

Comportamiento tumoral y glicosilación

PATRICIA GOROCICA ROSETE*
JOSÉ AGUSTÍN ATZÍN*
ANA KARINA SALDAÑA*
BLANCA ESPINOSA*
FRANCISCO JAVIER URREA*
NOÉ ALVARADO VÁSQUEZ*
RICARDO LASCURAIN*, ‡

* Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

‡ Departamento de Bioquímica. UNAM.

Trabajo recibido: 26-XII-2008; aceptado: 09-II-2009

Conflicto de intereses: Ninguno

RESUMEN

280

Palabras clave: Cáncer, antígeno glicosilado, respuesta inmune.
Key words: Cancer, glycosylated antigen, immune response.

Durante la carcinogénesis ocurren modificaciones en los N- y O-glicanos. Estos cambios son debidos a las señales a las que son expuestas las células, lo que regula la expresión de enzimas encargadas de la biosíntesis de los glicanos. Esto genera nuevos epítomos o deja expuestos epítomos que en condiciones normales estaban ocultos, los cuales son reconocidos por elementos de la respuesta inmune que promueven o limitan el crecimiento del tumor. Entre los antígenos más importantes asociados a tumores están el sialil Lewis X, el antígeno T y el antígeno Tn. En esta revisión se hace mención de aquellos antígenos glicosilados relevantes en la progresión o el control de los tumores y los elementos de la respuesta inmune que participan.

ABSTRACT

Molecular modifications in the N- and O-glycans take place during carcinogenesis. These changes are due to cell signaling that regulates the expression of enzymes responsible for the biosynthesis of glycans. This generates new epitopes or uncover ordinarily hidden epitopes, which are then recognized by elements of the immune response that promote or limit the tumor growth. Among the most important tumor-associated antigens are sialyl Lewis X, T-antigen and Tn-antigen. This review refers to those glycosylated antigens relevant in the progression or control of tumors and the components of the immune response involved.

INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos de la superficie celular son característicos del tipo celular y son expresados de manera específica de acuerdo con la etapa de desarrollo de las células o de los tejidos. En las neoplasias esta expresión normal de la célula es modificada, lo que favorece la progresión del tumor en algunos casos debido a las interacciones de los carbohidratos con ligandos que promueven la di-

seminación, o bien alteran el reconocimiento normal por componentes de la respuesta inmunológica contra el tumor.

En general, la incidencia de cáncer a nivel mundial va en aumento con respecto a la edad, debido probablemente al deterioro en la función inmunitaria, pero también se incrementa la posibilidad de presentarse alteraciones en la regulación de genes supresores de tumores. En algunos casos existen evidencias de que entre los prime-

ros cambios que ocurren en una célula durante su transición hacia la neoplasia, se encuentra la modificación de moléculas glicosiladas. Hasta el momento no se conoce bien cuáles son los detonantes para que esos cambios ocurran, pero seguramente están asociados a la correcta regulación en la expresión de las enzimas que participan en la glicosilación de las proteínas o de los lípidos y, que al igual que la mayoría de los genes, su regulación está sujeta a diversos estímulos.

GLICOSILACIÓN ASOCIADA A TUMORES

Las moléculas glicosiladas se caracterizan por la naturaleza de la unión que se presenta entre la parte proteica o lipídica y el carbohidrato. Existen varios tipos de glicanos, los más comunes son los N-glicanos, que son complejos macromoleculares formados a partir de un precursor sintetizado en el retículo endoplásmico rugoso (RER). Consta de un oligosacárido preformado compuesto por N-acetil glucosamina (GlcNAc), manosa (Man) y glucosa (Glc), el cual se une al extremo amino (NH_2) de la cadena lateral de la asparagina (Asn) de una proteína.¹ También los O-glicanos son comunes y se forman por la unión de un monosacárido que casi siempre es N-acetil galactosamina (GalNAc) al hidroxilo (OH) de un residuo de serina (Ser) o de treonina (Thr), aunque en raras ocasiones el monosacárido puede ser Man o fucosa (Fuc). La estructura GalNAc-Ser/Thr se conoce como antígeno Tn, que es el precursor para otras moléculas.² La unión de una Gal con una enzima específica al antígeno Tn genera el disacárido Gal β 1,3GalNAc α Ser/Thr conocido como antígeno Thomsen-Friedenreich (antígeno T) que es el sustrato para varias enzimas glicosiltransferasas (GTs) que por competencia, generan diferentes núcleos sacarídicos o "cores" y da lugar a estructuras cada vez más complejas (Figura 1). Estas enzimas están presentes en todas las células, pero su expresión está regulada y ello determina su actividad.

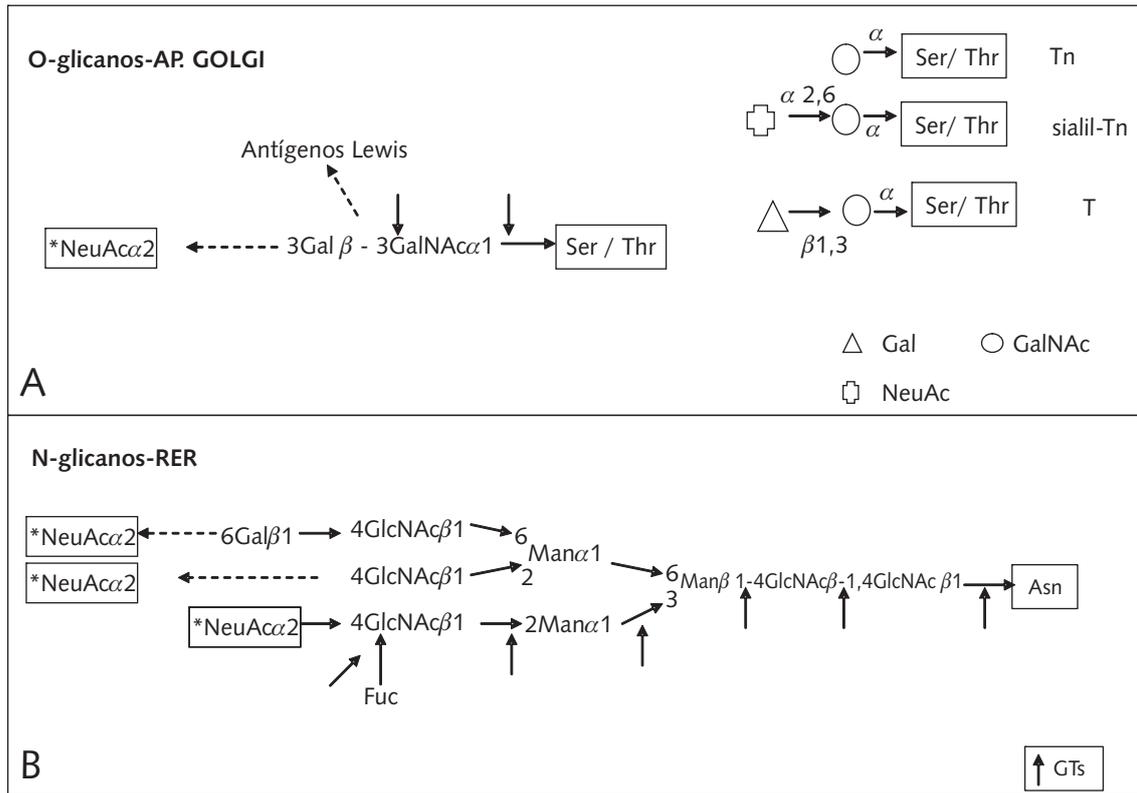
Las alteraciones más comunes presentes en la biosíntesis de los glicoconjugados durante la carcinogénesis generan estructuras nuevas o incompletas comúnmente terminadas en ácido siálico (Sia) o Fuc, como en el caso del antígeno

no sialil-Tn (STn), sialil-Lewis X (SL^x) y sialil-Lewis A (SL^a) (Figura 2). La parte terminal en estas moléculas pueden ser lineal o ramificada (Figura 1). Por ejemplo, las ramificaciones que parten de GlcNAc con enlace β 1,6 generan el antígeno H. El antígeno H es el precursor de los grupos sanguíneos del sistema ABO, de los antígenos asociados a tumor (TAAS, por sus siglas en inglés) sacarídicos, y de los antígenos Lewis.²⁻⁴ Las ramificaciones que sufren, tanto el antígeno Tn como el antígeno T por acción de diversas enzimas sialil transferasas (STs) o fucosil transferasas (FucTs) dan origen a los antígenos tumorales SL^x , SL^a o sialil Lewis Y (SLY).⁵

El grado y tipo de glicosilación se encuentran regulados por las diversas GTs, que actúan secuencialmente en el RER para la N-glicosilación, o en el aparato de Golgi para la O-glicosilación, catalizando la unión específica entre un monosacárido y un glicano precursor. La expresión de estas enzimas depende del tipo de célula o tejido, pero también están reguladas por estímulos.²

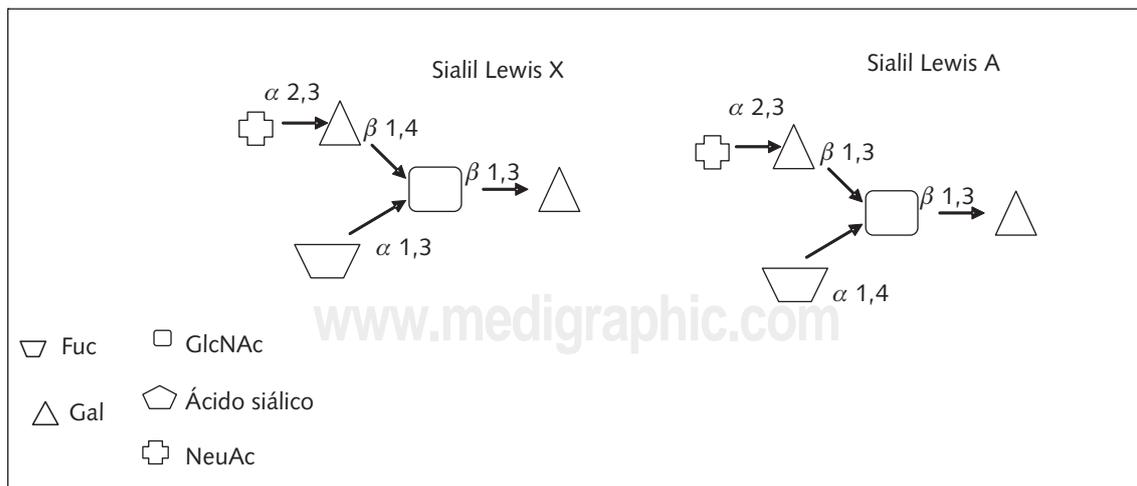
A partir del antígeno Tn, la biosíntesis de los O-glicanos puede generar ocho diferentes cores. A partir de los cores, las cadenas sacarídicas se elongan o ramifican dando como resultado estructuras más complejas de O-glicanos (Figura 3). El core 1 (Gal β 1,3GalNAc) y el core 2 son los que generan la mayor parte de los TAAS sacarídicos.²⁻⁴

La biosíntesis de algunos glicanos es finalizada de manera normal o anticipada por la transferencia de Sia en las posiciones terminales de los carbohidratos.⁴ Esta transferencia es mediada por alguna de las 12 diferentes STs específicas de célula o tejido hasta ahora conocidas en mamíferos.⁶⁻⁸ Los Sia son una familia de azúcares carboxilados de 9 carbonos, que se encuentran como monosacáridos terminales, tanto en N- como en O-glicanos. El Sia puede tener sustituciones de uno o más grupos hidroxilo con grupos acetilo, metilo, lactilo, fosfato o sulfato, con lo que cambia el significado biológico y las propiedades a las moléculas que lo contienen.⁹⁻¹² Por ejemplo, una expresión alterada del Sia puede estar asociada con el comportamiento de algunas neoplasias.¹³



282

Figura 1. Biosíntesis básica de los N y O-glicanos. **A)** Muestra los antígenos tumorales que se generan a partir de cada estructura sacarídica; **B)** Muestra los tipos de enlaces y ramificaciones más comunes que pueden derivarse de la estructura sacarídica en los N-glicanos. GTs se refiere a la glicosil transferasa que participa en cada etapa.



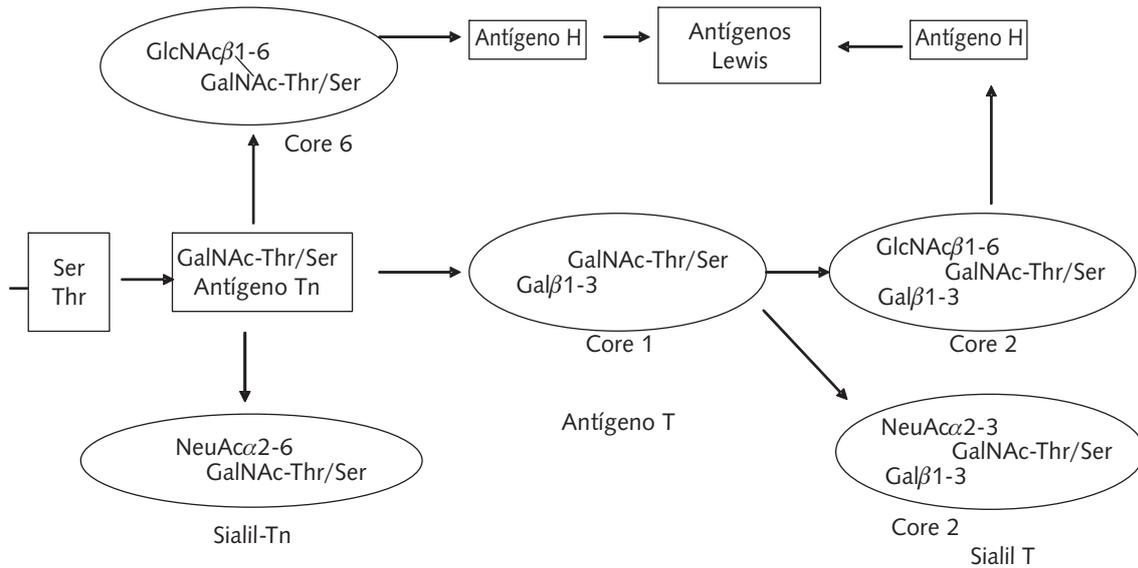


Figura 3. Biosíntesis de los cores que generan los antígenos tumorales más importantes.

SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LA GLICOSILACIÓN

Las modificaciones en los carbohidratos afectan las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, esto genera nuevas estructuras que pueden ser consideradas como determinantes antigénicos (epítomos) o como glicotopos, y pueden ser utilizados como marcadores moleculares.³ El tipo y grado de glicosilación influyen en la antigenicidad de las moléculas reconocidos por linfocitos T.¹⁴ Las mucinas son el mejor representante de los O-glicanos con core 1 y core 2. Son las glicoproteínas de alto peso molecular altamente glicosiladas (50-90%) abundantes en el moco, cubren la superficie del epitelio respiratorio, gastrointestinal y tracto reproductivo, presentan alteraciones en la glicosilación en células neoplásicas, estos cambios son responsables de la evasión de la respuesta inmune antitumoral,^{15,16} o bien del comportamiento invasivo de las células asociándolas a la progresión de la enfermedad.^{17,18}

Las modificaciones de los O-glicanos en el cáncer son frecuentes,^{3,19} como es el caso del melanoma donde hay un incremento del Sia acilado en el carbón 9 en el gangliósido (tipo de esfingolípido con oligosacáridos y ácido siálico) y

esta modificación favorece la diseminación de las células.²⁰

La carcinogénesis es consecuencia de las señales que reciben las células (químicas, físicas y biológicas) provocando modificaciones moleculares y estructurales que alteran el proceso vital de la célula.^{21,22} Se sabe, en algunos casos, que estas señales encienden genes asociados a neoplasias. Por ejemplo, algunas GTs como la glucosil transferasa V (GnT-V) y la GnT-III están reguladas por genes de la familia Ets. La expresión de GnT-V permite aumentar la expresión de $\beta 6\text{GlcNAc}$, esta estructura puede ser ramificada para generar estructuras prometastásicas.²³ En cambio, la expresión de GnT-III reduce la ramificación de las estructuras.²⁴ Por lo tanto, la adhesión de las estructuras muy ramificadas producto de GnT-V con sus ligandos favorece la diseminación de los tumores, en cambio, GnT-III tiene un efecto antimetastásico.²⁵ Otro ejemplo lo encontramos en las mucinas, su biosíntesis es compleja y puede presentar diferentes alteraciones dependiendo de los estímulos.²⁶⁻²⁸ La mucina tipo 1 (MUC1) en el cáncer puede sobreexpresar algún tipo de O-glicano rico en GlcNAc con terminaciones con Sia, porque las enzimas responsables (GlcNAc T y STs) están sobreexpresadas como respuesta a un es-

tímulo, dando lugar a una forma hiperglicosilada, pero también existe el caso donde la biosíntesis está incompleta debido a que no se expresó alguna GTs responsable, por lo que se generan unas mucinas pobremente glicosiladas o con cadenas sacarídicas cortas, dejando expuesto al antígeno Tn.^{26,28} El SL^x es otro antígeno presente en las mucinas conocidas como sialomucinas, pero al contrario de las anteriores, la presencia de SL^x favorece la metástasis de cáncer de colon.^{29,30} Estos antígenos se han considerado como antígenos comunes en varios tipos de cáncer.^{28,31-33}

La consecuencia biológica para cada subtipo de MUC1 es diferente, mientras que la altamente glicosilada favorece la progresión del tumor y es pobremente inmunogénica porque los epítopos antigénicos quedan cubiertos por las múltiples ramificaciones presentes en la parte sacarídica de la molécula; la forma MUC1 pobremente glicosilada, por el contrario, es altamente antigénica y participa en la activación de la respuesta antitumoral.^{34,35} Hasta el momento, se desconocen los mecanismos de regulación en ambos subtipos de MUC1, pero seguramente está asociado con los estímulos del microambiente;^{27,32} esto último ha despertado interés en la comunidad científica para utilizar al MUC1 en la inmunoterapia contra el cáncer.²⁷

RESPUESTA INMUNE A GLICANOS ASOCIADOS A TUMOR

Los determinantes antigénicos más importantes en tumores son los de naturaleza sacarídica, (TAAS) sacarídicos. Se consideran varias categorías de antígenos glicosilados que incluyen la estructura $\beta 6\text{GlcNAc}$ a partir de las cuales, al ramificarse, dan lugar al antígeno H de los grupos sanguíneos o las variantes del antígeno Lewis, o bien los que presentan abundantes estructuras de O-glicanos con core 1 o core 2, como es el caso de las mucinas.³³ Los antígenos derivados de la estructura $\beta 6\text{GlcNAc}$ se expresan de manera normal en células sanguíneas, pero cuando se encuentran expresados en células o tejidos diferentes a éstos, su significado biológico es diferente y entonces son considerados como antígenos tumorales responsables del progreso del tumor.^{34,35} Como se mencionó, los antígenos T y Tn y siali-

Lewis asociados al crecimiento del tumor, pueden ser responsables de la evasión de la respuesta inmune por parte de las células que lo expresan.³³⁻³⁵

Los antígenos SL^a, SL^x y sialil-6-sulfo Le^x, están involucrados en la adhesión de células cancerosas al endotelio vascular mediada por selectinas y asociadas con metástasis hematológica.^{36,37} SL^a y SL^x son ligandos para E-selectina, y el sialil-6-sulfo Le^x se une a la L-selectina, además de la E y P-selectina. Con este tipo de antígenos que se unen a las moléculas de adhesión del endotelio vascular se favorece la metástasis hematológica, como es el caso del cáncer de mama, ovario y pulmón.^{38,39} La MUC1 normal se expresa en linfocitos T y en células endoteliales, es un ligando para la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). Su papel está relacionado con la homeostasis, ya que su presencia en mucosas evita la adhesión de microorganismos, por lo que tiene un papel de impedimento estérico; en cambio, en los linfocitos T su función es de receptor relacionado con la activación celular y, finalmente, con la regulación de otras moléculas como las cateninas, integrinas o caderinas.^{28,40,41} Por su parte, la MUC1 alterada en células neoplásicas su función varía volviéndose importante para el comportamiento de las células neoplásicas, tales como adhesión, metástasis y evasión de la respuesta inmune. La cantidad de TAAS, en ocasiones, tiene diferente significado clínico. En algunos casos la expresión de altos niveles de MUC1 en las células tumorales se asocia a un pobre pronóstico,⁴² o bien bajos niveles de SL^x, favorece la metástasis del tumor; sin embargo, las altas concentraciones de SL^x favorecen el ataque citotóxico de las células naturales asesinas (NK) hacia las células tumorales.^{43,44}

Independientemente del estatus de glicosilación de las células tumorales, la respuesta inmune tiene mecanismos de control para las neoplasias. Las células citotóxicas como los linfocitos T CD8+ y las células NK con fenotipo CD2+, CD16+ CD56+ y algunas poblaciones con fenotipo CD57+, son las más directamente implicadas en controlar el crecimiento de las células tumorales.⁴⁵⁻⁴⁷ En pacientes con cáncer la subpoblación citotóxica CD8+CD57+ está incrementada en circulación,⁴⁶ lo que sugiere que pueden tener un papel activo en el control del cáncer.

La citotoxicidad clásica de los linfocitos T es específica y depende de la activación de las células por medio de las moléculas presentadoras de antígeno MHC clase I, también conocidas como HLA-ABC y que son expresadas en la superficie de todas las células nucleadas, incluyendo las células tumorales. En cambio, la actividad citotóxica de las células NK que actúa de manera no específica contra células tumorales, requiere de la activación de receptores. La función citotóxica de las células NK está regulada por un equilibrio entre señales generadas a partir de receptores activadores o inhibidores.⁴⁸ Entre los receptores activadores se conocen varias clases como el dímero CD94/NKG2C, ambos tienen dominios tipo lectina y su ligando es HLA-E o el NKG2D que se une a MICA y MICB en la superficie del tumor. Entre los receptores inhibidores también con actividad de lectina está el CD94/NKG2A con ligando HLA-E. La actividad lectina del CD94 monomérico va dirigida a reconocer el SL^x.⁴⁸⁻⁵⁰

El correcto funcionamiento de la respuesta inmunológica no sólo depende del reconocimiento de la porción proteica de moléculas de superficie, sino también del reconocimiento de la porción sacarídica de muchas de ellas. Esto explica la razón por la cual, los tumores antigénicos presentan una infiltración de células del sistema inmune que es importante para el control del tumor.⁵¹ Se ha demostrado que los carbohidratos pueden modular la respuesta de linfocitos T por varias vías. La inmunogenicidad del péptido MUC1 radica en la exposición del antígeno Tn, como consecuencia de su pobre glicosilación, lo que incrementa la respuesta citotóxica de linfocitos T.^{52,53} Por lo tanto, los carbohidratos presentes en las mucinas pueden comportarse como antígenos para los linfocitos T y linfocitos B,^{53,54} por lo que son considerados como TAAS. La capacidad de los linfocitos T, tanto CD4 como CD8 para reconocer antígenos sacarídicos puede tener consecuencias importantes en la respuesta inmune.^{53,55,56} Por ejemplo, cuando los péptidos glicosilados de MUC1 son reconocidos por los linfocitos T CD4+ en el contexto de MHC-II de la célula dendrítica, principalmente, la parte sacarídica se orienta hacia el lado del TcR y solamente la parte peptídica está interactuando con el MHC-II.⁵⁷ La función de la glicosilación en los

péptidos antigénicos es diferente de acuerdo con la cantidad o complejidad de los carbohidratos unidos, si el péptido antigénico está unido a residuos de GalNAc (antígeno Tn) o Gal-GalNAc (antígeno T) se protegen de la degradación enzimática durante su procesamiento, pero si los residuos de carbohidratos unidos al péptido son abundantes o muy ramificados después del procesamiento al unirse al MHC-II para ser presentados al TcR, lo que pueden ocasionar es un impedimento estérico entre el péptido altamente glicosilado y el TcR; es decir, tanto el grado de glicosilación puede favorecer o impedir la activación de los linfocitos T.⁵⁸

En el caso de MHC-I se sabe que cuando el péptido está glicosilado con GalNAc en enlace α o β a la Ser o a la Thr, se une con mayor afinidad; sin embargo, no se tienen muchos datos para entender bien el mecanismo, se considera que el residuo de carbohidrato aumenta las interacciones de Van der Waals y favorece la unión al MHC-I. El TcR, tanto el $\alpha\beta$ como el $\gamma\delta$ pueden reconocer y unirse a glicopéptidos, pero en caso de MUC1 cuando expresa el antígeno T y el Tn, activan de manera más eficiente a las células T citotóxicas.⁵⁸

Aún no se conocen bien los mecanismos bioquímicos por los cuales las moléculas glicosiladas sufren alteraciones durante la carcinogénesis y cómo estos cambios influyen en el comportamiento del tumor ya sea para su progreso o para su supresión, tanto por la interacción de las moléculas de superficie del tumor con sus ligandos para favorecer la diseminación como en la interacción de las moléculas antigénicas de superficie para su control inmunológico.⁵⁹

CONCLUSIONES

Aunque una de las principales funciones de los glicanos es darle estabilidad a la estructura de las proteínas para protegerlas contra proteasas endógenas, también tienen un importante papel en la transducción de señales, control, diferenciación celular y, además, pueden formar epítopos específicos para la respuesta innata y adaptativa.

Algunas estructuras sacarídicas tienen mayor relevancia en la respuesta inmune como los O-glicanos. Los O-glicanos más abundantes son los

que tienen core 1 (Gal β 1,3GalNAc), a partir de esta estructura se genera el core 2 (Gal β 1,3GlcNAc β 1,6GalNAc). La estructura β 6GlcNAc se ramifica para generar el antígeno Lewis y sus variantes, entre éstas están los precursores de los principales ligandos de las selectinas que contribuyen a la diseminación vía hematógica del tumor.

Se han identificado numerosos epítomos sacáridos asociados con el comportamiento del tumor y a la regulación de la respuesta inmune, por lo que actualmente están cobrando interés debido a su potencial uso terapéutico, profiláctico y diagnóstico. Hoy, el área de la glicobiología del cáncer tiene grandes expectativas para encontrar solución a uno de los grandes problemas de salud, tanto económico como social más importantes.

REFERENCIAS

- Suzuki T, Kitajima K, Inoue S, Inoue Y. *N-glycosylation/deglycosylation as a mechanism for the post-translational modification/remodification of proteins*. Glycoconj J 1995;12:183-193.
- Varki A, Cummings R, Esko J, Freeze H, Hart G, Marth J. *Essentials of glycobiology*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press;1999.p. 653.
- Van den Steen, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. *Concepts and principles of O-linked glycosylation*. Crit Rev Biochem Mol Biol 1998;33:151-208.
- Brockhausen I. *Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells*. Biochim Biophys Acta 1999;1473:67-95.
- Löfling J, Holgersson J. *Core saccharide dependence of sialyl Lewis X biosynthesis*. Glycoconj J 2009;26:33-40.
- Broquet P, Baubichon-Cortay H, George P, Louisot P. *Glycoprotein sialyltransferases in eucaryotic cells*. Int J Biochem 1991;23:385-389.
- Dall'Olio F, Chiricolo M. *Sialyltransferases in cancer*. Glycoconj J 2001;18:841-850.
- Malisan F, Testi R. *GD3 ganglioside and apoptosis*. Biochim Biophys Acta 2002;1585:179-187.
- Schauer R, Kelm S, Reuter G, Roggentin P, Shaw L. *Biochemistry and role of sialic acid*. In: Rosemberg A, editor. *Biology of sialic acid*. New York: Plenum Press; 1995.p.7-67.
- Manzi AE, Sjöberg ER, Diaz S, Varki A. *Biosynthesis and turnover of O-acetyl and N-acetyl groups in the gangliosides of human melanoma cells*. J Biol Chem 1990;265:13091-13103.
- Varki A. *Diversity in the sialic acid*. Glycobiology 1992;2:25-40.
- Varki NM, Varki A. *Diversity in cell surface sialic acid presentations: implications for biology and disease*. Lab Invest 2007;87:851-857.
- Hedlund M, Ng E, Varki A, Varki NM. *α 2-6-Linked sialic acids on N-glycans modulate carcinoma differentiation in vivo*. Cancer Res 2008;68:388-394.
- Mouritsen S, Meldal M, Christiansen-Brams I, Elsner H, Werdelin O. *Attachment of oligosaccharides to peptide antigen profoundly affects binding to major histocompatibility complex class II molecules and peptide immunogenicity*. Eur J Immunol 1994;24:1066-1072.
- Couldrey C, Green JE. *Metastases: the glycan connection*. Breast Cancer Res 2000;2:321-323.
- Laidler P, Lityńska A. *Tumor cell N-glycans in metastasis*. Acta Biochim Pol 1997;44:343-357.
- Hollingsworth MA, Swanson BJ. *Mucins in cancer: protection and control of the cell surface*. Nat Rev Cancer 2004;4:45-60.
- Yamashita Y, Chung YS, Horie R, Kannagi R, Sowa M. *Alterations in gastric mucin with malignants transformation: novel pathway for mucin synthesis*. J Natl Cancer Inst 1995;87:441-446.
- Peracaula R, Barrabés S, Sarrats A, Rudd PM, de Llorens R. *Altered glycosylation in tumours focused to cancer diagnosis*. Dis Markers 2008;25:207-218.
- Nicoll G, Avril T, Lock K, Furukawa K, Bovin N, Crocker PR. *Ganglioside GD3 expression on target cells can modulate NK cell cytotoxicity via siglec-7-dependent and -independent mechanisms*. Eur J Immunol 2003; 33:1642-1648.
- Sheu BC, Chang WC, Cheng CY, Lin HH, Chang DY, Huang SC. *Cytokine regulation networks in the cancer microenvironment*. Front Biosci 2008;13:6255-6268.
- Yao H, Guo L, Jiang BH, Luo J, Shi X. *Oxidative stress and chromium(VI) carcinogenesis*. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2008;27:77-88.
- Ko JH, Miyoshi E, Noda K, et al. *Regulation of the GntV promoter by transcription factor Ets-1 in various cancer cell lines*. J Biol Chem 1999;274:22941-22948.
- Zhang W, Revers L, Pierce M, Schachter H. *Regulation of expression of the human beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase II gene (MGAT2) by Ets transcription factors*. Biochem J 2000;347(Pt 2):511-518.
- Miyoshi E, Noda K, Yamaguchi Y, et al. *The alpha1-6-fucosyltransferase gene and its biological significance*. Biochim Biophys Acta 1999;1473:9-20.
- Gendler SJ. *MUC1, the renaissance molecule*. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2001;6:339-353.
- Stepensky D, Tzehoval E, Vadai E, Eisenbach L. *O-glycosylated versus non-glycosylated MUC1-derived peptides as potential targets for cytotoxic immunotherapy of carcinoma*. Clin Exp Immunol 2006; 143:139-149.
- Reis CA, David L, Seixas M, Burchell J, Sobrinho-Simões M. *Expression of fully and under-glycosylated forms of MUC1 mucin in gastric carcinoma*. Int J Cancer 1998;79:402-410.
- Ho SB, Kim YS. *Carbohydrate antigens on cancer-associated mucin-like molecules*. Semin Cancer Biol 1991;2:389-400.
- Hansch FG, Stadie TR, Deutzmann F, Peter-Katalinic J. *MUC1 glycoforms in breast cancer-cell line T47D as a model for carcinoma-associated alterations of O-glycosylation*. Eur J Biochem 1996;236:318-327.

31. Matsushita Y, Cleary KR, Ota DM, Hoff SD, Irimura T. *Sialyl-dimeric Lewis-X antigen expressed on mucin-like glycoproteins in colorectal cancer metastases*. Lab Invest 1990;63:780-791.
32. Lloyd KO, Burchell J, Kudryashov V, Yin BW, Taylor-Papadimitriou J. *Comparison of O-linked carbohydrate chains in MUC-1 mucin from normal breast epithelial cell lines and breast carcinoma cell lines. Demonstration of simpler and fewer glycan chains in tumor cells*. J Biol Chem 1996;271:33325-33334.
33. Amaya S, Sasaki M, Watanabe Y, et al. *Expression of MUC1 and MUC2 and carbohydrate antigen Tn change during malignant transformation of biliary papillomatosis*. Histopathology 2001;38:550-560.
34. Springer GF. *T and Tn, general carcinoma autoantigens*. Science 1984;224:1198-1206.
35. Xu Y, Sette A, Sidney J, Gendler SJ, Franco A. *Tumor-associated carbohydrate antigens: a possible avenue for cancer prevention*. Immunol Cell Biol 2005;83:440-448.
36. Ugorski M, Laskowska A. *Sialyl Lewis^x: a tumor-associated carbohydrate antigen involved in adhesion and metastatic potential of cancer cells*. Acta Biochem Pol 2002;49:303-311.
37. Singhal A, Hakomori S. *Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer*. Bioessays 1990;12:223-230.
38. Yeh JC, Hiraoka N, Petryniak B, et al. *Novel sulfated lymphocyte homing receptors and their control by a Core1 extension beta 1,3-N-acetylglucosaminyltransferase*. Cell 2001;105:957-969.
39. Croce MV, Isla-Larrain M, Rabassa ME, et al. *Lewis X is highly expressed in normal tissues: a comparative immunohistochemical study and literature revision*. Pathol Oncol Res 2007;13:130-138.
40. McDermott KM, Crocker PR, Harris A, et al. *Overexpression of MUC1 reconfigures the binding properties of tumor cells*. Int J Cancer 2001;94:783-791.
41. Quinlin IS, Burnside JS, Dombrowski KE, Phillips CA, Dolby N, Wright SE. *Context of MUC1 epitope: immunogenicity*. Oncol Rep 2007;17:453-456.
42. Byrd JC, Bresalier RS. *Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer*. Cancer Metastasis Rev 2004;23:77-99.
43. Ohyama C, Kanto S, Kato K, et al. *Natural killer cells attack tumor cells expressing high levels of sialyl Lewis X oligosaccharides*. Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:13789-13794.
44. Ohyama C, Tsuboi S, Fukuda M. *Dual roles of sialyl Lewis X oligosaccharides in tumor metastasis and rejection by natural killer cells*. EMBO J 1999;18:1516-1525.
45. McNerlan SE, Rea IM, Alexander HD, Morris TC. *Changes in natural killer cells, the CD57CD8 subset, and related cytokines in healthy aging*. J Clin Immunol 1998;18:31-38.
46. Characiejus D, Pasukoniene V, Jonusauskaite R, et al. *Peripheral blood CD8^{high}CD57⁺ lymphocyte levels may predict outcome in melanoma patients treated with adjuvant interferon-alpha*. Anticancer Res 2008;28:1139-1142.
47. Okada T, Iai T, Kawachi Y, et al. *Origin of CD57⁺ T cells which increase at tumour sites in patients with colorectal cancer*. Clin Exp Immunol 1995;102:159-166.
48. Phillips JH, Chang C, Mattson J, Gumperz JE, Parham P, Lanier LL. *CD94 and a novel associated protein (94AP) form a NK cell receptor involved in the recognition of HLA-A, HLA-B, and HLA-C allotypes*. Immunity 1996;5:163-172.
49. Ding Y, Sumitran S, Holgersson J. *Direct binding of purified HLA class I antigens by soluble NKG2/CD94 C-type lectins from natural killer cells*. Scand J Immunol 1999;49:459-465.
50. Higai K, Ichikawa A, Matsumoto K. *Binding of sialyl Lewis X antigen to lectin-like receptors on NK cells induces cytotoxicity and tyrosine phosphorylation of a 17-kDa protein*. Biochim Biophys Acta 2006;1760:1355-1363.
51. Nakakubo Y, Miyamoto M, Cho Y, et al. *Clinical significance of immune cell infiltration within gallbladder cancer*. Br J Cancer 2003;89:1736-1742.
52. Jensen T, Galli-Stampino L, Mouritsen S, et al. *T cell recognition of Tn-glycosylated peptide antigens*. Eur J Immunol 1996;26:1342-1349.
53. Galli-Stampino L, Meinjohanns E, Frische K, et al. *T-cell recognition of tumor-associated carbohydrates: the nature of the glycan moiety plays a decisive role in determining glycopeptide immunogenicity*. Cancer Res 1997;57:3214-3222.
54. Tsuboi S, Fukuda M. *Roles of O-linked oligosaccharides in immune responses*. Bioessays 2001;23:46-53.
55. Hakomori S. *Tumor-associated carbohydrate antigens defining tumor malignancy: basis for development of anti-cancer vaccines*. Adv Exp Med Biol 2001;491:369-402.
56. Kuemmel A, Single K, Bittinger F, et al. *TA-MUC1 epitope in non-small cell lung cancer*. Lung Cancer 2009;63:98-105.
57. Hanisch FG, Ninkovic T. *Immunology of O-glycosylated proteins: approaches to the design of a MUC1 glycopeptide-based tumor vaccine*. Curr Protein Pept Sci 2006;7:307-315.
58. Fernández-Rodríguez J, Dwir O, Alon R, Hansson GC. *Tumor cell MUC1 and CD43 are glycosylated differently with sialyl-Lewis a and x epitopes and show variable interactions with E-selectin under physiological flow conditions*. Glycoconj J 2001;18:925-930.
59. Fukuda M. *Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens*. Cancer Res 1996;56:2237-2244.

Correspondencia:

Dra. Patricia Gorocica Rosete,
Departamento de Bioquímica,
Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias Ismael Cosío Villegas.
Calzada de Talpan Núm. 4502,
colonia Sección XVI. México, D.F.,
14080. Teléfono directo:
54871705, conmutador 56 66 45
39, extensión 5230
Correo electrónico:
pgorocica@yahoo.com.mx