejido normal.

Los resultados indican que de las 16 proteasas 13 poseen una predicción, las cuales son *MMP7*, *CTSC*, *CTSL*, *PRTN3*, *MMP9*, *PLAU*, *ADAM9*, *CTSB*, *CTSD*, *CTSS*, *CTSZ*, *MMP2*, *PSEN1*. Las proteasas que tienen como factor de transcripción a STAT-1, el FT de la vía canónica del IFN- γ , son 8 de las cuales son: *CTSL*, *MMP9*, *ADAM9*, *CTSB*, *CTSS*, *CTSZ*, *MMP2*, *PSEN*. Mientras que las otras 5 proteasas son: *MMP7*, *CTSC*, *PRTN3*, *PLAU* y *CTSD*, no tienen entre sus posibles factores de transcripción a STAT-1. Se representa su resultado de la predicción en la

tabla 5, destacando los factores de transcripción que están involucrados en su regulación transcripcional modulada por el IFN- γ .

Tabla 5. Predicción de la regulación de la expresión de las proteasas por la señalización del IFN- γ .

Nombre Proteasa	Regulación por la vía del IFN-γ Factores de transcripción
MMP7 [^]	STAT, IRF
CTSC [^]	IRF8, IRF1, NF1, NFKAPPAB65, NFKB, STAT3
CTSL ^{^^}	STAT1 , IRF8, ICSBP, NFKAPPAB50, SIRT6
KLK5*	No
KLK7*	No
PRTN3 [^]	NF1
MMP9 ^{^^}	STAT1 , NFKAPPAB50, NFKAPPAB, NFKB, IRF8
PLAU [^]	NFKAPPAB50, NFKB, NFKAPPAB, STAT3,
ADAM9 ^{^^}	STAT1 , STAT3, NF1
ADAMTS13*	No
CTSB ^{^^}	STAT1 , IRF8
CTSD [^]	STAT3
CTSS ^{^^}	STAT1 , IRF8, IRF1, IRF
CTSZ ^{^^}	STAT1 , IRF8, NFAPPAB50, NF1, NFKB
MMP2 ^{^^}	STAT1 , IRF1, STAT3
PSEN1 ^{^^}	STAT1 , IRF7, STAT, NF1, NFKAPPAB50

* Proteasas que no cuentan con una regulación de su expresión por la vía del IFN- γ .

[^] Proteasas que poseen regulación de su expresión por la vía del IFN- γ .

^{^^} Proteasas que cuentan con STAT-1.

El resumen de los resultados anteriormente mencionados se muestran en la figura 32, donde se presenta un diagrama de Venn de los resultados de las proteasas que tienen una supervivencia significativa en pacientes con glioblastoma sobre la abundancia proteica, de las proteasas que tienen un coeficiente de correlación de Pearson mayor a 0.40 con respecto a los elementos de la vía del IFN- γ , de las proteasas con cambio significativo en la abundancia proteica en glioblastoma con respecto al tejido sano y de las proteasas que cuentan con una predicción de regulación por medio de la vía del IFN- γ .

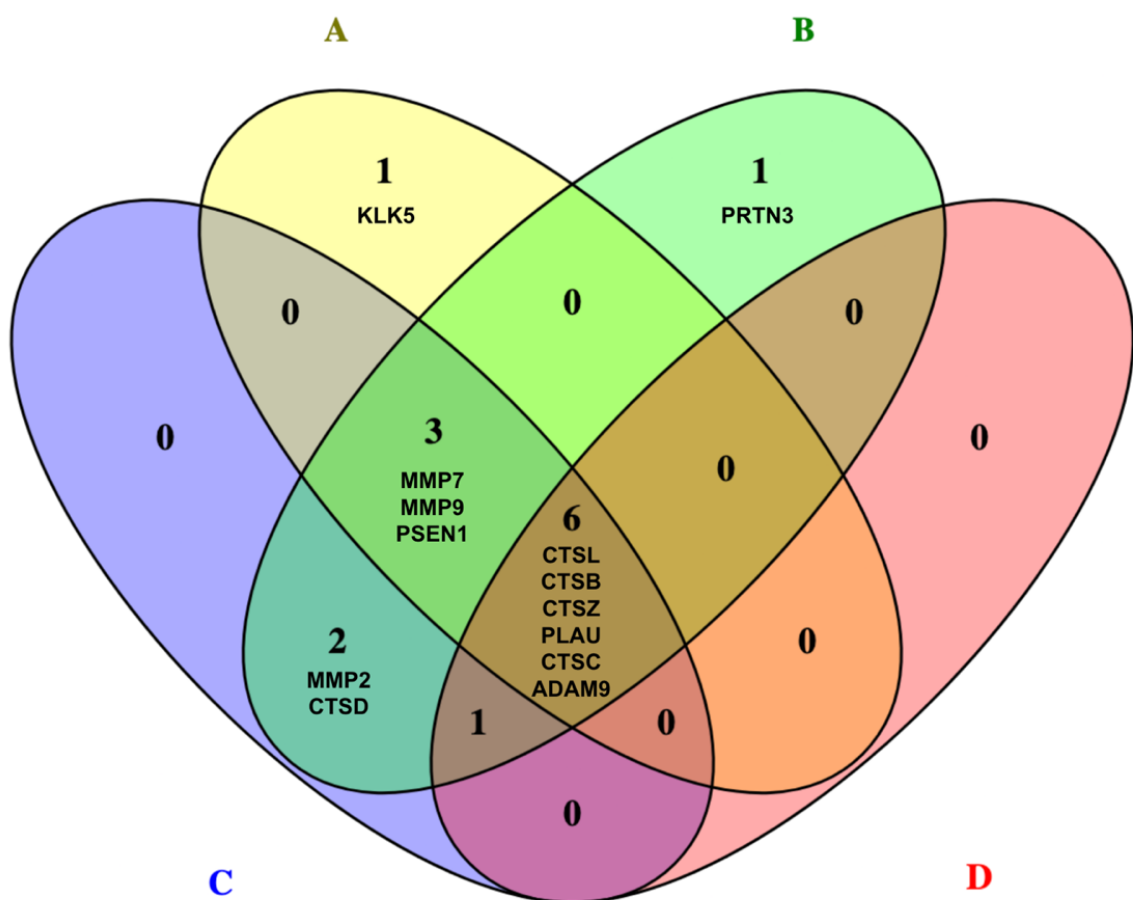


Figura 32. Análisis de las proteasas en muestras de pacientes con glioblastoma. Los resultados incluyen **A)** Supervivencia en pacientes con glioblastoma con cambio significativo sobre los niveles de expresión génica de las proteasas. **B)** Predicción de sitios de las proteasas que pueden ser regulados por medio de la vía del IFN- γ . **C)** Proteasas que tienen un coeficiente de correlación de Pearson mayor a 0.40 con respecto a los elementos de la vía del IFN- γ . **D)** Proteasas con cambio significativo en la abundancia proteica en glioblastoma con respecto al tejido sano.

4. Análisis de las proteasas en la línea celular de glioblastoma.

4.1 Efecto del tratamiento con IFN- γ sobre la migración en células de glioblastoma.

Previamente, nuestro grupo reportó que el estímulo con IFN- γ induce la migración de las células derivadas de glioblastoma LN-18, sugiriendo que la señalización del IFN- γ tiene una acción pro-tumorigénica en el contexto del glioblastoma (Zamora *et al*, 2024). En este proyecto, se decidió analizar el efecto del IFN- γ sobre la capacidad de migración de las células derivadas de glioblastoma A-172. Para ello se realizó un ensayo de cierre de herida como se puede observar en la figura 33.

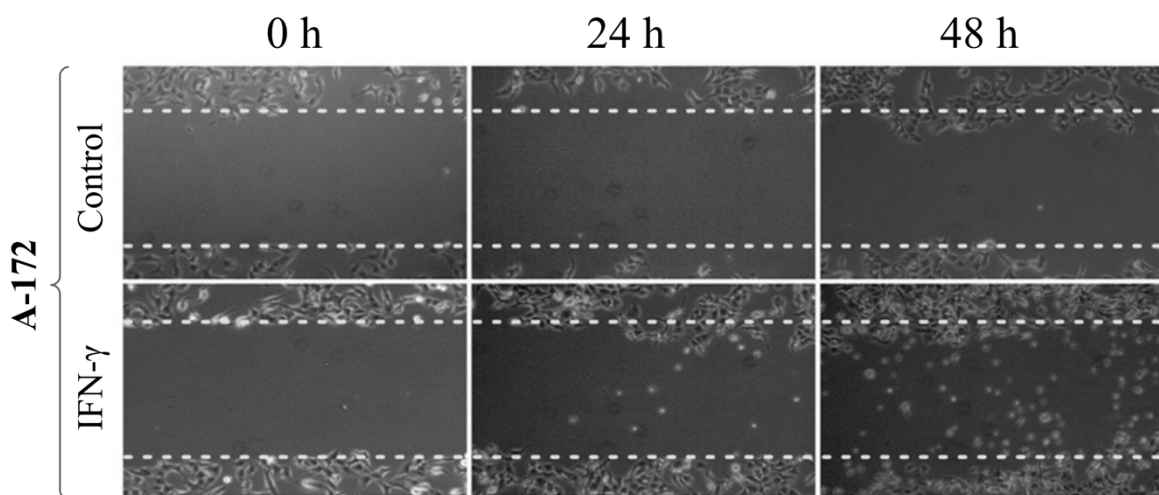


Figura 33. El IFN- γ incrementa la migración de las células A-172 derivadas del glioblastoma. La prueba de cierre de herida fue realizada con la línea celular A-172 con y sin estimuladas con y sin IFN- γ , se tomaron fotografías a las 0, 24 y 48 horas posterior a la adición del IFN- γ .

El resultado del experimento mostró un cierre de herida significativamente mayor cuando las células fueron estimuladas con IFN- γ , en comparación con las células control. Estos hallazgos indican que el IFN- γ también promueve la migración de las células A172.

4.2 Análisis de la modulación de la expresión de las proteasas por la vía del IFN- γ en la línea celular de glioblastoma

Un grupo de proteínas que se han asociado a la migración celular en cáncer son las proteasas. Por tal motivo, se decidió analizar si el IFN- γ podría modular los niveles de proteasas asociadas al cáncer. Para ello, se utilizó un microarreglo de proteínas que detecta la presencia de 35 proteasas asociadas al cáncer para investigar la regulación de la expresión de proteasas por la vía del IFN- γ . Estas 35 proteasas corresponden a las previamente analizadas en muestras de pacientes con glioblastoma. Para este ensayo, se utilizaron las condiciones de estimulación con IFN- γ en una concentración de 100 ng/mL durante 24 horas y sin estimulación como control. Se emplearon extractos totales y medio extracelular de proteínas de la línea celular A-172 de glioblastoma, para la identificación de proteasas moduladas por IFN- γ .

Proteínas extracelulares.

En la figura 34A se visualizan los microarreglos que detectaron a las proteínas extracelulares de la línea celular A-172 derivada de glioblastoma entre las condiciones con estímulo de IFN- γ y control. Las proteasas que presentan cambios son las siguientes, CTSL, KLK10, incrementa su abundancia proteica, mientras que MMP3, PRTN3 su abundancia disminuye con el estímulo de IFN- γ .

Proteínas del extracto total.

En la figura 34B se visualizan a los microarreglos que detectaron a las proteínas del extracto total de la línea celular A-172 derivada de glioblastoma entre las condiciones con estímulo de IFN- γ y control. Las proteasas que presentan un cambio son las siguientes, CTSL, KLK10, KLK3, ADAMTS13 incrementa su abundancia proteica, mientras que MMP3, MMP7, KLK7, CTSV, PCSK9 su abundancia disminuye con el estímulo de IFN- γ .

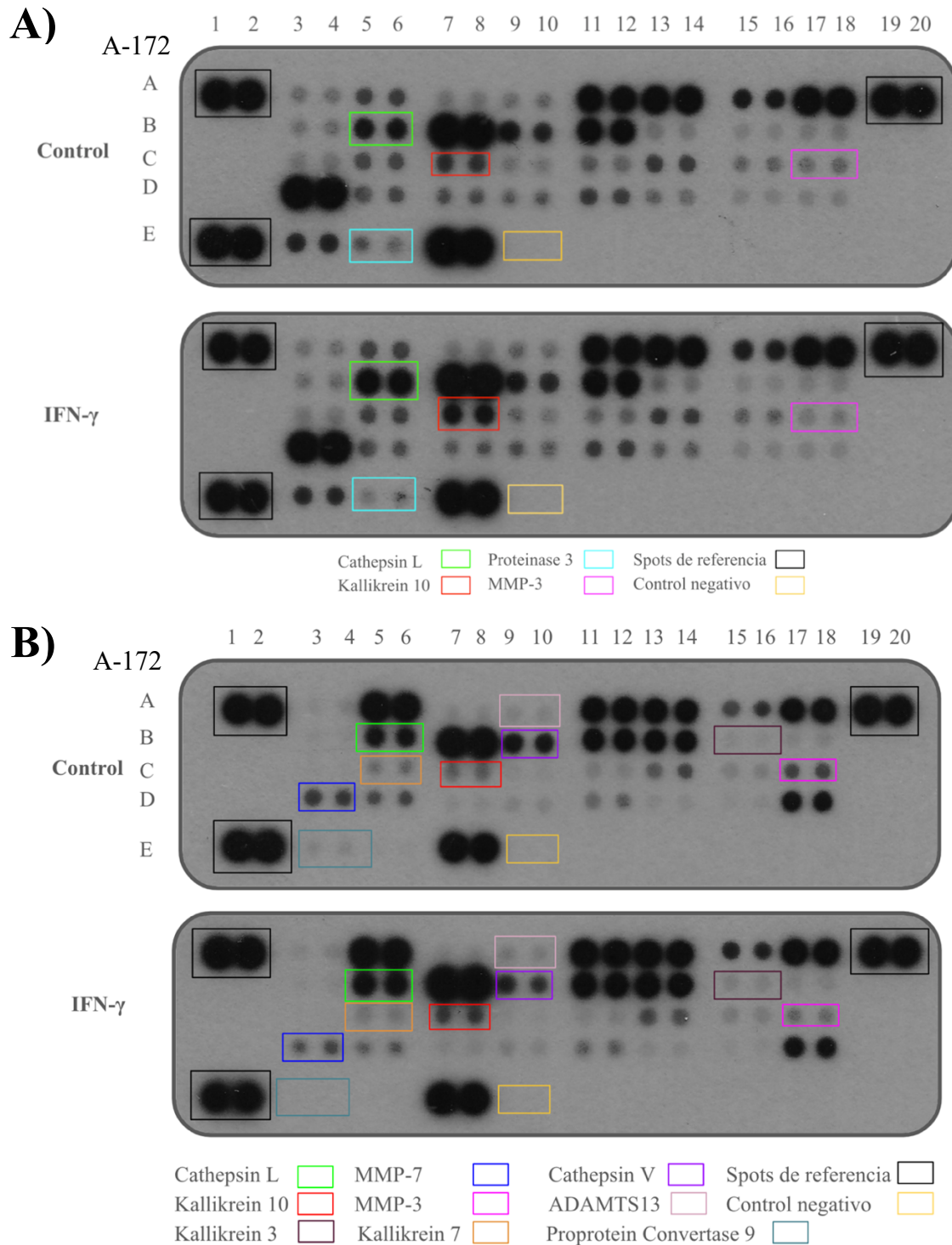


Figura 34. El IFN- γ modula la abundancia de las proteasas en la línea celular A-172 derivada de glioblastoma. Microarreglos de proteínas (proteasas). **A)** Microarreglos de proteínas del medio extracelular. **B)** Microarreglos de proteínas intracelulares. En dos condiciones diferentes, control en la parte superior, con estímulo de IFN- γ en la parte inferior. La detección de cada proteasa se realiza por duplicado. Los resultados que presentan un cambio están marcados en recuadros de colores, junto con el nombre de la proteasa en el apartado inferior.

Con los resultados de los microarreglos se efectuó un análisis semicuantitativo del nivel de abundancia proteica mediante densitometría, y se normalizó con respecto a los Spots de Referencia del microarreglo. Posteriormente, los resultados se representaron en mapas de calor. En la figura 35A se puede ver de manera gráfica los resultados del medio extracelular y en la figura 35B los resultados del extracto total, expresados en mapas de calor.

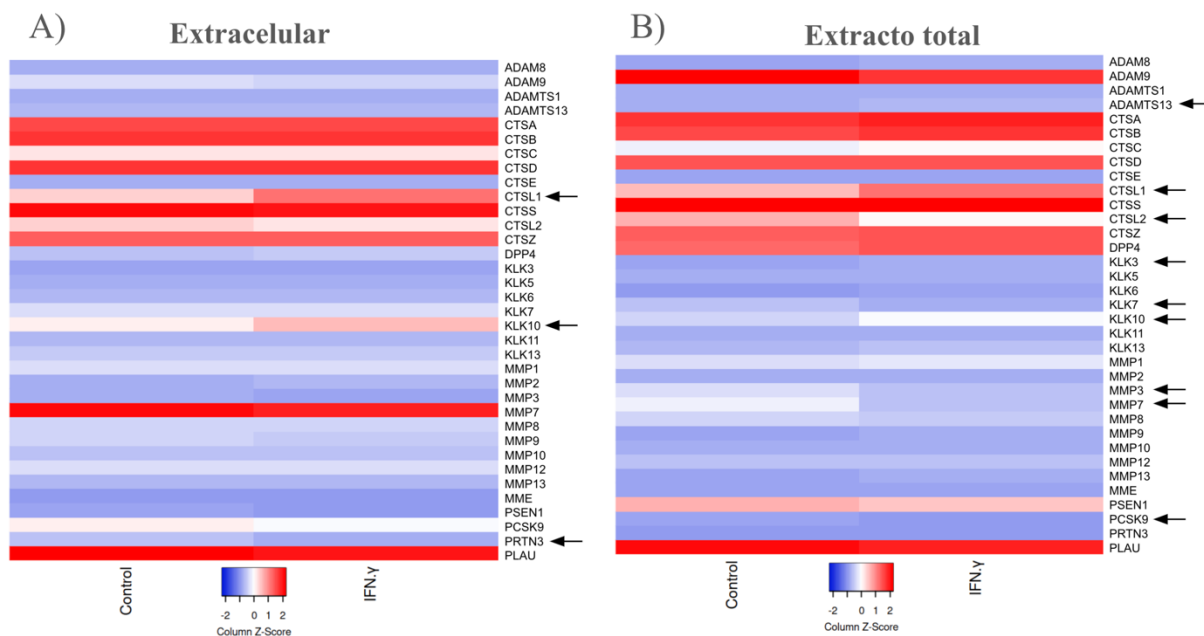


Figura 35. Variación en la abundancia de las proteasas con y sin estímulo de IFN- γ en la línea celular A-172 derivada de glioblastoma. Los resultados del microarreglo de proteínas se normalizaron con respecto a los Spots de Referencia y se representan en mapas de calor. A) Mapa de calor del medio extracelular. B) Mapa de calor del extracto total de proteínas. Los resultados con un cambio aparente están marcados con flechas negras.

El mapa de calor extracelular indica que CTSL, KLK10, PRTN3 tienen un cambio entre la condición control y el estímulo de IFN- γ . En el caso de las proteínas intracelulares presentan cambios CTSL, KLK10, KLK3, ADAMTS13, MMP3, MMP7, KLK7, CTSV y PCSK9.

Los resultados de la densitometría de los microarreglos estimulados con IFN- γ posteriormente se normalizaron con respecto a los microarreglos control, con dichos resultados se representan en gráficas de barras en la figura 36.

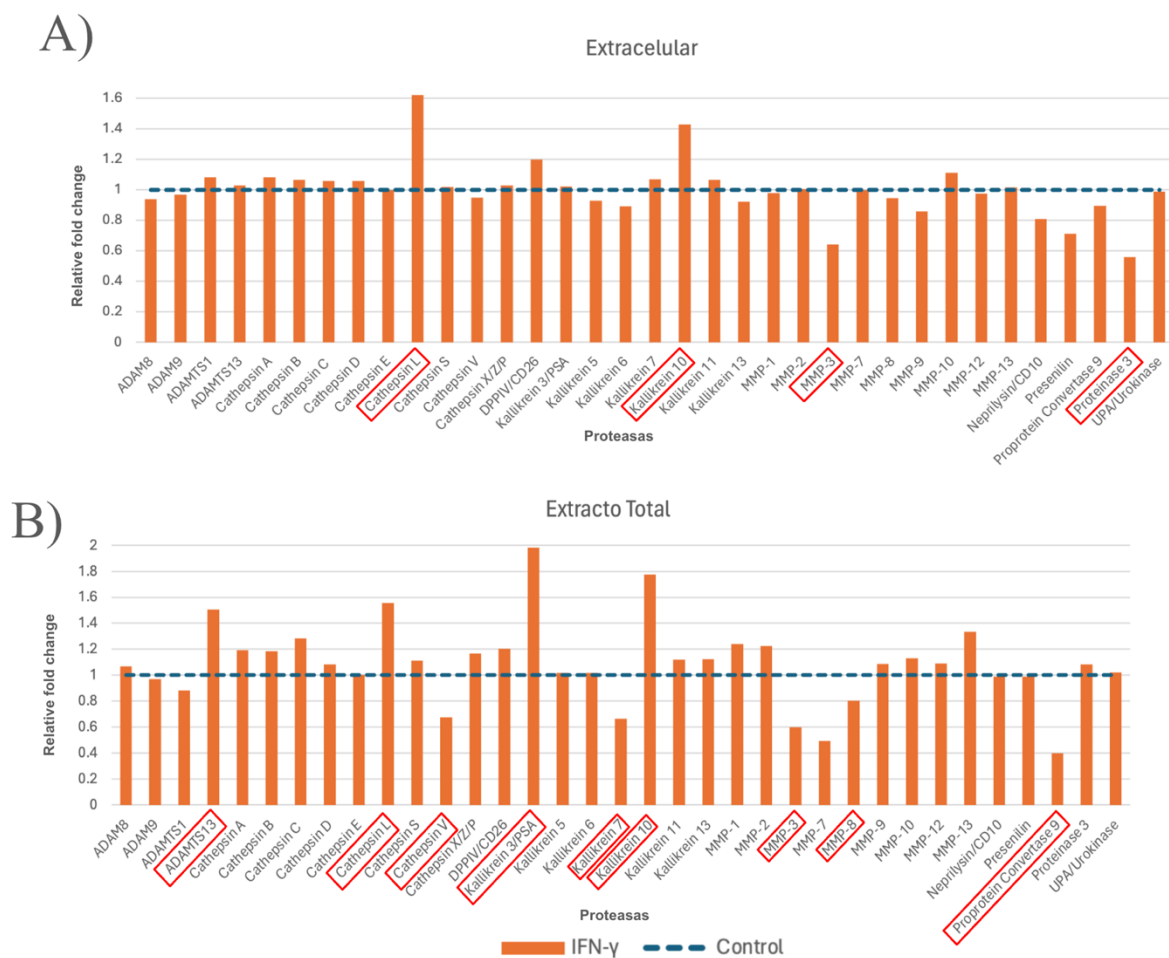


Figura 36. El IFN-γ modula la abundancia de las proteasas en glioblastoma. Los resultados de los microarreglos de proteínas estimulados con IFN-γ se normalizaron con respecto a los microarreglos control y se graficaron los resultados. A) Gráfica de barras del medio extracelular. B) Gráfica de barras de las proteínas intracelulares. Las proteasas que presentan cambio están marcado su nombre en cuadros rojos.

Los resultados de la normalización indican que en el medio extracelular el IFN-γ incrementó un 60% la abundancia proteica de CTSL, mientras que KLK10 incrementó un 40%, MMP3 y PRTN3 se redujó en un 40%, lo anterior con respecto al control. Por otro lado, los resultados indican que, en el medio extracelular, el IFN-γ incrementó un 60% CTSL, KLK10 un 80%, KLK3 un 100% y ADAMTS13 un 50%, mientras que MMP3 se redujo un 40%, MMP7 un 50%, KLK7 un 35%, CTSV un 70% y PCSK9 un 60%, lo anterior con respecto al control.

Los resultados del microarreglo indican que hay 10 proteasas que son moduladas por IFN-γ, de las cuales 4 están presentes en el medio extracelular y 9 en el extracto total de proteínas. En la figura 37 se puede ver un diagrama de Venn de los resultados anteriormente mencionados.

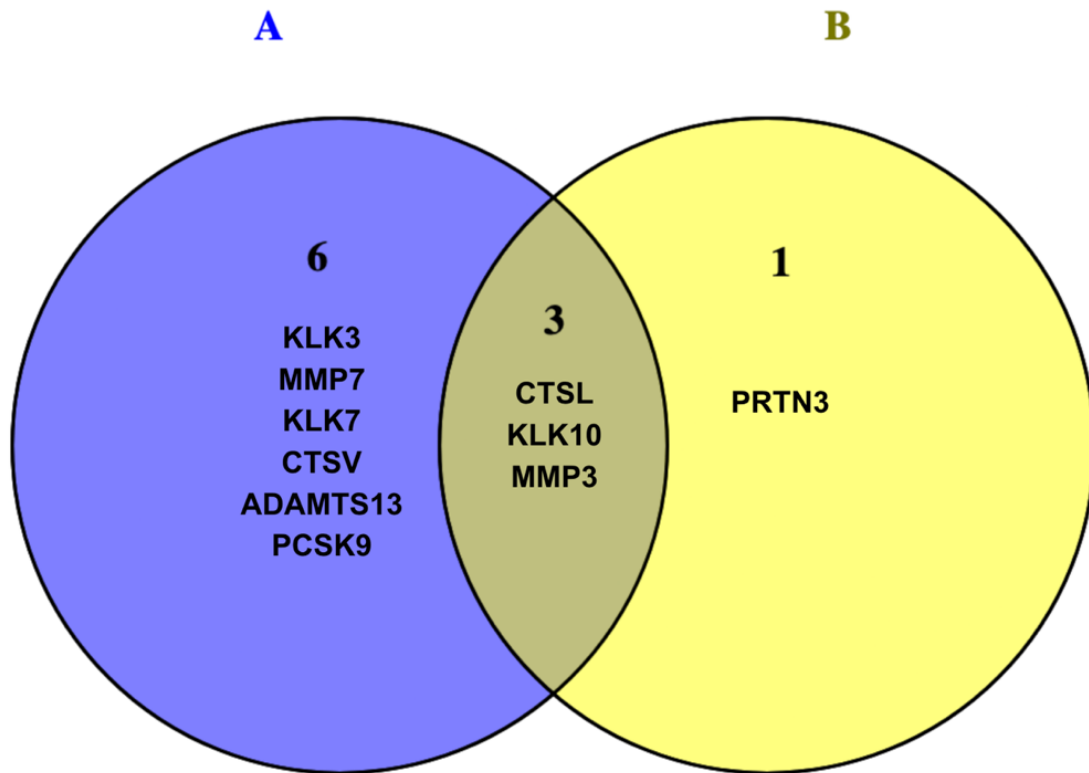


Figura 37. Proteasas moduladas por IFN- γ en línea celular derivada de glioblastoma. A) Proteasas intracelulares. B) Proteasas extracelulares. La figura muestra que 3 de las proteasas están presentes en el medio intracelular y extracelular, 1 solamente en el medio extracelular y 6 solo presentes en los extractos totales.

Las proteasas moduladas por IFN- γ que están presentes en el medio intracelular y extracelular son 3, CTSL, KLK10, MMP3, mientras que las que no están presentes en los extractos totales solo es una, la cual es PRTN3, en los extractos totales están presentes 6, KLK3, MMP7, KLK7, CTSV, ADAMTS13, PCSK9.

4.4 Actividad reportada de las proteasas identificadas por ser moduladas por IFN- γ en células de glioblastoma A-172

Las proteasas que tuvieron cambios en los análisis de datos se les investigó su actividad, además de algunas características. En la tabla 6, abordando puntos clave sobre su función fisiológica, su participación en cáncer y su actividad molecular.

Tabla 6. Actividad de las proteasas moduladas por el IFN- γ .

Proteasa	Actividad
CTSL	En glioblastoma se identificó que la proteasa CTSL induce la proliferación y al inhibirla aumento significativamente la apoptosis de las células U251 (Dong <i>et al</i> , 2022).
KLK10	En glioblastoma se desconoce su actividad, sin embargo, en cáncer de mama y de próstata actúa como supresor tumoral, pero en cáncer de ovario, pancreático y oral actúa promoviendo el cáncer (Michael <i>et al</i> , 2005; Li <i>et al</i> , 2015).
MMP3	Integrante de la subfamilia de estromelisin, contribuye a la degradación de diversas proteínas de la matriz extracelular (ECM). En cáncer, facilita la invasión celular y la transición epitelio-mesénquima (Polz <i>et al</i> , 2024).
KLK3	Conocida como PSA, se utiliza como biomarcador en cáncer de próstata. Además, promueve la proliferación de células osteoprogenitoras y la diferenciación de osteoblastos (Lovell <i>et al</i> , 2021).
MMP7	Implicada en la degradación de proteínas de la ECM y la regulación de factores de crecimiento, participando así en la angiogénesis, crecimiento tumoral, apoptosis, invasión y metástasis (Keles <i>et al</i> , 2014).
KLK7	Participa en la degradación de componentes de la piel y está desregulada en varios tipos de cáncer, incluyendo mama, ovario, páncreas, melanoma y cuello uterino (Ovaere <i>et al</i> , 2009; Talieri <i>et al</i> , 2004; Dong <i>et al</i> , 2003; Johnson <i>et al</i> , 2007; Rezze <i>et al</i> , 2011; Santin <i>et al</i> , 2004).
CTSV	Cisteína proteasa lisosomal sobreexpresada en varios tipos de tumores, propuesta como biomarcador y asociada a la metástasis (Song <i>et al</i> , 2021).
ADAMTS13	Reducción de las actividades de coagulación del factor von Willebrand, lo que sugiere un papel clave en la coagulación sanguínea (Matsumoto <i>et al</i> , 2021).
PCSK9	Modula el metabolismo del colesterol uniéndose al receptor de LDL, y se ha relacionado con la expresión de proteínas de histocompatibilidad en células tumorales (Mahboobnia <i>et al</i> , 2021; Liu <i>et al</i> , 2020).
PRTN3	Enzima serina proteasa secretada por células del linaje mieloide. Implicada en procesos inflamatorios y posiblemente en cáncer, donde puede participar en la activación de metaloproteinasas de matriz (Hu <i>et al</i> , 2019; Furuya <i>et al</i> , 2024).

4.5 Interactoma de las proteasas moduladas por IFN- γ

Las proteasas pueden estar involucradas en redes proteolíticas. Por ello, se investigó el interactoma de aquellas proteasas que mostraron cambios tras la estimulación con IFN- γ , junto con los elementos de la vía del IFN- γ . En la figura 38 se muestra el interactoma de las 10 proteasas moduladas por IFN- γ en las células derivadas de glioblastoma A-172.

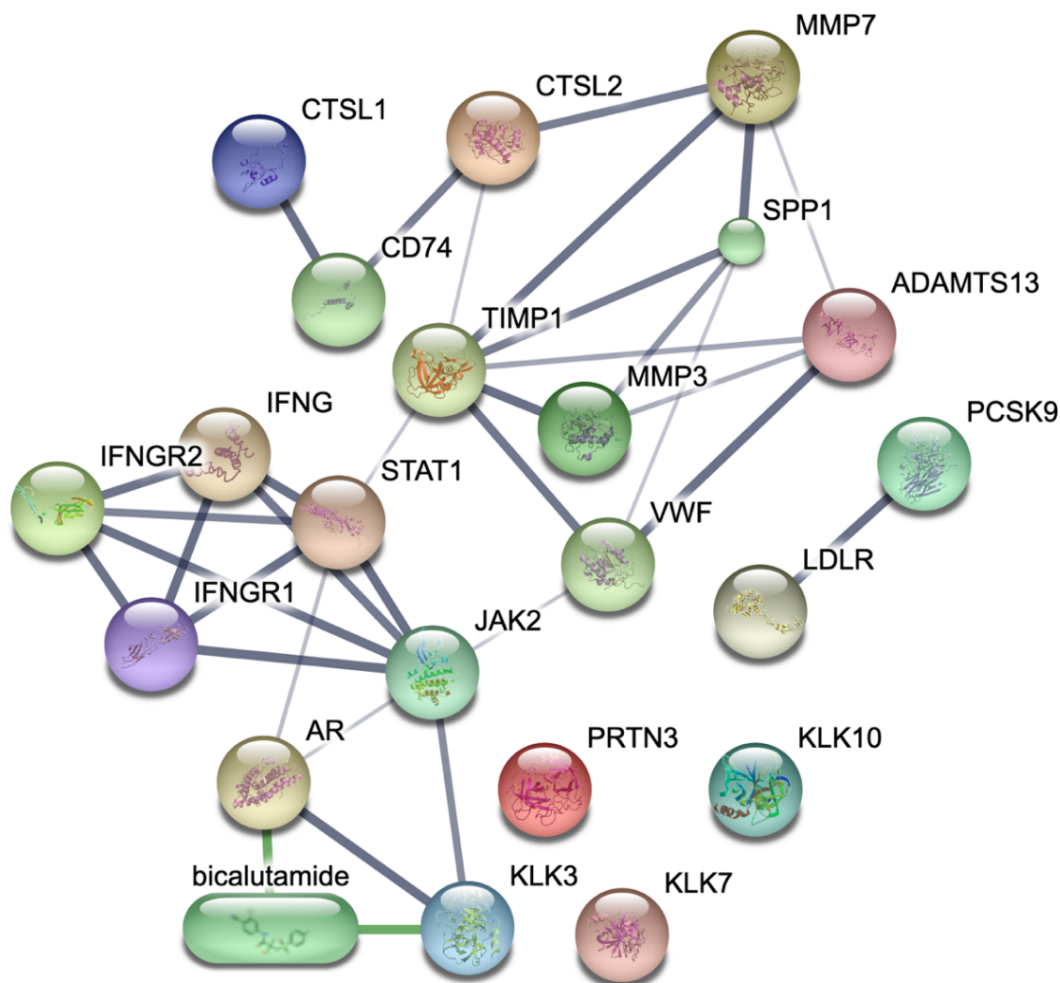


Figura 38. Interactoma de las proteasas moduladas por IFN- γ . La figura ilustra que 6 proteasas interactúan, mientras que 4 no presentan interacción entre sí. También se muestran interacciones con otras proteínas, como los elementos de la vía del IFN- γ y el fármaco bicalutamida.

El análisis del interactoma reveló que la proteasa KLK3 interactúa con el receptor de andrógenos (AR, por sus siglas en inglés). Además, tanto KLK3 como el receptor de andrógenos interactúan con el bicalutamida, un fármaco utilizado para tratar el cáncer de próstata. Por otro lado, la

PCSK9 interactúa con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR). El Factor de von Willebrand (VWF) interactúa con ADAMTS13. La SPP1, también conocida como osteopontina, interactúa con MMP7 y MMP3, así como con TIMP1, el cual es un inhibidor de las metalopeptidasas. Finalmente, la CTSL interactúa con la cadena gamma del antígeno de histocompatibilidad HLA clase II.

5. Estudio de la proteasa CTSL

5.1 La expresión génica, la abundancia proteica y la supervivencia de CTSL en muestras de pacientes

Como resultado de los análisis realizados, la CTSL se ha evidenciado como una proteasa central en la progresión del glioblastoma, considerando que sus altos niveles de expresión y abundancia en muestras de glioblastoma en comparación con el tejido de cerebro saludable. Además, altos niveles de expresión de CTSL se asocian con una menor supervivencia en comparación con aquellos pacientes que tienen bajos niveles de expresión de CTSL como se puede ver en la figura 39.

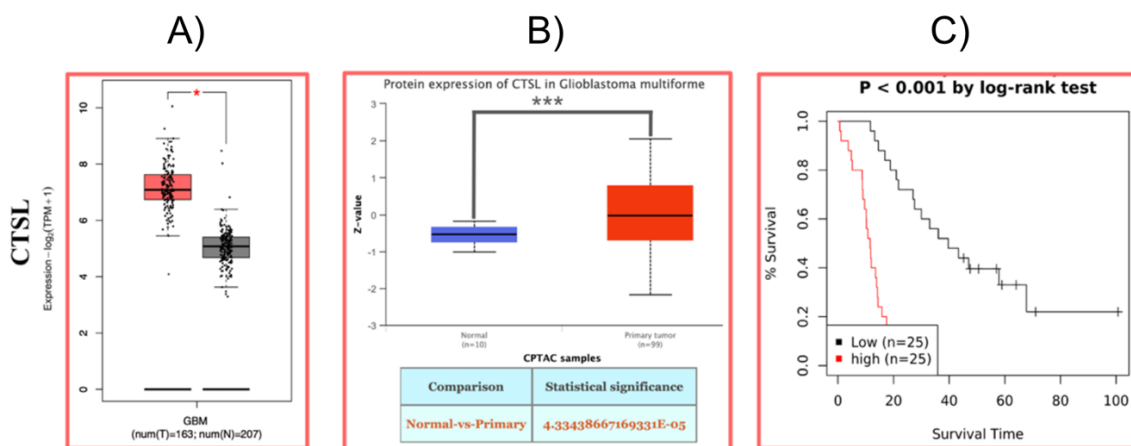


Figura 39. Los resultados de la CTSL en muestras de pacientes con glioblastoma. A) La CTSL está desregulada su expresión en glioblastoma con respecto al tejido sano. B) La CTSL está desregulada su abundancia proteica en glioblastoma con respecto al tejido sano. C) La CTSL al estar en altos niveles en pacientes con glioblastoma promueve una peor supervivencia. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***)

Además, dado que la CTSL fue una de las proteasas que resultó ser modulada por IFN- γ se decidió estudiarla de manera particular. Para ello, se investigó su localización subcelular mediante una predicción bioinformática y se corroboró mediante inmunofluorescencia.

5.2 Predicción de la localización subcelular de CTSL

A la CTSL se le investigó su localización subcelular en PSORT. En la figura 40 se puede ver de manera gráfica la probabilidad de localización subcelular de la proteasa.

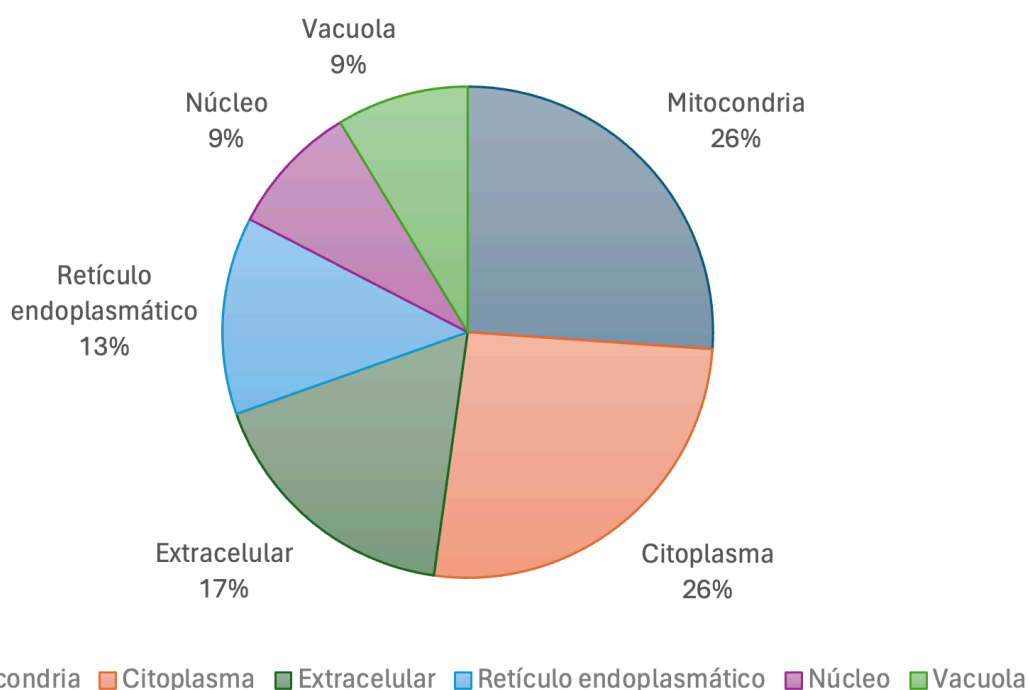


Figura 40. Predicción de la localización subcelular de la CTSL. El análisis bioinformático de la localización subcelular nos demuestra que la CTSL puede encontrarse mayormente en el citoplasma y la mitocondria, mientras que el núcleo, las vacuolas tiene la probabilidad la CTSL más baja de encontrarse.

Los resultados de la predicción de localización subcelular indican que la CTSL puede estar en un 26% en mitocondria, 26% en citoplasma, 17% en el espacio extracelular, 13% en retículo endoplasmático, 9% en núcleo y 9% en vacuolas.

5.3 La distribución subcelular de CTSL en células de glioblastoma.

La localización subcelular de la CTSL se determinó experimentalmente mediante inmunofluorescencia. En la figura 41 se muestra el resultado de una inmunofluorescencia dirigida para la detección de CTSL.

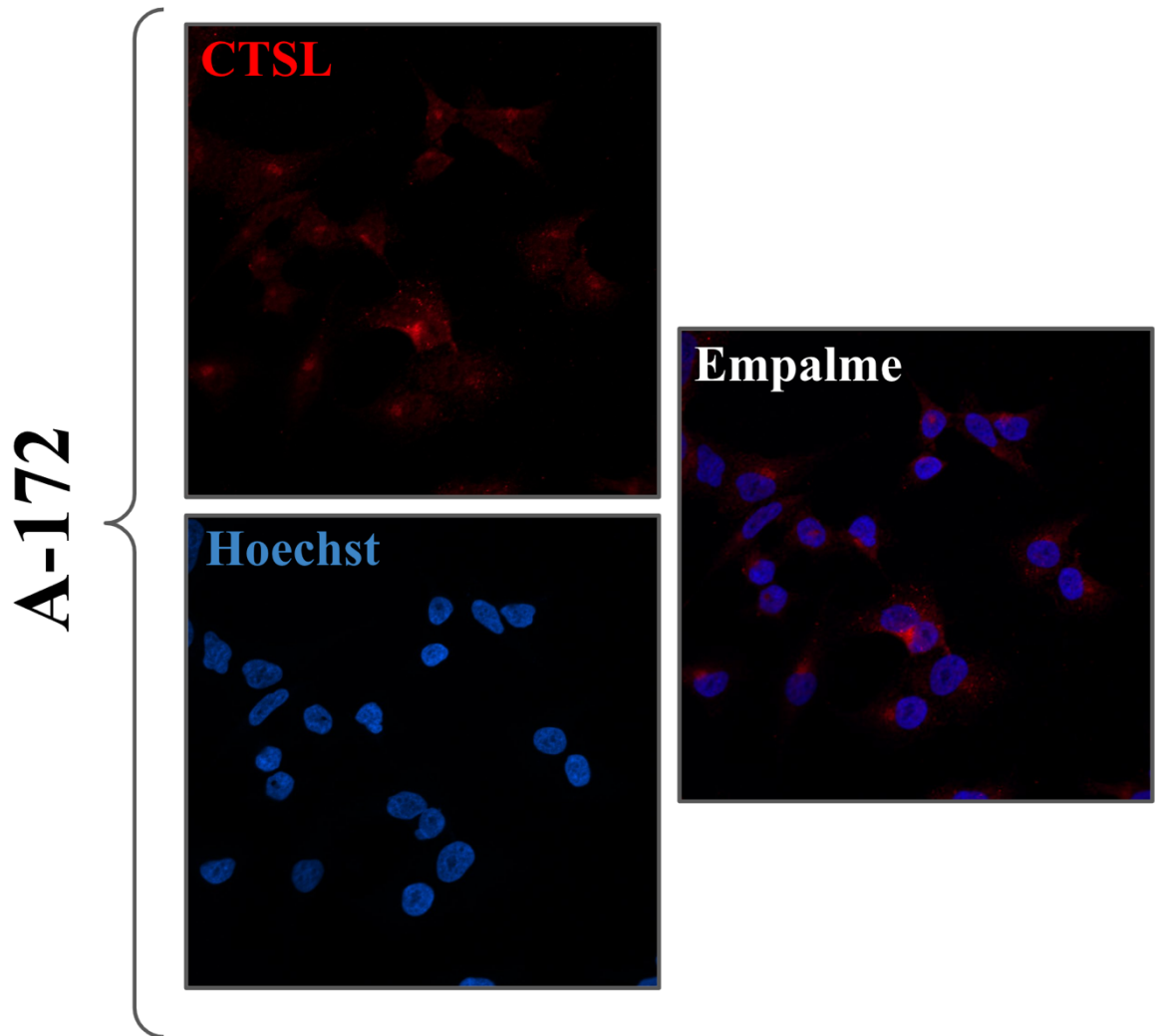


Figura 41. Localización de CTSL en línea celular A-172 de glioblastoma. La proteasa CTSL se observa en color rojo y se localiza mayormente en el citoplasma. Para la inmunofluorescencia se utilizó anti-CTSL y el anticuerpo secundario Alexa Fluor 647, para la tinción nuclear se utilizó Hoechst que se puede ver en azul.

Los resultados de la inmunofluorescencia dirigida a CTSL nos demuestran que esta proteína se encuentra localizada principalmente en compartimentos extranucleares en las células A-172 de glioblastoma, como se muestra en la figura 41.

Con base en los resultados de la predicción de la localización de CTSL, se realizó un ensayo de inmunofluorescencia utilizando un marcador específico de mitocondria. De esta forma se evaluó la distribución mitocondrial de CTSL, resultando en una discreta colocalización de la CTSL en este compartimento, como se puede observar en la figura 42.

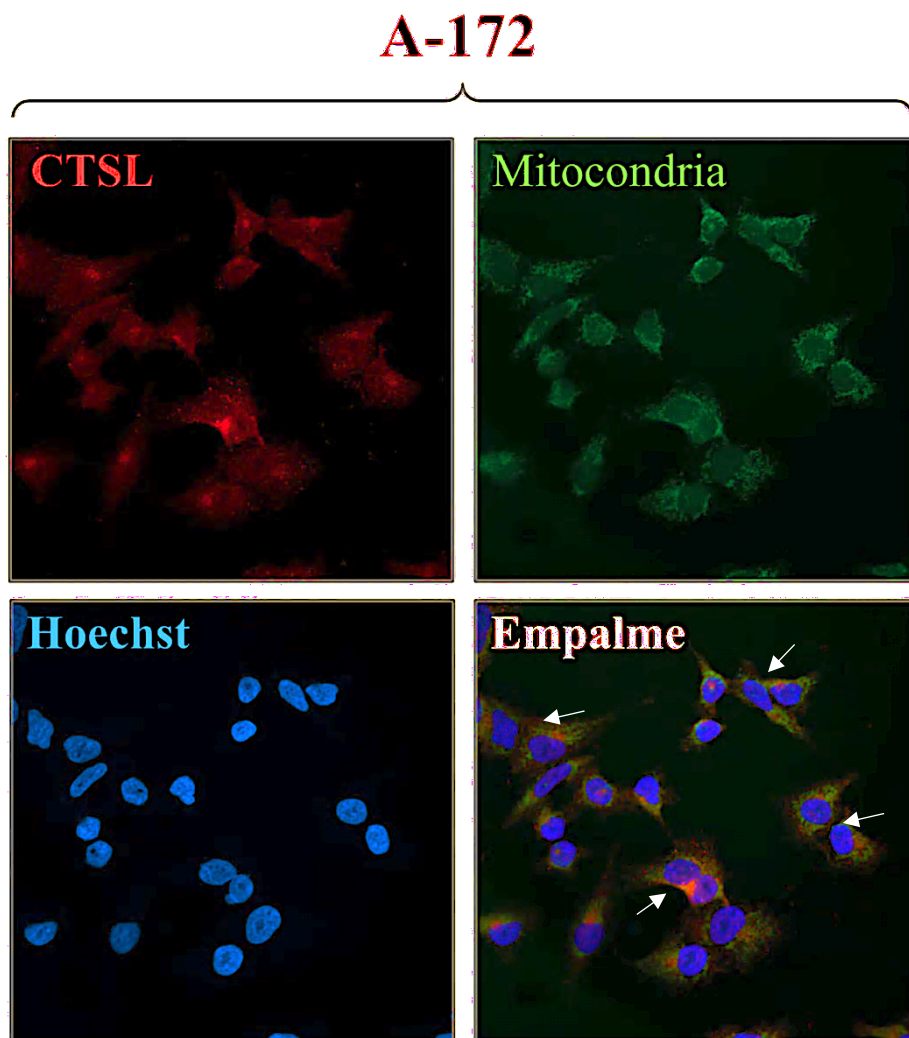


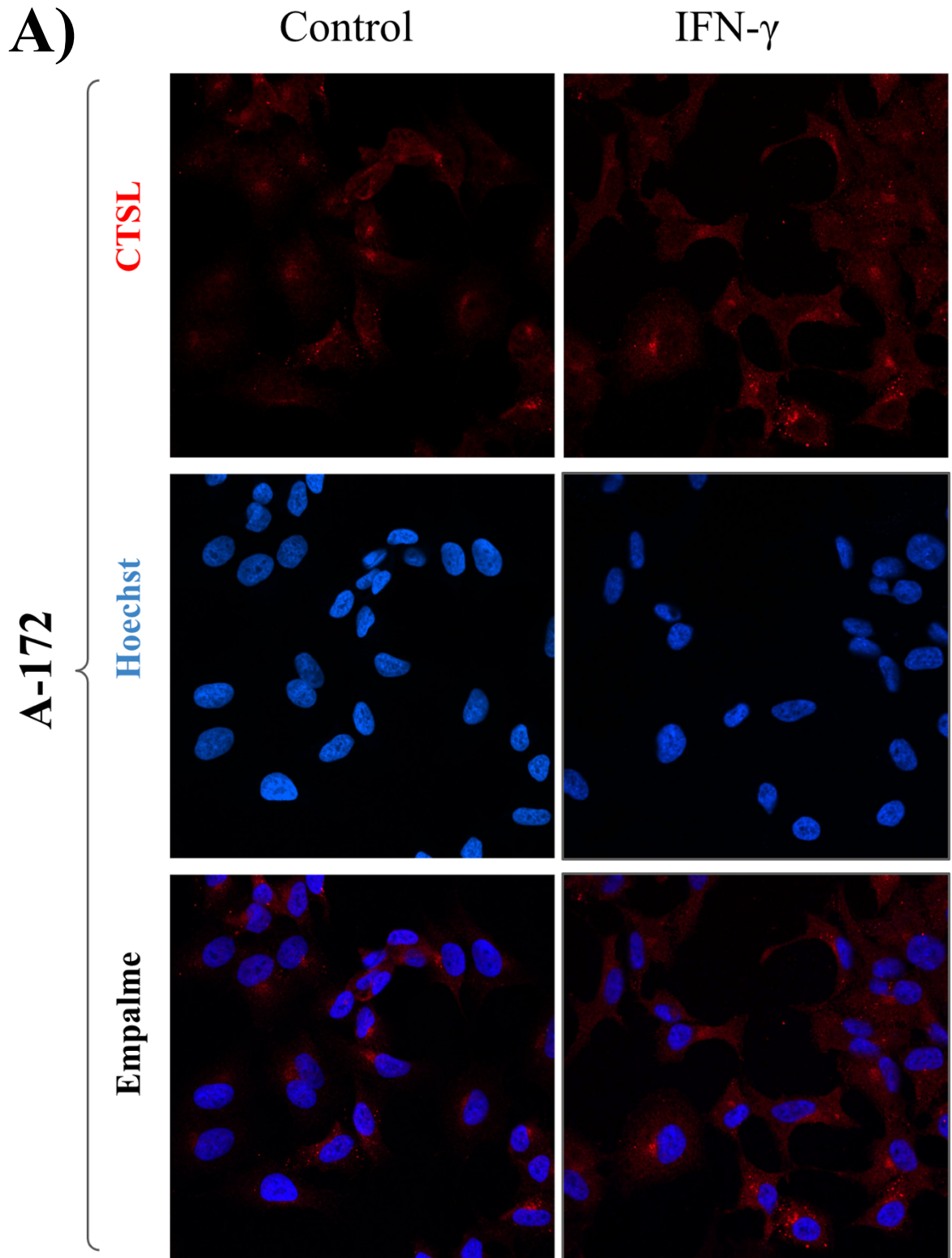
Figura 42. Colocalización de CTSL y marcadores mitocondriales. La proteasa CTSL se observa en color rojo y se localiza mayormente en el citoplasma, sin embargo, se puede colocalizar en mitocondria. Inmunofluorescencia se utilizó anti-CTSL, el anticuerpo secundario Alexa Fluor 647, para la tinción nuclear se utilizó Hoechst que se puede ver en azul y para la mitocondria se utilizó MitoTracker. Se señala con flechas blancas su colocalización de CTSL.

Los resultados de la inmunofluorescencia dirigida a CTSL nos indica que su localización está principalmente en compartimentos extranucleares y se puede encontrar en menor medida en la mitocondria.

5.4 Efecto de la señalización del IFN- γ sobre la distribución subcelular de CTSL en células de glioblastoma.

Una vez que se identificó que CTSL se localiza principalmente en el citoplasma y que puede también estar presente en la mitocondria, se analizó si el estímulo con el IFN- γ podría conducir a una mayor detección de la proteasa CTSL y cambios en su localización subcelular.

En la figura 43 se puede observar dos inmunofluorescencias en la línea celular A-172 de glioblastoma, con y sin estímulo de IFN- γ , donde se puede ver la localización de CTSL.



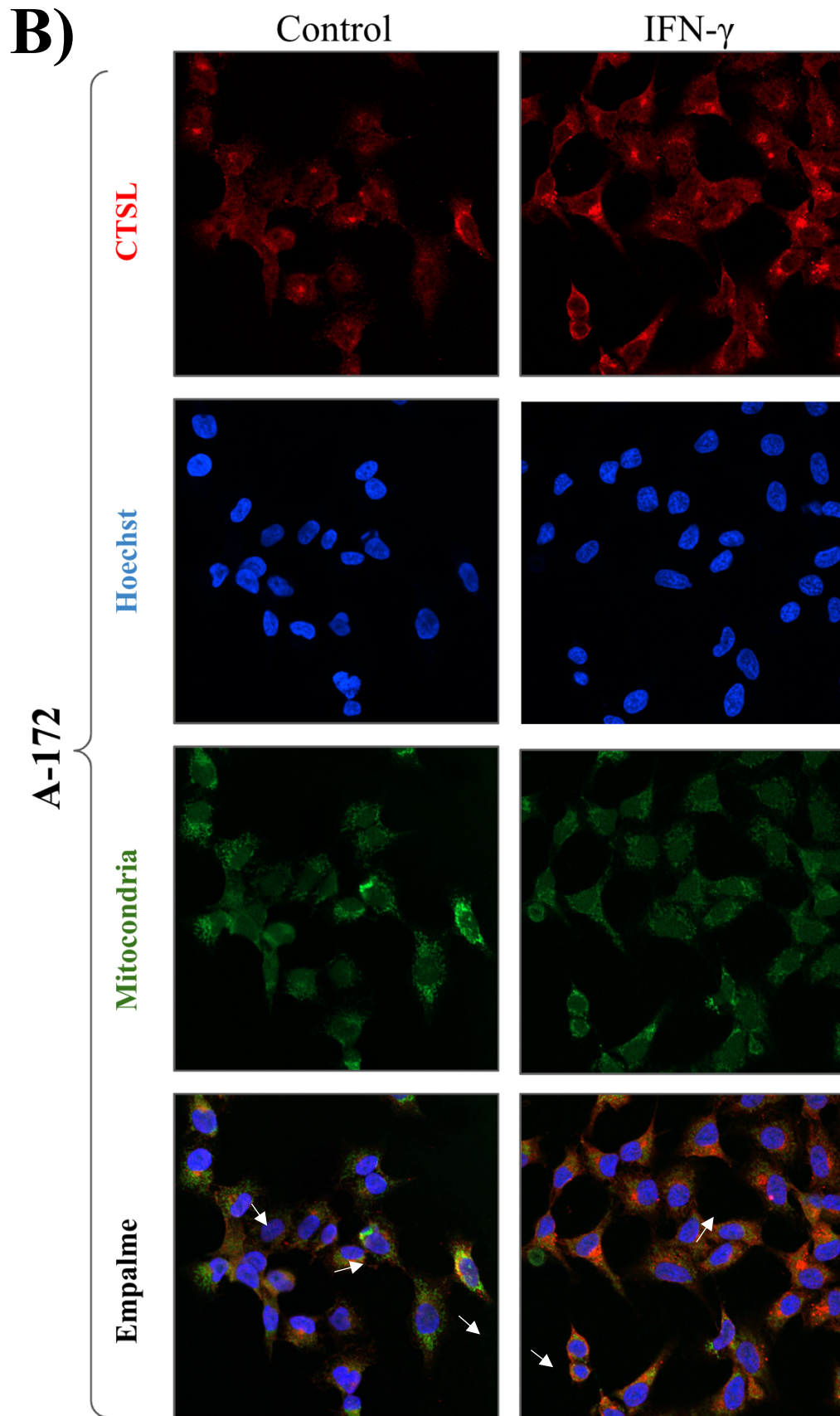


Figura 43. Localización subcelular de CTSL en células de glioblastoma estimuladas con y sin IFN- γ . La inmunofluorescencia dirigida a CTSL en la línea celular A-172 con y sin estimulación del IFN- γ . **A)** CTSL se puede ver en un color rojo, el núcleo con Hoechst de color azul. **B)** CTSL se puede ver en un color rojo, el núcleo con Hoechst de color azul y la mitocondria se tiñó con MitoTracker en color verde. Se señala en flechas blancas su colocalización de CTSL.

En la figura 43A, se puede observar mayor detección de proteína CTSL en el compartimento citoplasmático de las células de glioblastoma tratadas con IFN- γ en comparación con las células control. En la figura 43B se observa que IFN- γ incrementa los niveles de CTSL en el citoplasma y en mitocondria. Además, el IFN- γ no afecta la distribución subcelular de CTSL. Por lo tanto, estos muestran una asociación entre el IFN- γ y un incremento en los niveles de la proteína CTSL en compartimentos extranucleares, incluyendo la mitocondria, sin afectar su dinámica de distribución subcelular.

Una vez que se identificó que CTSL aumenta su abundancia proteica con el estímulo con el IFN- γ en las células A-172, se analizó en las células U-373 la localización de CTSL y de pSTAT con y sin estímulo de IFN- γ y la presencia de CTSL. Las células U-373 son también derivadas de glioblastoma, se están empezando a utilizar como otro modelo de estudio en nuestro equipo de trabajo. La presencia de pSTAT sugiere que la vía de señalización del IFN- γ se encuentra activa en estas células después de la estimulación con dicho interferón. En la figura 44, se puede observar una detección similar de CTSL en comparación a las anteriores inmunofluorescencias. Por otro lado, se puede ver una mayor detección de pSTAT en el núcleo de las células de glioblastoma tratadas con IFN- γ en comparación con las células

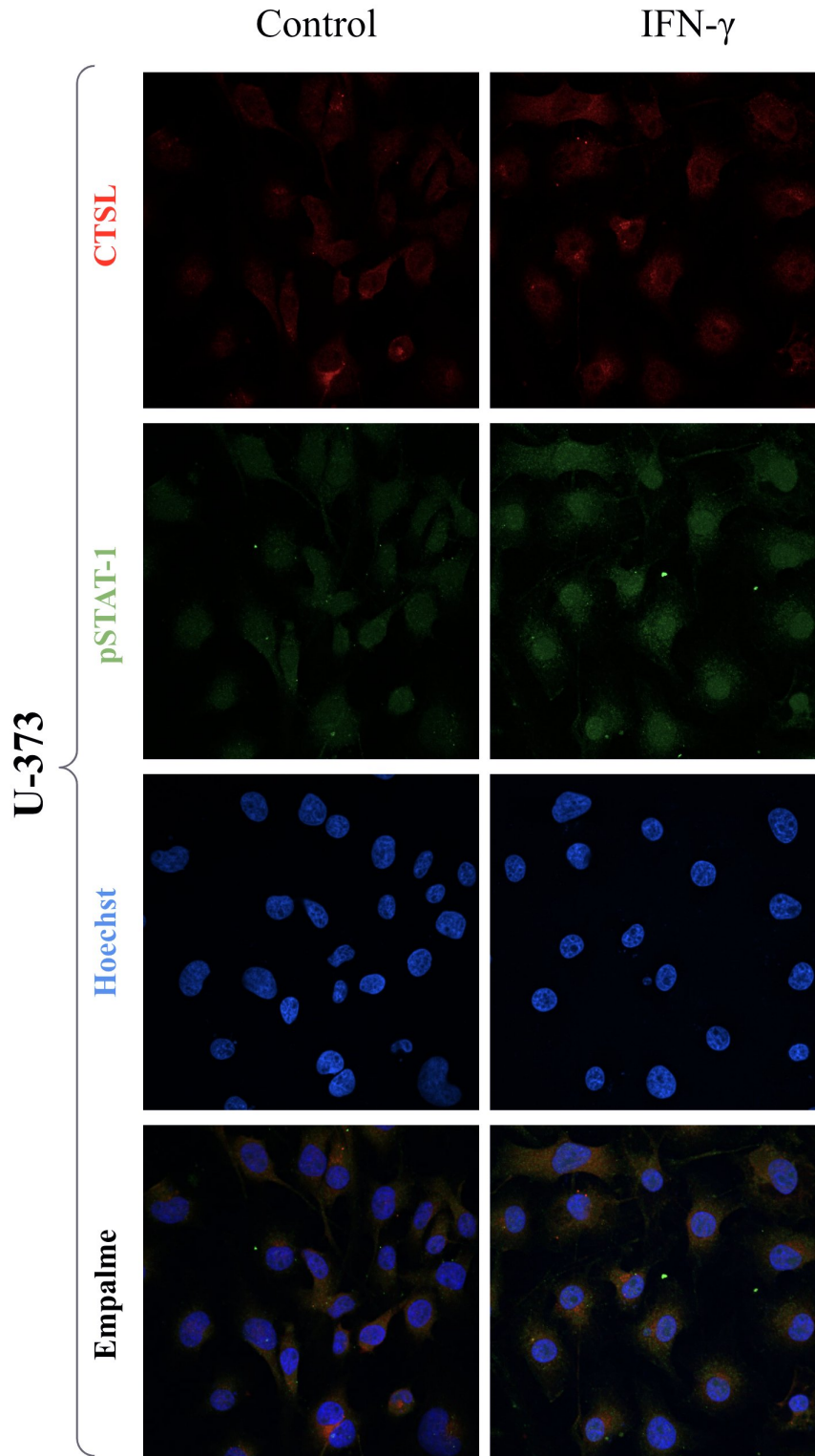


Figura 44. Localización subcelular de pSTAT y CTSL en células de glioblastoma estimuladas con y sin IFN- γ . La inmunofluorescencia dirigida a pSTAT y CTSL en la línea celular U-373 con y sin estimulación de IFN- γ . pSTAT se puede ver en verde. CTSL se puede ver en rojo. El núcleo con Hoechst en azul. El palme se puede ver en color cian.

X. Discusión

El interferón IFN- γ es una citocina proinflamatoria con una función dual en cáncer, mostrando efectos tanto pro-tumorales como anti-tumorales dependiendo del contexto y tipo de tejido tumoral involucrado (Salas *et al*, 2023). En glioblastoma, los elementos de la vía del IFN- γ están incrementados con respecto al tejido sano, sugiriendo un impacto pro-tumoral mediado por mecanismos que incluyen un incremento en la expresión de miRNAs y genes pro-tumor (Zamora *et al*, 2023; Pérez, 2023). En el presente estudio se determinó que la migración de la línea celular A-172, derivada de glioblastoma, se incrementa bajo la estimulación con IFN- γ , apoyando la hipótesis de su efecto pro-tumoral en este contexto. Este hallazgo subraya el potencial del IFN- γ como un mediador clave en la progresión del glioblastoma y justifica la necesidad de explorar sus mecanismos moleculares específicos.

Las proteasas desempeñan roles críticos en la progresión del cáncer, participando en procesos como el escape inmunológico, la proliferación, la invasión y la regulación de vías de señalización aberrantes (Habič *et al*, 2021). Sin embargo, la influencia de la vía del IFN- γ en la expresión y actividad de proteasas específicas en glioblastoma no ha sido plenamente aclarada. En nuestro estudio, se identificaron 35 proteasas involucradas en cáncer, de las cuales 16 mostraron una expresión génica desregulada en muestras de glioblastoma en comparación con tejido sano. Las proteasas que aumenta su expresión son: CTSB, MMP9, MMP2, CTSD, CTSS, ADAM9, CTSC, CTSL, CTSZ, PSEN1, PLAU y MMP7, mientras que KLK5, KLK7, ADAMTS13 y PRTN3 mostraron una expresión reducida. Este análisis significativo proporciona una base para identificar proteasas específicas que podrían servir como posibles biomarcadores y/o blancos terapéuticos en glioblastoma.

El análisis de la abundancia proteica en muestras de pacientes reveló que 11 de estas proteasas también mostraron cambios significativos, con un incremento en la abundancia de CTSB, CTSZ, PLAU, CTSC, CTSS, ADAM9, MMP2, MMP7, MMP9, PSEN1 y CTSL. Esto indica una correlación significativa entre la desregulación de la expresión génica y proteica contribuyendo un perfil de proteasas bien definido presente en glioblastoma. Además, el análisis de supervivencia mostró que, de las 16 proteasas desreguladas, 10 tienen un impacto

significativo en la supervivencia de los pacientes con glioblastoma. Altos niveles de ADAM9, CTSZ, CTSB, MMP7, CTSC, CTSL, MMP9 y PLAU se asocian con un pronóstico negativo, mientras que altos niveles de KLK5 y PSEN1 se correlacionan con una supervivencia favorable. Estos hallazgos radican en su potencial para influir en el desarrollo de estrategias de pronóstico y de tratamiento basadas en el perfil de expresión de proteasas.

La influencia del IFN- γ en la regulación de proteasas es un área emergente de interés. Estudios previos han demostrado que el IFN- γ puede modular negativamente la expresión de MMP-9 y positivamente la de MMP-3 y MMP-1, MMP7 en otros contextos celulares (Nguyen *et al*, 2005; Vu *et al*, 2019). Asimismo, en nuestro grupo de investigación se identificó mediante un microarreglo de cDNA, que CTSC incrementa sus niveles de expresión en células de glioblastoma tratadas con IFN- γ (Pérez, 2023). En el presente estudio, se investigó la correlación entre las proteasas desreguladas y los elementos de la vía del IFN- γ en muestras de glioblastoma, identificándose una correlación significativa para CTSC, CTSL, CTSB, CTSS, CTSD, CTSZ, PLAU y ADAM9, lo que sugiere una posible regulación transcripcional mediada por IFN- γ .

Además, un análisis bioinformático predijo que 22 de las 35 proteasas tienen sitios promotores que pueden ser regulados por factores de transcripción vinculados a la vía del IFN- γ . El análisis experimental a través de microarreglos de proteínas reveló que la expresión de CTSL y KLK10 se incrementa en el medio extracelular, mientras que MMP3 y PRTN3 disminuyen bajo la influencia de IFN- γ . En el extracto total de proteínas, se observó un aumento en la expresión de CTSL, KLK10, KLK3 y ADAMTS13, y una reducción en MMP3, MMP7, KLK7, CTSV y PCSK9. Es interesante cómo al agregar IFN- γ al medio, incrementó la abundancia de las proteasas CTSL, KLK10, KLK3 y ADAMTS13, y disminuyó la abundancia de las proteasas MMP3, PRTN3, MMP7, KLK7, CTSV y PCSK9; sin embargo, se tiene que investigar particularmente a cada una de ellas para confirmar su modulación por medio del IFN- γ , con metodologías como Western blot para las proteasas intracelulares y enzimoanálisis de adsorción (ELISA) para las proteasas extracelulares, además de estudiar su participación en el contexto del glioblastoma.

Este análisis es crucial, ya que sugiere que el IFN- γ puede modular la actividad de algunas proteasas en glioblastoma, y que este eje de regulación de IFN- γ y proteasas sea un potencial blanco terapéutico. No obstante, es necesario realizar más estudios para confirmar el rol molecular específico de cada proteasa y que la vía canónica del IFN- γ las modula desde el nivel transcripcional.

Las funciones de las proteasas son diversas, en el caso de KLK10 desempeña roles duales en el cáncer, ya que actúa como supresor en cáncer de mama, próstata, pulmón y renal, y como promotor en cáncer de ovario, pancreático y oral. Sin embargo, su papel en el glioblastoma no está estudiado (Michael *et al*, 2005; Li *et al*, 2015; Luo *et al*, 2003; Li *et al*, 2001; Bin *et al*, 2011). La CTSL participa en el catabolismo y procesos patológicos, promoviendo la proliferación celular en glioblastoma, y su inhibición induce apoptosis (Zhang *et al*, 2023; Dong *et al*, 2022). MMP3 facilita la invasión tumoral y la transición epitelio-mesénquima, siendo clave en el crecimiento del glioblastoma (Polz *et al*, 2024; Yu *et al*, 2021). PRTN3, es una proteasa involucrada en procesos inflamatorios y degradación de proteínas de la MEC, se asocia a mal pronóstico en cáncer, aunque su papel en glioblastoma es incierto (Hu *et al*, 2019; Zeng *et al*, 2023).

La proteasa KLK3 es un biomarcador en cáncer de próstata, en el caso del glioblastoma estudios proponen que pudiera estar relacionado a través del receptor de andrógenos (Lovell *et al*, 2021; Pellegrino *et al*, 2021; Chang *et al*, 2020). MMP7 degrada componentes de la MEC y facilita angiogénesis, crecimiento tumoral e invasión, sugiriendo su implicación en la progresión maligna del glioblastoma (Keles *et al*, 2014; Hagemann *et al*, 2012). KLK7, desregulada en varios cánceres, y CTSV, sobreexpresada en varios tumores, tienen roles poco claros en glioblastoma (Ovaere *et al*, 2009; Caubet *et al*, 2004; Talieri *et al*, 2004; Dong *et al*, 2003; Johnson *et al*, 2007; Rezza *et al*, 2011; Santin *et al*, 2004; Song *et al*, 2021). ADAMTS13 modula la coagulación e influye en la migración celular en glioblastoma (Matsumoto *et al*, 2021; Lee *et al*, 2013). PCSK9, involucrada en el metabolismo del colesterol, tiene una relación incierta con la malignidad del glioblastoma (Glerup *et al*, 2017; Mahboobnia *et al*, 2021; Liu *et al*, 2020). Finalmente, PRTN3, asociada a la invasión celular en otros cánceres, tiene un papel no definido en glioblastoma (Furuya *et al*, 2024).

El análisis del interactoma de las proteasas reveló que CTSL, CTSV, MMP7, ADAMTS13, MMP3 y KLK3 mostraron interacciones entre sí, sugiriendo su participación en una red proteolítica que podría ser crucial para la progresión del glioblastoma. Sin embargo, es fundamental realizar más estudios para confirmar estas interacciones y entender los mecanismos moleculares, ya sea que estas proteasas interactúen, o compartan rutas moleculares. De manera interesante, en este análisis se sugiere que el fármaco bicalutamida, utilizado en el tratamiento del cáncer de próstata, podría afectar el interactoma de estas proteasas. Similarmente, los efectos de otros fármacos en diferentes tipos de cáncer, incluyendo glioblastoma, podrían ser influenciados por la expresión y actividad de proteasas moduladas por IFN- γ , pero más estudios son requeridos al respecto.

El presente estudio se enfocó en CTSL, considerando los resultados, esta proteasa mostró altos niveles de expresión génica y proteica en muestras de pacientes con glioblastoma en comparación con tejido sano, y su desregulación se correlaciona con un peor pronóstico en términos de supervivencia. Estudios previos han demostrado que CTSL promueve la proliferación de células U251 de glioblastoma (Dong *et al*, 2022). En adición, CTSL no solo está involucrada en la progresión tumoral, sino que también se ha asociado con diferentes enfermedades neurodegenerativas, incluidas la enfermedad de Parkinson, atrofia multisistémica, demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, lipofuscinosis ceroides, neuronal tipo 10, enfermedad de Gaucher y enfermedades priónicas (Drobny *et al*, 2022). Además, el microarreglo de proteínas indicó que el IFN- γ estimula la abundancia de CTSL, sugiriendo un posible efecto pro-tumoral de esta citocina en glioblastoma. Asimismo, CTSL es una cisteína proteasa que generalmente se encuentra en el espacio intracelular (Drobny *et al*, 2022). Sin embargo, en el microarreglo hubo una inmunodetección de CTSL en el medio extracelular lo que sugiere una posible relación con su función pro-tumoral. La inmunofluorescencia dirigida a CTSL confirmó que el IFN- γ incrementa sus niveles y mostró una colocalización en el citoplasma y en la mitocondria, sin afectar el estímulo su distribución subcelular. Estos hallazgos indican la relevancia funcional que CTSL podría tener intracelular y extracelularmente en el contexto de glioblastoma. Particularmente, la detección de CTSL a nivel extracelular, abre la posibilidad de utilizar CTSL como un posible biomarcador en biopsias líquidas, especialmente en sangre, ya que en otros

estudios enfocados en cáncer de vesícula han determinado que la CTSL se puede detectar incrementada en sangre (Mehra *et al*, 2019), lo que permitiría en glioblastoma un diagnóstico menos agresivo y más accesible para los pacientes. Sin embargo, se requiere una investigación más profunda para sustentar la trascendencia de CTSL en el medio extracelular en glioblastoma.

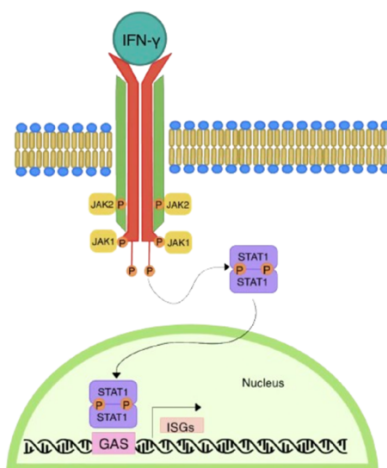
Por otro lado, las terapias que incluyen inhibidores de proteasas son complejas debido a sus efectos secundarios (Habič *et al*, 2021). La modulación de proteasas mediante la regulación de la concentración de IFN- γ podría ofrecer una alternativa menos agresiva y potencialmente más específica. No obstante, es crucial reconocer que aún se requiere investigar más sobre cada una de estas proteasas, así como su regulación por medio del IFN- γ , para comprender mejor sus mecanismos moleculares y confirmar su relevancia como biomarcadores y blancos terapéuticos.

En el presente estudio se resalta la complejidad de la regulación de proteasas en el glioblastoma y su interacción con la vía del IFN- γ . La identificación de proteasas clave y su modulación por IFN- γ proporciona una base para futuras investigaciones dirigidas a comprender mejor los mecanismos moleculares subyacentes y desarrollar estrategias terapéuticas potenciales para el tratamiento del glioblastoma. La comprensión detallada de cómo el IFN- γ regula estas proteasas y su impacto en la progresión tumoral puede abrir nuevas vías para intervenciones terapéuticas más efectivas y menos agresivas, subrayando la importancia de continuar investigando en esta dirección. El modelo propuesto con base en los resultados obtenidos se puede ver gráficamente en la figura 45.

Tejido sano



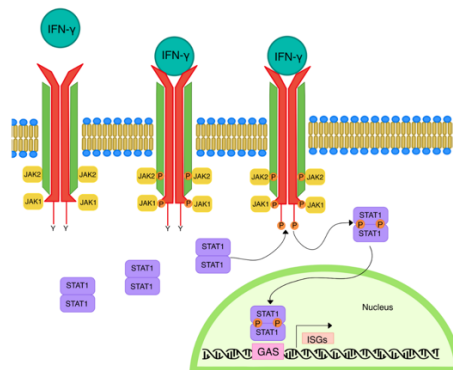
CTSB	MMP2
CTSZ	MMP7
PLAU	MMP9
CTSC	PSEN1
CTSS	CTSL
ADAM9	CTSD



Glioblastoma



CTSB	MMP2
CTSZ	MMP7
PLAU	MMP9
CTSC	PSEN1
CTSS	CTSL
ADAM9	CTSD



CTSL ↑

KLK10	MMP3
KLK3	PRTN3
ADAMTS13	MMP7
PCSK9	KLK7
	CTSV

Efecto protumoral

- Proliferación
- Metástasis
- Angiogénesis
- Invasión

Figura 45. Modelo propuesto sobre la regulación de la expresión de la proteasa por IFN- γ . En la parte superior izquierda, se observa el tejido sano, mientras que en la parte superior derecha se muestra la vía del IFN- γ en el tejido normal. En la parte inferior izquierda, se representa el tejido de glioblastoma, donde se destaca una firma de proteasas. En el lado inferior derecho, se ilustra la modulación de la CTSL a través de la vía del IFN- γ que cuenta con un incremento en sus elementos de su vía en glioblastoma. Además, se muestran en letras negras a las 9 proteasas que también son moduladas por este estímulo, sin embargo, el presente trabajo se centró en la CTSL. En la parte inferior se incluye un cuadro que detalla los posibles efectos protumorales de la CTSL.

XI. Conclusiones

1. Se identificó un perfil de proteasas, las cuales son: CTSB, CTSZ, PLAU, CTSC, CTSS, ADAM9, MMP2, MMP7, MMP9, PSEN1, CTSL y CTSD, que están desreguladas en glioblastoma con respecto al tejido normal. Altos niveles de las proteasas ADAM9, CTSZ, CTSB, MMP7, CTSC, CTSL, MMP9 y PSEN1 están relacionados con una menor supervivencia en glioblastoma
2. Las proteasas MME, MMP1, MMP2, CTSZ, PSEN1, MMP8, MMP9, CTSS, MMP10, DPP4, PLAU, ADAMTS1, ADAM9, ADAM8, CTSD, CTSC, y CTSB podrían ser moduladas desde el nivel transcripcional por la vía del IFN- γ .
3. El estímulo de IFN- γ aumenta la migración de las células A-172 derivadas de glioblastoma.
4. El estímulo de IFN- γ modula la abundancia proteica de las proteasas CTSL, KLK10, MMP3, KLK3, MMP7, KLK7, CTSV, ADAMTS13, PCSK9, PRTN3.
5. La CTSL es una proteasa involucrada en la progresión del glioblastoma. El estímulo de IFN- γ aumenta su abundancia y no modifica su localización, la cual se encuentra mayormente en el citoplasma y las mitocondrias.

XII. Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se sugieren las siguientes perspectivas:

- Evaluar el efecto, la actividad funcional y el interactoma de las proteasas en células derivadas de glioblastoma.
- Evaluar el efecto del IFN- γ sobre la expresión génica y la abundancia proteica de las proteasas en células derivadas de glioblastoma.
- Analizar el efecto del IFN- γ en diferentes tiempos de exposición en la expresión de las proteasas.
- Identificar la dependencia de la expresión de las proteasas mediante la vía canónica del IFN- γ en células derivadas de glioblastoma.

XIII. Bibliografía

1. Aguilera-Márquez, J., de Dios-Figueroa, G. T., Reza-Saldivar, E. E., Camacho-Villegas, T. A., Canales-Aguirre, A. A., & Lugo-Fabres, P. H. (2022). *Biomaterials: Emerging systems for study and treatment of glioblastoma. Neurology Perspectives*, 2, S31-S42.
2. Alegría-Loyola, M. A., Galnares-Olalde, J. A., & Mercado, M. (2017). Tumores del sistema nervioso central [Tumors of the central nervous system]. *Revista medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 55(3), 330–340.
3. Almeida, L. G. N., Thode, H., Eslambolchi, Y., Chopra, S., Young, D., Gill, S., Devel, L., & Dufour, A. (2022). Matrix Metalloproteinases: From Molecular Mechanisms to Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacological reviews*, 74(3), 712–768. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000349>
4. Arango-Dávila, C. A., & Pimienta, H. J. (2004). El cerebro: de la estructura y la función a la psicopatología: Primera parte: Bloques funcionales. *Revista colombiana de psiquiatría*, 33, 102-125.
5. Bach, E. A., Aguet, M., & Schreiber, R. D. (1997). The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual review of immunology*, 15, 563–591. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.563>
6. Bararia, D., Hildebrand, J. A., Stolz, S., Haebe, S., Alig, S., Trevisani, C. P., Osorio-Barrios, F., Bartoschek, M. D., Mentz, M., Pastore, A., Gaitzsch, E., Heide, M., Jurinovic, V., Rautter, K., Gunawardana, J., Sabdia, M. B., Szczepanowski, M., Richter, J., Klapper, W., Louissaint, A., Jr, ... Weigert, O. (2020). Cathepsin S Alterations Induce a Tumor-Promoting Immune Microenvironment in Follicular Lymphoma. *Cell reports*, 31(5), 107522. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107522>
7. Barrett A. J. (2001). Proteases. *Current protocols in protein science*, Chapter 21, . <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps2101s21>
8. Bea, M. (1999). *El Sistema Nervioso*.
9. Berchem, G., Glondu, M., Gleizes, M., Brouillet, J. P., Vignon, F., Garcia, M., & Liaudet-Coopman, E. (2002). Cathepsin-D affects multiple tumor progression steps in vivo: proliferation, angiogenesis and apoptosis. *Oncogene*, 21(38), 5951–5955. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205745>
10. Bhat, M. Y., Solanki, H. S., Advani, J., Khan, A. A., Keshava Prasad, T. S., Gowda, H., Thiyagarajan, S., & Chatterjee, A. (2018). Comprehensive network map of interferon gamma signaling. *Journal of cell communication and signaling*, 12(4), 745–751. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0486-y>
11. Bi, Y., Zheng, R., Hu, J., Shi, R., Shi, J., Wang, Y., Wang, P., Jiang, W., Kim, G., Liu, Z., Li, X., & Lin, L. (2023). A novel FGFR1 inhibitor CYY292 suppresses tumor progression, invasion, and metastasis of glioblastoma by inhibiting the Akt/GSK3β/snail signaling axis. *Genes & diseases*, 11(1), 479–494. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.035>
12. Bin, L., Kim, B. E., Hall, C. F., Leach, S. M., & Leung, D. Y. (2011). Inhibition of transcription factor specificity protein 1 alters the gene expression profile of keratinocytes leading to upregulation of

- kallikrein-related peptidases and thymic stromal lymphopoietin. *The Journal of investigative dermatology*, *131*(11), 2213–2222. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.202>
13. Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., & Howard, J. C. (1997). Cellular responses to interferon-gamma. *Annual review of immunology*, *15*, 749–795. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.749>
 14. Cabrera, A. R., Kirkpatrick, J. P., Fiveash, J. B., Shih, H. A., Koay, E. J., Lutz, S., Petit, J., Chao, S. T., Brown, P. D., Vogelbaum, M., Reardon, D. A., Chakravarti, A., Wen, P. Y., & Chang, E. (2016). Radiation therapy for glioblastoma: Executive summary of an American Society for Radiation Oncology Evidence-Based Clinical Practice Guideline. *Practical radiation oncology*, *6*(4), 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.prro.2016.03.007>
 15. Castro, F., Cardoso, A. P., Gonçalves, R. M., Serre, K., & Oliveira, M. J. (2018). Interferon-Gamma at the Crossroads of Tumor Immune Surveillance or Evasion. *Frontiers in immunology*, *9*, 847. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00847>
 16. Caubet, C., Jonca, N., Brattsand, M., Guerrin, M., Bernard, D., Schmidt, R., Egelrud, T., Simon, M., & Serre, G. (2004). Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *The Journal of investigative dermatology*, *122*(5), 1235–1244. <https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.22512.x>
 17. Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, Creighton CJ, Rodriguez IP, Chakravarthi BVSK and Varambally S. UALCAN: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses. *Neoplasia*. 2017 Aug;19(8):649-658. doi: 10.1016/j.neo.2017.05.002 [PMID:28732212]
 18. Chang, J. S., Kim, N., Kim, J. Y., Do, S. I., Cho, Y., Kim, H. S., & Kim, Y. B. (2020). Kallikrein 5 overexpression is associated with poor prognosis in uterine cervical cancer. *Journal of gynecologic oncology*, *31*(6), e78. <https://doi.org/10.3802/jgo.2020.31.e78>
 19. Chang, K. F., Huang, X. F., Chang, J. T., Huang, Y. C., Weng, J. C., & Tsai, N. M. (2020). Cedrol suppresses glioblastoma progression by triggering DNA damage and blocking nuclear translocation of the androgen receptor. *Cancer letters*, *495*, 180–190. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.09.007>
 20. Chen, D., Frezza, M., Schmitt, S., Kanwar, J., & Dou, Q. P. (2011). Bortezomib as the first proteasome inhibitor anticancer drug: current status and future perspectives. *Current cancer drug targets*, *11*(3), 239–253. <https://doi.org/10.2174/156800911794519752>
 21. Chen, G., Sun, J., Xie, M., Yu, S., Tang, Q., & Chen, L. (2021). PLAU Promotes Cell Proliferation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in genetics*, *12*, 651882. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.651882>
 22. Cheng, X., Ren, Z., Liu, Z., Sun, X., Qian, R., Cao, C., Liu, B., Wang, J., Wang, H., Guo, Y., & Gao, Y. (2022). Cysteine cathepsin C: a novel potential biomarker for the diagnosis and prognosis of glioma. *Cancer cell international*, *22*(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02417-6>
 23. Chou, C. L., Chen, T. J., Tian, Y. F., Chan, T. C., Yeh, C. F., Li, W. S., Tsai, H. H., Li, C. F., & Lai, H. Y. (2021). CTSE Overexpression Is an Adverse Prognostic Factor for Survival among Rectal Cancer Patients Receiving CCRT. *Life (Basel, Switzerland)*, *11*(7), 646. <https://doi.org/10.3390/life11070646>

24. Chou, C. W., Huang, Y. K., Kuo, T. T., Liu, J. P., & Sher, Y. P. (2020). An Overview of ADAM9: Structure, Activation, and Regulation in Human Diseases. *International journal of molecular sciences*, *21*(20), 7790. <https://doi.org/10.3390/ijms21207790>
25. Collins, G. A., & Goldberg, A. L. (2017). The Logic of the 26S Proteasome. *Cell*, *169*(5), 792–806. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.023>
26. Colonne, C. K., Favaloro, E. J., & Pasalic, L. (2022). The Intriguing Connections between von Willebrand Factor, ADAMTS13 and Cancer. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, *10*(3), 557. <https://doi.org/10.3390/healthcare10030557>
27. Contreras, L. (2017). EPIDEMIOLOGÍA DE TUMORES CEREBRALES. *Revista Médica Clínica Las Condes*, *28*(3), 332–338
28. Cubo, T., Hernández Calvo, J., Padilla, D., Ortega, G., Ramia, J. M., Pardo, R., ... & López, A. (2000). Biología molecular del proceso metastásico del cáncer colorrectal. *Cir. Esp.(Ed. impr.)*, 577-587.
29. Dapash, M., Hou, D., Castro, B., Lee-Chang, C., & Lesniak, M. S. (2021). The Interplay between Glioblastoma and Its Microenvironment. *Cells*, *10*(9), 2257. <https://doi.org/10.3390/cells10092257>
30. De Vleeschouwer, S. (Ed.). (2017). *Glioblastoma*. Codon Publications.
31. Ding, H., Wang, G., Yu, Z., Sun, H., & Wang, L. (2022). Role of interferon-gamma (IFN- γ) and IFN- γ receptor 1/2 (IFN γ R1/2) in regulation of immunity, infection, and cancer development: IFN- γ -dependent or independent pathway. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *155*, 113683. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113683>
32. Dong, Q., Li, Q., Duan, L., Wang, H., Yan, Y., Yin, H., Niu, L., Zhang, H., Wang, B., Yuan, G., & Pan, Y. (2022). Expressions and significances of CTSL, the target of COVID-19 on GBM. *Journal of cancer research and clinical oncology*, *148*(3), 599-608. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03843-9>
33. Dong, Y., Kaushal, A., Brattsand, M., Nicklin, J., & Clements, J. A. (2003). Differential splicing of KLK5 and KLK7 in epithelial ovarian cancer produces novel variants with potential as cancer biomarkers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *9*(5), 1710–1720.
34. Drobny, A., Prieto Huarcaya, S., Dobert, J., Kluge, A., Bunk, J., Schlothauer, T., & Zunke, F. (2022). The role of lysosomal cathepsins in neurodegeneration: Mechanistic insights, diagnostic potential and therapeutic approaches. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, *1869*(7), 119243. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2022.119243>
35. Drucker, K. L., Gianinni, C., Decker, P. A., Diamandis, E. P., & Scarisbrick, I. A. (2015). Prognostic significance of multiple kallikreins in high-grade astrocytoma. *BMC cancer*, *15*, 565. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1566-5>
36. Drucker, K. L., Paulsen, A. R., Giannini, C., Decker, P. A., Blaber, S. I., Blaber, M., Uhm, J. H., O'Neill, B. P., Jenkins, R. B., & Scarisbrick, I. A. (2013). Clinical significance and novel mechanism of action of kallikrein 6 in glioblastoma. *Neuro-oncology*, *15*(3), 305–318. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos313>
37. Dufour, A., Bellac, C. L., Eckhard, U., Solis, N., Klein, T., Kappelhoff, R., Fortelny, N., Jobin, P., Rozmus, J., Mark, J., Pavlidis, P., Dive, V., Barbour, S. J., & Overall, C. M. (2018). C-terminal truncation

- of IFN- γ inhibits proinflammatory macrophage responses and is deficient in autoimmune disease. *Nature communications*, 9(1), 2416. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04717-4>
38. Erices, J. I., Bizama, C., Niechi, I., Uribe, D., Rosales, A., Fabres, K., Navarro-Martínez, G., Torres, Á., San Martín, R., Roa, J. C., & Quezada-Monrás, C. (2023). Glioblastoma Microenvironment and Invasiveness: New Insights and Therapeutic Targets. *International journal of molecular sciences*, 24(8), 7047. <https://doi.org/10.3390/ijms24087047>
 39. Farley, A., Johnstone, C., Hendry, C., & McLafferty, E. (2014). Nervous system: part 1. *Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain) : 1987)*, 28(31), 46–51. <https://doi.org/10.7748/ns2014.04.28.31.46.e7004>
 40. Fei, M., Zhang, L., Wang, H., Zhu, Y., Niu, W., Tang, T., & Han, Y. (2020). Inhibition of Cathepsin S Induces Mitochondrial Apoptosis in Glioblastoma Cell Lines Through Mitochondrial Stress and Autophagosome Accumulation. *Frontiers in oncology*, 10, 516746. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.516746>
 41. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2024). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>, accessed [13 feb 2024].
 42. Furuya, K., Nakajima, M., Tsunedomi, R., Nakagami, Y., Xu, M., Matsui, H., Tokumitsu, Y., Shindo, Y., Watanabe, Y., Tomochika, S., Maeda, N., Iida, M., Suzuki, N., Takeda, S., Hazama, S., Ioka, T., Hoshii, Y., Ueno, T., & Nagano, H. (2024). High serum proteinase-3 levels predict poor progression-free survival and lower efficacy of bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *BMC cancer*, 24(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s12885-024-11924-4>
 43. Gamez-Belmonte, R., Mahapatro, M., Erkert, L., Gonzalez-Acera, M., Naschberger, E., Yu, Y., Tena-Garitaonaindia, M., Patankar, J. V., Wagner, Y., Podstawa, E., Schödel, L., Bubeck, M., Neurath, M. F., Stürzl, M., & Becker, C. (2023). Epithelial presenilin-1 drives colorectal tumour growth by controlling EGFR-COX2 signalling. *Gut*, 72(6), 1155–1166. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327323>
 44. Gene [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004 – [2024, MARCH, 5]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
 45. Geng, F., Lu, G. F., Luo, Y. J., Dominguez, S., Kong, D. Y., Shen, L. H., Luo, X. M., Yang, X., Hu, M., Lai, W. S., Jiang, Z. S., & Chen, Y. S. (2020). The emerging role of the MiR-1272-ADAM9-CDCP1 signaling pathway in the progression of glioma. *Aging*, 13(1), 894-909. <https://doi.org/10.18632/aging.202196>
 46. Geng, X., Babayeva, L., Walch, A., Aubele, M., Groß, E., Kiechle, M., Bronger, H., Dreyer, T., Magdolen, V., & Dorn, J. (2020). High levels of KLK7 protein expression are related to a favorable prognosis in triple-negative breast cancer patients. *American journal of cancer research*, 10(6), 1785–1792.
 47. Giles, B., Nakhjavani, M., Wiesa, A., Knight, T., Shigdar, S., & Samarasinghe, R. M. (2023). Unravelling the Glioblastoma Tumour Microenvironment: Can Aptamer Targeted Delivery Become Successful in Treating Brain Cancers?. *Cancers*, 15(17), 4376. <https://doi.org/10.3390/cancers15174376>

48. Gimple, R. C., Bhargava, S., Dixit, D., & Rich, J. N. (2019). Glioblastoma stem cells: lessons from the tumor hierarchy in a lethal cancer. *Genes & development*, *33*(11-12), 591–609. <https://doi.org/10.1101/gad.324301.119>
49. Girgis, A. H., Bui, A., White, N. M., & Yousef, G. M. (2012). Integrated genomic characterization of the kallikrein gene locus in cancer. *Anticancer research*, *32*(3), 957-963.
50. Glerup, S., Schulz, R., Laufs, U., & Schlüter, K. D. (2017). Physiological and therapeutic regulation of PCSK9 activity in cardiovascular disease. *Basic research in cardiology*, *112*(3), 32. <https://doi.org/10.1007/s00395-017-0619-0>
51. Gondi, C. S., Kandhukuri, N., Dinh, D. H., Gujrati, M., & Rao, J. S. (2007). Down-regulation of uPAR and uPA activates caspase-mediated apoptosis and inhibits the PI3K/AKT pathway. *International journal of oncology*, *31*(1), 19–27.
52. Grochans, S., Cybulska, A. M., Simińska, D., Korbecki, J., Kojder, K., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2022). Epidemiology of Glioblastoma Multiforme-Literature Review. *Cancers*, *14*(10), 2412. <https://doi.org/10.3390/cancers14102412>
53. Habič, A., Novak, M., Majc, B., Lah Turnšek, T., & Breznik, B. (2021). Proteases Regulate Cancer Stem Cell Properties and Remodel Their Microenvironment. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, *69*(12), 775–794. <https://doi.org/10.1369/00221554211035192>
54. Hagemann, C., Anacker, J., Ernestus, R. I., & Vince, G. H. (2012). A complete compilation of matrix metalloproteinase expression in human malignant gliomas. *World journal of clinical oncology*, *3*(5), 67-79. <https://doi.org/10.5306/wjco.v3.i5.67>
55. He, M. K., Le, Y., Zhang, Y. F., Ouyang, H. Y., Jian, P. E., Yu, Z. S., Wang, L. J., & Shi, M. (2018). Matrix metalloproteinase 12 expression is associated with tumor FOXP3+ regulatory T cell infiltration and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncology letters*, *16*(1), 475–482. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8642>
56. Hu, D., Ansari, D., Zhou, Q., Sasor, A., Said Hilmersson, K., & Andersson, R. (2019). Low P4HA2 and high PRTN3 expression predicts poor survival in patients with pancreatic cancer. *Scandinavian journal of gastroenterology*, *54*(2), 246–251. <https://doi.org/10.1080/00365521.2019.1574360>
57. Hu, D., Ansari, D., Zhou, Q., Sasor, A., Said Hilmersson, K., & Andersson, R. (2019). Low P4HA2 and high PRTN3 expression predicts poor survival in patients with pancreatic cancer. *Scandinavian journal of gastroenterology*, *54*(2), 246–251. <https://doi.org/10.1080/00365521.2019.1574360>
58. Hu, J., Lei, H., Fei, X., Liang, S., Xu, H., Qin, D., Wang, Y., Wu, Y., & Li, B. (2015). NES1/KLK10 gene represses proliferation, enhances apoptosis and down-regulates glucose metabolism of PC3 prostate cancer cells. *Scientific reports*, *5*, 17426. <https://doi.org/10.1038/srep17426>
59. Huang H. (2018). Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *18*(10), 3249. <https://doi.org/10.3390/s18103249>
60. Hwang, Y. S., Cho, H. J., Park, E. S., Lim, J., Yoon, H. R., Kim, J. T., Yoon, S. R., Jung, H., Choe, Y. K., Kim, Y. H., Lee, C. H., Kwon, Y. T., Kim, B. Y., & Lee, H. G. (2022). KLK6/PAR1 Axis Promotes

- Tumor Growth and Metastasis by Regulating Cross-Talk between Tumor Cells and Macrophages. *Cells*, *11*(24), 4101. <https://doi.org/10.3390/cells11244101>
61. Inoue, A., Takahashi, H., Harada, H., Kohno, S., Ohue, S., Kobayashi, K., Yano, H., Tanaka, J., & Ohnishi, T. (2010). Cancer stem-like cells of glioblastoma characteristically express MMP-13 and display highly invasive activity. *International journal of oncology*, *37*(5), 1121-1131. https://doi.org/10.3892/ijo_00000764
 62. Jessen K. R. (2004). Glial cells. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *36*(10), 1861–1867. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.02.023>
 63. Jiguet-Jiglaire, C., Boissonneau, S., Denicolai, E., Hein, V., Lasseur, R., Garcia, J., Romain, S., Appay, R., Graillon, T., Mason, W., Carpentier, A. F., Brandes, A. A., Ouafik, L., Wick, W., Baaziz, A., Gigan, J. P., Arg^vello, R. J., Figarella-Branger, D., Chinot, O., & Tabouret, E. (2022). Plasmatic MMP9 released from tumor-infiltrating neutrophils is predictive for bevacizumab efficacy in glioblastoma patients: an AVAglio ancillary study. *Acta neuropathologica communications*, *10*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01305-4>
 64. Johnson, S. K., Ramani, V. C., Hennings, L., & Haun, R. S. (2007). Kallikrein 7 enhances pancreatic cancer cell invasion by shedding E-cadherin. *Cancer*, *109*(9), 1811–1820. <https://doi.org/10.1002/cncr.22606>
 65. Juurikka, K., Butler, G. S., Salo, T., Nyberg, P., & Åström, P. (2019). The Role of MMP8 in Cancer: A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, *20*(18), 4506. <https://doi.org/10.3390/ijms20184506>
 66. Keles, D., Arslan, B., Terzi, C., Tekmen, I., Dursun, E., Altungoz, O., & Oktay, G. (2014). Expression and activity levels of matrix metalloproteinase-7 and in situ localization of caseinolytic activity in colorectal cancer. *Clinical biochemistry*, *47*(13-14), 1265–1271. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.06.004>
 67. Kessenbrock, K., Plaks, V., & Werb, Z. (2010). Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, *141*(1), 52-67.
 68. Khanna, N. R., & Gerriets, V. (2023). Interferon. *In StatPearls*. StatPearls Publishing.
 69. Kopach, P., Lockatell, V., Pickering, E. M., Haskell, R. E., Anderson, R. D., Hasday, J. D., Todd, N. W., Luzina, I. G., & Atamas, S. P. (2014). IFN- γ directly controls IL-33 protein level through a STAT1- and LMP2-dependent mechanism. *The Journal of biological chemistry*, *289*(17), 11829–11843. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.534396>
 70. Kramer, L., Turk, D., & Turk, B. (2017). The future of cysteine cathepsins in disease management. *Trends in pharmacological sciences*, *38*(10), 873-898.
 71. Lai, Y., Lu, X., Liao, Y., Ouyang, P., Wang, H., Zhang, X., Huang, G., Qi, S., & Li, Y. (2023). Crosstalk between glioblastoma and tumor microenvironment drives proneural-mesenchymal transition through ligand-receptor interactions. *Genes & diseases*, *11*(2), 874-889. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.05.025>

72. Lai, Y., Lu, X., Liao, Y., Ouyang, P., Wang, H., Zhang, X., Huang, G., Qi, S., & Li, Y. (2023). Crosstalk between glioblastoma and tumor microenvironment drives proneural-mesenchymal transition through ligand-receptor interactions. *Genes & diseases*, *11*(2), 874–889. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.05.025>
73. Lam, D., Enright, H. A., Cadena, J., Peters, S. K., Sales, A. P., Osburn, J. J., ... & Fischer, N. O. (2019). Tissue-specific extracellular matrix accelerates the formation of neural networks and communities in a neuron-glia co-culture on a multi-electrode array. *Scientific reports*, *9*(1), 4159.
74. Lee, M., Hoyt, C., & Rodgers, G. M. (2013). ADAMTS13 expressed in glioblastoma and Astrocytoma cells can modulate endothelial cell migration. *Blood*, *122*(21), 2306.
75. Li, B., Goyal, J., Dhar, S., Dimri, G., Evron, E., Sukumar, S., Wazer, D. E., & Band, V. (2001). CpG methylation as a basis for breast tumor-specific loss of NES1/kallikrein 10 expression. *Cancer research*, *61*(21), 8014–8021.
76. Li, L., Xu, N., Fan, N., Meng, Q., Luo, W., Lv, L., Ma, W., Liu, X., Liu, L., Xu, F., Wang, H., Mao, W., & Li, Y. (2015). Upregulated KLK10 inhibits esophageal cancer proliferation and enhances cisplatin sensitivity in vitro. *Oncology reports*, *34*(5), 2325–2332. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4211>
77. Li, S., Pritchard, D. M., & Yu, L. G. (2022). Regulation and Function of Matrix Metalloproteinase-13 in Cancer Progression and Metastasis. *Cancers*, *14*(13), 3263. <https://doi.org/10.3390/cancers14133263>
78. Li, Y., Guo, S., Zhao, K., Conrad, C., Driescher, C., Rothbart, V., Schlomann, U., Guerreiro, H., Bopp, M. H., K^öhnig, A., Carl, B., Pagenstecher, A., Nimsky, C., & Bartsch, J. W. (2020). ADAM8 affects glioblastoma progression by regulating osteopontin-mediated angiogenesis. *Biological chemistry*, *402*(2), 195-206. <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0184>
79. Liu, X., Bao, X., Hu, M., Chang, H., Jiao, M., Cheng, J., Xie, L., Huang, Q., Li, F., & Li, C. Y. (2020). Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer. *Nature*, *588*(7839), 693–698. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2911-7>
80. Llorens, D., & Dr. Francisco Marín. (2023, April 18). Las partes del cerebro y sus funciones. Cuerpomente; Cuerpomente. https://www.cuerpomente.com/salud-natural/partes-cerebro-sus-funciones_11316
81. Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., Reifenberger, G., Soffietti, R., von Deimling, A., & Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-oncology*, *23*(8), 1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
82. Lovell, S., Zhang, L., Kryza, T., Neodo, A., Bock, N., De Vita, E., Williams, E. D., Engelsberger, E., Xu, C., Bakker, A. T., Maneiro, M., Tanaka, R. J., Bevan, C. L., Clements, J. A., & Tate, E. W. (2021). A Suite of Activity-Based Probes To Dissect the KLK Activome in Drug-Resistant Prostate Cancer. *Journal of the American Chemical Society*, *143*(23), 8911–8924. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c03950>
83. Ludwig, P. E., & M Das, J. (2023). Histology, Glial Cells. In StatPearls. StatPearls Publishing.
84. Ludwig, P. E., Reddy, V., & Varacallo, M. (2023). Neuroanatomy, Neurons. In StatPearls. StatPearls Publishing.

85. Luo, L. Y., Grass, L., & Diamandis, E. P. (2003). Steroid hormone regulation of the human kallikrein 10 (KLK10) gene in cancer cell lines and functional characterization of the KLK10 gene promoter. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 337(1-2), 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.07.008>
86. Luo, L., Wang, X., Wang, H., Yang, C., Zhang, Y., Li, X., & Xu, Z. (2022). High cathepsin A protein expression predicts poor prognosis and tumor recurrence of hepatocellular carcinoma patients after curative hepatectomy. *American journal of cancer research*, 12(8), 3843–3856.
87. Ma, K., Chen, X., Liu, W., Chen, S., Yang, C., & Yang, J. (2022). CTSB is a negative prognostic biomarker and therapeutic target associated with immune cells infiltration and immunosuppression in gliomas. *Scientific reports*, 12(1), 4295. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08346-2>
88. Ma, Z., Chang, M. J., Shah, R. C., & Benveniste, E. N. (2005). Interferon-gamma-activated STAT-1alpha suppresses MMP-9 gene transcription by sequestration of the coactivators CBP/p300. *Journal of leukocyte biology*, 78(2), 515–523. <https://doi.org/10.1189/jlb.0205112>
89. Ma, Z., Qin, H., & Benveniste, E. N. (2001). Transcriptional suppression of matrix metalloproteinase-9 gene expression by IFN-gamma and IFN-beta: critical role of STAT-1alpha. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 167(9), 5150–5159. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.9.5150>
90. Mahboobnia, K., Pirro, M., Marini, E., Grignani, F., Bezsonov, E. E., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2021). PCSK9 and cancer: Rethinking the link. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 140, 111758. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111758>
91. Majc, B., Habič, A., Novak, M., Rotter, A., Porčnik, A., Mlakar, J., Župunski, V., Pečar Fonovič, U., Knez, D., Zidar, N., Gobec, S., Kos, J., Lah Turnšek, T., Pišlar, A., & Breznik, B. (2022). Upregulation of Cathepsin X in Glioblastoma: Interplay with γ -Enolase and the Effects of Selective Cathepsin X Inhibitors. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1784. <https://doi.org/10.3390/ijms23031784>
92. Maldonado, K. A., & Alsayouri, K. (2023). Physiology, Brain. In StatPearls. StatPearls Publishing.
93. Manasanch, E. E., & Orłowski, R. Z. (2017). Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Nature reviews. Clinical oncology*, 14(7), 417–433. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.206>
94. Matrasova, I., Busek, P., Balaziova, E., & Sedo, A. (2017). Heterogeneity of molecular forms of dipeptidyl peptidase-IV and fibroblast activation protein in human glioblastomas. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 161(3), 252-260. <https://doi.org/10.5507/bp.2017.010>
95. Matsumoto, H., Takeba, J., Umakoshi, K., Kikuchi, S., Ohshita, M., Annen, S., Moriyama, N., Nakabayashi, Y., Sato, N., & Aibiki, M. (2021). ADAMTS13 activity decreases in the early phase of trauma associated with coagulopathy and systemic inflammation: a prospective observational study. *Thrombosis journal*, 19(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12959-021-00270-1>
96. Mehner, C., Miller, E., Nassar, A., Bamlet, W. R., Radisky, E. S., & Radisky, D. C. (2015). Tumor cell expression of MMP3 as a prognostic factor for poor survival in pancreatic, pulmonary, and mammary carcinoma. *Genes & cancer*, 6(11-12), 480–489. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.90>

97. Mehra, S., Panwar, R., Thakur, B., Yadav, R., Kumar, M., Singh, R., Dash, N. R., Sahni, P., & Chauhan, S. S. (2019). Expression and Clinical Implications of Cysteine Cathepsins in Gallbladder Carcinoma. *Frontiers in oncology*, *9*, 1239. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01239>
98. Meng, N., Li, Y., Jiang, P., Bu, X., Ding, J., Wang, Y., Zhou, X., Yu, F., Zhang, Y., Zhang, J., & Xia, L. (2022). A Comprehensive Pan-Cancer Analysis of the Tumorigenic Role of Matrix Metalloproteinase 7 (MMP7) Across Human Cancers. *Frontiers in oncology*, *12*, 916907. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.916907>
99. Menzel, K., Hausmann, M., Obermeier, F., Schreiter, K., Dunger, N., Bataille, F., Falk, W., Scholmerich, J., Herfarth, H., & Rogler, G. (2006). Cathepsins B, L and D in inflammatory bowel disease macrophages and potential therapeutic effects of cathepsin inhibition in vivo. *Clinical and experimental immunology*, *146*(1), 169–180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03188.x>
100. Mesfin, F. B., & Al-Dhahir, M. A. (2023). Gliomas. *In StatPearls*. StatPearls Publishing.
101. Michael, I. P., Kurlender, L., Memari, N., Yousef, G. M., Du, D., Grass, L., Stephan, C., Jung, K., & Diamandis, E. P. (2005). Intron retention: a common splicing event within the human kallikrein gene family. *Clinical chemistry*, *51*(3), 506–515. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.042341>
102. Mierke, C. T. (2023). The versatile roles of ADAM8 in cancer cell migration, mechanics, and extracellular matrix remodeling. *Frontiers in cell and developmental biology*, *11*, 1130823. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1130823>
103. Mishra, D., Singh, S., & Narayan, G. (2016). Role of B Cell Development Marker CD10 in Cancer Progression and Prognosis. *Molecular biology international*, *2016*, 4328697. <https://doi.org/10.1155/2016/4328697>
104. Muniz-Bongers, L. R., McClain, C. B., Saxena, M., Bongers, G., Merad, M., & Bhardwaj, N. (2021). MMP2 and TLRs modulate immune responses in the tumor microenvironment. *JCI insight*, *6*(12), e144913. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.144913>
105. National Institute of Mental Health. (2024). Fundamentos del cerebro: Vida y muerte de una neurona (NIMH Identifier No. OM 20-4319). U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. Obtenido el 20 de enero de 2024 de <https://espanol.ninds.nih.gov/es/trastornos/forma-larga/fundamentos-del-cerebro-vida-y-muerte-de-una-neurona>
106. Nguyen, J., Knapnougel, P., Lesavre, P., & Bauvois, B. (2005). Inhibition of matrix metalloproteinase-9 by interferons and TGF-beta1 through distinct signalings accounts for reduced monocyte invasiveness. *FEBS letters*, *579*(25), 5487–5493. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.09.012>
107. Oliveros, J.C. (2007-2015) Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>
108. Ovaere, P., Lippens, S., Vandenabeele, P., & Declercq, W. (2009). The emerging roles of serine protease cascades in the epidermis. *Trends in biochemical sciences*, *34*(9), 453–463. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2009.08.001>
109. Park SJ, Yoon BH, Kim SK*, Kim SY*. GENT2: an updated gene expression database for normal and tumor tissues. *BMC Med Genomics*. 2019 Jul 11;12(Suppl 5):101. doi: 10.1186/s12920-019-0514-7.

110. Pellegrino, F., Coghi, A., Lavorgna, G., Cazzaniga, W., Guazzoni, E., Locatelli, I., Villa, I., Bolamperti, S., Finocchio, N., Alfano, M., Lucianò, R., Briganti, A., Montorsi, F., Salonia, A., & Cavarretta, I. (2021). A mechanistic insight into the anti-metastatic role of the prostate specific antigen. *Translational oncology*, *14*(11), 101211. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101211>
111. Penney, K. L., Schumacher, F. R., Kraft, P., Mucci, L. A., Sesso, H. D., Ma, J., Niu, Y., Cheong, J. K., Hunter, D. J., Stampfer, M. J., & Hsu, S. I. (2011). Association of KLK3 (PSA) genetic variants with prostate cancer risk and PSA levels. *Carcinogenesis*, *32*(6), 853–859. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr050>
112. Pérez, E. (2023) Identificación de genes asociados a cáncer modulados por la señalización del ifn-gamma en células de glioblastoma [Tesis de licenciatura inédita]. Universidad Autónoma de la Ciudad de México.
113. Peripheral nervous system. (2018, July 17). Uq.edu.au. <https://qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/peripheral-nervous-system>
114. Pickup, M., Novitskiy, S., & Moses, H. L. (2013). The roles of TGFβ in the tumour microenvironment. *Nature reviews. Cancer*, *13*(11), 788–799. <https://doi.org/10.1038/nrc3603>
115. Poirier, J. (2004). El sistema nervioso. Siglo XXI.
116. Polz, A., Morshed, K., Drop, B., & Polz-Dacewicz, M. (2024). Could MMP3 and MMP9 Serve as Biomarkers in EBV-Related Oropharyngeal Cancer. *International journal of molecular sciences*, *25*(5), 2561. <https://doi.org/10.3390/ijms25052561>
117. Pullen, N. A., Anand, M., Cooper, P. S., & Fillmore, H. L. (2012). Matrix metalloproteinase-1 expression enhances tumorigenicity as well as tumor-related angiogenesis and is inversely associated with TIMP-4 expression in a model of glioblastoma. *Journal of neuro-oncology*, *106*(3), 461-471. <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0691-5>
118. Quagliariello, V., Bisceglia, I., Berretta, M., Iovine, M., Canale, M. L., Maurea, C., Giordano, V., Paccone, A., Inno, A., & Maurea, N. (2023). PCSK9 Inhibitors in Cancer Patients Treated with Immune-Checkpoint Inhibitors to Reduce Cardiovascular Events: New Frontiers in Cardioncology. *Cancers*, *15*(5), 1397. <https://doi.org/10.3390/cancers15051397>
119. Rabé, M., Fonteneau, L., Oliver, L., Morales-Molina, A., Jubelin, C., Garcia-Castro, J., Heymann, D., Gratas, C., & Vallette, F. M. (2022). Cellular Heterogeneity and Cooperativity in Glioma Persister Cells Under Temozolomide Treatment. *Frontiers in cell and developmental biology*, *10*, 835273. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.835273>
120. Raghu, H., Gondi, C. S., Dinh, D. H., Gujrati, M., & Rao, J. S. (2011). Specific knockdown of uPA/uPAR attenuates invasion in glioblastoma cells and xenografts by inhibition of cleavage and trafficking of Notch-1 receptor. *Molecular cancer*, *10*, 130. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-130>
121. Rawji, K. S., Neumann, B., & Franklin, R. J. M. (2023). Glial aging and its impact on central nervous system myelin regeneration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1519*(1), 34–45. <https://doi.org/10.1111/nyas.14933>

- 122.Redondo-García, S., Peris-Torres, C., Caracuel-Peramos, R., & Rodríguez-Manzaneque, J. C. (2020). ADAMTS proteases and the tumor immune microenvironment: Lessons from substrates and pathologies. *Matrix biology plus*, 9, 100054. <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100054>
- 123.Rey, S., Ohm, H., & Klämbt, C. (2023). Axonal ion homeostasis and glial differentiation. *The FEBS journal*, 290(15), 3737–3744. <https://doi.org/10.1111/febs.16594>
- 124.Rezze, G. G., Fregnani, J. H., Duprat, J., & Landman, G. (2011). Cell adhesion and communication proteins are differentially expressed in melanoma progression model. *Human pathology*, 42(3), 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.09.004>
- 125.Robin, N. (2020) Fisiología. LWW.
- 126.Roesler, R., Dini, S. A., & Isolan, G. R. (2021). Neuroinflammation and immunoregulation in glioblastoma and brain metastases: Recent developments in imaging approaches. *Clinical and experimental immunology*, 206(3), 314–324. <https://doi.org/10.1111/cei.13668>
- 127.Rosselli, Mónica. (2003). Maduración Cerebral y Desarrollo Cognoscitivo. Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales, Niñez y Juventud, 1(1), 125-144. Retrieved January 23, 2024, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-715X2003000100005&lng=en&tlng=es.
- 128.Rusinova, I.; Forster, S.; Yu, S.; Kannan, A.; Masse, M.; Cumming, H.; Chapman, R.; Hertzog, P.J. INTERFEROME v2. 0: an updated database of annotated interferon-regulated genes. *Nucleic Acids Research*. 2013 January; 41 (database issue): D1040-D1046.
- 129.Sales AHA, Beck J, Schnell O, Fung C, Meyer B, Gempt J (2022). Surgical Treatment of Glioblastoma: State-of-the-Art and Future Trends. *J Clin Med*. (18), 5354. doi: 10.3390/jcm11185354.
- 130.Santin, A. D., Cane', S., Bellone, S., Bignotti, E., Palmieri, M., De Las Casas, L. E., Roman, J. J., Anfossi, S., O'Brien, T., & Pecorelli, S. (2004). The serine protease stratum corneum chymotryptic enzyme (kallikrein 7) is highly overexpressed in squamous cervical cancer cells. *Gynecologic oncology*, 94(2), 283–288. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.05.023>
- 131.Schroder, K., Hertzog, P. J., Ravasi, T., & Hume, D. A. (2004). Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of leukocyte biology*, 75(2), 163–189. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>
- 132.Serrano-Garrido, O., Peris-Torres, C., Redondo-García, S., Asenjo, H. G., Plaza-Calonge, M. D. C., Fernandez-Luna, J. L., & Rodríguez-Manzaneque, J. C. (2020). ADAMTS1 Supports Endothelial Plasticity of Glioblastoma Cells with Relevance for Glioma Progression. *Biomolecules*, 11(1), 44. <https://doi.org/10.3390/biom11010044>
- 133.Sincevičiūtė, R., Vaitkienė, P., Urbanavičiūtė, R., Steponaitis, G., Tamašauskas, A., & Skiriūtė, D. (2018). MMP2 is associated with glioma malignancy and patient outcome. *International journal of clinical and experimental pathology*, 11(6), 3010–3018.
- 134.Song, J., Jiang, J., Wei, N., Duan, Z., Wang, G., & Pan, W. (2021). High CTSL2 expression predicts poor prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Aging*, 13(18), 22315–22331. <https://doi.org/10.18632/aging.203540>

135. Stiles, C. D., & Rowitch, D. H. (2008). Glioma stem cells: a midterm exam. *Neuron*, *58*(6), 832–846. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.05.031>
136. Tagirasa, R., & Yoo, E. (2022). Role of Serine Proteases at the Tumor-Stroma Interface. *Frontiers in immunology*, *13*, 832418. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.832418>
137. Talieri, M., Diamandis, E. P., Gourgiotis, D., Mathioudaki, K., & Scorilas, A. (2004). Expression analysis of the human kallikrein 7 (KLK7) in breast tumors: a new potential biomarker for prognosis of breast carcinoma. *Thrombosis and haemostasis*, *91*(1), 180–186. <https://doi.org/10.1160/TH03-05-0261>
138. Tamai, K., Ishikawa, H., Mauviel, A., & Uitto, J. (1995). Interferon-gamma coordinately upregulates matrix metalloprotease (MMP)-1 and MMP-3, but not tissue inhibitor of metalloproteases (TIMP), expression in cultured keratinocytes. *The Journal of investigative dermatology*, *104*(3), 384–390. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12665857>
139. Tamimi, A. F., & Juweid, M. (2017). Epidemiology and Outcome of Glioblastoma. In S. De Vleeschouwer (Ed.), *Glioblastoma. Codon Publications*.
140. Tang, Z. et al. (2017) GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res*, *10.1093/nar/gkx247*.
141. Tecalco-Cruz, A. C., & Zepeda-Cervantes, J. (2023). Protein ISGylation: a posttranslational modification with implications for malignant neoplasms. *Exploration of targeted anti-tumor therapy*, *4*(4), 699–715. <https://doi.org/10.37349/etat.2023.00162>
142. Tecalco-Cruz, A. C., Medina-Abreu, K. H., Oropeza-Martínez, E., Zepeda-Cervantes, J., Vázquez-Macías, A., & Macías-Silva, M. (2024). Deregulation of interferon-gamma receptor 1 expression and its implications for lung adenocarcinoma progression. *World journal of clinical oncology*, *15*(2), 195–207. <https://doi.org/10.5306/wjco.v15.i2.195>
143. Thau, L., Reddy, V., & Singh, P. (2022). Anatomy, Central Nervous System. In StatPearls. StatPearls Publishing.
144. Tokas, T., Avgeris, M., Alamanis, C., Scorilas, A., Stravodimos, K. G., & Constantinides, C. A. (2017). Downregulated KLK13 expression in bladder cancer highlights tumor aggressiveness and unfavorable patients' prognosis. *Journal of cancer research and clinical oncology*, *143*(3), 521–532. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2301-6>
145. Vasiljeva, O., Papazoglou, A., Krüger, A., Brodoefel, H., Korovin, M., Deussing, J., Augustin, N., Nielsen, B. S., Almholt, K., Bogyo, M., Peters, C., & Reinheckel, T. (2006). Tumor cell-derived and macrophage-derived cathepsin B promotes progression and lung metastasis of mammary cancer. *Cancer research*, *66*(10), 5242–5250. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4463>
146. Vergnolle N. (2016). Protease inhibition as new therapeutic strategy for GI diseases. *Gut*, *65*(7), 1215–1224. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309147>
147. Vizovisek, M., Ristanovic, D., Menghini, S., Christiansen, M. G., & Schuerle, S. (2021). The Tumor Proteolytic Landscape: A Challenging Frontier in Cancer Diagnosis and Therapy. *International journal of molecular sciences*, *22*(5), 2514. <https://doi.org/10.3390/ijms22052514>

148. Vu, T. N., Chen, X., Foda, H. D., Smaldone, G. C., & Hasaneen, N. A. (2019). Interferon- γ enhances the antifibrotic effects of pirfenidone by attenuating IPF lung fibroblast activation and differentiation. *Respiratory research*, *20(1)*, 206. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1171-2>
149. Wang, J., Chen, L., Li, Y., & Guan, X. Y. (2011). Overexpression of cathepsin Z contributes to tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *PLoS one*, *6(9)*, e24967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024967>
150. Wang, X., Li, X., Lin, F., Sun, H., Lin, Y., Wang, Z., & Wang, X. (2021). The lnc-CTSLP8 upregulates CTSL1 as a competitive endogenous RNA and promotes ovarian cancer metastasis. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, *40(1)*, 151. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-01957-z>
151. Weller, M., Wick, W., Aldape, K., Brada, M., Berger, M., Pfister, S. M., Nishikawa, R., Rosenthal, M., Wen, P. Y., Stupp, R., & Reifenberger, G. (2015). Glioma. *Nature reviews. Disease primers*, *1*, 15017. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.17>
152. Widodo, S. S., Dinevska, M., Furst, L. M., Stylli, S. S., & Mantamadiotis, T. (2021). IL-10 in glioma. *British journal of cancer*, *125(11)*, 1466–1476. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01515-6>
153. Wirsching, H. G., Galanis, E., & Weller, M. (2016). Glioblastoma. *Handbook of clinical neurology*, *134*, 381–397. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2>
154. Wolf, K. J., Chen, J., Coombes, J., Aghi, M. K., & Kumar, S. (2019). Dissecting and rebuilding the glioblastoma microenvironment with engineered materials. *Nature reviews. Materials*, *4(10)*, 651–668. <https://doi.org/10.1038/s41578-019-0135-y>
155. Xia, Y., Ge, M., Xia, L., Shan, G., & Qian, H. (2022). CTSV (cathepsin V) promotes bladder cancer progression by increasing NF- κ B activity. *Bioengineered*, *13(4)*, 10180–10190. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2061278>
156. Xiao, Y., Cong, M., Li, J., He, D., Wu, Q., Tian, P., Wang, Y., Yang, S., Liang, C., Liang, Y., Wen, J., Liu, Y., Luo, W., Lv, X., He, Y., Cheng, D. D., Zhou, T., Zhao, W., Zhang, P., Zhang, X., ... Hu, G. (2021). Cathepsin C promotes breast cancer lung metastasis by modulating neutrophil infiltration and neutrophil extracellular trap formation. *Cancer cell*, *39(3)*, 423–437.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.12.012>
157. Yang, W., Xiang, Y., Liao, M. J., Wu, P. F., Yang, L., Huang, G. H., Shi, B. Z., Yi, L., & Lv, S. Q. (2021). Presenilin1 inhibits glioblastoma cell invasiveness via promoting Sortilin cleavage. *Cell communication and signaling : CCS*, *19(1)*, 112. <https://doi.org/10.1186/s12964-021-00780-5>
158. Yu, X., Jin, J., Zheng, Y., Zhu, H., Xu, H., Ma, J., Lan, Q., Zhuang, Z., Chen, C. C., & Li, M. (2021). GBP5 drives malignancy of glioblastoma via the Src/ERK1/2/MMP3 pathway. *Cell death & disease*, *12(2)*, 203. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03492-3>
159. Zaidi, M. R., & Merlino, G. (2011). The two faces of interferon- γ in cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *17(19)*, 6118–6124. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0482>

160. Zamora-Salas, S. X., Macías-Silva, M., & Tecalco-Cruz, A. C. (2024). Upregulation of the canonical signaling pathway of interferon-gamma is associated with glioblastoma progression. *Molecular biology reports*, *51(1)*, 64. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-09062-4>
161. Zeng, S., Li, W., Ouyang, H., Xie, Y., Feng, X., & Huang, L. (2023). A Novel Prognostic Pyroptosis-Related Gene Signature Correlates to Oxidative Stress and Immune-Related Features in Gliomas. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2023*, 4256116. <https://doi.org/10.1155/2023/4256116>
162. Zhang, C., Zhang, M., & Song, S. (2018). Cathepsin D enhances breast cancer invasion and metastasis through promoting hepsin ubiquitin-proteasome degradation. *Cancer letters*, *438*, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.09.021>
163. Zhang, G., Miyake, M., Lawton, A., Goodison, S., & Rosser, C. J. (2014). Matrix metalloproteinase-10 promotes tumor progression through regulation of angiogenic and apoptotic pathways in cervical tumors. *BMC cancer*, *14*, 310. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-310>
164. Zhang, L., Zhao, Y., Yang, J., Zhu, Y., Li, T., Liu, X., Zhang, P., Cheng, J., Sun, S., Wei, C., & Fu, J. (2023). CTSL, a prognostic marker of breast cancer, that promotes proliferation, migration, and invasion in cells in triple-negative breast cancer. *Frontiers in oncology*, *13*, 1158087. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1158087>
165. Zhang, M., Huang, J., Wang, Y., Nie, Q., Zhang, X., Yang, Y., & Mao, G. (2022). Cathepsin a upregulation in glioma: A potential therapeutic target associated with immune infiltration. *Journal of medical biochemistry*, *41(4)*, 459-465. <https://doi.org/10.5937/jomb0-35677>
166. Zhang, W., Huang, X., Huang, R., Zhu, H., Ye, P., Lin, X., Zhang, S., Wu, M., & Jiang, F. (2022). MMP1 Overexpression Promotes Cancer Progression and Associates with Poor Outcome in Head and Neck Carcinoma. *Computational and mathematical methods in medicine*, *2022*, 3058342. <https://doi.org/10.1155/2022/3058342>
167. Zhao, R., Wang, S., Liu, J., Xu, C., Zhang, S., Shao, Y., & Duan, X. (2021). KLK11 acts as a tumor-inhibitor in laryngeal squamous cell carcinoma through the inactivation of Akt/Wnt/ β -catenin signaling. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, *53(1)*, 85–96. <https://doi.org/10.1007/s10863-020-09870-4>
168. Zheng, W., Chen, Q., Wang, C., Yao, D., Zhu, L., Pan, Y., Zhang, J., Bai, Y., & Shao, C. (2020). Inhibition of Cathepsin D (CTSD) enhances radiosensitivity of glioblastoma cells by attenuating autophagy. *Molecular carcinogenesis*, *59(6)*, 651-660. <https://doi.org/10.1002/mc.23194>
169. Zuo, B., Li, T., Liu, X., Wang, S., Cheng, J., Liu, X., Cui, W., Shi, H., & Ling, C. (2023). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor reduces tumor-associated macrophages and enhances anti-PD-L1-mediated tumor suppression in non-small cell lung cancer. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, *25(11)*, 3188–3202. <https://doi.org/10.1007/s12094-023-03187-5>

XIV. Anexos



Submit a Manuscript: <https://www.f6publishing.com>

World J Clin Oncol 2024 February 24; 15(2): 195-207

DOI: 10.5306/wjco.v15.i2.195

ISSN 2218-4333 (online)

MINIREVIEWS

Deregulation of interferon-gamma receptor 1 expression and its implications for lung adenocarcinoma progression

Angeles C Tecalco-Cruz, Karen H Medina-Abreu, Enrique Oropeza-Martínez, Jesus Zepeda-Cervantes, Aleida Vázquez-Macías, Marina Macías-Silva

Specialty type: Oncology

Provenance and peer review:
Invited article; Externally peer reviewed.

Peer-review model: Single blind

Peer-review report's scientific quality classification

Grade A (Excellent): 0
Grade B (Very good): 0
Grade C (Good): C
Grade D (Fair): 0
Grade E (Poor): 0

P-Reviewer: Liu TF, China

Received: December 15, 2023

Peer-review started: December 15, 2023

First decision: December 22, 2023

Revised: January 5, 2024

Accepted: January 30, 2024

Article in press: January 30, 2024

Published online: February 24, 2024



Angeles C Tecalco-Cruz, Karen H Medina-Abreu, Enrique Oropeza-Martínez, Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, CDMX 03100, Mexico

Jesus Zepeda-Cervantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX 04510, Mexico

Aleida Vázquez-Macías, Colegio de Ciencias y Humanidades, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, CDMX 03100, Mexico

Marina Macías-Silva, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX 04510, Mexico

Corresponding author: Angeles C Tecalco-Cruz, PhD, Full Professor, Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Colonia Del valle, San Lorenzo 290, Mexico 03100, Mexico. angeles.tecalco@uacm.edu.mx

Abstract

Interferon-gamma (IFN- γ) plays a dual role in cancer; it is both a pro- and an antitumorigenic cytokine, depending on the type of cancer. The deregulation of the IFN- γ canonical pathway is associated with several disorders, including vulnerability to viral infections, inflammation, and cancer progression. In particular, the interplay between lung adenocarcinoma (LUAD) and viral infections appears to exist in association with the deregulation of IFN- γ signaling. In this mini-review, we investigated the status of the IFN- γ signaling pathway and the expression level of its components in LUAD. Interestingly, a reduction in *IFNGR1* expression seems to be associated with LUAD progression, affecting defenses against viruses such as severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. In addition, alterations in the expression of *IFNGR1* may inhibit the antiproliferative action of IFN- γ signaling in LUAD.

Key Words: Interferon-gamma; *IFNGR1*; JAK1; Antiviral; Anti-tumor; Lung adenocarcinoma

©The Author(s) 2024. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Verified Certificate

This is to certify that


Enrique Oropeza Martinez


successfully completed and received a passing grade in


MCB63X: Principles of Biochemistry

a course of study offered by HarvardX, an online learning initiative of Harvard University.

HarvardX


Alain Viel
Senior Lecturer
Harvard University


Rachelle Gaudet
Professor of Molecular and Cellular Biology
Harvard University

 **Verified Certificate**
Issued enero 28, 2024

Valid Certificate ID
[3e36eacb83ee429bbe19f276bd9b05db](#)

Verified Certificate



Rafael Irizarry
Professor of Biostatistics
Harvard T.H. Chan School of Public Health

This is to certify that

Enrique Oropeza Martinez

successfully completed and received a passing grade in

PH525.1x: Statistics and R

a course of study offered by HarvardX, an online learning initiative of Harvard University.



Verified Certificate
Issued marzo 16, 2024

Valid Certificate ID
[b42836bdb4c6427cbf25f69e20d4d4be](https://verify.edx.org/certificate/b42836bdb4c6427cbf25f69e20d4d4be)



La Universidad Autónoma Metropolitana otorga la presente
CONSTANCIA a:

Oropeza-Martínez Enrique y Tecalco-Cruz Ángeles C.

Por su participación en el “2nd International Symposium on Experimental and Translational Medicine”, con la Presentación en Cartel del trabajo:

“Study of the IFN-gamma Signaling Effect on Protease Profile in Glioblastoma Cells”



Dr. José Luis Gómez Olivares
Director de la División de Ciencias Biológicas
y de la Salud, UAM-I

Ciudad de México, a 11 de abril del 2024

Dr. Luis Enrique Gómez Quiróz
Coordinador General del Simposio

Study of the IFN-gamma Signaling Effect on Protease Profile in Glioblastoma Cells.

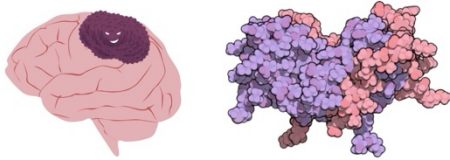
Oropeza-Martínez, E; Tecalco-Cruz, AC*.

Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, CDMX 03100, Mexico
Oropeza-Martínez, E: enrique.oropeza.martinez@estudiante.uacm.edu.mx

Introduction

Glioblastoma, a highly aggressive primary brain tumor, poses a significant clinical challenge due to its highly aggressive nature and fatal prognosis.

This cancer is characterized by a complex inflammatory microenvironment that favors its development and progression.



GLIOBLASTOMA IFN-GAMMA

IFN-gamma, a key proinflammatory cytokine, modulates the immune response. Upon binding to its receptor complex, it triggers a signaling cascade culminating in the activation of the transcription factor STAT-1. The latter regulates the expression of various genes, including genes encoding **proteases**.

Objective

Determine the effect of the IFN-gamma signaling pathway on the protease profile involved in glioblastoma progression.

Material and Methods

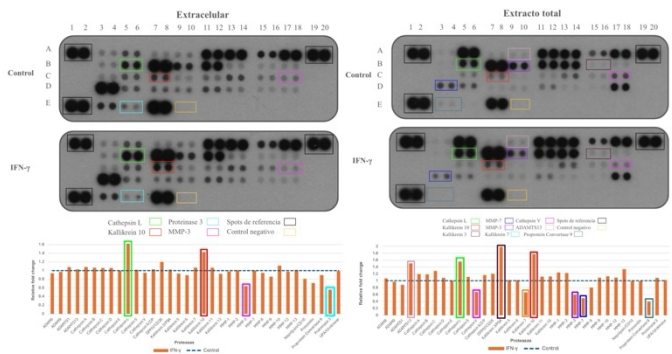
The effect of IFN-gamma on protease expression was assessed using a protein microarray capable of analyzing 35 proteases. Proteins were extracted from A-172 glioblastoma cell line, both from the intracellular and extracellular milieu, with and without IFN-gamma stimulation at a concentration of 100ng/mL for 24 hours.

References



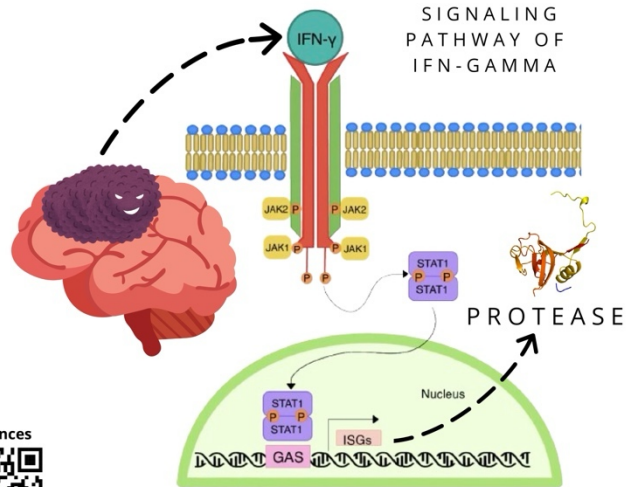
Results

Our results demonstrate that IFN-gamma signaling can modulate the levels of some proteases in glioblastoma cells.



Conclusion

IFN-gamma may promote pro-tumorigenic actions by modulating the expression levels of some proteases in glioblastoma cells



Este trabajo fue apoyado por CCyT-UACM (CCyT-2024-CON-07).



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE
NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

LA SECRETARÍA DE SALUD Y
EL INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA
Y NEUROCIROGÍA MANUEL VELASCO SUÁREZ

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

ENRIQUE OROPEZA MARTÍNEZ

POR SU PARTICIPACIÓN EN LA
SEMANA DEL CEREBRO 2024

Expositor de Cartel de Divulgación de la Ciencia "El cerebro y las tijeras que cortan proteínas" en la Semana del Cerebro, evento realizado del 11 al 15 de marzo de 2024

Horas Curriculares: 4 hrs.

DR. RAMIRO G. RUIZ GARCÍA

Subdirector de Formación, Actualización y
Capacitación de Recursos Humanos



DRA. FABIOLA E. SERRANO ARIAS

Directora de Enseñanza

Ciudad de México, 16 de julio de 2024



2024
AÑO DE
Felipe Carrillo
PUERTO
BENEFICIO DEL PROLETARIADO,
REVOLUCIONARIO Y DEFENSOR
DEL MAYAB



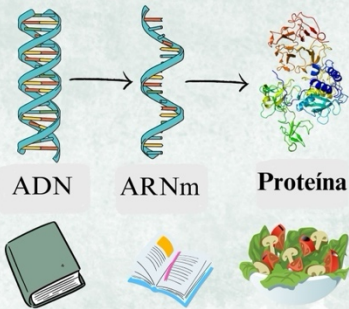
El Cerebro y las Tijeras que Cortan Proteínas

Enrique Oropeza Martínez, Karen H Medina Abreu, Ángeles Tecalco Cruz*
 Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Posgrado en Ciencias Genómicas

¿Qué son las proteínas?

Son pequeñas "piezas" que mantienen el correcto funcionamiento de nuestro cuerpo

¿Cómo se forman?



Siguiendo las "recetas", las células crean las proteínas necesarias para realizar tareas específicas

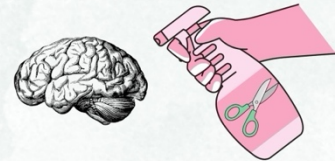


Las proteasas

Son proteínas que se encargan de cortar diversas proteínas



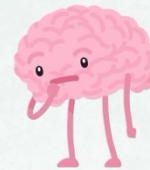
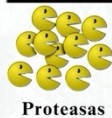
Las proteasas y el cerebro



Una de las muchas funciones que tienen las proteasas, es la "limpieza", y en nuestro cerebro son muy cuidadosas

¿Los niveles importan !

Las proteasas están en equilibrio, no hay muchas ni hay pocas, pero cuando hay más de las necesarias o menos, surgen enfermedades como el cáncer



Referencias:



UACM
 Universidad Autónoma de la Ciudad de México
 Nada humano me es ajeno

POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

Este trabajo contó con el apoyo de la UACM-CCyT (CCyT-2024). KHM-A es becario del CONAHCYT y es estudiante del Posgrado en Ciencias Genómicas-UACM.

UACM
Universidad Autónoma
de la Ciudad de México
Instituto de Investigación

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

ENRIQUE OROPEZA MARTÍNEZ

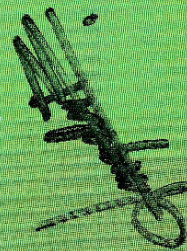
POR SU PARTICIPACIÓN EN LAS
SEGUNDAS JORNADAS DE DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA
DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

DIRIGIDA AL PÚBLICO EN GENERAL PARA PROMOVER
LA DIVULGACIÓN Y EL ACCESO UNIVERSAL AL CONOCIMIENTO

9 DE MAYO DEL 2024

DRA. ANGELES C. TECALCO CRUZ
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

DRA. HELENA SOLLEIRO VILLAVICENCIO
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS



UACM

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

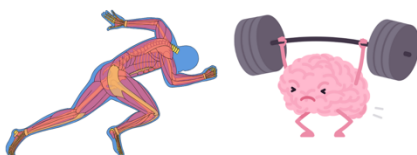
El interesante mundo de las PROTEASAS: Proteínas Clave para Comprender el Cuerpo Humano

Enrique Oropeza-Martínez, Ángeles C. Tecalco-Cruz*

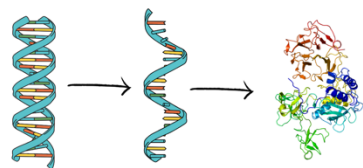
Licenciatura en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, CDMX 03100, Mexico

Las proteínas

Son pequeñas "piezas" que mantienen el correcto funcionamiento de nuestro cuerpo



¿Cómo se forman?



ADN

ARNm

Proteína



Las proteínas siguen "recetas", las células crean las proteínas necesarias para realizar tareas específicas

¿De dónde las obtenemos?

Las proteínas las obtenemos de nuestra dieta, en nuestro cuerpo las metabolizamos para fabricar nuestras proteínas



Las proteasas

Son proteínas que se encargan de cortar como si fueran tijeras moleculares a otras proteínas

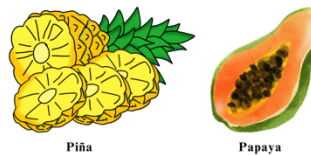


Proteasas

Proteínas

¡Las proteasas en los alimentos!

Las proteasas realizan sus funciones dentro de nuestro cuerpo, sin embargo también están en otros organismos, como por ejemplo la piña y la papaya



Piña

Papaya

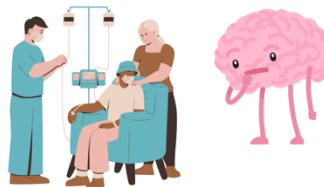
Las proteasas realizan la "limpieza" en nuestras células

Una de las muchas funciones que tienen las proteasas, es la "limpieza" en nuestras células



¡Los niveles importan !

Las proteasas están en equilibrio, no hay muchas ni hay pocas, pero cuando hay más de las necesarias o menos, surgen enfermedades como el cáncer



Referencias:



UACM
Universidad Autónoma
de la Ciudad de México
NADA HUMANO HE ES AJENO

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A: ENRIQUE OROPEZA MARTÍNEZ

SEGUNDO LUGAR EN LA MODALIDAD DEL LOGO,
EN LAS SEGUNDAS JORNADAS DE DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA
DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

9 DE MAYO DEL 2024



DRA. ANGELES C. TECALCO CRUZ
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS



DRA. HELENA SOLLEIRO VILLAVICENCIO
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS

UACM
Universidad Autónoma
de la Ciudad de México
NADA HUMANO ME ES AJENO

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A:

ENRIQUE OROPEZA MARTÍNEZ

TERCER LUGAR EN LA MODALIDAD VÍDEO,
EN LAS SEGUNDAS JORNADAS DE DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA
DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

9 DE MAYO DEL 2024



DRA. ANGELES C. TECALCO CRUZ
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS



DRA. HELENA SOLLEIRO VILLAVICENCIO
COORDINADORAS DE LAS SEGUNDAS JORNADAS DE
DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA DE LA LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS