

EL PAPEL DEL ÁCIDO SIALICO EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA*

Brenda Leticia Santiago Olivera¹, Berenice Fernández Rojas¹, Jesús Hernández Juárez², Itandehui Belem Gallego Velasco¹, Luis Miguel García-Cruz¹ y Pedro Antonio Hernández-Cruz^{1}**

¹Laboratorio de Genómica, Proteómica y Glicobiología del Cáncer del Centro de Investigación Facultad de Medicina UABJO-UNAM. ²Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Oaxaca de Juárez, México.

**Autor de correspondencia: fuegoblanco136@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los ácidos siálicos se encuentran típicamente como ramas terminales de N-glicanos, O-glicanos y gangliósidos de glucoesfingolípidos y ocasionalmente tapando las cadenas laterales de los anclajes de glicosilfosfatidilinositol (GPI). El ácido siálico tiene un potencial para la diversidad biológica así por ejemplo en el cáncer el incremento de la actividad de la enzima sialil transferasa 6 (ST6Gal1) favorece la formación del enlace glicosídico en posición α -2,6 en los carbohidratos presentes en glicoconjugados de la membrana celular como parte del fenotipo maligno. En esta revisión se abordará el papel del ácido siálico en el cáncer de mama.

ABSTRACT

Sialic acids are typically found as terminal branches of N-glycans, O-glycans and glucosfingolipid gangliosides and occasionally covering the side chains of glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchors. Sialic acid has a potential for biodiversity so for example in cancer increase the activity of the enzyme sialil transferase 6 (ST6Gal1) favors the formation of glycosidic binding in position α -2,6 in carbohydrates present in glycoconjugated cell membrane as part of the malignant phenotype. In this review we will address the role of sialic acid in breast cancer.

El cáncer es un trastorno caracterizado por la alteración del equilibrio entre la proliferación y los mecanismos normales de muerte celular, su consecuencia es el desarrollo de una o varias clonas que pueden invadir los tejidos adyacentes (1). La sobreexpresión o pérdida de la regulación de enzimas implicadas en la maquinaria de glicosilación, glicosil transferasas y glicosidasas, está asociada a la expresión de antígenos ocultos o de nuevos. Se ha observado que en la mayoría de las células de carcinomas se presenta una elongación incompleta de las cadenas oligosacáridos, formando estructuras menos complejas donde algunos tipos de estructuras glicosídicas cortas se expresen, lo que origina la formación de nuevos antígenos asociados al cáncer (1). La glicosilación aberrante de proteínas contribuye a la transformación y la

capacidad metastásica del cáncer (2). Como consecuencia de la transformación maligna (cáncer) ocurren cambios en la glicosilación, sobre todo en la etapa de elongación de los O-glicanos (3). Los oligosacáridos, se pueden encontrar en proteínas estructurales, formando parte de glicoconjugados de membranas celulares, participan en procesos biológicos como: proteínas e interacciones ligando receptor (3). En células de cáncer de mama, se han observado cambios en la expresión de N-acetilgalactosaminiltransferasas, enzimas responsables de la O-glicosilación que originan cambios en la estructura de los oligosacáridos de las proteínas de membrana que se relacionan con procesos de transformación y proliferación celular, los cuales pueden originar el cáncer de mama además, la presencia de receptores para estos carbohidratos,

PALABRAS

CLAVE:

Ácidos siálicos, cáncer de mama.

KEY WORDS:

Sialic acids, breast cancer.

puede potencializar la capacidad metastásica del tumor (3). Los glicanos acortados o truncados parecen ser otra característica que comúnmente aumenta durante el cáncer, mientras que están ausentes o solo se expresan débilmente en tejidos normales, ejemplos de estructuras glicánicas truncas son: El antígeno Tn ($\text{GalNAc}\alpha\text{-Ser/Thr}$) y el antígeno TF o Thomsen-Freidenreich ($\text{Gal}\beta\text{1-3GalNAc}\alpha\text{1-Ser/Thr}$) sus formas sialiladas sTn ($\text{NeuAc}\alpha\text{2-6 GalNAc}\alpha\text{-Ser/Thr}$) y sT ($\text{NeuAc}\alpha\text{2-6 Gal}\beta\text{1-3GalNAc}\alpha\text{1-Ser/Thr}$) (3).

En el cáncer de mama y en otros tipos de cáncer, la aparición de estructuras glicosídicas como el sialil+ de Lewis x (sLex) y el sialil de Lewis a (sLea), son altamente expresados en la linfa de ganglios con metástasis (4).

GLICOSILACIÓN

La glicosilación es un proceso importante de modificación cotraduccional y postraduccional de proteínas y lípidos, está involucrado en numerosas procesos fisiológicos y patológicos clave de la célula incluyendo la transformación maligna, progresión y metástasis del cáncer. (5). La glicosilación es un proceso enzimático que une residuos de carbohidratos a lípidos o proteínas. Los glicanos unidos covalentemente a las proteínas intervienen en el plegamiento correcto de la misma, al adquirir resistencia a las proteasas, permite que la proteína interactúe con sus ligandos y dirigirlos a su ubicación (6). Se estima que más de la mitad de todas las proteínas humanas están glicosiladas. Las moléculas glicosiladas se caracterizan por la naturaleza de la unión que se presenta entre el carbohidrato y la parte proteica o lipídica. Existen varios tipos de glicanos, 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 grupo amino (NH_2) de la cadena lateral de la asparagina (Asn) de una proteína (7).

La N-glicosilación de proteínas es la modificación postraduccional más conservada y compacta en eucariotas que comienza con la transferencia de 14 precursores de azúcar Glc_3Man_9 (GlcNAc_2) a una secuencia consenso Asn-X-Thr/Ser. (8), donde X es cualquier aminoácido excepto la prolina. Los N-glicanos inician con una molécula de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc). Los N-glicanos presentes en las proteínas se clasifican en tres grandes grupos: Los N-glicanos con un alto contenido de manosa en su estructura, que son muy comunes en proteínas con diversos orígenes y funciones, como por ejemplo proteínas plasmáticas, hormonas, enzimas, receptores de superficie celular, inmunoglobulinas y lectinas además, son intermediarios para otro tipo de estructuras N-glicánicas más complejas. El segundo grupo es el de los N-glicanos complejos o de estructuras del tipo lactosaminico, formados por el disacárido $\text{Gal}\beta\text{1-4GlcNAc}$ en cantidad variable, las glicoproteínas que presentan este tipo de estructuras normalmente se encuentran en la superficie celular actúan como señales de reconocimiento celular. El tercer tipo de estructura N-glicánica se conoce como híbrida y las proteínas que presentan este tipo de arreglo contienen una mezcla de estructuras lactosaminicas y de las manosas (Fig. 1). Los N-glicanos también pueden proteger a las proteínas de la acción de proteasas (9).

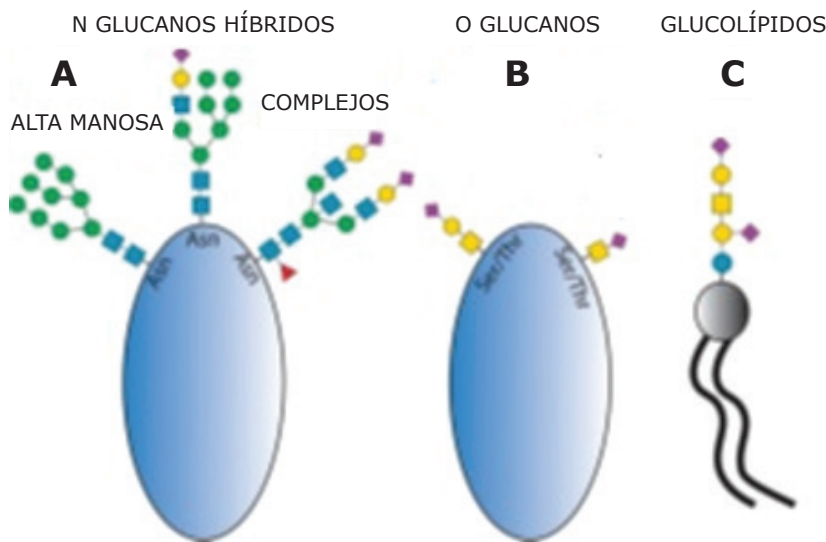


Figura 1. Representación esquemática de glicanos tipo N y tipo O en glicoproteínas y glicolípidos. A) Representación de los tres tipos de N-glicanos, los de alta manosa, los híbridos y los complejos B) ejemplos de O-glicanos C) Glicolípidos.

- N-acetil glucosamina
- Glucosamina
- Manosa
- Galactosa
- ◆ Ácido sialico
- ▲ Fucosa
- ~ Lípidos
- Proteínas

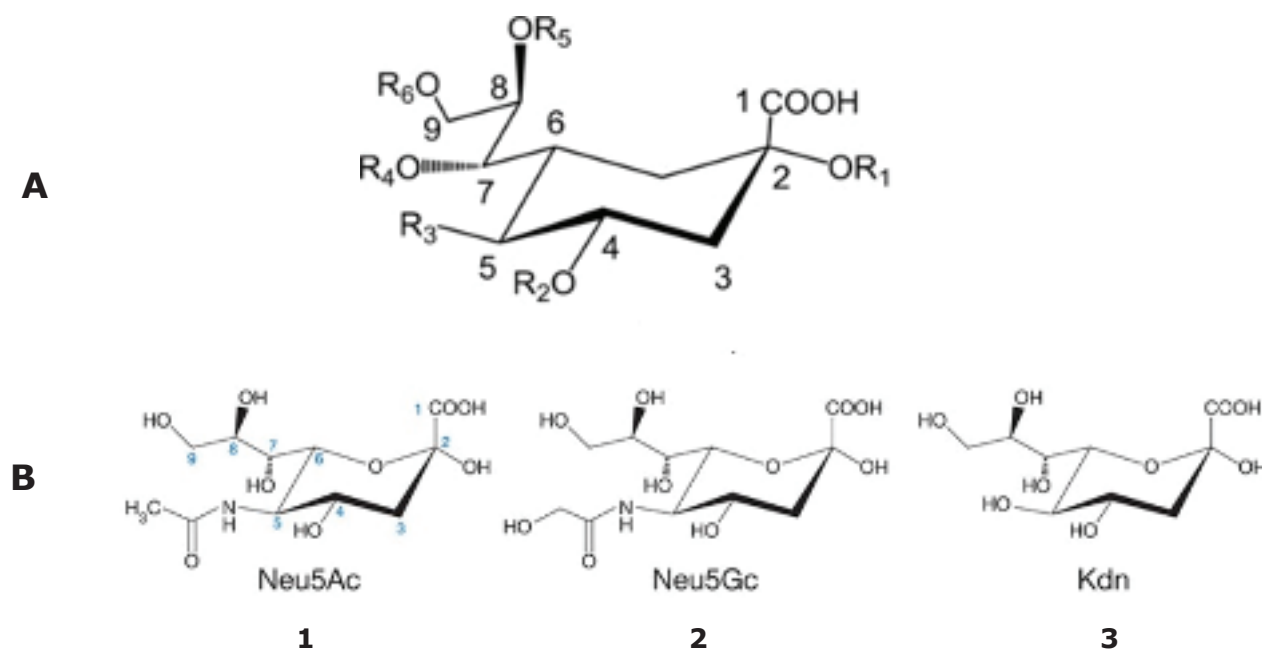


Figura 2. A) Estructura del ácido siálico sustituciones en R1= Hidroxilo (OH), Galactosa (Gal) y N-acetil galactosamina (GalNAc), en R2= Hidrógeno o acetilo, en R3= N ácido -acetilneuraminico (Neu5Ac), el ácido N ácido -glicolilneuraminico (Neu5Gc), el ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuraminico) (KDN) en R4= Hidrógeno o acetilo, en R5= Hidrógeno o acetilo, en R6= Hidrógeno o acetilo B) Principales tipos de ácido siálico 1: el N ácido-acetilneuraminico (Neu5Ac), 2: el ácido N ácido -glicolilneuraminico (Neu5Gc) y 3: ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuraminico) (KDN).

La O-glicosilación consiste en glicanos unidos vía N-acetilgalactosamina (GalNAc) ligada al grupo hidroxilo de residuos serina (Ser) y treonina (Thr), y es una de las formas más abundantes de glicosilación de proteínas en animales, este proceso está controlado por una familia de genes que codifican las enzimas responsables del inicio de la glicosilación. Un ejemplo de este tipo de glicoproteínas son las mucinas.

La O-glicosilación de tipo mucínico es un proceso controlado por una gran familia de hasta 20 genes homólogos que codifican UDP-GalNAc: polipéptido GalNAc-transferasa (GalNAc-Ts), con una regulación diferencial en células y tejidos, al poder generar una gran variedad de estructuras (10) (Fig. 1). Por su gran complejidad y diversidad los O-glicanos participan en la conformación de la estructura secundaria y terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas como las mucinas.

ÁCIDO SIÁLICO

El término de ácido siálico se utiliza para nombrar a los miembros de la familia de amino azúcares (monosacáridos) de naturaleza ácida, derivados del ácido neuramínico, que se encuentran presen-

tes como residuos terminales de las cadenas de carbohidratos de glicoconjugados (glicoproteínas y glucolípidos) involucrados en muchos fenómenos biológicos y patológicos presentes en la mayoría de las células, secreciones, fluidos y tejidos de mamíferos. El ácido N-acetilneuramínico (NANA por sus siglas en inglés) es el miembro de la familia más abundante.

El ácido siálico tiene un pKa de 2.6 relacionado con el carboxilato C-1 y el amino C-5. La cadena lateral de tipo glicerol exocíclico (C-7, C-8 y C-9, cada uno con un grupo hidroxilo) brinda oportunidades para unir hidrógeno. El grupo N-acetilo facilita las interacciones hidrofílicas, cambiando a propiedades hidrofóbicas con un grupo N-glicolilo. Cada uno de estos restos puede participar en las especificidades y funciones de unión de los glicanos que contienen ácido siálico (Fig.2a)

Los ácidos siálicos son una familia de α -cetoácidos con una cadena principal de nueve carbonos. Más de 50 formas de ácido siálico se han encontrado en la naturaleza, incluyendo el más abundante ácido-N-acetilneuramínico (Neu5Ac), el ácido N ácido-glicolilneuramínico (Neu5Gc), el ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuramínico) (KDN) (Fig.2b) (11). Están unidos a carbohidratos complejos de

glicoproteínas y glicolípidos de las membranas celulares.

La estructura particular de este monosacárido es usada para activar o inhibir interacciones intermoleculares e intercelulares por su carga negativa a pH fisiológico, sin embargo, el ácido siálico puede actuar como ligando de una variedad de proteínas animales, vegetales y de origen microbiano, que reconocen azúcares conocidos como lectinas. Las glicoproteínas sialiladas se encuentran en las membranas plasmáticas y siempre se ubican de tal manera que los grupos de carbohidratos se encuentren únicamente en la superficie externa de la membrana celular, donde el ácido siálico es el último monosacárido adicionado a la cadena de oligosacáridos, por lo que funciona como sitio reconocimiento para las lectinas.

SIALILACIÓN Y CÁNCER

Durante la progresión tumoral ocurren cambios en la glicosilación de proteínas y lípidos, las alteraciones en los patrones de sialilación de las células tumorales, son consecuencia de la transformación neoplásica. Las alteraciones en los patrones de expresión del ácido siálico en el cáncer, se encuentran la expresión de antígenos sialilados de la familia Thomsen-Freidenreich y sialil Lewis, así como el aumento de ácido siálico alfa-2,6 unido al disacárido Gal β -1,4-GlcNAc (lactosamina) (Tabla 1). Estos cambios se observan en diferentes tipos de cáncer y de manera general se ha propuesto que están relacionados con alteraciones en la expresión de las sialiltransferasas encargadas de la transferencia de ácido siálico a posiciones terminales de glicoconjugados (4). El incremento en la expresión de ácido siálico se relaciona de manera positiva con la expresión de la sialiltransferasa β -galactósido α -2,6-sialiltransferasa (ST6Gal I), ya que se ha observado un aumento en el ARNm y/o en la actividad enzimática en tejido tumoral comparado con tejido normal. La importancia de esta alteración radica en la relación que existe entre el de ácido siálico en posición α -2,6 en los glicanos de los glicoconjugados de la membrana celular y ciertas

características del tumor como son la pérdida de diferenciación y una mayor capacidad invasora de las células tumorales. En algunos tipos de cáncer se ha tratado de establecer como un marcador de supervivencia de los pacientes (12).

SIALIL TRANSFERASAS

Los ácidos siálicos se unen mediante enlaces glicosídicos α -2,3 ó α -2,6 a residuos de galactosa (Gal), este último se agrega a residuos de N-acetil galactosamina (GalNAc), el ácido siálico se puede unir por enlace glicosídico α -2,8 a otro residuo de ácido siálico. Los diferentes tipos de enlace que forman, así como, la variabilidad que existe en la familia da como resultado una gran diversidad de estructuras derivadas del ácido siálico. La transferencia de ácido siálico a los oligosacáridos se da a partir de un azúcar donador activado (CMP-NeuAc), y es catalizada por una familia de enzimas llamadas sialiltransferasas (STs), estas se encuentran ancladas a la membrana de la red trans del aparato de Golgi. A la fecha, se conocen 20 sialiltransferasas las cuales presentan diferencias en la afinidad por el sustrato que reconocen y se clasifican en función del tipo de enlace que forman (Tabla 1) (12).

La expresión de estructuras con ácido siálico está regulada en espacio y tiempo, cambiando durante el desarrollo y la diferenciación. La presencia de una cierta estructura en un momento particular, es el resultado del balance total entre las actividades de sialiltransferasas y de sialidasas (neuraminidasas), así como, la actividad de otras glicosil-transferasas en el aparato de Golgi en donde se lleva a cabo el proceso (12).

El ácido siálico unido α -2,3 a residuos de galactosa (Gal) en cadenas de glicanos: Gal β -1,3-GlcNAc y Gal β -1,4-GlcNAc de los glicoconjugados, presente en muchos tipos celulares y quizá en todos los tejidos en vertebrados. En humanos la expresión de cadenas Gal β -1,3-GlcNAc está restringida principalmente a los epitelios (12). El ácido siálico α -2,6 se presenta sobre terminales de Gal o GalNAc, las estructuras formadas por la adición de ácido siálico sobre GalNAc, incluyen algunos de los antígenos Thomsen-Freidenreich como son: el

TABLA 1

FAMILIAS DE SIALIL TRANSFERASAS		
FAMILIA	ENLACE FORMADO	ENZIMAS
α -2-6 Sialiltransferasas	α -2,6-Gal/GalNAc	ST6Gal NAc I-VI
α -2-3 Sialiltransferasas	α -2,3-Gal	ST3Gal I-VI
α -2-8 Sialiltransferasas	α -2,8-Neu5Ac	ST8Sia I-VIII

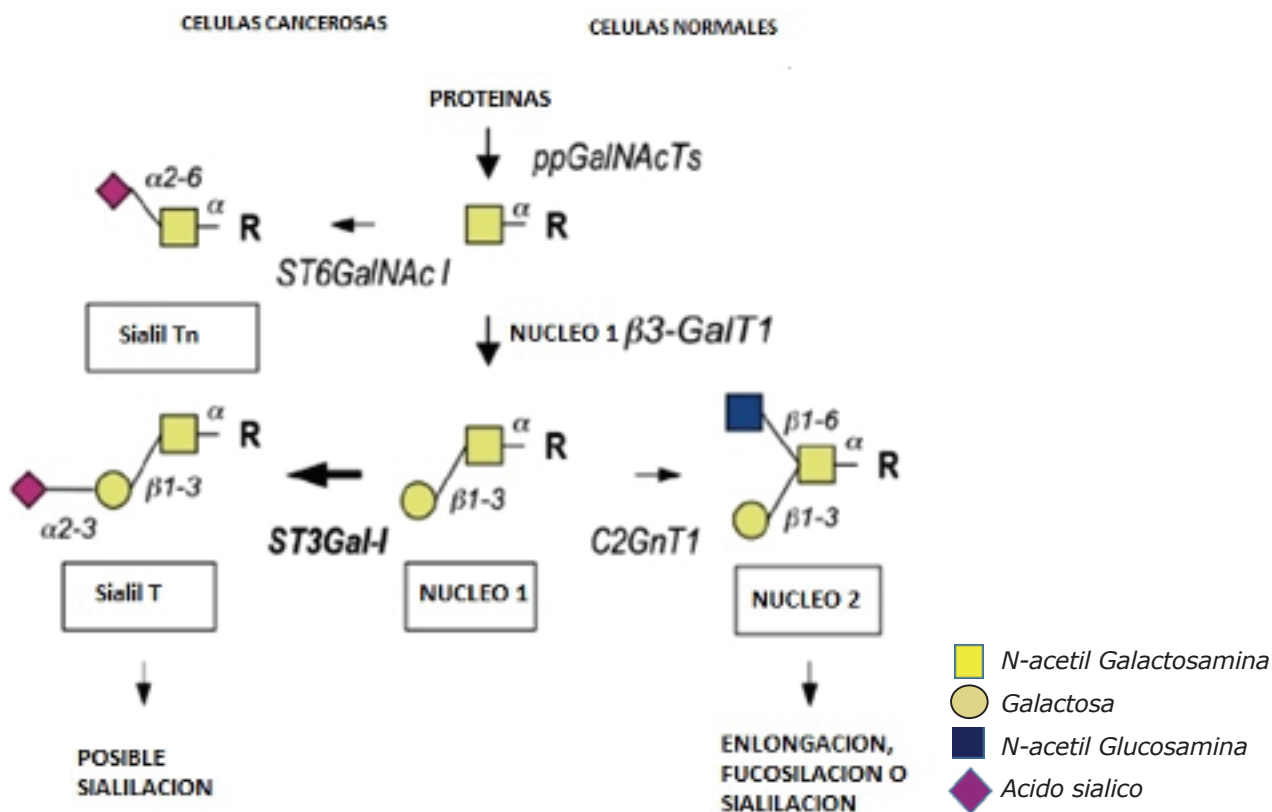


Figura 3. Biosíntesis de O- glicanos en células normales y cancerosas de la glándula mamaria. Las enzimas responsables de la biosíntesis de varias estructuras de O- glicano se indican junto a las flechas. El polipéptido GalNAc-transferasa (*ppGalNAcTs*) inicia O-glicosilación mediante la transferencia de GalNAc a residuos de serina o treonina. La α6-sialiltransferasa (*ST6GalNAc I*) sintetiza el antígeno sialil-Tn mediante la adición de un residuo sialil α6 a GalNAc. Alternativamente, la enzima núcleo 1 β3-Gal-transferasa (*C1GalT*) sintetiza el núcleo 1, el antígeno T. La estructura sialil-T es sintetizada por la α3-sialiltransferasa *ST3Gal-I*. La sialilación adicional de sialil-T puede incluir la sialilación α6 de GalNAc para formar el antígeno T disialilado y / o la sialilación α2-8 del residuo de ácido siálico unido a α3. En la glándula mamaria normal, el núcleo 2 β6-GlcNAc-transferasa (*C2GnT*) puede introducir una rama, cuyos brazos pueden alargarse y sialilarse o fucosilarse aún más.

sialil-Tn, y sialil-T, los cuales se han asociado con el grado de progresión tumoral, además durante la carcinogénesis se generan estructuras nuevas o incompletas como, sialil-Lewis X (SLx) y sialil-Lewis A (SLa) (13). (Fig.3)

El ácido siálico α-2,6 sobre Gal forma el antígeno α-2,6-sialil-lactosamina (Neu5Acα-2,6-Galβ1,4GlcNAc), el cual se observa frecuentemente en estructuras de N glicanos ramificados, ya que son portadores del disacárido Gal-β1,4- GlcNAc (lactosamina) aunque también puede estar presente en O-glicanos y en glicolípidos (14).

Dentro de los fenómenos celulares en los que participa el ácido siálico se encuentra la extravasación de leucocitos activados a sitios de inflamación o el reclutamiento de los mismos a órganos linfoides secundarios, como los ganglios linfáticos, en donde los antígenos sialil Lewis (sLew) median el reconocimiento a través de moléculas de adhe-

sión de la familia de las selectinas. El ácido siálico también modula interacciones moleculares a través del enmascaramiento de la galactosa, evitando el reconocimiento por galectinas, las cuales son una familia de lectinas de unión a galactosa que participan en una variedad de procesos que incluyen interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular (MEC). Se sabe que la galectina-1 y la galectina-9 inducen apoptosis en células T activadas y se ha propuesto a la galectina-1 como inmunosupresor en padecimientos autoinmunes (15). También, se ha documentado la participación del antígeno α-2,6-sialil-lactosamina en fenómenos de regulación del sistema inmune, por ejemplo. El antígeno CDw75 está formado por la estructura α-2,6-sialil-lactosamina, se expresa durante la maduración de las células B en etapa de Ig+ y su expresión cesa con la diferenciación terminal a células plasmáticas (8). La adición y la remo-

ción de ácido sialico está regulada por lo que una alteración en la síntesis de estructuras sialiladas está asociada con el desarrollo de cáncer (12). La prevalencia de sialilación α -2,3 o α -2,6 también ha sido ampliamente estudiada para cada tipo de cáncer en términos de expresión de sialiltransferasas y estructuras de glicano que portan estos epítomos, los glicanos α -2,3 o α -2,6 sialilados están involucrados en conferir un fenotipo metastásico en líneas celulares de melanoma. (12). La expresión y la actividad de sialiltransferasas son interruptores importantes en el metabolismo del ácido siálico de la célula transformada por lo que son de gran importancia en el desarrollo del cáncer. (12).

ANTIGENOS Tn Y T

El antígeno Tn es el precursor del antígeno T o TF: por la acción de una β galactosil transferasa, se ha observado que la actividad de la enzima puede estar bloqueada, por aumento en la actividad de las sialil transferasas, que provoca una temprana terminación del antígeno Tn (16), que normalmente se encuentra sustituido con galactosa (Gal) o N-Acetilglucosamina (GlcNAc). Las expresiones de los antígenos sialil-Tn y sialil T se han asociado con adenocarcinoma gástrico difuso, cáncer de pulmón, cáncer cervico-uterino, cáncer de hígado y cáncer de mama.

En el cáncer de mama el antígeno Tn se expresa en el 90% de los casos, mientras que el sialil Tn se expresa entre un 20 y 25%. La sobreexpresión de la sialiltransferasa ST3Gal-I produce la expresión de ST (16), mientras que la expresión de STn se debe a la activación de la transcripción de la sialiltransferasa ST6GalNAc-I (17). Mutaciones en el gen que codifica COSMC, (una chaperona), resulta en la pérdida de la actividad de la T sintasa. En el cáncer de mama, los glicanos T y ST se expresan junto con el antígeno Tn, lo que sugiere que la pérdida de la función COSMC no desempeña un papel importante en la expresión de Tn.

El antígeno Tn puede ser sialilado en la posición C6 de GalNAc, dando como resultado el disacárido Neu5Ac α 2-6GalNAc-Ser/Thr (sTn), sTn está ausente en tejidos sanos normales, pero se puede expresar en casi todos los tipos de carcinomas. La enzima ST6GalNAc I cataliza la transferencia de ácido siálico a GalNAc *in vivo* (18). Se ha propuesto que la mutación COSMC era necesaria para proporcionar el sustrato aceptor de Tn a ST6GalNAc I para sintetizar el antígeno sTn (18). Sin embargo, se ha demostrado que la transfección del cDNA de ST-6GalNAc I es suficiente para inducir la expresión de sTn en varias líneas celulares de cáncer de mama que expresan glicanos del núcleo 1 y 2 (18), lo que

demuestra que ST6GalNAc I en cáncer de mama es variable, al menos 25 a 30% de los diferentes tipos de cáncer de mama son positivos para sTn (19). El 25% de muestras provenientes de mujeres diagnosticadas con carcinoma ductal invasivo fueron positivas al anticuerpo B72.3 mientras que el 60% de las muestras estudiadas fueron positivas al anticuerpo con HB-STn1 (20). Kinney y sus colegas propusieron que la expresión de sTn era un factor de mal pronóstico del cáncer de mama (21). Miles, informó de una correlación significativa de la expresión de sTn con la disminución de la supervivencia en el grupo restringido de pacientes con ganglios positivos, mientras que Leivonen, limita la asociación al pronóstico a corto plazo (22).

ANTIGENO SIALIL LEWIS (sLw)

Los antígenos Lewis se encuentran en la mayoría de los tejidos epiteliales humanos, donde se localiza en la parte terminal de las cadenas de glucolípidos y glucoproteínas (23). Estos antígenos se derivan de la sustitución en las secuencias del disacárido de tipo 1 (Gal β 1-3GlcNAc) o de tipo 2 (Gal β 1-4GlcNAc) por residuos de fucosa y ácido siálico respectivamente (Fig. 4). Le^a, Le^b y sLe^a derivan de secuencias de tipo 1, y Le^x, Le^y y sLe^x derivan de tipo 2

La biosíntesis de antígenos Lewis sialilados (sLe^a y sLe^x) requiere primero la α 2,3-sialilación de Gal antes de la α 1,3 / 4-fucosilación ST3Gal III [(23), que actúa preferentemente sobre los disacáridos de tipo 1, participa en la síntesis de sLe^a. ST3Gal IV y ST3Gal VI actúan sobre el disacárido tipo 2, lo que lleva a la biosíntesis de sLe^x, pero ambos también comparten la especificidad con ST3Gal III. Para la fucosilación posterior, FucT III es la enzima principal involucrada en la biosíntesis de sLe^a, mientras que FucT VII muestra una especificidad de sustrato restringida ya que solo puede formar sLe^x (24).

La expresión de los antígenos sialil-Lewis (sLw) generalmente se altera en el cáncer de mama. La glándula mamaria comúnmente expresa Le^x, principalmente en la parte apical de los conductos celulares junto con mucina uno (MUC1). Los epítomos sLe^x y sLe^y también pueden detectarse a veces en la glándula mamaria normal, pero con una intensidad baja (25). Por el contrario, la expresión sLe^a y sLe^x aumenta en los tejidos de cáncer de mama, incluidas las lesiones primarias de la glándula mamaria (24). No obstante, los niveles de expresión de sLe^x son más altos en pacientes con metástasis en comparación con pacientes que presentan cáncer no metastásico (24). La expresión de los antígenos sialil-Lewis es débil en el carcinoma *in*

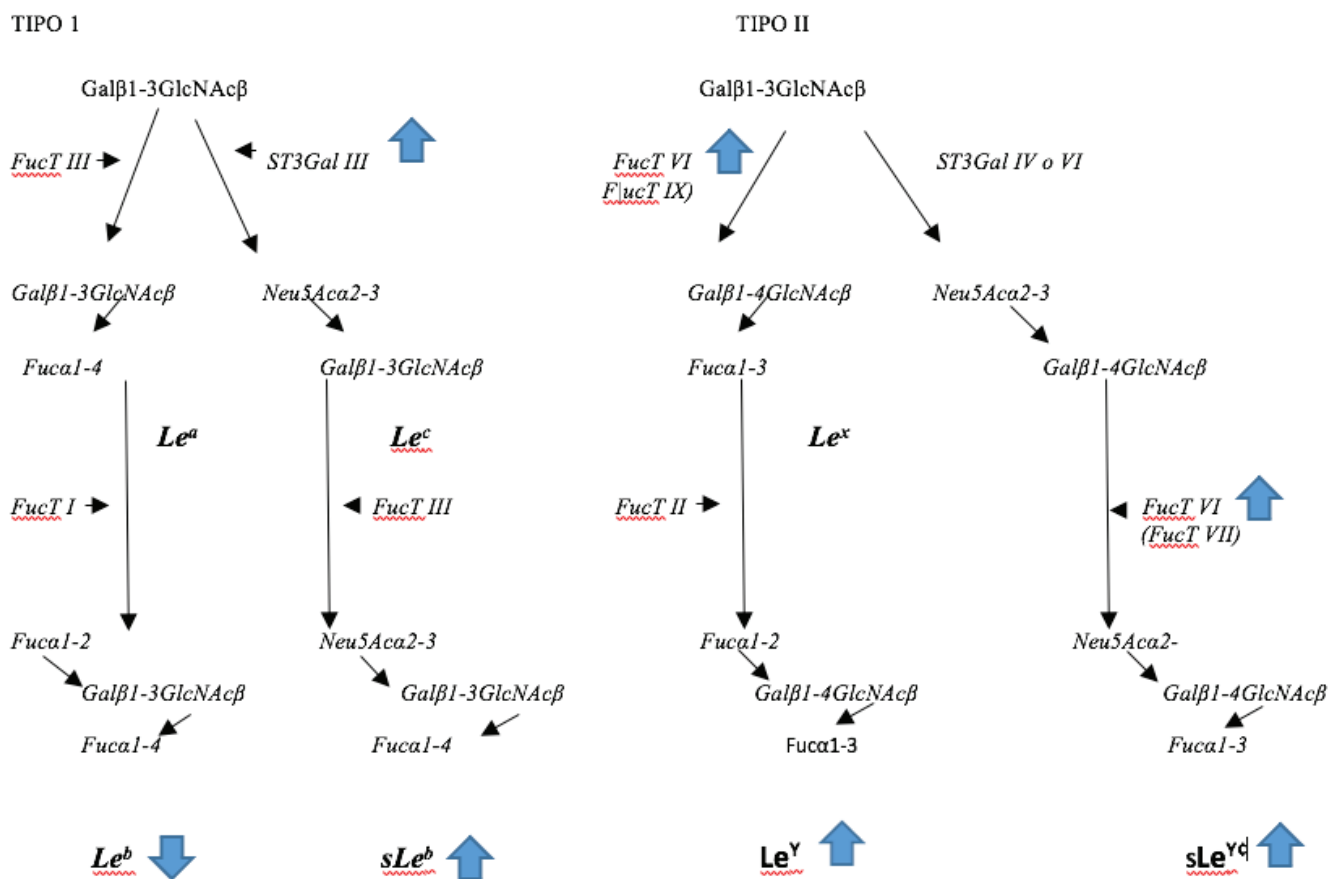


Figura 4. Síntesis de los antígenos Lewis. Los antígenos de Lewis se derivan de la sustitución del tipo 1 (Galβ1-3GlcNAc) o del tipo 2 (Galβ1-4GlcNAc) secuencias de disacárido por residuos de fucosa y ácido siálico. El nombre del antígeno se indica junto a la estructura de glicano. Las enzimas implicadas en las vías biosintéticas se indican en cursiva entre las cuales destacan: Fucosil transferasa (FucT) I, II, III, VI, VII y IX; sialil transferasas: ST3Gal III, ST3Gal IV y ST3Gal VI. Flechas en azul: antígenos alterados en el cáncer de mama, las flechas hacia abajo indican disminución, las flechas hacia arriba indican un aumento.

situ, es moderada en los carcinomas invasivos sin metástasis y es alta en el carcinoma primario con metástasis en los ganglios linfáticos, mostrando una buena correlación con el riesgo metastásico en pacientes con cáncer de mama (24). La inmunohistoquímica del tejido del cáncer de mama sugiere que la expresión de sLe^x es un indicador pronóstico de supervivencia independientemente del tamaño del tumor primario y la afectación de los ganglios linfáticos (24). Una expresión reducida de antígenos tipo 1 y una mayor expresión de antígenos tipo 2 en cáncer de mama, y la expresión relativa de antígenos de tipo 2 parece ser capaz de servir como factor pronóstico. Hasta el 80% de los tumores de mama han perdido la expresión del antígeno Le^b, lo que se correlaciona con el grado de malignidad e invasividad (24).

El antígeno Le^y también se sobre expresa en 60 a 90% de los cánceres de origen epitelial, incluido

el cáncer de mama (25). El nivel de expresión de sLe^x también aumenta en el suero de pacientes con cáncer de mama avanzado (25) y, por lo tanto, es un buen candidato como marcador de diagnóstico. En combinación con el antígeno de suero CA15-3, el marcador de cáncer de mama más utilizado, la medición de sLe^x en suero puede mejorar el monitoreo: para el 78.5% de casos de cáncer de mama metastásico detectado, en comparación con el 61.5% cuando solo se usa el antígeno de cáncer 15-3 (CA15-3) (26). Un estudio clínico mostró que la alta expresión de Le^y se correlacionó con una disminución significativa de la supervivencia de las pacientes con carcinoma de mama con ganglios linfáticos negativos. Al mostrar una expresión restringida en las superficies epiteliales de los tejidos normales, Le^y también constituye un buen candidato para la inmunoterapia contra el cáncer (25).

GANGLIÓSIDOS EN EL CÁNCER DE MAMA

Los gangliósidos son lípidos de la membrana plasmática de las células, especialmente en los tejidos en desarrollo y el sistema nervioso central adulto, derivan estructural y biosintéticamente de lactosilceramida (LacCer) y de residuos de azúcar, incluidos el ácido siálico, la N-acetilgalactosamina y la galactosa, se transfieren de forma gradual por una serie de Glicosil Transferasas (GT) específicas. G_{M3} , G_{D3} y G_{T3} son los puntos de partida para la biosíntesis de los gangliósidos serie a, serie b y serie c, respectivamente (Fig. 5). Las cantidades relativas de estos glicoesfingolípidos determinan la cantidad de gangliósidos complejos de cada serie. Por lo tanto, la cantidad de lados ganglio complejos depende del nivel de expresión y actividad de varias GT sintasas, incluyendo G_{M3} (ST3Gal V), G_{D3} (ST8Sia I), G_{T3} (ST8Sia V) y $G_{M2/D2}$ ($\beta 1,4$ -GalNAc T1).

Los gangliósidos G_{M3} , G_{D3} y los derivados 9-O-acetil- G_{D3} (antígeno CDw60) y 9-O-acetil- G_{T3} , que muestran una expresión muy restringida en tejidos mamarios normales, aumentan aproximadamente el 50% en el carcinoma ductal infiltrante (27).

La expresión de glicosil transferasas implicadas en la biosíntesis de gangliósidos también puede alterarse en los tumores de cáncer de mama. Dos estudios clínicos han demostrado que la sintasa G_{D3} (ST8Sia I) mostró una mayor expresión entre los tumores de cáncer de mama con receptores de estrógenos negativos (28). La sobreexpresión de ST8SIA1 se asoció con una pobre clasificación histológica en los tumores negativos al receptor de estrógenos y una menor supervivencia de los pacientes (29). Por el contrario, se observó un mejor pronóstico para las muestras positivas para receptores de estrógenos con alta expresión de ST8SIA1 (30).

EL DESARROLLO DE UNA TERAPIA

En el cáncer de mama se expresan O-glicanos truncados basados en núcleo 1, incluidos los antígenos T, Tn y sTn. La expresión de los antígenos sialil-Lewis también se altera, con una buena correlación con el riesgo metastásico, y los gangliósidos complejos se sobre expresan en carcinoma ductal infiltrante. Algunos de estos antígenos se

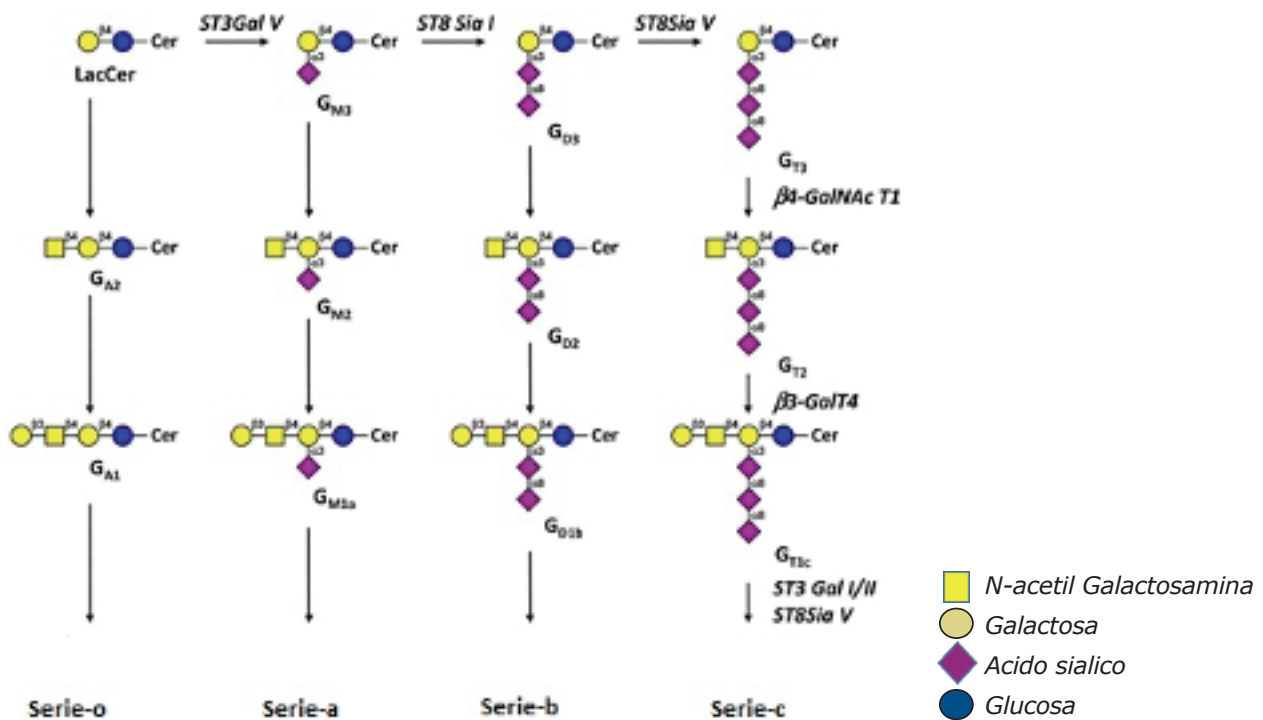


Figura 5. La acción de ST3Gal V (sintasa G_{M3}), ST8Sia I (sintasa G_{D3}) y ST8Sia V (sintasa G_{T3}) conduce a la biosíntesis del precursor de los gangliósidos serie a, serie b y serie c, respectivamente. Los gangliósidos de la serie o se sintetizan directamente a partir de lactosilceramida (LacCer). El alargamiento de los gangliósidos complejos se realiza por la acción secuencial de N-acetil-galactosaminiltransferasa ($\beta 4$ -GalNAc T1), galactosiltransferasa ($\beta 3$ -GalT4) y sialiltransferasas (ST3Gal I, ST3Gal II y ST8Sia V).

han propuesto como marcadores de mal pronóstico (por ejemplo, sLe^x o sTn), aún no han llegado a la clínica por falta de una metodología adecuada para su detección. El marcador de pronóstico en el cáncer de mama sigue siendo la invasión de los ganglios linfáticos determinada durante la cirugía. A menos que otro marcador demuestre ser de calidad superior o independiente de la afectación de los ganglios linfáticos, es poco probable que sea útil para la aplicación clínica. Estos antígenos están asociados con la invasión de ganglios linfáticos, restringidos a grupos específicos de pacientes, su uso como marcadores de pronóstico parece bastante limitado, diferentes métodos pueden aprovechar la expresión de antígenos glicosilados para tratar el cáncer de mama, como bloquear su biosíntesis o usarlos como dianas moleculares en inmunoterapia. Se ha demostrado que bloquear la biosíntesis de los glicanos cambia el fenotipo de las células de cáncer de mama *in vitro*, haciéndolas menos agresivas (30). Sin embargo, este enfoque es difícil de adaptar a la terapia humana porque tanto las células sanas como las cancerosas utilizan sus glicanos en interacciones célula-célula. Existe alto riesgo de que los efectos de un inhibidor químico actúe tanto en células sanas y las células cancerosas por igual. Para seguir desarrollándose, este campo tendrá que esperar la mejora de los sistemas de focalización, como las nanotecnologías (31).

La expresión de las glicosil transferasas implicados en la biosíntesis de los antígenos glicosilados. Todavía se sabe poco sobre los mecanismos moleculares que conducen a la expresión aberrante de las glicosil transferasas en el cáncer. La ganancia o pérdida de la expresión de glicosil transferasas podría atribuirse a la pérdida de integridad cromosómica que a menudo se observa en el cáncer, lo que lleva a la duplicación, eliminación o transposición de segmentos cromosómicos que involucran genes de glicosiltransferasa, se ha demostrado que la expresión elevada de ST6Gal I en células W16 murinas es el resultado de la reorganización del DNA en el locus *st6gal1* como resultado de la transposición de un elemento de tipo retroviral río arriba del ORF *st6gal1* (32). Sin embargo, los cambios en la expresión génica no siempre reflejan los reordenamientos genómicos, ya que la comparación de la matriz de hibridación genómica comparativa y la de micro arreglos de RNA no siempre muestran

una correlación absoluta. La expresión de los genes de glicosil transferasas y sus enzimas a menudo está regulada a nivel transcripcional (33) y varios ejemplos han demostrado que los genes de las enzimas glicosil transferasas, incluidos ST6GAL1 y MGAT5, pueden ser regulados por oncogenes. Solo se ha caracterizado un número limitado de promotores de genes GT (33), y este campo necesita más datos para comprender qué factores de transcripción, vías de señalización y, finalmente, receptores de membrana están involucrados en el cáncer.

La inmunoterapia se ha investigado a fondo durante los últimos 40 años como un enfoque alternativo para el tratamiento del cáncer. Como los glicanos son inmunogénicos. Las vacunas anti-idiotipo basadas en gangliósidos se centran en N-glicolil-GM₃ contra el cáncer de mama. El anticuerpo mAb 1E10 (Racotumomab) es una vacuna anti-idiotipo contra mAb P3, que reconoció Neu5Gc-GM3. La vacunación con 1E10 de ratones BALB / c desafiados con el carcinoma murino F3II conduce a la supresión del crecimiento del tumor y una disminución de la metástasis pulmonar. Además, el efecto antitumoral de 1E10 se potencia mediante la combinación con una dosis baja de ciclofosfamida (34).

Los haptenos agrupados del antígeno sTn conjugados con la hemocianina de lapa californiana (Theratope™; Biomira, Edmonton, AB, Canadá) también se han utilizado para inmunizar a pacientes con cáncer de mama (35). Aunque los resultados del primer ensayo clínico de fase III no mostraron un beneficio significativo. La falta de beneficio significativo para la población total podría explicarse por la baja representación de los pacientes que presentan tumores sTn positivos (25 a 30%). Recientemente, Theratope™ indujo la protección tumoral en un modelo murino. La protección dependía de los anticuerpos anti-sTn generados por la inmunización, los anticuerpos anti-sTn reconocieron una amplia gama de proteínas positivas para sTn expresadas por carcinomas (36).

El futuro del tratamiento del cáncer de mama podrá apoyarse en una combinación de estrategias personalizadas y de focalización múltiple, donde los antígenos glicosilados asociados a cáncer de mama debido a su perfil de expresión y su función, serán objetivos moleculares terapéuticos.



REFERENCIAS

- Varki A y Kornfeld S (2017). *Essentials of Glycobiology*, 3rd edition (Tercera ed.). Cold Spring Harbor (NY), E.U.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Taniuchi K, Cerny RL, Tanouchi A, Kohno K, Kotani N, Honke K, Saibara T, Hollingsworth MA. (2011). Overexpression of GalNAc-transferase GalNAc-T3 promotes pancreatic cancer cell growth. *Oncogene*, 30(49), 4843–4854. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.194>.
- Gallegos Velasco I B, Coutiño R, Martínez G y Hernández P (2008). Marcadores glicosilados en cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica* 27:52-59
- Christiansen MN, Chik J, Lee L, Anugraham M, Abrahams JL, Packer NH. Cell surface protein glycosylation in cancer. (2014). *Proteomics*. 14:525-546.
- Zejian Zhang, Wuhrer, M. Holst, S. (2018). Serum sialylation changes in cancer. *Glycoconjugate Journal*, 35:139–160.
- Hakomori S. (2002) Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99:10231-10233
- Suzuki T, Kitajima K, Inoue S, Inoue Y. (1995) N-glycosylation/deglycosylation as a mechanism for the post-translational modification/remodification of proteins. *Glycoconj J*. 12:183-193.
- B S GK, Surolia A. (2017) Comprehensive analysis of a 2-3-linked sialic acid specific *Maackia amurensis* leukagglutinin reveals differentially occupied N-glycans and C-terminal processing. *Int J Biol Macromol*. 94:114-121.
- Burchell JM, Beatson R, Graham R, Taylor-Papadimitriou J, Tajadura-Ortega V. (2018). O-linked mucin-type glycosylation in breast cancer. *Biochem Soc Trans*. 46:779-788.
- Bennett E, Mandel U, Clausen H, Gerken T, Fritz T y Tabak, L. (2012). Control of mucintype O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology*. 22:736–756.
- Nissi M. Varki, Elizabeth Strobert, Edward J. Dick Jr., Kurt Benirschke, Ajit Varki (2011). Biomedical differences between human and nonhuman hominids: potential roles for uniquely human aspects of sialic acid biology. *Annu Rev Pathol*. 6:365-393.
- López Morales D, Vallejo V. (2007). Expresión de ácido sialico y de la β -galactósido α -2,6-sialiltransferasa en cáncer. *Revista de Educación Bioquímica* 26(3):93-98.
- Dall’Olio F, Chiricolo M (2001) Sialyltransferases in cancer. *Glycoconj J* 18:841-850.
- Dall’Olio F (2000) The sialyl- α 2,6-lactosaminyl structure: biosynthesis and functional role. *Glycoconj J* 17:669-676.
- Zhuang D, Yousefi S, Dennis JW (1991) Tn antigen and UDP-Gal:GalNAc α -R β 1-3Galactosyltransferase expression in human breast carcinoma. *Cancer Biochem Biophys*. 12:185-98.
- Dhawan, P, and Richmond A. (2002) Role of CXCL1 in tumorigenesis of melanoma. *J. Leukoc. Biol*. 72, 9–18.
- Heo SH, Lee JY, Yang K.M, and Park KS. (2015) ELK3 Expression Correlates With Cell Migration, Invasion, and Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase Expression in MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *Gene Expression* 16, 197–203.
- Julien S, Krzewinski-Recchi MA, Harduin-Lepers A, Gouyer V, Huet G, Le Bourhis X, Delannoy P (2001) Expression of sialyl-Tn antigen in breast cancer cells transfected with the human CMP-Neu5Ac: GalNAc α 2,6-sialyltransferase (ST6GalNAc I) cDNA. *Glycoconj J*. 18:883-893.
- Sewell R, Backstrom M, Dalziel M, Gschmeissner S, Karlsson H, Noll T, Gatgens J, Clausen H, Hansson GC, Burchell J, Taylor-Papadimitriou J (2006). The ST6GalNAc-I sialyltransferase localizes throughout the Golgi and is responsible for the synthesis of the tumor-associated sialyl-Tn O-glycan in human breast cancer. *J Biol Chem*. 281: 3586-3594.
- Julien S, Delannoy P (2003) Sialyl-Tn antigen in cancer: from diagnosis to therapy. *Recent Research Developments in Cancer*. Edited by: Pandalai SG, Kerala: Transworld Research Network, 5:185-199
- Kinney AY, Sahin A, Vernon SW, Frankowski RF, Annegers JF, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Frye DK, Dhingra K (1997). The prognostic significance of sialyl-Tn antigen in women treated with breast carcinoma treated with adjuvant chemotherapy. *Cancer*. 80:2240-2249.
- Leivonen M, Nordling S, Lundin J, von Boguslawski K, Haglund C (2001) STn and prognosis in breast cancer. *Oncology*. 61: 299-305.

23. Kitagawa H, Paulson JC (1993) Cloning and expression of human Gal beta 1,3(4) GlcNAc alpha 2,3-sialyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun.* 194:375-382. 10.1006/bbrc.1993.1830.
24. Cazet A, Julien S, Bobowski M, Bouchel I J, Delannoy P. (2010). Tumour-associated carbohydrate antigens in breast cancer. *Breast Cancer Res* 12, 204
25. Matsuura N, Narita T, Mitsuoka C, Kimura N, Kannagi R, Imai T, Funahashi H, Takagi H (1997). Increased level of circulating adhesion molecules in the sera of breast cancer patients with distant metastases. *Jpn J Clin Oncol.* 27: 135-139.
26. Kelly MP, Lee FT, Smyth FE, Brechbiel MW, Scott AM (2006) Enhanced efficacy of 90Y-radiolabeled anti-Lewis Y humanized monoclonal antibody hu3S193 and paclitaxel combined-modality radioimmunotherapy in a breast cancer model. *J Nucl Med.* 47:716-725.
27. Marquina G, Waki H, Fernandez LE, Kon K, Carr A, Valiente O, Perez R, Ando S: (1996). Gangliosides expressed in human breast cancer. *Cancer Res.* 56:5165-5171.
28. Ruckhaberle E, Rody A, Engels K, Gaetje R, von Minckwitz G, Schiffmann S, Grosch S, Geisslinger G, Holtrich U, Karn T, Kaufmann M (2008) Microarray analysis of altered sphingolipid metabolism reveals prognostic significance of sphingosine kinase 1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*, 112:41-52.
29. Ruckhaberle E, Karn T, Rody A, Hanker L, Gatje R, Metzler D, Holtrich U, Kaufmann M (2009). Gene expression of ceramide kinase, galactosyl ceramide synthase and ganglioside GD3 synthase is associated with prognosis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 135: 1005-1013.
30. Goss PE, Baker MA, Carver JP, Dennis JW(1995) Inhibitors of carbohydrate processing: a new class of anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 1:935-944.
31. Tanaka T, Decuzzi P, Cristofanilli M, Sakamoto JH, Tasciotti E, Robertson FM, Ferrari M (2009). Nanotechnology for breast cancer therapy. *Biomed Microdevices.* 11:49-63.
32. Lo NW, Dennis JW, Lau JT (1999). Overexpression of the alpha2,6-sialyltransferase, ST6Gal I, in a low metastatic variant of a murine lymphoblastoid cell line is associated with appearance of a unique ST6Gal I mRNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 264:619-621.
33. Taniguchi A (2008). Promoter structure and transcriptional regulation of human beta-galactoside alpha2, 3-sialyltransferase genes. *Curr Drug Targets.*, 9:310-316.
34. Fuentes D, Avellanet J, Garcia A, Iglesias N, Gabri MR, Alonso DF, Vazquez AM, Perez R, Montero E (2010) Combined therapeutic effect of a monoclonal antiidiotype tumor vaccine against NeuGc-containing gangliosides with chemotherapy in a breast carcinoma model. *Breast Cancer Res Treat.* 120:379-389.
35. Miles D, Papazisis K (2003) Rationale for the clinical development of STn-KLH (Theratope) and anti-MUC-1 vaccines in breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 3 (Suppl 4):S134-S138.
36. Julien S, Picco G, Sewell R, Vercoutter-Edouart AS, Tarp M, Miles D, Clausen H, Taylor-Papadimitriou J, Burchell JM /2009) Sialyl-Tn vaccine induces antibodymediated tumour protection in a relevant murine model. *Br J Cancer.* 100:1746-1754.