

## Expresión de ácidos siálicos en el cáncer cervicouterino. Estudio de una población del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos

Miguel Ángel Serrano Berrones,\* José Luis López Velázquez,\*\* José Román Serrano Berrones\*\*\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** en el suero de pacientes con neoplasias del cuello uterino se observan concentraciones elevadas de ácido siálico.

**Objetivo:** determinar si los ácidos siálicos son marcadores diagnósticos más sensibles en el cáncer cervicouterino que el estudio de Papanicolaou, que es el patrón de referencia en la detección temprana de los cambios celulares.

**Pacientes y método:** se estudiaron 1,500 pacientes que acudieron para valoración a la Clínica de Colposcopia del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE, del 1 de septiembre de 2010 al 1 de septiembre de 2011.

**Resultados:** de 1,500 muestras estudiadas, 103 se diagnosticaron con lesión intraepitelial de alto grado mediante la técnica de Papanicolaou y, a la vez, mostraron incremento de la expresión de ácidos siálicos. En 238 casos se observó lesión intraepitelial de bajo grado e indicios del virus de papiloma humano con técnica de Papanicolaou, y en 377 muestras analizadas se encontró incremento de ácidos siálicos en las posiciones alfa 2,3 y alfa 2,6.

**Conclusiones:** es conveniente resaltar la gran importancia de complementar la citología exfoliativa con otras pruebas inmunohistoquímicas, como la determinación de la expresión de ácidos siálicos, para detectar de manera oportuna el cáncer cervicouterino y poder incidir en esta enfermedad que es la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo y la primera en países en vías de desarrollo. En México, ha sido la neoplasia más común en las últimas décadas y la principal causa de muerte por cáncer entre mujeres.

**Palabras clave:** cáncer cervicouterino, ácidos siálicos.

### ABSTRACT

**Background:** There are high concentrations of sialic acid in the serum of patients with neoplasms of the cervix.

**Objective:** To determine if sialic acids are more sensitive diagnostic markers of cervical cancer than Pap smear, that is the gold standard in the early detection of cellular changes.

**Patients and method:** We included 1,500 patients attended at Colposcopy Clinic, Regional Hospital Lic. Adolfo Lopez Mateos, ISSSTE from September 1, 2010 to September 1, 2011.

**Results:** We collected 500 samples, 103 of them were diagnosed with high degree intraepithelial lesion by the technique of smear, and had elevated concentrations of sialic acids. Low-grade intraepithelial lesion was observed in 238 cases, as well as evidence of human papilloma virus with Pap smear. In 377 samples an increased concentration of sialic acids was found at Alpha position 2,3 and Alpha position 2,6.

**Conclusions:** It is advisable to highlight the great importance of complementing the exfoliative cytology with other immunohistochemical tests, such as determination of sialic acids expression to detect early cervical cancer, which is the second leading cause of death by cancer in women worldwide and the first in developing countries. In Mexico, it has been the most common neoplasm in recent decades and the leading cause of death by cancer among women.

**Key words:** sialic acids, cervical cancer.

\* Asesor de Dirección.

\*\* Jefe de Colposcopia.

\*\*\* Médico adscrito.

Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos.

Recibido: febrero, 2012. Aceptado: junio, 2012

Este artículo debe citarse como: Serrano-Berrones MA, López-Velázquez JL, Serrano-Berrones JR. Expresión de ácidos siálicos en el cáncer cervicouterino. Estudio de una población del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos. Rev Esp Med Quir 2012;17(2):115-118.

Correspondencia: Dr. Miguel Ángel Serrano Berrones. Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos. Coordinación de Ginecología y Obstetricia, Departamento de Colposcopia. Av. Universidad 1321, colonia Florida, CP 04600, México, DF. Correo electrónico: maserrano@issste.gob.mx

El cáncer cervicouterino es un importante problema de salud; es la segunda causa de muerte por neoplasia en todo el mundo y la primera en países en vías de desarrollo. En México, ha sido la neoplasia más común en las últimas décadas y es la principal causa de muerte por cáncer entre mujeres mayores de 35 años de edad. Se calcula que en todo el mundo cada año se diagnostican cerca de 500,000 pacientes con cáncer cervicouterino en las diferentes etapas clínicas; de éstas, casi 400,000 son de países en vías de desarrollo, 72,000 de las cuales habitan en América Latina. Ocasiona alrededor de 250,000 muertes al año. En 2010, se registraron 4,046 muertes en México.<sup>1</sup> La lenta evolución de la enfermedad y la accesibilidad de las células del cuello del útero para su estudio permiten tener tiempo y herramientas para detectar y erradicar la enfermedad, si el diagnóstico se realiza de manera oportuna, lo que hace que el cáncer cervicouterino sea una neoplasia 100% prevenible. Las cifras mencionadas confirman la importancia que tiene el diagnóstico temprano, ya que la detección oportuna conlleva curación en más de 95% de los casos.<sup>2</sup> Las diferentes herramientas existentes, como la citología, la colposcopia, la histopatología y las pruebas moleculares son algunas de las pruebas disponibles para el diagnóstico de esta enfermedad; todas ellas pueden considerarse complementarias, ya que forman parte de un protocolo de estudio que se efectúa a las pacientes con lesiones cervicales y cada una tiene una indicación especial.<sup>3</sup> La citología exfoliativa teñida con la técnica de Papanicolaou continúa siendo el patrón de referencia para el diagnóstico de cáncer cervicouterino; sin embargo, la detección de las etapas tempranas de diferenciación celular con esta técnica es muy escasa, y su sensibilidad varía de 8 a 50%, según diferentes reportes.<sup>4</sup> Los ácidos siálicos son cetoácidos con esqueleto glucídico de nueve carbonos, que están implicados en interacciones célula-célula e intervienen en la regulación de procesos de reconocimiento celular (Figura 1).

En las membranas de células maduras bien diferenciadas se encuentra el ácido siálico normalmente localizado en posición alfa 2,3. Conforme las células se van diferenciando, la sialiltransferasa encargada de lograr esta posición deja de funcionar, ya que los operones de los genes que transcriben para esta enzima se afectan, y

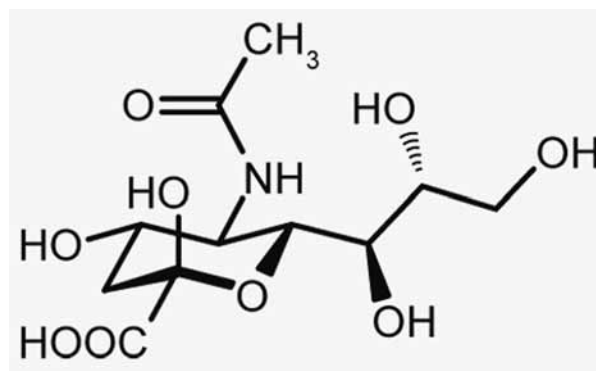


Figura 1. Estructura química del ácido siálico.

por ende, la glucoproteína empieza a expresar ácido siálico en la posición alfa 2,6, debido a que la enzima responsable de esta expresión es regulada, entre otras muchas moléculas, por el TNF, la IL-1 o, bien, por los lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas, o sea de manera diferente que la sialiltransferasa alfa 2,3, la cual se regula de manera órgano-específica y como producto de la estimulación de diferentes promotores.<sup>5-7</sup> Existen numerosas poblaciones celulares cuya maduración y supervivencia dependen de la estabilidad de la enzima sialiltransferasa alfa 2,6 y la consecuente expresión de su producto: células mieloides, tímicas, intestinales y oligodendrocitos.<sup>8</sup>

Los ácidos siálicos, sean en la posición alfa 2,3, alfa 2,6 o alguna de las otras 24 posibilidades que se conocen actualmente, desempeñan un papel importante en la intercomunicación célula-célula, célula-matriz, adhesión celular y señalamiento de proteínas.<sup>9,10</sup>

En ciertos procesos patológicos, como la oncogénesis y las metástasis, ocurren alteraciones en la glucosilación que se asocian con el incremento o disminución de la actividad de diferentes sialiltransferasas. La sialiltransferasa alfa 2,6 se sobreexpresa en varios tipos de cáncer, como el mamario, el colorrectal, el hepatocarcinoma y el cervicouterino.<sup>11</sup>

## PACIENTES Y MÉTODO

Se incluyeron en este estudio 1,500 pacientes que acudieron a valoración a la Clínica de Colposcopia del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del 1 de septiembre

de 2010 al 1 de septiembre de 2011. Para fines del estudio, no se tomó en cuenta la edad ni el diagnóstico de referencia; se excluyeron las pacientes que estaban en su periodo menstrual, que hubieran recibido medicamentos de aplicación local (óvulos o cremas), o que se hubieran realizado aseos con duchas o irrigación vaginales por lo menos 24 horas antes. También se excluyeron las pacientes que habían tenido relaciones sexuales en las 48 horas previas. A todas las mujeres se les efectuó historia clínica completa, con especial atención a los antecedentes ginecoobstétricos. Se tomaron dos muestras de citología, una para la tinción de Papanicolaou y otra para los estudios de inmunohistoquímica. La tinción de Papanicolaou se hizo en el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, en el área de citología, y los análisis de inmunohistoquímica se procesaron en la Facultad de Medicina de la UNAM, en el Departamento de Bioquímica. Las laminillas se identificaron con nombre y cédula de registro correspondiente a cada paciente; para la evaluación inmunohistoquímica, se fijaron durante 30 minutos en paraformaldehído a 4%, en solución buffer fosfato con pH de 7.4, y se mantuvieron a 4°C hasta que se utilizaron. Para evaluar la expresión de ácidos siálicos, las laminillas se sacaron de la solución fijadora, se enjuagaron de manera exhaustiva con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente antes de iniciar el proceso de tinción. Las laminillas se tiñeron con lectina *Sambucus nigra* o con *Maackia amurensis* (obtenidas de Sigma Chemicals, EUA), las cuales reconocen de manera específica al ácido siálico en posición alfa 2,6 y alfa 2,3, respectivamente.

Estas lectinas están marcadas con isotiocianato de fluorescencia. Las laminillas con la lectina se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente, en una cámara húmeda. Transcurrido dicho lapso, se realizó contra-tinción con yoduro de propidio, el cual marcó los núcleos de las células. Las laminillas procesadas se observaron en un microscopio de fluorescencia marca Leica, con filtros de 515 nm (que estimula el espectro de la luz en el color verde) y de 600 nm (para el yoduro de propidio que emite en el espectro rojo). Las zonas de mayor interés o relevancia se fotografiaron con el sistema digital del microscopio. La detección de ácido siálico fue evaluada de manera independiente por dos observadores diferentes que adjudicaron una calificación de +, ++ o +++, según

la intensidad de la fluorescencia y el número de células positivas a la lectina.

## RESULTADOS

Se obtuvieron muestras de 1,500 pacientes, de acuerdo con los criterios establecidos y se excluyeron 92. Las muestras se procesaron de manera inmediata para conservar y preservar la integridad celular; de las 1,408 muestras que se sometieron a la técnica de Papanicolaou, en 103 se encontraron lesiones intraepiteliales de alto grado y aumento de la expresión de ácido siálico en la posición alfa 2,3 (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Distribución de las muestras

Muestras	Papanicolaou	Inmunohistoquímica
Hallazgo de lesión	341	480
Sin alteración	1,067	928
Total	1,408	1,408

En 238 casos se diagnosticó lesión intraepitelial de bajo grado y se encontraron indicios del virus de papiloma humano, en tanto que en 377 muestras se comprobó un incremento del ácido siálico en las posiciones alfa 2,3 y alfa 2,6 (Cuadro 2). El análisis histoquímico reveló que los ácidos siálicos alfa 2,3 y alfa 2,6 estaban en concordancia con las muestras que indicaron lesión intraepitelial de alto grado.

**Cuadro 2.** Comparación de los reportes citológicos e inmunohistoquímico

Diagnóstico	Papanicolaou	Inmunohistoquímica
Lesión intraepitelial de bajo grado	238	377
Lesión intraepitelial de alto grado	103	103
Total	341	480

## DISCUSIÓN

Los resultados revelan que el incremento de ácidos siálicos se da antes de que se manifiesten cambios celulares. Estos cambios se relacionan con la invasión y metástasis. Es importante destacar que en las muestras

de pacientes con lesión intraepitelial de bajo grado se notó un incremento en la expresión de ácidos siálicos y más casos que los detectados a través de la tinción de Papanicolaou. Se sabe que la tumorigénesis y las metástasis se asocian frecuentemente con alteraciones estructurales y con la expresión de oligosacáridos de glucoproteínas y glicolípidos de la superficie celular. La expresión de glicoconjugados cambia durante el desarrollo, la diferenciación, la enfermedad y la transformación oncogénica.<sup>12,13</sup> Los resultados obtenidos son un elemento fundamental para realizar un seguimiento de los casos de incremento de ácidos siálicos y buscar su correlación clínica respectiva. Es conveniente resaltar la gran importancia de complementar la citología exfoliativa con otras pruebas inmunohistoquímicas, como la determinación de la expresión de los ácidos siálicos, con lo cual se detecta de manera oportuna el cáncer cervicouterino.<sup>14,15</sup>

## CONCLUSIONES

Diferentes estudios demuestran que el cambio en la sialilación se produce antes de la aparición del cáncer y puede desempeñar un papel relevante en la transformación celular.<sup>16-18</sup> La modificación en la expresión del ácido siálico en las lesiones premalignas se ha estudiado poco, aunque se ha observado una mayor elevación en el carcinoma invasor.<sup>19</sup>

El incremento del ácido siálico como marcador de malignidad ha suscitado gran interés, pero es necesario llevar a cabo estudios más detallados acerca del papel que desempeña en la transformación del cáncer cervicouterino.<sup>20,21</sup>

## REFERENCIAS

1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Mortalidad en México entre hombres y mujeres. México: INEGI, 2011.
2. Wright JD, Davila RM, Pinto KR, Merrit DF. Cervical dysplasia. *Obstet Gynecol* 2005;106:115-120.
3. Sato A, Ishiwata T, Matsuda Y, Yamamoto T, et al. Expression and role of nestin in human cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Int J Oncol* 2012;10;(2):340-346.
4. Singh V, Parashari A, Sehgal A. Man power training for early cervical cancer detection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012;2:110-114.
5. Korfage I, van Ballegooijen M, Wauben B, Looman C, et al. Having a Pap smear, quality of life before and after cervical screening: a questionnaire study. *Br J Obstet Gynecol* 2012;3(2):146-149.
6. Duggan C, Coronado G, Martinez J, Byrd TL, et al. Cervical cancer screening and adherence to follow-up among Hispanic women study protocol: a randomized controlled trial to increase the uptake of cervical cancer screening in Hispanic women. *BMC Cancer* 2012;12(1):170-177.
7. Arndt N, Tiralongo J, Madge P, von Itzstein M, Day C. Differential carbohydrate binding and cell surface glycosylation of human cancer cell lines. *J Cell Biochem* 2011;112(9):2230-2240.
8. López-Morales D, Reyes-Leyva J, Santos-López G, Zenteno E, Vallejo-Ruiz V. Increased expression of sialic acid in cervical biopsies with squamous intraepithelial lesions. *Diagn Pathol* 2010;5:74.
9. Roy A, Chakraborty S. Detection of cancer cervix by estimation of sialic acid. *J Indian Med Assoc* 2005;103(11):589-590.
10. Chen CL, Lee WL, Tsai YC, Yuan CC, et al. Sialyltransferase family members and cervix squamous cell carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002;23(6):514-518.
11. Wang PH, Lo WL, Hsu CC, Lin TW, et al. Different enzyme activities of sialyltransferases in gynecological cancer cell lines. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002;23(3):221-226.
12. Lagana A, Martinez BP, Marino A, Fago G, Bizzarri M. Correlation of serum sialic acid fractions as markers for carcinoma of the uterine cervix. *Anticancer Res* 1995;15(5B):2341-2346.
13. Miyagi T, Takahashi K, Hata K, Shiozaki K, Yamaguchi K. Sialidase significance for cancer progression. *Glycoconj J* 2012 May 29. [Epub ahead of print].
14. Almaraz RT, Tian Y, Bhattacharya R, Tan E, et al. Metabolic flux increases glycoprotein sialylation: implications for cell adhesion and cancer metastasis. *Mol Cell Proteomics* 2012 Mar 28. [Epub ahead of print].
15. Mitic N, Milutinovic B, Jankovic M. Assessment of sialic acid diversity in cancer and non-cancer related CA125 antigen using sialic acid-binding Ig-like lectins. *Dis Markers* 2012;32(3):187-194.
16. Farghaly S. Tumor markers in gynecologic cancer. *Gynecol Obstet Invest* 1992;34(2):65-72.
17. Zheng J, Zheng S, Zhang Y, Yu B, et al. Sialic acid surface decoration enhances cellular uptake and apoptosis-inducing activity of selenium nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011;83(1):183-187.
18. Manju V, Balasubramanian V, Nalini N. Oxidative stress and tumor markers in cervical cancer patients. *J Biochem Mol Biol Biophys* 2002;6(6):387-390.
19. Eggleston K, Coker A, Luchok K, Tamra E. Adherence to recommendations for follow-up to abnormal Pap tests. *Obstet Gynecol* 2007;109(6):1332-1341.
20. Banerjee S, Robson P, Soutter WP, Foster CS. Modulated expression of glycoprotein oligosaccharides identifies phenotypic differentiation in squamous carcinomas of the human cervix. *Hum Pathol* 1995;26(9):1005-1013.
21. Montz F, Farber F, Bristow R, Cornelison T. Impact of increasing Papanicolaou test sensitivity and compliance. *Obstet Gynecol* 2001;97(5):781-788.