

## Expresión de MUC1 hipoglicosilada en adenocarcinoma pulmonar y sus metástasis

JOSÉ AGUSTÍN ATZIN MÉNDEZ\*  
ANA KARINA SALDAÑA VILLA\*  
DEMETRIO BERNAL\*  
MA. EUGENIA VÁZQUEZ†  
ANTONIO SERRATO PÉREZ\*  
PATRICIA GOROCICA ROSETTE\* ✉

\* Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER).

† Departamento de Patología, INER.

Trabajo recibido: 08-XII-2009; aceptado: 14-VI-2010

Conflicto de interés: ninguno

Proyecto financiado por CONACYT No. SNI-2008/90243

### RESUMEN

MUC1 es una O-glicoproteína expresada en la parte apical de epitelios normales pero frecuentemente cambia su distribución, estructura e inmunogenicidad en células tumorales de adenocarcinomas y estos cambios se asocian al comportamiento tumoral. La O-glicosilación de la MUC1 en las células neoplásicas es truncada, dando lugar al antígeno Tn (MUC1-Tn) o al antígeno T (MUC1-T). Tanto MUC1-Tn como MUC1-T pueden ser

**Palabras clave:** inmunogénicos y posiblemente rompan la tolerancia hacia las células neoplásicas para favorecer el infiltrado inflamatorio en la zona del tumor. El objetivo de este trabajo es identificar las características sacarídicas de MUC1 hipoglicosilada en pacientes con adenocarcinoma pulmonar. Este estudio comprendió 5 pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de adenocarcinoma pulmonar en estadio clínico IV. Por medio de inmunohistoquímica se determinó la presencia de MUC1-Tn y MUC1-T utilizando el anticuerpo MUC1 clona DF3 dirigido a la forma no glicosilada o hipoglicosilada de MUC1. Además se usaron las lectinas Vicia villosa para identificar el antígeno Tn y Arachis hypogea para identificar al antígeno T. La evaluación fue por microscopía de luz y análisis digital de imágenes. Los resultados mostraron aumento en la expresión de MUC1 hipoglicosilada en membrana y citoplasma de células del tumor prima-

### ABSTRACT

MUC1 is an O-glycoprotein expressed at the apex of normal epithelial cells, but its distribution, structure and immunogenicity often change in adenocarcinoma cells and these changes are related to tumor behavior. O-glycosylation of MUC1 in neoplastic cells is truncated, leading to Tn antigen (MUC1-Tn) or T antigen (MUC1-T). Both MUC1-Tn and MUC1-T can be immunogenic and possibly can break tolerance to neoplastic cells to favor inflammatory infiltrate in the tumor area. The aim of this work was to identify the saccharidic features of underglycosylated MUC1 in patients with pulmonary adenocarcinoma. The study comprised 5 patients with clinical and histopathological diagnosis of stage IV pulmonary adenocarcinoma. Expression of MUC1-Tn and MUC1-T was determined by immunohistochemistry by using MUC1 antibody, clone DF3, to non-glycosylated or underglycosylated forms of MUC1. Additionally, lectins from Vicia villosa and Arachis hypogea were used to identify Tn and T antigen, respectively. Evaluation was done through light microscopy and image digital analysis. Results showed increased expression of underglycosylated MUC1 on cell surface and cytoplasm of primary tumor cells, which was positively correlated with Tn antigen expression, but not with T antigen expression. Concerning to metastases, a positive correlation was found between MUC1 expression and either Tn or T antigen,

295

*rio que correlacionó positivamente con la expresión del antígeno Tn, pero no con el antígeno T. Con respecto a las metástasis, se encontró correlación positiva en la expresión de MUC1 con los antígenos Tn y T, excepto en encéfalo, corazón y diafragma, lo que sugiere que el análisis de la expresión de MUC1 en adenocarcinoma pulmonar puede ser un indicador importante para el pronóstico.*

*excepting in brain, heart and diaphragm tissues, which suggests that MUC1 expression analysis in lung adenocarcinoma may be an important predictor for prognosis.*

## INTRODUCCIÓN

El tipo de cáncer pulmonar más frecuente en México es el adenocarcinoma con una incidencia del 64%;<sup>1</sup> además, presenta cinco subtipos con cinco variantes histológicas, siendo el más común el adenocarcinoma con subtipos mixtos.<sup>2</sup> El adenocarcinoma pulmonar está asociado a diversas patologías que generan inflamación crónica, como la asbestosis y la tuberculosis. Este tipo de cáncer genera metástasis a varios tejidos, siendo los más frecuentes los ganglios regionales, supra-renaes, hígado, pleura y cerebro.

Durante la carcinogénesis se presentan cambios morfológicos, moleculares, bioquímicos e inmunológicos. Algunos de estos cambios moleculares son utilizados como marcadores para la identificación oportuna del cáncer.<sup>3</sup> Uno de los más importantes son los cambios en la estructura de las glicoproteínas O-glicosiladas tipo mucinas presentes en células tumorales como MUC1, MUC2 y MUC4. En la parte apical de células epiteliales normales de epitelio respiratorio, gastrointestinal y tracto reproductivo se expresan estas mucinas y su función es de protección.<sup>4-7</sup> Los cambios en las células tumorales pueden ser sólo con respecto a la densidad de expresión de las mucinas en la superficie celular o en el patrón de distribución celular, pero también puede variar el patrón de glicosilación. Estas moléculas son consideradas antígenos sacarídicos asociados a tumor (TAAS sacarídicos, por sus siglas en inglés).<sup>8,9</sup> Algunos cambios estructurales modifican la antigenicidad en MUC1 y favorecen su reconocimiento por el sistema inmune, principalmente por linfocitos T y B,<sup>10</sup> pero también alteran el comportamiento de las células tumorales contribuyendo con el potencial metastásico.<sup>10-14</sup>

Los linfocitos T citotóxicos CD8 tienen función antitumoral cuando son activados por el complejo

molecular péptido-MHC clase I (moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I) presentes en la superficie de las células neoplásicas, siempre y cuando el péptido sea antigénico. Debido a que los péptidos glicosilados de MUC1 (MUC1-Tn o MUC1T) tienen más epítopos antigénicos activan más eficientemente a los linfocitos T CD8,<sup>15,16</sup> por lo que se está considerando a la MUC1 hipoglicosilada como candidato para la inmunoterapia contra el cáncer.<sup>15-17</sup>

La estructura de MUC1 en células epiteliales normales es muy ramificada y compleja,<sup>7</sup> pero en las células tumorales se modifica el grado de glicosilación de la molécula y pueden presentarse diferentes patrones que van desde isoformas no glicosilada hasta isoformas hipo o hiperglicosilada, estas variaciones dependen del tejido en el que se expresa.<sup>18-21</sup>

La biosíntesis de los O-glicanos es compleja y la activación selectiva de las enzimas que participan en la glicosilación depende de los estímulos del que recibe las células, por lo que en la carcinogénesis la biosíntesis de los O-glicanos es interrumpida como sucede en MUC1. En adenocarcinoma, la MUC1 está hipoglicosilada porque sólo activa la enzima que une el primer monosacárido (GalNAc) a una serina o a una treonina de la parte proteica de la molécula, originando una estructura (GalNAc1-O-S/T) llamada antígeno Tn. Si en la biosíntesis se activa la enzima que une el siguiente monosacárido (Gal), la estructura resultante es el antígeno T (Gal $\beta$ 1-3GalNAc1-O-S/T)<sup>16,20,21</sup> (Figura 1).

La modificación estructural de MUC1 altera las funciones y las propiedades antigénicas de la molécula.<sup>5,22,23</sup> El antígeno Tn y el antígeno T son precursores para otros TAAS, como el antígeno sialil-Tn o el sialil Lewis X. El ácido siálico terminal le confiere carga negativa a las moléculas modificando la capacidad de unión de las cé-

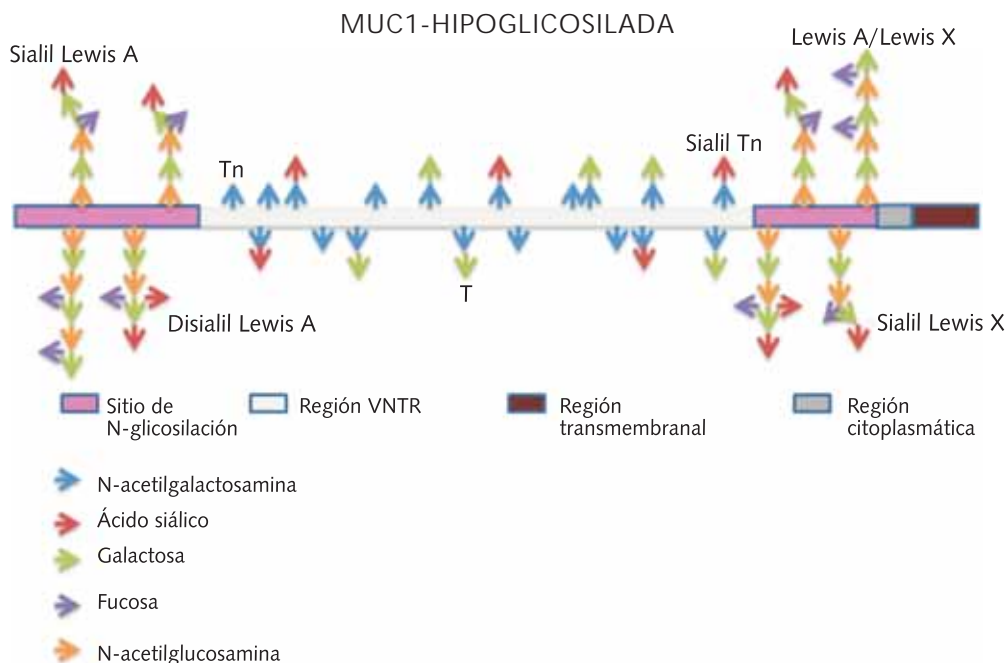


Figura 1. Estructura de MUC1.

lulas neoplásicas a las células endoteliales, ya que éstas tienen receptores de la familia de las selectinas que son ligandos específicos de sialil-Lewis X.<sup>14,24</sup> Esto aumenta la capacidad de metástasis vía hematológica o linfática en cáncer de colon por lo que el pronóstico para el paciente es malo. En el adenocarcinoma pulmonar aún no está claramente definido si la presencia de estas variantes estructurales en MUC1 tiene algún significado clínico para apoyar el pronóstico de los pacientes. Con base en ello, el presente trabajo evaluó la presencia de MUC1 hipoglicosilada con epítomos Tn y T expuestos en tumores primarios y en metástasis en pacientes con adenocarcinoma pulmonar.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Muestras biológicas

Las muestras histológicas analizadas provenían de cinco pacientes que habían fallecido con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar en estadio IV, obtenidas del Servicio de Patología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. La estadificación de los pacientes

fue de acuerdo con el sistema de clasificación TNM (T = extensión del tumor primario; N = ausencia o presencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales; M = ausencia o presencia de metástasis a distancia). Dentro de los criterios para la selección de éstos fue que todos presentaran el mismo patrón de metástasis; razón por la cual, el tamaño de la muestra fue pequeña. El rango de edades de los pacientes fue de 55-77 años excluyendo los casos con comorbilidad o expediente clínico incompleto (Tabla I). Como controles se incluyeron cinco muestras histológicas obtenidas del Servicio Médico Forense del D.F., de individuos fallecidos por traumatismos, sin datos patológicos aparentes; además, como un control adicional se utilizaron muestras histológicas de cinco pacientes con patologías respiratorias crónicas no neoplásicas (enfisema pulmonar, neumonías bacterianas y EPOC).

### Inmunohistoquímica

La técnica fue desarrollada de acuerdo con el *Manual de Histotecnología*, Sheetlan.<sup>25</sup> Todos los especímenes histológicos fueron fijados en solu-

**Tabla I.** Datos de los pacientes del estudio.

Caso	Sexo	Edad	Exposición a humo de leña	Variedad histológica de adenocarcinoma pulmonar	Metástasis
1	F	55	Positivo	APBD	Intestino, pleura, corazón, suprarrenal, riñón, hígado, diafragma, encéfalo.
2	M	57	Negativo	APBD	Intestino, pleura, corazón, suprarrenal, riñón, hígado, diafragma, encéfalo.
3	M	80	Negativo	APPD	Intestino, pleura, corazón, suprarrenal, riñón, hígado, diafragma, encéfalo.
4	M	52	Negativo	APBA	Intestino, pleura, corazón, suprarrenal, riñón, hígado, diafragma, encéfalo.
5	F	77	Positivo	APCC	Intestino, pleura, corazón, suprarrenal, riñón, hígado, diafragma, encéfalo.

APBD: Adenocarcinoma bien diferenciado; APPD: Adenocarcinoma poco diferenciado; APBA: Adenocarcinoma bronquioalveolar; APCC: Adenocarcinoma de células claras.

ción de formaldehído al 10% en solución amortiguadora de fosfatos, embebidos en parafina y cortados en secciones de 5  $\mu\text{m}$  de grosor. Las secciones desparafinadas fueron tratadas con una solución "recuperadora de antígeno" Diva Decloaker 10X (Biocare Medical, Concord, Ca, USA) a 100°C x 5 min. Después las secciones tisulares fueron tratadas con una solución de peróxido de hidrógeno (Biocare Medical, Concord, Ca, USA) x 15 min para bloquear la actividad de peroxidasa endógena, seguido de dos lavados con solución amortiguadora de trisalina (TBS) que contenía 2.42 g de trizma, NaCl al 0.8%, tween 20 al 0.05% en agua desionizada a pH 7. Finalmente, para evitar reacciones inespecíficas se incubó con la solución Background Eraser (Biocare Medical, Concord, Ca, USA) x 30 min. Posteriormente, las muestras fueron incubadas con el anticuerpo monoclonal contra MUC1 hipoglicosilada clona DF3 obtenido de Abcam (Cambridge, UK); a 37°C durante 1 h en cámara húmeda. Se utilizó como control positivo de la inmunohistoquímica el anticuerpo contra la vimentina (Dako, Carpintería, Ca, USA), y como control negativo fue el tejido incubado sólo con solución amortiguado-

ra TBS en lugar del anticuerpo. Después de la incubación, las secciones de tejido fueron lavadas tres veces con TBS e incubadas con Labelled Polymer-HRP anti-mouse (Dako, Carpintería, Ca, USA) a 37°C x 1 h en cámara húmeda.

En los cortes que iban a ser marcados con lectinas se bloquearon con una solución de albúmina libre de IgG (Sigma, St. Louis, MO, USA) al 1% a 37°C x 1 h. Para marcaje del antígeno Tn y el antígeno T se utilizaron las lectinas conjugadas a biotina *Vicia villosa* y *Arachis hypogaea*, respectivamente, ambas de Eylabs Inc., (San Mateo, CA, USA) x 1 h en cámara húmeda a temperatura ambiente. Después de lavarlos se incubaron con una solución de estreptavidina-peroxidasa (Sigma, St. Louis, MO, USA) 1:1000. Finalmente el marcaje fue revelado utilizando la solución de 1 mg de 3,3'-diaminobencidina (DAB), 10  $\mu\text{L}$  peróxido de hidrógeno al 3% y 100  $\mu\text{L}$  formaldehído al 37% en 3.3 mL de PBS seguido de una contratinción con hematoxilina de Mayer (Biocare, Medical) y montaje con medio de montaje (Biocare Medical).

Todos los lavados fueron realizados con solución de TBS con cloruro de calcio al 2 mM. Des-

pués de dos lavados, todas las secciones tisulares fueron analizadas por microscopia de luz y los patrones de tinción fueron evaluados de manera cualitativa y semicuantitativa. Las imágenes fueron capturadas por fotografía digital para luego ser analizadas a través de un software analizador de imágenes (IMAGE J 1.42). El área completa de cada muestra fue revisada en el microscopio con aumento de 10X, la cuantificación de células por mm<sup>2</sup> en aumento de 40X se realizó de acuerdo con la técnica descrita por Loughlin *et ál*, 2007.<sup>26</sup>

## RESULTADOS

En la mayoría de las células neoplásicas de pulmón se observó tinción positiva con el anticuerpo contra MUC1. Las células fueron consideradas positivas cuando por lo menos uno de los componentes (citoplasma o membrana) fueron teñidos. La reacción fue valorada de acuerdo con la intensidad de la reacción como débil (1), moderada (2) o fuerte (3); así como por el patrón de distribución de la reacción como membrana apical (MA), membrana uniforme (MU) y citoplasma (C). La tinción de los núcleos también fue evaluada con hematoxilina para apoyar la descripción. En las evaluaciones histológicas se encontró la presencia de las variantes histológicas: adenocarcinoma bien diferenciado (APBD), adenocarcinoma poco diferenciado (APPD), adenocarcinoma bronquioalveolar (APBA) y adenocarcinoma de células claras (APCC). En las valoraciones no se presentaron diferencias significativas entre las variantes histológicas del adenocarcinoma pulmonar; por tanto, no fue importante analizar y presentar los resultados de cada variante histológica por separado (Figura 2).

Los casos 1 y 5 que corresponden a mujeres presentaron un adenocarcinoma con evolución muy agresiva y fueron las únicas que tuvieron exposición al humo de leña. En los análisis de inmunohistoquímicos para estos dos casos, la tinción para MUC1 fue de mayor intensidad y su distribución fue toda la membrana (3MU), así como en citoplasma de las células tumorales (2C). Los casos de pacientes masculinos tuvieron una intensidad de tinción media (2) para MUC1 en membrana de manera uniforme (MU) y en citoplasma (C). Las muestras de los controles sanos así como las de los pacientes con patologías cró-

nicas no neoplásicas (enfisema pulmonar, neumonías bacterianas y EPOC), la distribución de la MUC1 fue sólo en la zona apical (MA) con una intensidad baja (1) de las células epiteliales y no hubo tinción en citoplasma (Tabla II).

En el tejido pulmonar la MUC1 tuvo la misma distribución en la zona de la neoplasia que en epítipo Tn y se encontró una relación 1:1.2; es decir, que la mayor parte de las células que tienen reacción positiva para MUC1 también la tienen para Tn (GalNAc $\alpha$ 1-O-Ser). Contrariamente, el antígeno T no estuvo presente en este tejido (Tabla III).

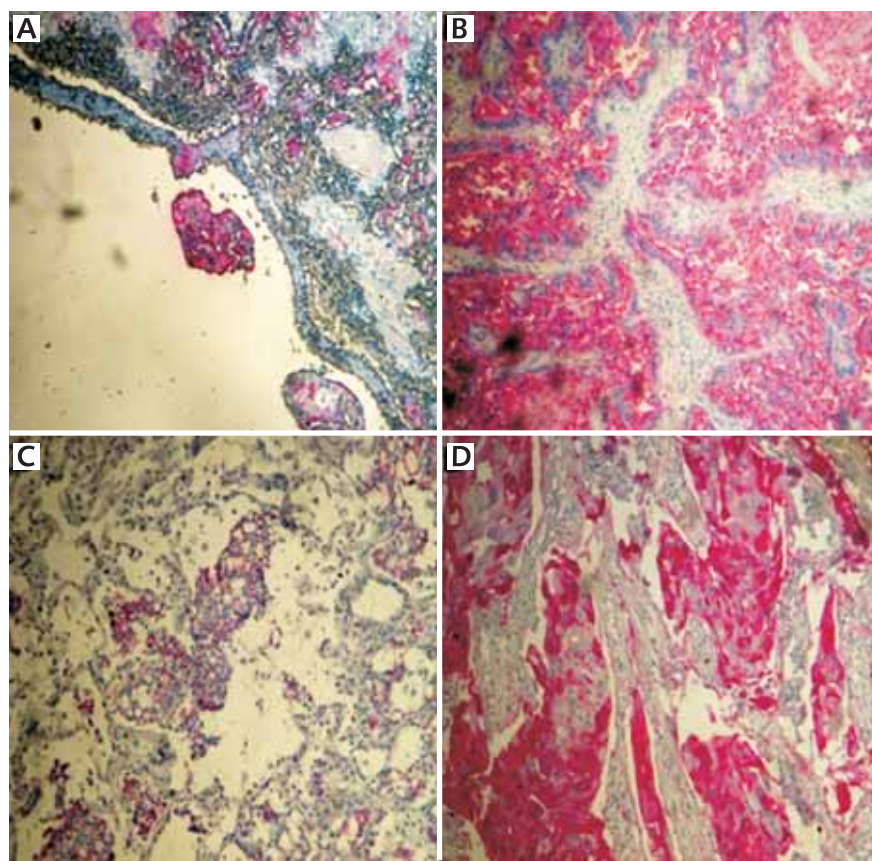
A diferencia de los tumores primarios en pulmón, en los tejidos con metástasis se encontró una mayor cantidad de células con reacción positiva para los antígenos tumorales, tanto para MUC1 como para Tn con una intensidad que iba desde media (2) a alta (3), manifestándose en la membrana celular de manera uniforme (MU) y en el citoplasma (C) (Tabla II). La relación entre la expresión de MUC1 y los carbohidratos antigénicos Tn y T en cada órgano con metástasis fue muy similar (Tabla III), menos en encéfalo, corazón y diafragma donde no se presentó reacción positiva para lectina de cacahuete (PNA), es decir, en esos tejidos no se expresó el antígeno T.

## DISCUSIÓN

La asociación de estructuras sacarídicas con procesos neoplásicos ha sido ampliamente documentada y algunas de éstas pueden ser utilizadas como marcadores moleculares para la identificación oportuna de cáncer, o bien para predecir el pronóstico del paciente,<sup>27-29</sup> debido a que presentan los mayores cambios estructurales, funcionales y antigénicos en células en transformación.

En los procesos neoplásicos, la biosíntesis se ve alterada por ausencia o por la expresión no regulada de las enzimas responsables de la glicosilación llamadas glicosiltransferasas. Estas enzimas generan, por una parte, moléculas truncadas hipo o no glicosiladas, o moléculas hiperglicosiladas por otro lado. Las características de glicosilación dependen del tipo y grado de diferenciación de las células neoplásicas.<sup>23,30-32</sup> Esto posiblemente está asociado al comportamiento tumoral,<sup>22,29</sup> debido a la expresión de ligandos con mayor o





**Figura 2.** Marcaje de MUC1 (10X). Nótese la alta intensidad de la marca en la periferia de la célula con respecto a la intensidad de la marca del citoplasma. El marcaje fue hecho con el anticuerpo monoclonal anti MUC1 clona DF3 revelado con rojo rápido. **A)** adenocarcinoma papilar bien diferenciado, obsérvese el epitelio cilíndrico ciliado normal, sin marca y la papila de células epiteliales neoplásicas con marca intensa en el citoplasma y la membrana; **B)** adenocarcinoma broncoalveolar, se observa el epitelio bronquial neoplásico con marca intensa; **C)** adenocarcinoma de células claras, nótese el parénquima pulmonar con presencia de un foco microscópico que corresponde a una neoplasia epitelial que se hacen más evidentes con la tinción, y rodeadas por tejido inflamatorio; **D)** adenocarcinoma de células grandes moderadamente diferenciado, se observa el parénquima pulmonar sustituido por una neoplasia que forma láminas, se hacen más evidentes con la tinción y están rodeadas por tejido fibroconectivo negativo al anticuerpo.

[www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)

menor afinidad con los receptores que participan en la diseminación, o bien porque se exponen o se ocultan epítopes sacarídicos antigénicos importantes en el reconocimiento y activación e inclusive en la evasión del sistema inmune.

En nuestros resultados, la presencia de MUC1 tanto en el tumor primario como en las metás-

tasis expresan el antígeno Tn, lo que nos confirma que está hipoglicosilada. La glicosilación interrumpida o alterada puede deberse a múltiples causas tales como las diversas señales del microambiente, p. ej., los factores genéticos, hormonales e inclusive la presencia de algunos microorganismos podrían influir.<sup>32</sup>

**Tabla II.** Número de células positivas/mm<sup>2</sup> (40X).

Tejido	MUC1 No. células por mm <sup>2</sup>	Distribución e intensidad	Ag. Tn No. células por mm <sup>2</sup>	Distribución e intensidad	Ag. Tn No. células por mm <sup>2</sup>	Distribución e intensidad
Pulmón	750	3MU/3C	800	3MU/3C	600	3MU/3C
Encéfalo	330	3MU/3C	212	3MU/2C	0	—
Suprarrenal	89	2MU/1C	80	2MU/1C	66	2MU/1C
Hígado	299	3MU/1C	201	3MU/2C	243	3MU/1C
Intestino	298	3MU/2C	204	3MU/2C	90	2MU/1C
Pleura	46	2MU/1C	31	1MU	35	1MU
Corazón	166	3MU/2C	120	3MU/1C	0	—
Riñón	131	2MU/1C	82	2MU/1C	79	2MU/1C
Diafragma	65	2MU/2C	61	2MU/2C	0	—

*Vicia villosa* (Vv); Antígeno Tn (GalNAc $\alpha$ 1-O-Ser); *Arachis. hypogea* (PNA); Antígeno T (Gal $\beta$ 1,3GalNAc).

Intensidad de la reacción como baja (1), moderada (2) y fuerte (3)

Patrón de distribución de la tinción: membrana zona apical (MA) tinción de membrana celular uniforme (MU), citoplasma (C).

**Tabla III.** Relación de antígenos sacarídicos expresados en metástasis.

Tejido	MUC1/Tn	MUC1/T
Pulmón (tumor primario)	1 : 1.2	1 : 0
Encéfalo	1 : 1.4	1 : 0
Suprarrenal	1 : 1.1	1 : 1.3
Hígado	1 : 1.48	1 : 1.23
Intestino	1 : 1.43	1 : 3.3*
Pleura	1 : 1.48	1 : 1.31
Corazón	1 : 1.38	1 : 0
Riñón	1 : 1.59	1 : 1.65
Diafragma	1 : 0.09	1 : 0

Relación de los antígenos Tn y T con respecto a MUC1 en las células tumorales. Obsérvese que en todas las metástasis se expresa el antígeno Tn incluyendo el tumor primario en pulmón; pero no todas las metástasis expresan antígeno T.

En este trabajo se utilizó específicamente el anticuerpo monoclonal anti MUC1 de la clona DF3, porque ésta va dirigida hacia el péptido en tándem de la isoforma transmembranal de la MUC1 hipoglicosiladas expresada en células neoplásicas. La clona Ab es ampliamente utilizada en el diagnóstico de cáncer ductal de mama, colon, esófago y poco utilizado para cáncer de pulmón. En algunos casos este anticuerpo tiene un gran valor como indicador de pronóstico en cáncer extrahepático.<sup>27,28</sup>

Para la identificación específica de los antígenos Tn y T se utilizaron algunas lectinas. La PNA reconoce la Gal del antígeno T (Gal $\beta$ 1-3GalNAc) y la lectina de *Vicia villosa* reconoce la GalNAc del antígeno Tn (GalNAc $\alpha$ 1-O-Ser); por tanto, si existe ácido siálico terminal en estas estructuras, el reconocimiento para las lectinas está obstaculizado.<sup>31-33</sup> El ácido siálico es común encontrarlo en glicoproteínas porque es una señal de terminación de la biosíntesis de glicanos.<sup>14,32</sup>

La MUC1 en epitelios normales se localiza en la zona apical de las células epiteliales (MA) con una baja expresión; pero en nuestro caso, la densidad de expresión de MUC 1 en células neoplásicas fue de mediana a alta con una distribución homogénea en toda la membrana y con expresión citoplásmica. En algunos reportes asocian la localización aberrante de MUC1, sobre todo en citoplasma,<sup>34,35</sup> junto con la sobreexpresión de ésta con un mal pronóstico para el paciente, lo que concuerda con nuestros datos ya que todos los pacientes analizados murieron pocos meses después del diagnóstico y con metástasis en varios órganos.<sup>27</sup> La presencia de MUC1 en neoplasias, comúnmente se asocia a la diseminación del tumor<sup>36</sup> ya que presenta ligandos específicos para las selectinas del endotelio, lo cual puede favorecer la diseminación hematológica.<sup>12,24</sup> En el caso del adenocarcinoma pulmonar la evolución es más lenta y manifiesta pocos datos clínicos durante su evolución, asi-

mismo, es considerado menos agresivo que otros tipos de cáncer pulmonar.

Los pacientes de este estudio eran reportados como asintomáticos hasta la fecha del diagnóstico en sus expedientes clínicos. Una vez establecida la sintomatología y realizado el diagnóstico, la evolución del adenocarcinoma en los pacientes fue muy rápida y el promedio de sobrevida después de 10 meses. Dado que todos ellos presentaban una alta expresión de MUC1 con epítomos de Tn en el tumor primario y MUC1 con epítomos tanto Tn como T en tejidos con metástasis.

En conclusión, podemos pensar que estas moléculas por sus características y localización celular pudieron participar en la rápida evolución de la neoplasia y su diseminación, por lo que se podrían utilizar en el pronóstico de este tipo de cáncer.

### Agradecimientos:

Los autores agradecemos al Dr. Francisco García (Departamento de Histopatología, INP) y al biólogo Manuel Meneses Flores (Departamento de Cáncer Pulmonar, INER), por su valioso apoyo en la estandarización de las técnicas; y a los técnicos Guadalupe Hiriart Valencia y Erika Liliana Monterrubio Flores por su apoyo en el procesamiento de los tejidos. Al Dr. Rafael Wong Mitchell por las facilidades para el desarrollo de esta investigación.

### REFERENCIAS

- Gurrola-Díaz CM, González-Santiago AE, Troyo-Sanromán R, Mendoza-Topete LA. *Lung cancer histological types and diagnostic methods in a tertiary care facility*. Gac Med Mex 2009;145:97-101.
- Brambilla E. *Classification of broncho-pulmonary cancers (WHO 1999)*. Rev Mal Respir 2002;19:455-466.
- Franklin WA. *Diagnosis of lung cancer: pathology of invasive and preinvasive neoplasia*. Chest 2000;117(4 suppl 1):80-89.
- Rose MC, Voynow JA. *Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease*. Physiol Rev 2006;86:245-278.
- Gendler SJ. *MUC1, the renaissance molecule*. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2001;6:339-353.
- Liu B, Lague JR, Nunes DP, et al. *Expression of membrane-associated mucin MUC1 and MUC4 in major human salivary glands*. J Histochem Cytochem 2002;50:811-820.
- Hilkens J, Ligtenberg MJ, Vos HL, Litvinov SV. *Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property*. Trends Biochem Sci 1992;17:359-363.
- Hakomori S. *Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle*. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:10231-10233.
- Hollingsworth MA, Swanson BJ. *Mucins in cancer: protection and control of the cell surface*. Nat Rev Cancer 2004;4:45-60.
- 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.
- Laidler P, Lityńska A. *Tumor cell N-glycans in metastasis*. Acta Biochim Pol 1997;44:343-357.
- Couldrey C, Green JE. *Metastases: the glycan connection*. Breast Cancer Res 2000;2:321-323.
- Ciborowski P, Finn OJ. *Non-glycosylated tandem repeats of MUC1 facilitate attachment of breast tumor cells to normal human lung tissue and immobilized extracellular matrix proteins (ECM) in vitro: potential role in metastasis*. Clin Exp Metastasis 2002;19:339-345.
- Bagriacik EU, Miller KS. *Cell surface sialic acid and the regulation of immune cell interactions: the neuraminidase effect reconsidered*. Glycobiology 1999;9:267-275.
- 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.
- 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.
- Gendler SJ, Spicer AP. *Epithelial mucin genes*. Annu Rev Physiol 1995;57:607-634.
- Leroy X, Buisine MP, Leteurtre E, et al. *MUC1 (EMA): a key molecule of carcinogenesis?* Ann Pathol 2006;26:257-266.
- Copin MC, Devisme L, Buisine MP, et al. *From normal respiratory mucosa to epidermoid carcinoma: expression of human mucin genes*. Int J Cancer 2000;86:162-168.
- Ho SB, Kim YS. *Carbohydrate antigens on cancer-associated mucin-like molecules*. Semin Cancer Biol 1991;2:389-400.
- Quinlin IS, Burnside JS, Dombrowski KE, Phillips CA, Dolby N, Wright SE. *Context of MUC1 epitope: immunogenicity*. Oncol Rep 2007;17:453-456.
- 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.
- Yonezawa S, Sato E. *Expression of mucin antigens in human cancers and its relationship with malignancy potential*. Pathol Int 1997;47:813-830.
- Fernandez-Rodriguez J, Dwir O, Alon R, Hansson GC. *Tumor cell MUC1 and CD43 are glycosylated differently with sialyl-Lewis x and x epitopes and show vari-*



- able interactions with E-selectin under physiological flow conditions. *Glycoconj J* 2001;18:925-930.
25. Sheehan DC, Hrapchack BB. *Theory and practice of histotechnology*. 2nd ed. St Louis: Mosby; 1980.p. 196-197.
  26. Loughlin PM, Cooke TG, George WD, Gray AJ, Stott DI, Going JJ. *Quantifying tumour-infiltrating lymphocyte subsets: a practical immuno-histochemical method*. *J Immunol Methods* 2007;321:32-40.
  27. Tamada S, Goto M, Nomoto M, et al. *Expression of MUC1 and MUC2 mucins in extrahepatic bile duct carcinomas: its relationship with tumor progression and prognosis*. *Pathol Int* 2002;52:713-723.
  28. Baldus SE, Wienand JR, Werner JP, et al. *Expression of MUC1, MUC2 and oligosaccharide epitopes in breast cancer: prognostic significance of a sialylated MUC1 epitope*. *Int J Oncol* 2005;27:1289-1297.
  29. Irimura T, Denda K, Iida S, Takeuchi H, Kato K. *Diverse glycosylation of MUC1 and MUC2: potential significance in tumor immunity*. *J Biochem* 1999;126: 975-985.
  30. Chandrasekaran EV, Xue J, Neelamegham S, Matta KL. *The pattern of glycosyl- and sulfotransferase activities in cancer cell lines: a predictor of individual cancer-associated distinct carbohydrate structures for the structural identification of signature glycans*. *Carbohydr Res* 2006;341:983-994.
  31. Wu AM, Wu JH, Shen F. *Interaction of a novel Tn (GalNAc alpha 1—>Ser/Thr) glycoprotein with Gal, GalNAc and GlcNAc specific lectins*. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;198:251-256.
  32. 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.
  33. Brockhausen I. *Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells*. *Biochim Biophys Acta* 1999;1473:67-95.
  34. 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.
  35. Rahn JJ, Dabbagh L, Pasdar M, Hugh JC. *The importance of MUC1 cellular localization in patients with breast carcinoma: an immunohistologic study of 71 patients and review of the literature*. *Cancer* 2001;91: 1973-1982.
  36. Croce MV, Isla-Larrazain M, Tur R, Rabassa ME, Segal-Eiras A. *Antigenic differences between metastatic cells in bone marrow and primary tumours and the anti-MUC1 humoral immune response induced in breast cancer patients*. *Clin Exp Metastasis* 2004;21:139-147.

## ✉ Correspondencia:

Dra. Patricia Gorocica Rosete,  
Departamento de Bioquímica,  
Instituto Nacional de Enfermedades  
Respiratorias Ismael Cosío Villegas.  
Calzada de Tlalpan 4502, colonia  
Sección XVI. México, D.F., 14080  
Conmutador 54 87 17 00, extensión 5230  
Correo electrónico:  
pgorocica@yahoo.com.mx