



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL REGIONAL**

“LIC. ADOLFO LOPEZ MATEOS”

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE
LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**“EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE ÁCIDOS SIÁLICOS
EN GLICOCONJUGADOS EN BIOPSIAS DE
CERVIX SANO Y CON
CÁNCER CERVICOUTERINO”**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICO ESPECIALISTA EN
GINECOOBSTETRICIA**

PRESENTA:

DRA. MARIA ELENA RODRIGUEZ PIÑA

ASESOR DE TESIS:

DR LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA

NO. DE REGISTRO: 185.2006

2006





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. SERGIO B. BARRAGÁN PADILLA.
COORDINADOR DE CAPACITACIÓN, DESARROLLO E INVESTIGACIÓN.

DR. CARLOS LENIN PLIEGO REYES.
JEFE DE ENSEÑANZA

DR. CARLOS LENIN PLIEGO REYES.
JEFE DE INVESTIGACIÓN

**DR. OSCAR A. TREJO SOLÓRZANO.
PROFESOR TITULAR .**

**DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA.
ASESOR DE TESIS.**

**DR. OSCAR A. TREJO SOLÓRZANO.
VOCAL DE INVESTIGACIÓN.**

INDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
MATERIAL Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN.....	17
REFERENCIAS	24

RESUMEN.

OBJETIVO: Determinar la expresión de los ácidos siálicos en posición $\alpha 2,3$ y $\alpha 2,6$ en biopsias con cancer cervicouterino y sanas, y evaluar su utilidad en el diagnóstico temprano de lesiones malignas. **MATERIAL Y METODOS:** 25 biopsias de cuello uterino con diagnóstico de cáncer cervicouterino, sin tomar en cuenta el tipo, la estirpe histológica y la etapa clínica. Las biopsias control se tomaron de 25 piezas quirúrgicas de histerectomía, con reporte de patología de cervix sin lesión maligna, obtenidas del servicio de patología del HR "Adolfo López Mateos" ISSSTE. Las laminillas se tiñeron con lectina *Sambucus nigra* o con *Maackia amurensis*, las cuales reconocen de manera específica al ácido siálico en posición $\alpha 2-6$ y $\alpha 2-3$, respectivamente. La presencia de ácido siálico fue evaluada de manera independiente por un observador adjudicando una calificación de +, ++ o +++ dependiendo de la intensidad de la fluorescencia. **RESULTADOS:** Tinción con M amurensis: cinco de las biopsias control tuvieron una calificación de +, 17 tenían una calificación de ++, y tres tuvieron +++. En las biopsias con cancer cervicouterino todas fueron calificadas con ++. Las diferencias en los valores obtenidos con esta tinción entre ambos grupos no alcanzaron significancia estadística, aunque si hubo una tendencia no estadísticamente significativa en las biopsias control a tener una ligera presencia de M. amurensis mayor que en las biopsias de CaCu. Tinción con S Nigra: en las biopsias control 15 de ellas tuvieron una calificación de + y siete de ellas de ++ y tres tuvieron una calificación de +++. En los casos con cáncer ocho de ellas tenían una calificación de + otros ocho de ++ y nueve una calificación de +++. La diferencia entre la tinción +++ de controles y pacientes con cáncer tuvo un valor de $p < 0.04$, entre los valores de + de ambas poblaciones logró el mismo valor de p. Correlación de tinciones: De las 15 biopsias control con calificación de S nigra de +, 14 tuvieron una calificación de ++ con M amurensis y una de ellas tuvo +++. De las siete biopsias control con calificación de S nigra de ++, cinco tuvieron una calificación de + y dos tuvieron una calificación de +++ con M amurensis. De las tres biopsias control con calificación de S nigra de +++, las tres tuvieron una calificación de ++ con respecto a su tinción con M amurensis. En el caso de las biopsias con diagnóstico de cáncer que tenían una calificación de +, ++ ó +++ con S nigra, fue interesante observar que las 25 tuvieron una calificación de ++ con M amurensis. **DISCUSIÓN:** en el cáncer cervicouterino también hay modificaciones en la expresión de los ácidos siálicos, la expresión de M amurensis en biopsias sin cáncer estuvo en el rango de ++/+++ versus la tinción con S nigra que difícilmente presentó una expresión mayor a las ++. En cambio en las biopsias con CaCu, no se encontró diferencia en la expresión de M amurensis con relación a los controles, pero si hubo un importante y muy marcado incremento en la expresión de S nigra +++ en la tercera parte de las biopsias con CaCu que correlacionó en dichos casos con la ausencia de tinción con M amurensis. La mayoría de las publicaciones en las que se reportan la asociación de ácidos siálicos con neoplasia mencionan disminución de expresión en $\alpha 2,3$, y un incremento en la expresión de moléculas glicoconjugadas con ácido siálico en la posición $\alpha 2,6$. Nuestros resultados corroboran la observación anterior.

PALABRAS CLAVE: Cancer cervicouterino, ácidos siálicos, lectinas, *Maackia amurensis*, *Sambucus nigri*.

ABSTRACT

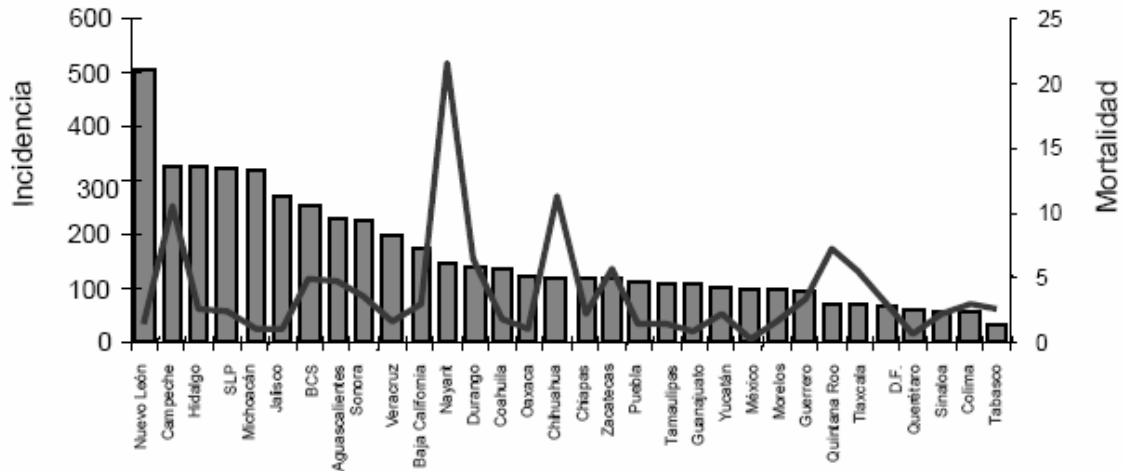
OBJECTIVE: to determine the sialic acids expression in α 2,3 and α 2,6 position in cervix biopsies with cancer and healthy controls (negative to malignance) to evaluate its efficacy in the diagnosis of malignant lesions in cervix. **METHODS AND MATERIAL:** 25 biopsies with cervical cancer diagnosis, and 25 biopsies of healthy cervix, obtained from uterus with leiomyomatosis, and with pathology report negative to malignance. All the biopsies were taken in the Pathology Service of HR "Lic Adolfo López Mateos" ISSSTE. The slides were stained with Maackia amurensis and Sambucus nigra lectins, that recognize α 2,3 and α 2,6 positions of sialic acids, respectively. The slides were evaluated with a +, ++ and +++ scale by one observer. **RESULTS:** of the Maackia amurensis healthy biopsies: five were +, 17 were ++ and three were +++. All the cancer biopsies: had a ++ evaluation. The differences between both groups in M amurensis expression were not statistically significant, but there was a tendency for a higher evaluation on the healthy biopsies. Sambucus nigra staining in the healthy biopsies showed that 15 were +, seven ++ and three +++, whereas in the cancer biopsies: eight had +, eight had ++ and nine had +++, the difference between healthy and cancer biopsies in +++ group, was $p < 0.04$. We found the same p value with + biopsies in both groups. Of the 15 healthy biopsies with S nigra +, 14 were M amurensis ++ and one +++. Whereas from the seven healthy biopsies with S nigra ++ 5 were M amurensis + and two +++. The 3 healthy biopsies with S nigra +++ were ++ for M amurensis. All cervical cancer biopsies were ++ for M amurensis. **DISCUSSION:** we conclude that in cervical cancer there is a modification in the expression of sialic acids. There was no difference in M amurensis staining between cancer and control biopsies, but we found an important increase in S nigra staining in one third of cervical cancer biopsies. All the articles that correlate sialic acids expression and cancer have shown low levels expression for α 2,3 and increased levels of α 2,6 sialic acids. Our results corroborate the latter.

KEY WORDS: cervical cancer, sialic acids, Maackia amurensis lectin, Sambucus nigra lectin.

INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino es un importante problema de salud pública en el mundo. Representa el 12% de todos los cánceres genitales que afectan a la mujer; y contrario a las cifras de otros países, en México representa la primera causa de muerte por cáncer en mujeres (1). Anualmente se calcula que en el mundo se diagnostican cerca de 500,000 mujeres con cáncer cervicouterino en las diferentes etapas clínicas, de estas, cerca de 400,000 habitan en países en vías de desarrollo, 72 000 de los cuales habitan en América Latina. Ocasiona alrededor de 250 000 muertes al año. (2, 3). En el año 2004, se registraron 4 245 muertes en México (2).

Estas cifras confirman la importancia que tiene el diagnóstico temprano, pues la detección a tiempo de esta neoplasia conlleva curación en más del 95% de los casos (4, 5, 6). Así mismo, se ha observado una disminución en el número de muertes gracias a los programas de escrutinio, incluido el examen pélvico y la citología cervical en países desarrollados, ya que estos detectan lesiones preinvasoras, el número de casos de cáncer invasor ha disminuido de forma muy importante (7). Sin embargo en los países en vías de desarrollo no se ha logrado abatir la mortalidad por cáncer cervicouterino, una de las razones es la deficiencia en los programas de escrutinio. Aunque se ha mostrado una tendencia a la baja, aun antes de iniciar la evaluación masiva con la citología cervical, lo cual sugiere que existen otros factores desconocidos que juegan algún papel (8).



Incidencia y mortalidad del cáncer cervicouterino en México.

Sistema Nacional de Información en Salud. SSA. 2004.

Los factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino son inicio de vida sexual activa a edad temprana, paridad, uso de anticonceptivos orales y tabaquismo (5,9). La relación más importante que ha salido a la luz, gracias a la biología molecular es la infección por Virus del Papiloma Humano (VPH) (10).

Dentro de la infección por VPH se ha identificado más de 100 subtipos, de los cuales 35 se asientan en la mucosa del tracto genital (11). Los subtipos asociados con cáncer cervicouterino son: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 y 35 (12). Existe una fuerte asociación entre el CaCu y la infección por el VPH, se considera un factor necesario pero no suficiente, su desarrollo parece relacionarse con múltiples factores (13). Se ha detectado ADN VPH en 95% de las pacientes con cáncer cervicouterino, el más importante el VPH 16 en el 50% de los casos, seguido por el VPH 18 con el 20% aproximadamente (14A).

Recientemente se ha descubierto que la inserción del ADN viral en el sitio E2 produce la transcripción persistente de los genes E6 y E7 virales, lo cual lleva a la inactivación de p53 y de Rb, respectivamente, afectando así el ciclo celular (14, 15). La afinidad de E6 por p53 es mayor en los

subtipos de mayor riesgo oncogénico. Se calcula que el 75% de las mujeres han estado expuestas en algún momento de su vida al virus del papiloma humano, de alto o bajo riesgo y cerca del 20% de las mujeres jóvenes, sin cáncer, tienen virus de alto riesgo (16). A pesar de la existencia de una nueva vacuna, se espera que proteja contra dos de los 18 virus clasificados como de alto riesgo (17).

Se sabe que la transformación maligna tiene un periodo de desarrollo de aproximadamente 10 años, aunque esto depende del estado inmune de la paciente y del nivel de virulencia del virus. La mayoría de las infecciones por VPH son eliminadas por el sistema inmune de la paciente y muchas lesiones displásicas reversionan antes de que ocurra la transformación maligna (18). Este prolongado periodo de latencia robustece la importancia del estudio citológico frecuente y también refuerza la importancia de aumentar la sensibilidad de detección del método.

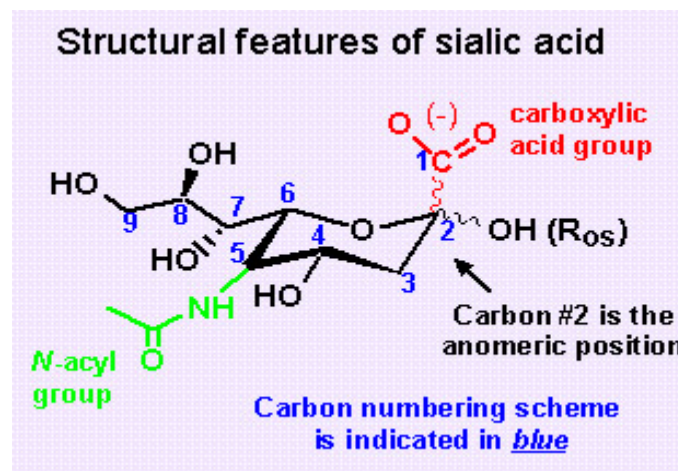
Tradicionalmente se ha utilizado como método de detección temprana de cáncer cervicouterino a la tinción de Papanicolaou, pero la detección en etapas tempranas de desdiferenciación celular con esta técnica es muy pobre y la sensibilidad que tiene varía entre el 51 al 88%, con una especificidad promedio de 84.4%, aunque esta cifra aumenta con estudios repetidos (19, 20). Sin embargo, el 50% de los cánceres cervicales se diagnostican en mujeres que nunca se han realizado el Papanicolaou y de las mujeres que si se hacen el estudio, en el 10% de ellas, la última toma tiene más de 5 años (21).

La tinción de Papanicolaou detecta la presencia de núcleos hipercromáticos y/o alargados así como la presencia de mitosis anormales, sin embargo no existe ningún antígeno específico que sea detectado por esta prueba (22).

La detección de ADN VPH es otra importante arma diagnóstica, ya que permite identificar a las pacientes con infecciones persistentes y más importantemente con virus de alto riesgo, sin

embargo por su costo en la actualidad no es un estudio de rutina en la detección del cáncer cervicouterino.

Lo ideal sería buscar antígenos específicos mediante técnicas complementarias de inmunohistoquímica, sin embargo, una manera de enfrentar y resolver este problema es detectando componentes sacarídicos presentes en la membrana de las células escamosas. Entre los componentes sacarídicos expuestos en la porción terminal de cualquier glicoproteína de moléculas de la membrana de células maduras bien diferenciadas, se reconoce al ácido siálico (23), el cual se encuentra normalmente localizado en el extremo terminal de las cadenas de azúcares de los glicoconjugados animales; los ácidos siálicos tienen una carga negativa y por ende pueden inhibir interacciones celulares o moleculares, también pueden actuar como componentes críticos de ligandos reconocidos por una variedad de proteínas de animales, plantas y microorganismos. Este reconocimiento puede ser afectado por variaciones estructurales específicas y modificaciones de los ácidos siálicos. Lo normal es que el ácido siálico se localice en la posición α 2-3 con relación al carbohidrato que le sigue en la estructura oligosacáridica (24-26).



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 por ende, la glicoproteína empieza a expresar ácido siálico en la posición $\alpha 2,6$ debido a que la enzima responsable de esta expresión es regulada de entre otras muchas moléculas, por el TNF, la IL-1 o bien los lipopolisacáridos de las bacterias gram negativas. La sialiltransferasa $\alpha 2,3$ se regula como producto de la estimulación de diferentes promotores (27-30).

Existen numerosas poblaciones celulares cuya maduración y supervivencia depende de la estabilidad de la enzima sialiltransferasa $\alpha 2,3$ y la consecuente expresión de su producto i.e. células mieloides, tímicas, intestinales y oligodendrocitos (31,32).

Los ácidos siálicos, en posición $\alpha 2,3$ y $\alpha 2,6$ o alguna de las otras posibles 20 diferentes posiciones descritas en la literatura, y sus derivados, juegan un papel importante en la intercomunicación célula-célula, célula-matriz, adhesión celular y señalamiento de proteínas (23). La oncogénesis y las metástasis ocurren alteraciones en la glicosilación que se asocian con un incremento o disminución de la actividad de diferentes sialiltransferasas. La sialiltransferasa $\alpha 2,6$ se sobreexpresa en varios tipos de cáncer, incluyendo el de mama, el colorectal, el hepatocarcinoma.

La expresión de ácido siálico en posición $\alpha 2,3$ se encuentra en células maduras bien diferenciadas (33-35). Sin embargo no en todos los tipos de cánceres se ha corroborado dicha alteración, por ejemplo en el otros cánceres se comenta disminución de la expresión de dicha sialiltransferasa (36). Lo más importante es tener en cuenta que la glicosilación alterada de los glicoconjugados es uno de los cambios moleculares más importantes que acompañan la transformación maligna (37).

En el caso de cáncer cervicouterino, existe una alteración en la superficie celular de los azúcares en posición $\alpha 2,6$, sin embargo existe aumento en la actividad de ambas sialiltransferasas, aunque parece ser que la más importante es la $\alpha 2,6$ sialiltransferasa (38, 39).

En este estudio se determinará la expresión de los ácidos siálicos en posición $\alpha 2,3$ y $\alpha 2,6$ para evaluar su utilidad en el diagnóstico temprano de lesiones malignas, así como para analizar el estadio de diferenciación celular de muestras de cervix obtenidas de uteros extraídos quirúrgicamente por miomatosis uterina y con reporte histológico negativo a malignidad.

Las lectinas son proteínas derivadas de plantas y bacterias que se unen a moléculas sacarídicas. Algunas son capaces de activar linfocitos y se conocen como mitógenos (inducen proliferación). La activación de células T y B induce la producción de citocinas y receptores de citocinas, que activan clones de células específicas induciendo proliferación, maduración y producción de efectores de células de memoria (42). Existen diversos tipos de lectinas y su aplicación clínica es diversa (23).

Una de las aplicaciones de las lectinas es como marcadores moleculares. Dentro de estas se utilizan lectinas que detectan los ácidos siálicos que como ya se mencionó son marcadores de diferenciación celular, como la lectina *Maackia amurensis* que detecta ácido siálico en posición $\alpha 2,3$ y la lectina *Sambucus nigra* que detecta ácido siálico en posición $\alpha 2,6$ (40, 41).

La mayoría de las publicaciones en las que se reportan la asociación de ácidos siálicos con neoplasia mencionan disminución de expresión en $\alpha 2,3$, e incremento en la expresión de moléculas glicoconjugadas con ácido siálico en la posición $\alpha 2,6$. Los reguladores de los genes que controlan dicha expresión, incluyen además de las citocinas antes mencionadas, a el ácido trans-retinoico el cual se comporta biológicamente de manera similar a las hormonas esteroideas. Los glucocorticoides también regulan dichos genes. La disminución en la expresión de ácido siálico en la posición $\alpha 2,3$ reafirma el potencial uso de las lectinas en el diagnóstico temprano de lesiones premalignas o malignas.

En este estudio se utilizaron ambas lectinas con la finalidad de determinar si en las células epiteliales de pacientes con lesión maligna hay una disminución considerable en la expresión de ácidos siálicos en la posición $\alpha 2,3$, en comparación con las células epiteliales de pacientes sanas.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se efectuó en 25 biopsias de cuello uterino con diagnóstico de cáncer cervicouterino, sin tomar en cuenta la estirpe histológica y la etapa clínica. Las biopsias control de tomaron de 25 piezas quirúrgicas de histerectomía por miomatosis uterina, con reporte de patología de cervix sin lesión maligna. Las biopsias se tomaron del servicio de patología del HR "Adolfo López Mateos" ISSSTE, fueron analizadas y seleccionadas por el Dr. Fernando De la Torre, Jefe de servicio de patología quirúrgica de este hospital. Otras biopsias de obtuvieron del servicio de patología del CMN "20 de noviembre" ISSSTE.

Procesamiento de la muestra.

Los análisis de inmunohistoquímica se efectuaron en el departamento de Bioquímica en el laboratorio 9 de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Cada laminilla se identificó con el nombre y cedula de registro de la paciente. Para la inmunohistoquímica, la laminilla, se fijó durante 30 minutos en paraformaldehido al 4% en solución buffer fosfato con pH de 7.4. Las laminillas se mantuvieron en la solución fijadora a 4°C hasta que iban a ser utilizadas (21). Para evaluar la expresión de ácidos siálicos, las laminillas se sacaron de la solución fijadora, se enjuagaron de manera extensiva 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, USA), las cuales reconocen de manera específica al ácido siálico en posición α 2-6 y α 2-3, respectivamente (23, 40, 41). Estas lectinas están marcadas con isotiocianato de fluorescencia. Las laminillas incubadas con la lectina se dejaron por 30 minutos, a temperatura ambiente, en una cámara húmeda. Al término de este tiempo se realizó contra-tinción con Yoduro de Propidio, el cual marca los núcleos de las células. Las laminillas procesadas, se observaron en un microscopio de fluorescencia marca Leica con filtros de 515nm (que estimula el espectro de luz

en el color verde) y de 600nm (para el yoduro de propidio que emite en el espectro rojo). Las zonas de mayor interés o relevancia utilizando fueron fotografiadas con el sistema digital que esta incluido en el microscopio. Las imágenes se guardaron en discos magnéticos. La detección de la presencia de ácido siálico fue evaluada de manera independiente por un observador adjudicando una calificación de +, ++ o +++ dependiendo de la intensidad de la fluorescencia y del numero de células positivas a la lectina.

El análisis de los resultados se efectuó con la prueba no paramétrica de la T´student utilizando el SPSS versión 11. Se consideró que un valor menor a 0.05 tenía significancia estadística.

RESULTADOS

El reporte de patología de los 25 casos con miomatosis uterina que se tomaron como control reportaron 23 de ellos miomatosis uterina y los 2 restantes tuvieron diagnóstico de adenomiosis. De estos 25 casos llama la atención el que en 22 de ellos se reportara la presencia de cervicitis crónica inespecífica. De los 25 casos con cáncer 22 de ellos reportaron cáncer escamoso de cervix, de estos 18 fueron invasores y cuatro fueron in situ, las tres biopsias restantes reportaron adenocarcinoma de cervix.

Tinción con *Maackia amurensis*:

Considerando la escala de puntuación que hemos mencionado previamente, observamos que cinco de las biopsias control tuvieron una calificación de +, 17 tenían una calificación de ++, y tres tuvieron +++. Estos resultados contrastan con los obtenidos en las biopsias con cáncer cervicouterino en las que observamos que todas ellas fueron calificadas con ++. Las diferencias en los valores obtenidos con esta tinción entre ambos grupos no alcanzaron significancia estadística, aunque si hubo una tendencia no estadísticamente significativa en las biopsias control a tener aunque sea una ligera presencia de *M. amurensis* mayor que en las biopsias de CaCu.

Tinción con *Sambucus Nigra*:

Observamos que en las biopsias control 15 de ellas tuvieron una calificación de + y siete de ellas de ++ y tres tuvieron una calificación de +++. Llama también la atención en los casos con cáncer ocho de ellas tenían una calificación de + otros ocho de ++ y nueve tenían un incremento importante en la expresión del ácido siálico representado por una calificación de +++. La diferencia

entre la tinción +++ de controles y pacientes con cáncer tuvo un valor de $p < 0.04$, esta misma diferencia entre los valores de + de ambas poblaciones logró el mismo valor de p.

Correlación de tinciones:

De las 15 biopsias control con calificación de S nigra de +, 14 tuvieron una calificación de ++ con M amurensis y una de ellas tuvo +++.

De las siete biopsias control con calificación de S nigra de ++, cinco tuvieron una calificación de + y dos tuvieron una calificación de +++ con M amurensis.

De las tres biopsias control con calificación de S nigra de +++, las tres tuvieron una calificación de ++ con respecto a su tinción con M amurensis.

En el caso de las biopsias con diagnóstico de cáncer que tenían una calificación de +, ++ ó +++ con S nigra, fue interesante observar que las 25 tuvieron una calificación de ++ con M amurensis.

LECTINAS	CONTROL		CANCER	
	MAA	SNA	MAA	SNA
+	5	15	0	8
++	17	7	25	8
+++	3	3	0	9

DISCUSIÓN

Los ácidos siálicos incluyen un gran número de derivados del ácido neuramínico. El grupo amino de este ácido puede estar substituido por grupos acetil o glicolil, mientras que el grupo hidroxilo puede substituirse por grupos acetil, lactil, sulfato o fosfato para así formar al menos 20 diferentes derivados (23). Los ácidos siálicos están ampliamente distribuidos como azúcares terminales en oligosacáridos unidos a estructuras lipídicas o protéicas, ya que debido a su naturaleza ácida le confieren una carga negativa a la superficie celular y por esto son importantes en las interacciones célula-célula o célula-matriz (24-26). Existe una gran cantidad de evidencia que demuestra que las células tumorales tienen alteraciones en la superficie celular y que estas pueden deberse en parte a alteración en la expresión de sialo-glicoconjugados en la membrana plasmática. Esta modificación fenotípica es muy común en los neoplasias pero solo un número limitado de vías biosintéticas se ven alteradas en el cáncer (27-28), especialmente en glicoconjugados con uniones N- y O-sacarídicas (30) en cánceres de mama, colorrectal y de hígado (33-35).

El objetivo de nuestro estudio fue tratar de evidenciar alteraciones compatibles con modificaciones en la expresión de ácidos siálicos en biopsias de cáncer cervicouterino y compararlas con “controles sanos”, o sea, biopsias de cervix obtenidas de pacientes con miomatosis uterina y reporte de patología negativo a malignidad. La primera observación fue que un porcentaje elevado de pacientes de ambos grupos tenían reporte de inflamación crónica inespecífica. Este hallazgo aparentemente anecdótico e irrelevante cobra inusitado interés a raíz de la literatura reciente que confirma que las citocinas pro-inflamatorias, especialmente la interleucina-12, son capaces de modificar la expresión de la sialiltransferasas que son las enzimas encargadas de transferir el ácido siálico a su posición correcta. Se sabe que el aumento en el microambiente de IL-12 incrementa la expresión, pero conforme el proceso inflamatorio se va transformando a la cronicidad, hay un switch de interleucinas empezando a dominar la presencia de citocinas de tipo Th2, o sea IL-4 primordialmente, la cual inhibe la expresión de las sialiltransferasas.

Esta modificación en la expresión de sialiltransferasas secundaria a citocinas generadas en un microambiente inflamatorio también se ve acompañada de cambios en la actividad de galactosiltransferasas y otras enzimas encargadas de colocar el azúcar adecuado en las estructuras oligosacarídicas de numerosas proteínas cuya función biológica, se ve así alterada. Considero que debería de darse mayor importancia al manejo de las infecciones cervicovaginales, ya que si bien per se no induce cáncer, si pueden colaborar en el desarrollo del mismo como un factor de riesgo agregado. Es posible que la instalación del virus del papiloma humano, causa mas importante, aunque no única de desarrollo de Cáncer cervicouterino, se vea favorecido por modificaciones en las proteínas de superficie de las células epiteliales y sea esta una razón por la cual, las células infectadas pasen “desapercibidas” ante el sistema inmune de la paciente.

El segundo resultado importante de nuestro estudio es que efectivamente, y de acuerdo a todos los reportes que existen en la literatura, con relación a otros tipos de carcinomas, en el cáncer cervicouterino también hay modificaciones en la expresión de los ácidos sálicos detectados por las lectinas M amurensis y S nigra. Fue interesante observar que la expresión de M amurensis en biopsias sin cáncer estuvo en el rango de ++/+++ cruces versus la tinción con S nigra que difícilmente presentó una expresión mayor a las ++. En cambio en las biopsias con CaCu, no se encontró diferencia en la expresión de M amurensis con relación a los controles , pero si hubo un importante y muy marcado incremento (+++) en la tercera parte de las biopsias con CaCu que correlacionó en dichos casos con la ausencia de tinción con M amurensis.

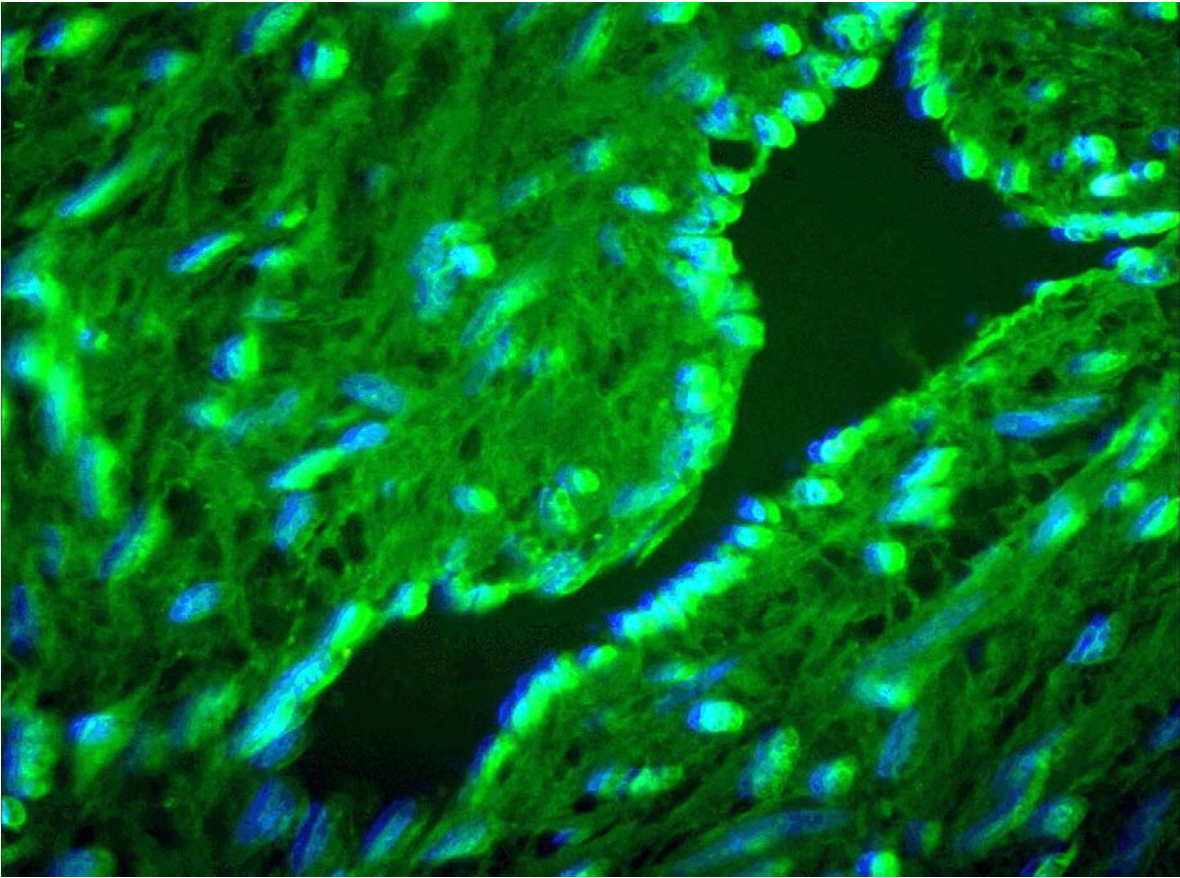
Estos resultados además de confirmar lo observado por otros autores en otras neoplasias confirma la importancia que tiene la búsqueda de otros marcadores en las biopsias que son evaluadas en los servicios de patología. Hubo tres casos de biopsias “control” en las que se observó una fuerte expresión de la glicoproteína reconocida por S nigra; aunque en estos casos no hubo disminución en la expresión de M amurensis, si considero que el aumento tan importante en la expresión de S nigra, junto con el hecho de que estas pacientes tenían un importante proceso inflamatorio crónico, debería llevarnos a tratar de instaurar una nueva categoría de diagnostico preventivo, no en

términos de asegurar el desarrollo de CaCu pero si de considerar que estos cambios pueden ser manifestaciones tempranas de un CaCu que todavía no se expresa y por ende, estas pacientes deberían de ser seguidas de manera más cercana.

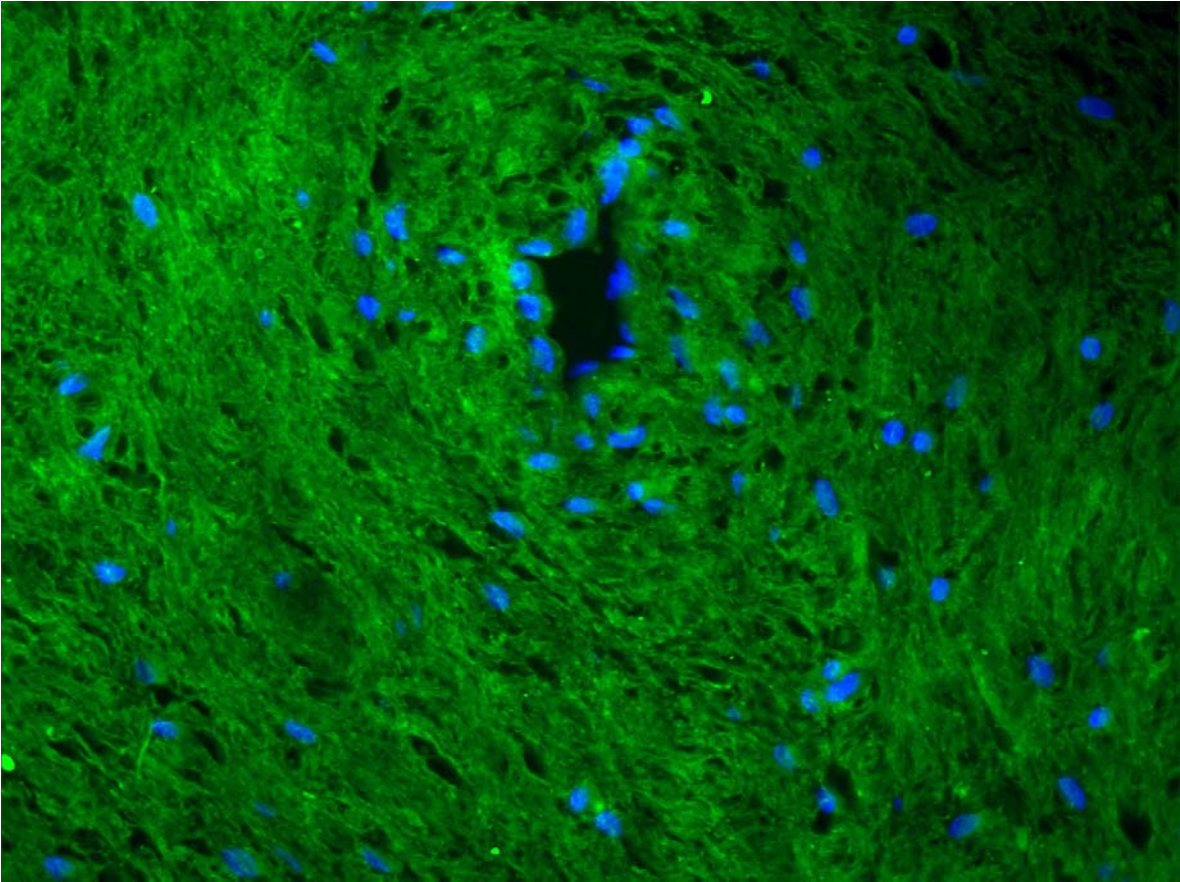
Me queda claro que este fue un hallazgo y que debido a que estas pacientes fueron sometidas a histerectomía, nunca hubieran alcanzado a desarrollar el CaCu pero este hallazgo complementa los resultados obtenidos y reportados el año pasado en un estudio similar efectuado en frotis cervicales en los que detectamos que existe un porcentaje relativamente elevado de resultados falsos negativos (8%), en relación a la expresión de ácidos siálicos modificados, que deberíamos de considerar dentro de nuestras políticas de seguimiento preventivo.

Se sabe que las células epiteliales de pacientes con lesión premaligna o maligna tienen una disminución considerable en la expresión de ácidos siálicos en la posición α 2,3 en otras neoplasias.

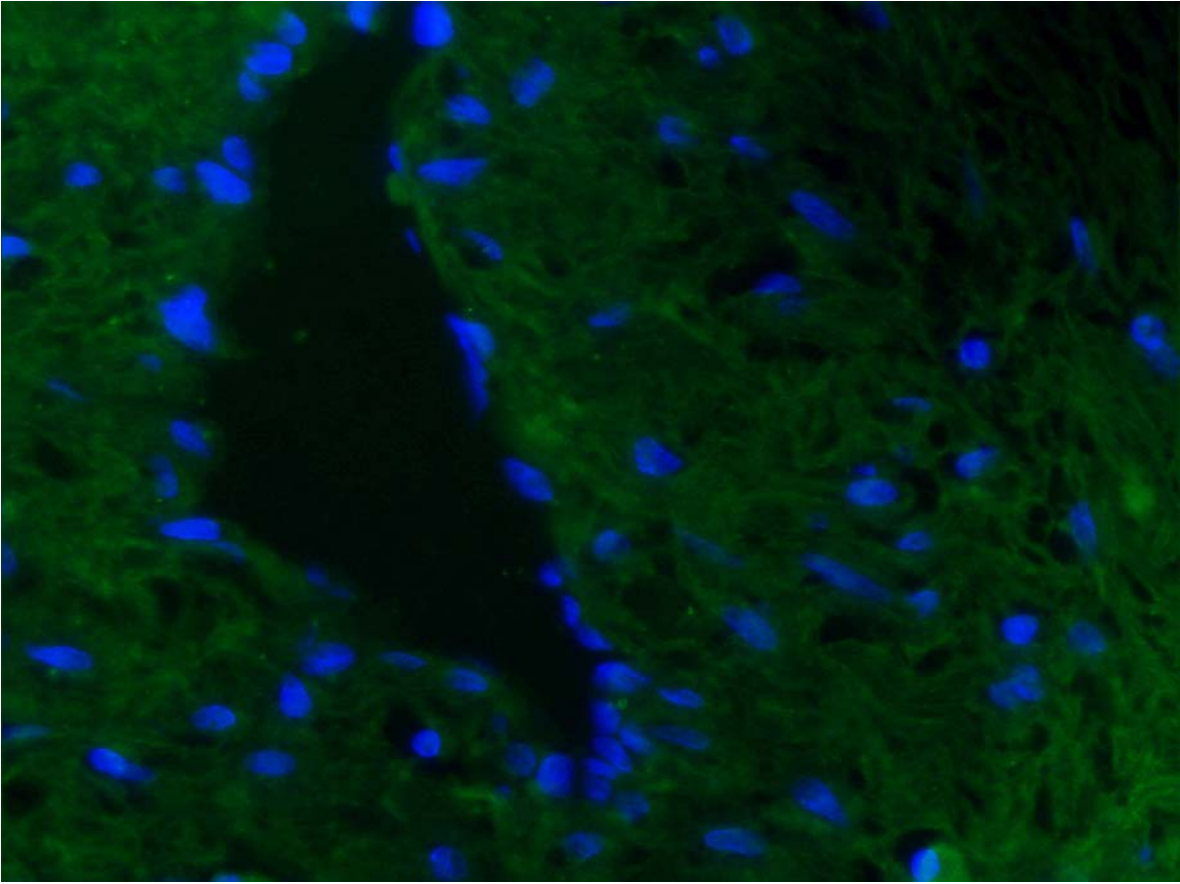
Finalmente logramos observar algo realmente inusual. La mayoría de las publicaciones en las que se reportan la asociación de ácidos siálicos con neoplasia mencionan disminución de expresión en α 2,3, y un incremento en la expresión de moléculas glicoconjugadas con ácido siálico en la posición α 2,6. En nuestros resultados no observamos dicha disminución en α 2,3. Es probable que esta diferencia se deba al hecho de que uno de los reguladores de los genes que controlan dicha expresión, el ácido trans-retinoico (43, 44), se comporta biológicamente de manera similar a las hormonas esteroideas. Los glucocorticoides también regulan dichos genes (45).



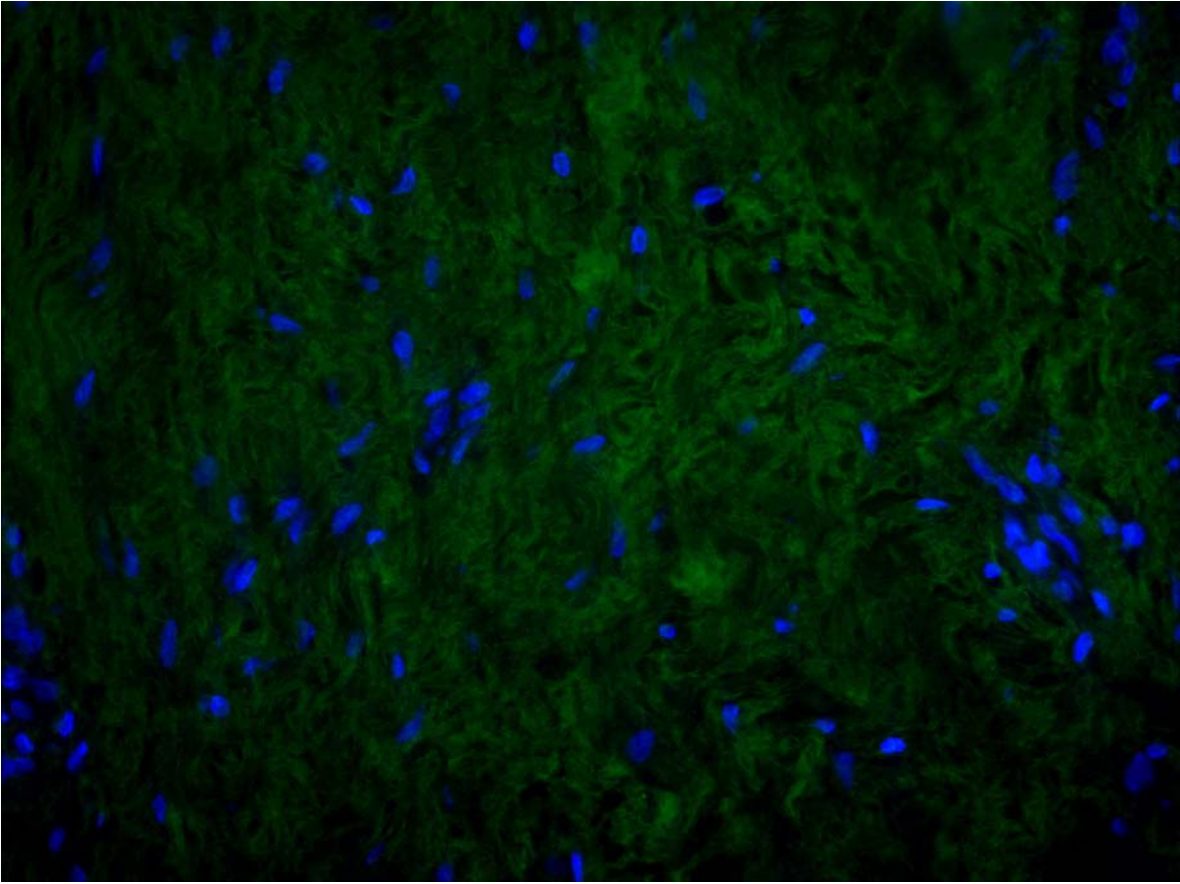
Maackia amurensis +++



Sambucus nigra +++



Maackia amurensis +



Sambucus Nigra +

REFERENCIAS

- 1) Herrera A, Granados M. Manual de Oncología, Procedimientos Médico Quirúrgicos. Mc Graw Hill. 3a. ed. 499-514. 2006.
- 2) Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Panorama del Cáncer cervicouterino en México. Epidemiología 23, semana del 16 al 22 de Abril, 2006.
- 3) Jemal A, Murray T, Samuels A, et al. Cancer statistics, 2003. CA Cancer J Clin 53: 5, 2003
- 4) Piver S. Oncología Ginecológica. Marban. España. 2000. pp 111-140.
- 5) DeVita V, Hellman S, Rosenberg S. CANCER, Principles and practice of Oncology. Lippincott Williams and Wilkins. 7th ed. 1295-1341.
- 6) Malvezzi M, Bogetti C, Chatenoud L. Trends in cancer mortality in México 1970-1999. Ann Oncol. 15: 1712-1718. 2004.
- 7) Effective screening programmes for cervical cancer in low- and middle-income developing countries Bull World Health Organ.2001;79.
- 8) Wingo PA, Tong T, Bolden S. Cancer statistics, 1995. CA Cancer J Clin 45: 8, 1995.
- 9) Trejo, O. Atlas de patología cervical. 1a ed. México 1999. pp 38.
- 10) Bosch FX, De SanJose S. Human papilloma virus and cervical cancer- burden and assessment of causality. J Natl Cancer Inst Monogr 3, 2003.
- 11) Harnish DJ, Bellant LM, Scheid EE, et al. Evaluation of human papilloma virus- consensus primers for HPV detection by the polymerase chain reaction. Mol Cell Probes 13: 9, 1999.
- 12) Di Maio D, Liao JB. Human Papillomaviruses and cervical cancer. Adv Virus Res. 66:125-59. 2006.
- 13) Joste NE, Rushing L, Granados R, et al. Beteshda classification of cervical vaginal smears, reproducibility and viral correlates. Hum Pathol. 27: 581, 1996.
- 14) Kessler I. Epidemiological aspects of uterine cervix cancer. In: Lurain JR, Sciarra J, Eds. Gynecology and Obstetrics. Philadelphia: JB Lippincott, 1990: 1.
- 14a) Muñoz N, Bosch X, Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Eng J Med. 348:518-27. 2003.

- 15) Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, et al. The E6 oncoprotein encoded by human papilloma virus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63: 1129, 1990.
- 16) Koutsky L. Epidemiology of genital human papilloma virus infection. *Am J Med* 102: 3-8, 1997.
- 17) Muñoz N, Bosch X, DeSanJose S, et al. Epidemiologic classification of human papilloma virus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348: 518-527, 2003.
- 18) Mitchell MF, Tortolero-Luna G, Wright T, et al. Cervical human papilloma virus infection and intraepithelial neoplasia: a review. *J Natl Cancer Inst Monog.* 21: 17-25, 1996.
- 19) Clavel C, Masure M, Bory JP, et al. Human papilloma virus testing in primary screening for the detection of high grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 84: 1616-1623, 2001
- 20) McRory DC, Batcher DB, Bastian L, et al. Evaluation of cervical cytology: evidence report/technology assessment No 5. Rockville, MD: agency for healthcare policy and research; AHCPR Publication No 99-E010. 1999.
- 21) Sawaya GF, Grimes BA. New technologies in cervical cytology screening: a word of caution. *Obstet Gynecol* 94: 307-310, 1999.
- 22) Kadish AS, Hagan RJ, Ritter DB, et al. Biologic characteristics of specific human papilloma virus types predicted from morphology of cervical lesions. *Hum Pathol* 23: 1262-1269, 1992.
- 23) Varki A. Sialic acids as ligands in recognition phenomena. *FASEB J* 11: 248-255, 1997.
- 24) Reuter G, Gabius HJ. Sialic acids structure analysis, metabolism, occurrence and recognition. *Biol Chem Hoppe Seyler* 377: 325-342, 1996
- 25) Schauer R. Biosynthesis and function of N and O-substituted sialic acids. *Glycobiology* 1: 449-452, 1991
- 26) Schauer R, Kelm S, Reuter G, et al. Biochemistry and role of sialic acids. In *Biology of the sialic acids* (Rosenberg A, Eds). Plenum New York, 1995. pp. 7-67.
- 27) Hanasaki, K; Varki, A; Stamenkovic, I; Bevilacqua, M P. Cytokine-induced beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase in human endothelial cells mediates alpha 2,6-sialylation of adhesion molecules and CD22 ligands. *The Journal Of Biological Chemistry.* 1994; 269: 10637-10643.

- 28) Taniguchi A, Hioki M, Matsumoto K. Transcriptional regulation of human Galbeta1,3GalNAc/Galbeta1, 4GlcNAc alpha2,3-sialyltransferase (hST3Gal IV) gene in testis and ovary cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 301: 764-768.
- 29) Le Marer N, Skacel PO. Up-regulation of alpha2,6 sialylation during myeloid maturation: a potential role in myeloid cell release from the bone marrow. *J Cell Physiol.* 1999; 179: 315-324.
- 30) Alvarez G, Lascurain R, et al. Relevance of sialoglycoconjugates in murine thymocytes during maturation and selection in the thymus. *Immunol Invest.* 1999; 2 : 9-18.
- 31) Biol-N'Garagba MC, Greco S, George P, Hugueny I, Louisot P. Polyamine participation in the maturation of glycoprotein fucosylation, but not sialylation, in rat small intestine. *Pediatr Res.* 2002; 51: 625-634.
- 32) Stoykova LI, Beesley JS, Grinspan JB, Glick MC. ST8Sia IV mRNA corresponds with the biosynthesis of alpha2,8 sialyl polymers but not oligomers in rat oligodendrocytes. *J Neurosci Res.* 2001; 66 : 497-505.
- 33) Dall Olio, Fabio 1,2; Chiricolo, Mariella 2; et al. Expresión of [beta]-galactoside [alpha]2,6 sialyltransferase and of [alpha]2,6-sialylated glycoconjugates in normal human liver, hepatocarcinoma, and cirrosis. *Glycobiology.* 14(1):39-49. Jan 2004.
- 34) Chiricolo M, Malagolini N, Bonfiglioli, Silvia. Phenotypic changes induced by expresión of [beta]-galactoside [alpha]2,6 sialyltransferase I in the human colon cancer cell line SW948. *Glycobiology.* 16 (2): 146-154. Feb 2006.
- 35) Sotiropoulou G, Kono M, Anisowicz A, Senman G, Tsuji S, Sager R. Identification and functional characterization of a human GalNAc [alpha]2,6-sialyltransferase with altered expression in breast cancer. *Mol Med.* 8(1):42-55. 2002.
- 36) Yamamoto H, Kaneko Y, Vandermulen D, Kersey D, Mkrdichian E, Cerullo L, Leestma J, Moskal JR. The espression of C;P-NeuAc: Gal beta 1,4GlcNAc alpha 2,6 sialyltransferase and glycoproteins bearing alpha 2,6-linked sialic acids in human brain tumors. *Glycoconj J.* 12(6):848-56. 1995.

- 37) Rajpura, Kinnari B, Patel, Prabhudas S, et al. Clinical significance of total and lipid bound sialic acids levels in oral pre-cancerous condition and oral cancer. *J Oral Pathol and Medicine*. 34(5): 263-267.2005.
- 38) Wang PH, Lo WL, Hsu CC, Lin TW, Wu CY, Yuan CC, Tasi YC. Different enzyme activities of sialyltransferases in gynecological cancer cell lines. *Eur J Gynaecol Oncol*. 23(3):221-6.2002.
- 39) Wang PH, Lee WL, Lee YR, Juang CM, Chen YJ, Chao HT, Tsai YC, Yuan CC. Enhanced expression of alpha 2,6-sialyltransferase ST6Gal I in cervical squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol*. 89:395-401. 2003.
- 40) Shibuya N et al. The elderberry (*Sambucus nigra* L.) bark lectin recognizes the Neu5Ac(alpha 2-6)Gal/GalNAc sequence. *J Biol Chem* 1987; 262: 1596-1601.
- 41) Knibbs RN, Goldstein IJ, Ratcliffe RM, Shibuya N. Characterization of the carbohydrate binding specificity of the leucoagglutinating lectin from *Maackia amurensis*. Comparison with other sialic acid-specific lectins. *J Biol Chem* 1991; 266 : 83-88.
- 42) Roger B, Dodd and Kurt D. Lectin-like proteins in model organism: implications for evolution of carbohydrate-binding activity. *Glycobiology*. 11: 71-79. 2001.
- 43) Georgopoulou N, Breen KC. Retinoic acid induction of sialyltransferase activity in neuroblastoma cells of differing sialylation potentials. *Glycoconj J*. 2000; 17: 781-786.
- 44) Taniguchi A, Higai K, Hasegawa Y, Utsumi K, Matsumoto K. Differentiation elicits negative regulation of human beta-galactoside alpha2,6-sialyltransferase at the mRNA level in the HL-60 cell line. *FEBS Lett*. 1998; 441: 191-194.
- 45) Coughlan CM, Breen KC. Glucocorticoid induction of the alpha2,6 sialyltransferase enzyme in a mouse neural cell line. *J Neurosci Res*. 1998; 51: 619-626.