



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**UNA REVISIÓN DEL CÁNCER DE MAMA Y LAS
LECTINAS COMO UN MEDIO PARA SU
DIAGNÓSTICO**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

CINTYA MAYELA FÉLIX ROSALES



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI**
VOCAL: **Profesor: MARÍA ELENA IBARRA RUBIO**
SECRETARIO: **Profesor: MARÍA GUADALUPE MALDONADO MERCADO**
1° SUPLENTE: **Profesor: OCTAVIO CASTRO ESCAMILLA**
2° SUPLENTE: **Profesor: JAVIER AXOSCO MARÍN**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. MARÍA GUADALUPE MALDONADO MERCADO _____

SUSTENTANTE (S):

CINTYA MAYELA FÉLIX ROSALES _____

ÍNDICE	PÁGINA
1. Resumen	1
2. Objetivo general.....	2
3. Introducción	3
4. Cáncer de mama	5
4.1 Anatomía de la mama	5
4.2 Factores de riesgo y carcinogénesis de la mama	7
4.2.1 Factores de riesgo.....	7
4.2.2 Carcinogénesis de la mama.....	8
4.2.2.1 Ciclo celular.....	8
4.2.2.2 Carcinogénesis.....	10
<u> 4.3 Tipos de tumores mamarios.....</u>	<u>14</u>
4.3.1 Detección por inmunohistoquímica (IHQ) de factores pronósticos en cáncer de mama.....	15
4.3.1.1 Clasificación molecular del cáncer de mama mediante la técnica de IHQ.....	16
4.3.1.1.1 Subtipo luminal.....	17
4.3.1.1.2 HER2-positivo.....	17
4.3.1.1.3 Subtipo basal (símil basal).....	18
4.4 Estadificación del cáncer de mama.....	18
4.4.1 Estadios del cáncer de mama.....	22
4.5 Epidemiología del cáncer de mama	26
4.6 Tamizaje y diagnóstico temprano del cáncer de mama	27
4.6.1 Autoexamen	27
4.6.2 La mamografía	28
5. Glicobiología.....	30
<u> 5.1 Los carbohidratos.....</u>	<u>30</u>
5.2 Glicosilación.....	38
5.2.1 Tipos de glicosilación.....	41
5.2.1.1 N-Glicosilación.....	42

5.2.1.2 O-glicosilación	44
5.2.2 Modificaciones secundarias a la glicosilación	46
5.2.2.1 Sialilación	47
5.2.2.2 Fucosilación.....	48
5.3 Glicosilación en cáncer de mama	50
5.4 Lectinas.....	54
5.4.1 El dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC) de las lectinas	56
5.4.2 Clasificación y actividad biológica de las lectinas	57
5.4.3 Lectinas en el análisis de glicoproteínas	60
5.4.3.1 Micromatrices de lectina	63
5.4.3.1.1 Fabricación de micromatrices de lectina.....	64
5.4.3.1.2 Preparación de muestras y detección de interacciones lectina-glicano en micromatrices.....	65
5.4.3.2 Micromatrices de lectina en el diagnóstico de cáncer de mama	66
5.4.3.3 Las lectinas aportan información en distintos tipos de estudio sobre el cáncer.....	70
5.4.3.4 Lectinas y anticuerpos en el diagnóstico del cáncer de mama.....	74
5.5 La galectina-3 en el desarrollo del cáncer de mama.....	76
6.Conclusiones.....	79
7. Perspectivas.....	80
8.Bibliografía	81

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Sistema AJCC para la clasificación del cáncer de mama.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estadios del cáncer de mama respecto a la clasificación TNM.

Tabla 2. Clasificación del cáncer de mama respecto a los marcadores presentes y el tratamiento adecuado.

Tabla 3. Funciones biológicas de las glicoproteínas.

Tabla 4. Algunas lectinas importantes.

Tabla 5. Tres lectinas vegetales y los azúcares con los cuales interactúan.

Tabla 6. Lectinas que muestran la especificidad de algunos glicanos como marcadores de varios tipos de cáncer aprobados por la FDA de los EE. UU.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características que son compartidas por las células tumorales.

Figura 2. Esquema de la anatomía del seno femenino.

Figura 3. Ciclo celular.

Figura 4. Conjunto de alteraciones que pueden ocurrir cuando se activan los anti-oncogenes.

Figura 5. Sobreexpresión de HER2 en cáncer de mama.

Figura 6. Representación de los tipos de tumores en cáncer de mama.

Figura 7. A) Índice de proliferación celular por la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) del marcador Ki67, B) HER2 por técnica de IHQ.

Figura 8. Ejemplo del tamaño de los tumores y la localización de las células cancerosas en diferentes estadios del cáncer de mama.

Figura 9. Mamografía.

Figura 10. Monosacáridos representativos.

Figura 11. Proyección de Fischer de los azúcares glucosa y fructosa.

Figura 12. Representación cíclica de la glucosa como una proyección de Haworth y una conformación de silla.

Figura 13. Isomerismo L y D del gliceraldehído.

Figura 14. Representación de los isómeros D y L de los monosacáridos

Figura 15. Anómeros de la glucosa.

Figura 16. Proyección de Haworth del disacárido lactosa.

Figura 17. Homo- y heteropolisacáridos.

Figura 18. Glúcidos (A) y glicoproteínas (B) en la célula.

Figura 19. Funciones biológicas de los carbohidratos.

Figura 20. N-glicanos.

Figura 21. O-glicanos.

Figura 22. Estructura química del ácido siálico o Neu5Ac.

Figura 23. Ejemplos de los principales tipos de lectinas animales.

Figura 24. Clasificación de las galectinas según su estructura.

Figura 25. La ilustración describe la metodología para la identificación de la interacción lectina-glicano.

Figura 26. Identificación de la unión de la lectina específica de metástasis a las células TNBC.

Figura 27. Esquema de los dominios del receptor de manosa.

Figura 28. Detección de la expresión de MR mediante Western Blot y ELISA.

Figura 29. Western blot de las muestras de suero usando 4 distintos tipos de lectina (ConA, PHA-E, LCA, SNA).

Figura 30. Representación gráfica del reconocimiento de la Galectina-3 libre y la Galectina-3 unida a la membrana de células cancerosas.

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AJCC	Comité Conjunto Americano sobre el Cáncer (del inglés American Joint Committee on Cancer)
Akt	Proteína quinasa B
ALL	<i>Amaranthus leucocarpus</i>
AOL	<i>Aspergillus oryzae</i>
ARN	Ácido ribonucleico
Asn	Asparagina
BRCA1	Gen represor Cáncer de mama 1
BRCA2	Gen represor Cáncer de mama 2
CA15-3	Antígeno de carbohidrato 15-3
CDI	Carcinoma ductal invasivo o infiltrante
CDIS	Carcinoma ductual <i>in situ</i>
CISNET	Red de Intervención y Vigilancia del Cáncer (del inglés Cancer Intervention and Surveillance Modeling Network)
CLI	Carcinoma lobulillar invasivo o infiltrante
ConA	<i>Canavalia ensiformis</i>
DoI-P	Dolicolfosfato
DRC	Dominio de reconocimiento de carbohidrato
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
Fuc	Fucosa
FUT	Fucosiltransferasas
Gal	Galactosa
GalNAc	N-Acetilgalactosamina
GlcNAc	N-Acetilglucosamina
GNA	<i>Galanthus nivalis</i>
HER2	Gen que codifica para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
HPA	<i>Helix pomatia</i>
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento (del inglés High Performance Liquid Chromatography)
IARC	Agencia Internacional de Investigación en Cáncer
IHQ	Inmunohistoquímica
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía

kDa	Kilo Dalton
Ki67	Factor de proliferación celular
LCA	<i>Lens culinaris</i>
Man	Manosa
MAP	Proteína activada por mitógeno
MEA	<i>Machaerocereus eruca</i>
MR	Receptor de manosa
MS	Espectroscopia de masas
Neu5AC	Ácido N-acetilneurámico
OMS	Organización Mundial de la Salud
PHA-E	Eritroaglutinina <i>Phaseolus vulgaris</i>
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinasa
PNA	Agglutinina de cacahuete
PTL-I	<i>Psophocarpus tetraganobus</i>
Rad51	Gen que codifica para la recombinasa Rad51
RCA-I	<i>Ricinus communis</i> aglutinina I
RE	Receptores de estrógeno
RE	Retículo endoplásmico
RP	Receptores de progesterona
Ser	Serina
Sia	Ácido siálico
SNA	<i>Sambucus nigra</i>
STn	Antígeno sialil-Tn
STs	Sialiltransferasas
Thr	Treonina
TNBC	Cáncer de mama triple negativo
TNM	T=tumor, N=Ganglio, M=metástasis
UICC	Unión Internacional contra el cáncer
VVA	<i>Vicia villosa</i>
WGA	<i>Triticum vulgare</i>

1. Resumen

La mayoría de las muertes en el mundo se atribuyen a las enfermedades no transmisibles, entre ellas, el cáncer, el cual es la principal causa de muerte a nivel mundial; en el 2012 se le atribuyeron 8.2 millones de muertes y se proyecta que los decesos por el cáncer en todo el mundo seguirán aumentando, rebasando los 11 millones en el 2030. El término cáncer engloba a un grupo de más de 100 diferentes tipos de enfermedades que tienen como principal característica la proliferación de células anormales sin control ni orden. El tipo de cáncer más común que afecta a hombres y mujeres es diferente, siendo el cáncer de mama el más frecuente en las mujeres, además de ser la segunda causa de muerte por cáncer después del cáncer de pulmón.

La mejor forma para reducir la mortalidad causada por el cáncer de mama es la detección temprana de la enfermedad; sin embargo, debido a la naturaleza asintomática de este tipo de cáncer en etapas tempranas y a la carencia de métodos de diagnóstico efectivos para la detección precoz, es necesario desarrollar nuevos métodos de diagnóstico para esta enfermedad en etapas tempranas.

En casi todos los tipos de cáncer ocurren modificaciones en las glicosilaciones presentes sobre la superficie de la membrana plasmática de las células cancerosas en estadios iniciales de la enfermedad; estos cambios también se han demostrado en glicoproteínas provenientes de muestras de saliva y en el suero de pacientes con cáncer. Algunas alteraciones de las glicoproteínas provenientes de las células

tumorales son específicas para ciertos tumores, estas características les confieren valor como factores pronósticos y, además, se consideran una herramienta muy valiosa para poder detectar el cáncer oportunamente en el paciente y así poder tratarlo con el medicamento apropiado.

Para la detección de estas modificaciones en la glicosilación, las lectinas se consideran valiosas herramientas en biotecnología ya que reconocen carbohidratos en la membrana de las células, cortes de tejido y fluidos biológicos para el diagnóstico del cáncer, además de que son moléculas que se pueden obtener mediante técnicas sencillas y de bajo costo, comparándolas con la obtención de otro tipo de moléculas que se utilizan para la detección de moléculas glicosiladas, como son los anticuerpos monoclonales; asimismo las técnicas en las que se emplean las lectinas para el análisis de moléculas glicosiladas son fáciles de llevar a cabo.

Por lo tanto, el presente trabajo monográfico de actualización tiene como objetivo recopilar información acerca de nuevas técnicas para la detección de marcadores tumorales asociados al cáncer de mama (como las glicoproteínas modificadas por el desarrollo cancerígeno) utilizando las lectinas, las cuales puedan contribuir al establecimiento de nuevos biomarcadores para la detección temprana del cáncer de mama.

2. Objetivo general

Revisar la información disponible sobre el uso de las lectinas como herramientas para la identificación de carbohidratos modificados de células cancerosas en el diagnóstico del cáncer de mama.

3. Introducción

Hoy en día las enfermedades no transmisibles son responsables de la mayoría de las muertes en el mundo y se pronostica que el cáncer sea la principal causa de muerte y la barrera más importante para aumentar la esperanza de vida en el siglo XXI. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2018, se diagnosticaron 18 millones de casos nuevos de cáncer y el número de muertes en el mundo por esta enfermedad correspondieron a 9.6 millones (Infocáncer, 2018). El término cáncer se refiere a la pérdida de la homeostasis celular (la homeostasis se define como los sistemas autoregulados que aseguran la persistencia de los seres vivos en un medio continuamente cambiante) debido a alteraciones en el material genético de las células lo cual provoca modificaciones en las características morfológicas y fisiológicas de éstas (Rojas, 2017). El cáncer engloba a un grupo de más de 100 variantes de la enfermedad (Bustamante, Marín y Cardona, 2013) las cuales presentan características comunes en sus células cancerosas, como son: la proliferación celular alterada, la incapacidad para la diferenciación, la pérdida de las vías apoptóticas normales, la inestabilidad genética, la falta de respuesta a señales externas inhibitoras del crecimiento, la intensificación de la angiogénesis, la evasión del sistema inmune, el cambio en el metabolismo celular y (en algunos casos) la capacidad de hacer metástasis a órganos distantes de donde se originó en el tumor **(Figura 1)** (Kasper et al., 2016). Todos estos cambios tienen una causa genética, es

decir, aparecen cuando los genes experimentan alteraciones que no son corregidas por los mecanismos de reparación del material genético (Rojas, 2017).

El crecimiento de células con estas características induce la formación de tumores, los cuales pueden ser tumores malignos y tumores benignos. Los tumores malignos muestran alto grado de crecimiento, alta capacidad infiltrante, alta vascularización, no suelen estar encapsulados y por lo mismo pueden invadir otras partes del tejido e incluso a otros tejidos, es decir, hacen metástasis; mientras que los tumores benignos se caracterizan por mostrar un grado de proliferación limitado, tienen poca vascularización, permanecen localizados en su sitio de aparición y están rodeados por una cápsula de tejido fibroso (Wittekind y Neid, 2005).



Figura 1. Características que son compartidas por las células tumorales. Tomado de Hanahan y Weinberg (2011).

Respecto a los tipos de cáncer, según la OMS, se identifican cinco tipos principales de esta enfermedad, los cuales son responsables del mayor número de fallecimientos: el pulmonar (1 690 000 muertes), el hepático (788 000 defunciones), el colorrectal (774 000 decesos), el gástrico (754 000 fallecimientos) y el de mama (571 000 muertes) (Organización Mundial de la Salud, 2018).

El cáncer de mama es el tipo de enfermedad más frecuente en la mujer y, después del de pulmón, la segunda causa de muerte (Organización Mundial de la Salud, 2018). De acuerdo con cifras del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en México, las tasas de mortalidad observadas en cáncer de mama han tenido un incremento del 2.20% en el periodo de 2011 a 2016; sin embargo, es en el año 2016 donde se ubica la tasa más alta de ellas, con 16 defunciones por cada 100 000 mujeres de 20 años en adelante. De los tumores de mama, más del 90% de ellos son malignos, por ello es considerado un problema de salud pública mundial; además de que algunos oncólogos han señalado que el principal obstáculo en la lucha contra el cáncer es el diagnóstico tardío (Sabadell, Izquierdo, Prats, y Modolell, 2016)

4. Cáncer de mama

4.1 Anatomía de la mama

Las glándulas mamarias descansan sobre los músculos del pecho y están constituidas por tejido adiposo y tejido parenquimatoso que se divide en 15-20 lóbulos. Cada lóbulo está formado por una serie de conductos intralobulillares que desembocan en los conductos galactóforos que se vierten a nivel del pezón. Estos conductos tienen un

epitelio cilíndrico o cúbico y células de núcleo redondeado (Bland y Copeland, 2016). Asimismo, la mama cuenta con circulación arterial, drenaje venoso y drenaje linfático. La circulación arterial se deriva de las arterias intercostales, axilares y torácicas. Las ramas de la arteria torácica proporcionan la principal fuente de circulación arterial. En cuanto al drenaje venoso, en gran medida, se realiza por la vena torácica interna (Cunningham, 2013). En el drenaje linfático, se han identificado tres rutas dominantes, siendo la más importante aquella que va hacia la axila y recibe el 75%, o más, del flujo linfático (Estourgie, Nieweg, Olmos, Rutgers y Kroon, 2013). Este drenaje linfático tiene su origen en redes cutáneas, redes glandulares y en los conductos galactóforos **(Figura 2)** (Mora et al., 2013).

El sistema arterial, el sistema venoso y el sistema linfático presentan una relevante importancia en todos los tipos de cáncer; por ejemplo, en el cáncer de mama, se ha observado que las células malignas, las cuales se desprenden del tejido mamario, pueden dispersarse a otras partes del cuerpo al penetrar en los canales linfáticos y vasculares, produciendo de esta forma la metástasis (Arango y Rodríguez, 2016).

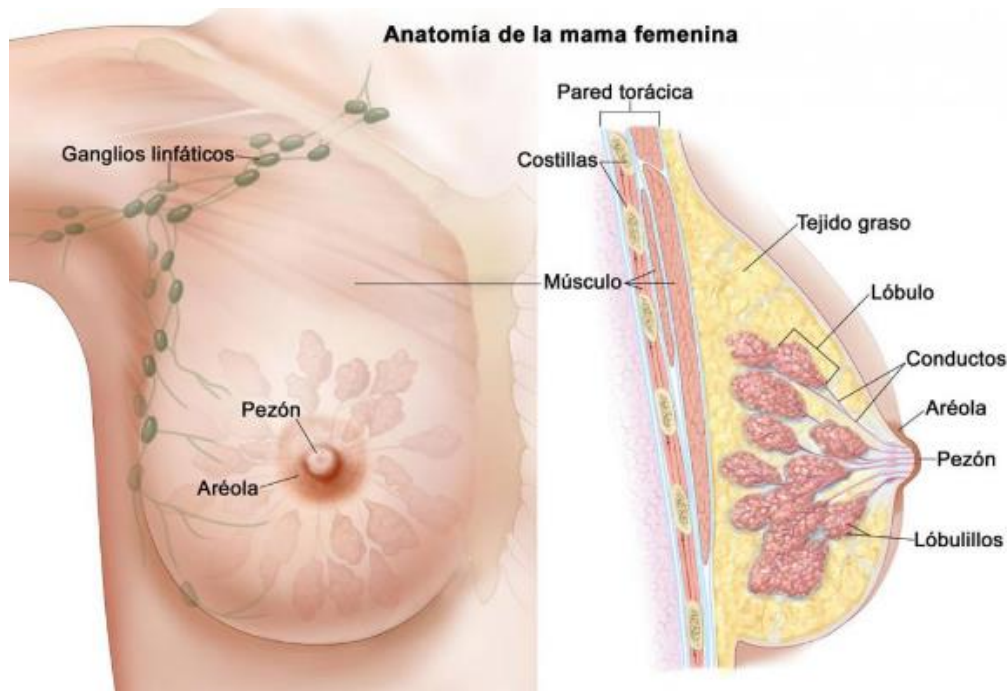


Figura 2. Esquema de la anatomía del seno femenino. Tomado de Bethesda (2016).

4.2 Factores de riesgo y carcinogénesis de la mama

4.2.1 Factores de riesgo

El cáncer de mama, como muchos otros tipos de cáncer, es multifactorial; sin embargo, los principales factores de riesgo de este cáncer son: los antecedentes familiares de cáncer, la genética (por ejemplo, la mutación positiva *BRCA1/BRCA2*, que son los genes de cáncer de mama 1 y 2, respectivamente) (Cuenca, Beltrán y Despaige, 2013), la historia reproductiva (menarquia precoz, menopausia tardía, edad tardía del primer embarazo a término o nuliparidad, no lactancia materna o lactar menos de 4 meses), la terapia hormonal de reemplazo con estrógenos y progesterona (Antoine, Paesmans, Rozenberg y Ameye, 2014), el empleo de anticonceptivos orales y los estilos de vida (sedentarismo y consumo de alcohol) (Chlebowski y Anderson, 2015).

4.2.2 Carcinogénesis de la mama

4.2.2.1 Ciclo celular

Todas las células normales tienen un control de crecimiento en el ciclo celular, el cual es un proceso en el que las células se dividen y heredan a cada célula hija un juego completo de sus genes para crear una copia de sí mismas (Lagunas, Valle y Soto, 2014). El ciclo celular consta de cuatro etapas o fases cuyas características son las siguientes:

1. Fase G₁: las células aumentan de tamaño, producen ácido ribonucleico (ARN) y sintetizan proteínas preparándose para replicar su ácido desoxirribonucleico (ADN). Al final de esta fase se encuentra un punto de control (CP-1, checking point) donde se decide si la célula está preparada o no para replicar su ADN.
2. Fase S: las células sintetizan ADN hasta duplicar su material genético.
3. Fase G₂: las células continúan creciendo y sintetizando proteínas mientras se preparan para entrar a la fase de mitosis. Al final de esta fase hay otro punto de control (CP-2) en el que se determina si la célula está lista para dividirse o no.
4. Fase M: las células dejan de crecer y de sintetizar proteínas y se dividen. En la mitad de la mitosis hay otro punto de control (CP-3) donde se evita que las células con defectos terminen su división.
5. Fase G₀: algunas células “se salen” del ciclo celular y dejan de dividirse de manera temporal o permanente; se dice que las células entran a la fase G₀ **(Figura 3)**.

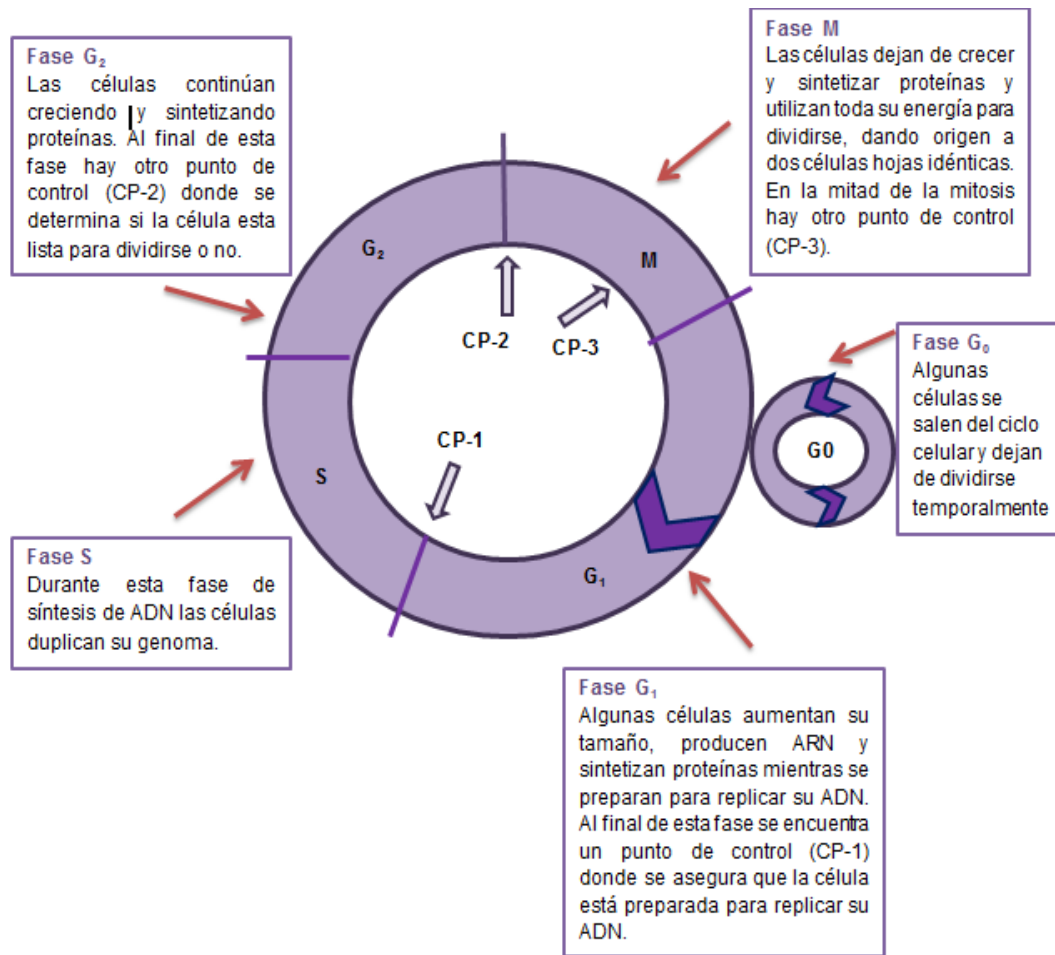


Figura 3. Ciclo celular. Tomado de Rojas (2017).

Todas las fases del ciclo celular están reguladas por diferentes proteínas pero predominantemente por las ciclinas (C) y las cinasas dependientes de ciclinas (cyclin-dependent kinases, CDK). Las CDK se enlazan a las ciclinas para formar los complejos ciclina-CDK activos. Las ciclinas se producen y degradan constantemente dentro de la célula y de esta manera regulan la actividad de las CDK. La actividad de los complejos ciclina-CDK lleva a las células a ciertas etapas específicas del ciclo celular llamadas puntos de chequeo o revisión (check points) en las que se fosforilan proteínas cuyas

funciones son esenciales para pasar a la siguiente fase del ciclo. Si se detectan defectos, los sustratos no se fosforilan y el ciclo celular se detiene.

Cuando el ciclo celular se ve afectado, ya sea por agentes externos (fármacos, virus, rayos X, etc.) o por eventos endógenos (como es la mutación de genes) las células están en predisposición a desarrollar un tumor y esos cambios constantes, junto con múltiples factores, llevan al desarrollo del cáncer (Rojas, 2017).

4.2.2.2 Carcinogénesis

Durante la carcinogénesis se presentan alteraciones en el material genético de las células normales las cuales son resultado de eventos endógenos, aunque también pueden ser resultado de eventos exógenos (por ejemplo, la exposición a radiaciones ionizantes) (De Civetta y Civetta, 2013). La carcinogénesis ocurre debido a mutaciones en el genoma como son las transiciones, las deleciones, las mutaciones puntuales de protooncogenes y/o oncogenes y las mutaciones en los genes implicados en la transducción de señales celulares (Domínguez, 2013). Algunas de las alteraciones que se presentan en la carcinogénesis incluyen las modificaciones en el metabolismo de las células, en la reparación del ADN y en la proliferación celular, dando por resultado una proliferación en las células la cual no es controlada y es capaz de inmortalizarse para obtener suficiente oxígeno y nutrientes, de esta manera la célula cancerosa forma una nueva población de células genéticamente diferentes a las originales, llevando acabo el crecimiento de un tumor. La comprensión de estos mecanismos es relevante en el diagnóstico-pronóstico del cáncer y en el diseño de nuevas estrategias de tratamiento para esta enfermedad (Miguel, Argüelles y Peña, 2016).

Los protooncogenes son genes normales que codifican para proteínas que regulan de varias formas la actividad del ciclo celular. Cuando los protooncogenes mutan o pierden sus mecanismos de regulación se transforman en oncogenes (Rojas, 2017), los cuales codifican proteínas con funciones alteradas, estas funciones favorecen la proliferación celular y/o la invasión tumoral (Brandan et al., 2014). Estas proteínas, que son codificadas por los oncogenes, se clasifican en 5 categorías: factores de transcripción, proteínas remodeladoras de la estructura de la cromatina, factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento y reguladores de la apoptosis o muerte celular programada (Bagci y Kutgöz, 2015). La célula también está expuesta a señales inhibitoras que detienen el crecimiento celular inducido por diversos estímulos y es aquí donde otro tipo de genes participan, los genes supresores de tumores o anti-oncogenes, los cuales presentan una gran importancia debido a que la inactivación de estos genes puede conducir al crecimiento inapropiado de las células. Los genes supresores de tumores pueden codificar para cualquier proteína, desde un factor inhibidor del crecimiento hasta algún componente de una ruta de señalización inhibitoria (Rojas, 2017) ; (Osborne, Wilson y Tripathy, 2015).

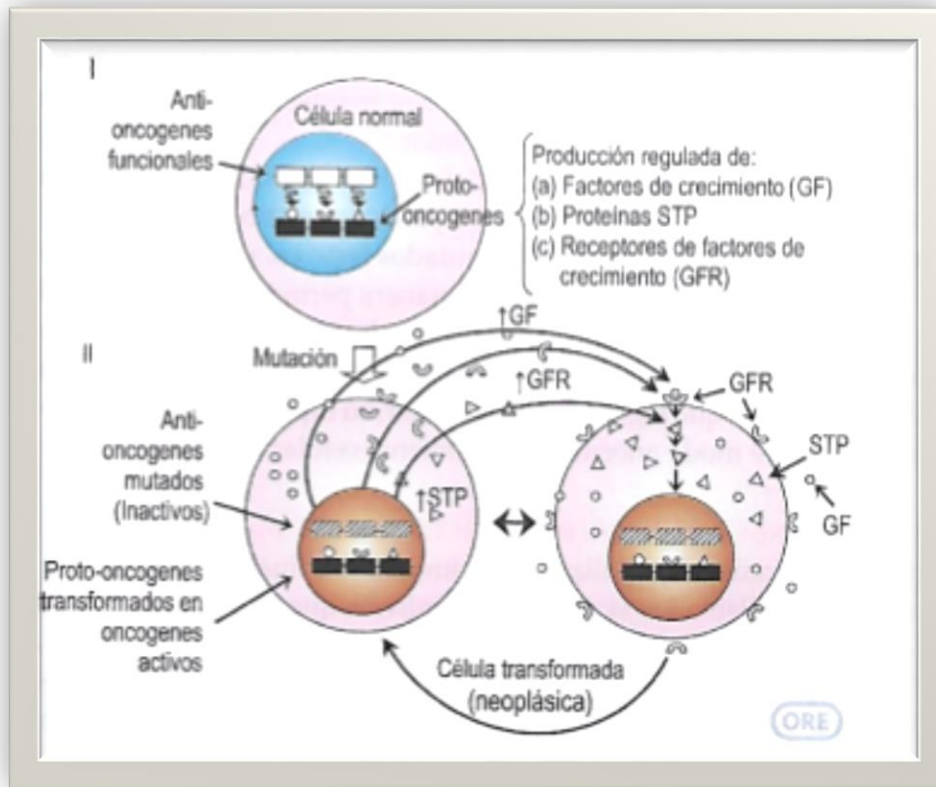


Figura 4. Conjunto de alteraciones que pueden ocurrir cuando se inactivan los anti-oncogenes. I) Normalmente los oncogenes se mantienen como protooncogenes, regulados por los anti-oncogenes. II) Cuando los anti-oncogenes se inactivan por mutación, los protooncogenes se convierten en oncogenes, que activados producen cantidades excesivas de los productos que codifican. Los cambios señalados ocurren en una misma célula o entre células vecinas. Tomado de Rojas (2017).

Dentro de la amplia gamma existente de oncogenes y genes supresores de tumores en el cáncer de mama, los ejemplos más representativos de cada uno de ellos son *HER2* (del inglés, human epidermal growth factor receptor 2), como ejemplo de un oncogen y los genes *BRCA1* y *BRCA2* (por sus siglas en inglés de breast cancer) como ejemplos de genes supresores de tumores. El gen *HER2* codifica para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, el cual es un receptor transmembranal con función de

tirosina cinasa de 185-kDa. La activación de *HER2* estimula cascadas de transducción de señales que conllevan a la proliferación celular (**Figura 5**) (Omenn, Guan y Menor, 2014). La sobreexpresión o amplificación de *HER2* se presenta del 15 al 25% de los tumores mamarios primarios y está asociado a una disminución de la supervivencia de la paciente (Bagci y Kutgöz, 2015); (Vici et al., 2015).



Figura 5. Sobreexpresión de HER2 en el cáncer de mama. La sobreexpresión de HER2 induce la proliferación celular, como se observa en la imagen de la derecha. Tomado y modificado de Sabadell *et al.* (2016).

Las mutaciones en los genes supresores de tumores, *BRCA1* y *BRCA2*, son las más frecuentemente asociadas al cáncer de mama. Los productos de estos genes participan en el mantenimiento de la integridad del ADN. El gen *BRCA1* codifica una fosfoproteína nuclear que se combina con otras proteínas codificadas por los genes supresores de tumores, sensoras del daño al ADN y transductoras de señales para formar un gran complejo proteico conocido como el “complejo de vigilancia del genoma asociado al gen *BRCA1*”, esta proteína tiene un papel importante en la reparación de las roturas de la cadena doble de ADN. La proteína *BRCA2* interacciona con la *RAD51*

y sus parálogos para la reparación de roturas de la doble cadena de ADN (Lazcano, Escudero y Usanga, 2014). Las mutaciones de *BRCA1* aparecen alrededor del 5% de los casos de cáncer de mama y el 90% en pacientes con antecedentes patológicos familiares de cáncer de mama u ovario. La mutación de uno de los dos genes es suficiente para tener un tipo de cáncer de mama de alto riesgo (Osborne, Wilson y Tripathy, 2015).

4.3 Tipos de tumores mamarios

La mayoría de estos tumores se originan en el tejido glandular de la mama. Estos tumores malignos son de origen epitelial y se denominan carcinomas. Los tres tipos de tumores más frecuentes son: carcinoma ductal invasivo o infiltrante (CDI), carcinoma lobulillar invasivo o infiltrante (CLI) y carcinoma ductual *in situ* (CDIS). Se denomina carcinoma *in situ* al tumor que no ha atravesado las uniones entre los tejidos. El CDIS es el cáncer más común, no invasivo y se localiza en los conductos mamarios. El CLI es poco frecuente, presenta hiperplasia atípica y se origina en los lobulillos de la mama. En el CDI, el tumor invade a los tejidos subyacentes vertiendo células a la sangre o a la linfa, lo que genera metástasis y causa mortalidad si se afectan órganos vitales. El CDI es el cáncer más común, tiene comienzo en un canal o conducto lácteo, penetra la pared del conducto e invade el tejido del seno, realizando metástasis. En cuanto al carcinoma lobulillar invasivo o infiltrante, se origina en los lobulillos de la glándula mamaria, propagándose a través de la pared de los lobulillos y también produce metástasis (Guzmán et al., 2013). En la **Figura 6** se representan los distintos tipos de tumores en el cáncer de mama y el crecimiento de las células anormales presentes en ellos.

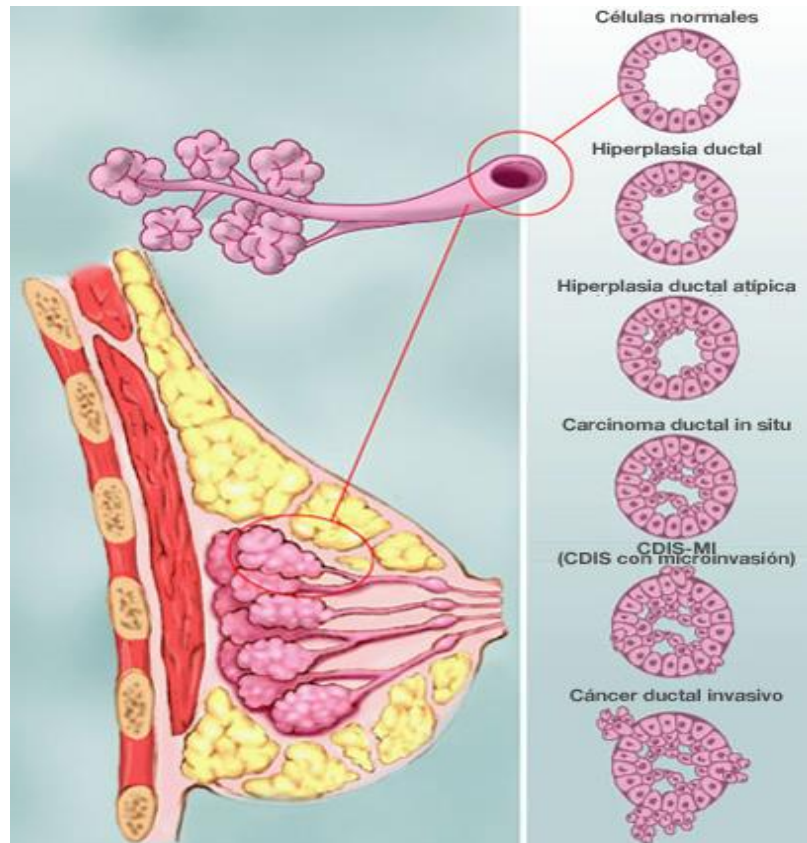


Figura 6. Representación de los tipos de tumores en cáncer de mama. Tomado de <https://www.breastcancer.org/es/sintomas/tipos/cdis/diagnostico>.

4.3.1 Detección por inmunohistoquímica (IHQ) de factores pronósticos en cáncer de mama

Se acepta por consenso, a nivel mundial, que el subtipo de cáncer de mama puede ser identificado por IHQ (**Figura 7**) (Goldhirsh et al., 2013). Se emplean cuatro marcadores: receptores de estrógeno, receptores de progesterona, HER2 y Ki67 (su nombre proviene del lugar donde fue descrito inicialmente, Kiel [Ki] y el número del pocillo de la placa de 96 en que se describió como antígeno presente en células de linfoma murino) (Sabadell, Izquierdo, Prats y Modolell, 2016). Ki67 es una proteína nuclear no histona, cuya expresión está unida a la proliferación celular, presente en las fases activas del

ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y ausente en las células en reposo (Polley et al., 2013). En el carcinoma *in situ*, sólo se realizan estudios clínicos de receptores hormonales. Sobre la base de los resultados de estos cuatro marcadores, se realiza la clasificación molecular del cáncer de mama para categorizar la enfermedad (González y Noblía, 2016).

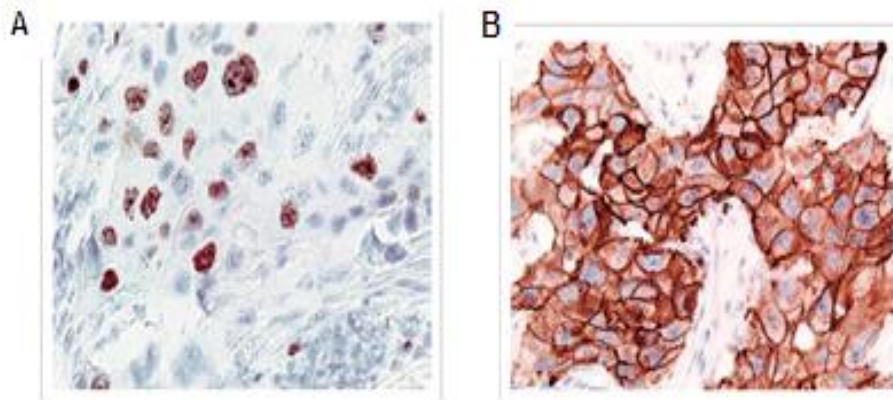


Figura 7. A) Índice de proliferación celular por la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) del marcador Ki67, utilizando el kit Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen, Clon MIB-1 de Dako (la presencia de color marrón en la tinción membranosa/citoplasmática da un resultado positivo) **B)** HER2 por técnica de IHQ utilizando el kit HerceptTest™ de Dako (la presencia de color marrón en la membrana de las células indica un resultado positivo para la sobreexpresión de la proteína HER2). Se observa un resultado de IHQ positivo en donde la tinción de la membrana es completa e intensa en un porcentaje mayor al 10% de células tumorales invasoras. Tomado de Sabadell, Izquierdo, Prats y Modollel (2016).

4.3.1.1 Clasificación molecular del cáncer de mama mediante la técnica de IHQ

Aunque se encuentren tumores morfológicamente iguales, siempre presentan diferente perfil genético, lo que ayuda para su clasificación en subtipos moleculares. Estos

subtipos son evidenciados con técnicas de IHQ que permiten detectar el estatus de receptores hormonales, tales como estrógeno y progesterona, además de la oncoproteína HER2 y el índice de proliferación Ki67. Con base a los marcadores anteriores, se definen las categorías moleculares en los siguientes subtipos por IHQ: luminal A, luminal B, HER2-positivo y símil basal (también llamado cáncer de mama triple negativo [TNBC]) (González y Noblía, 2016).

4.3.1.1.1 Subtipo luminal

Los tumores luminales se clasifican de la siguiente manera:

-Luminal A: Presenta receptores hormonales positivos, HER2 negativo y Ki67 menores del 14%.

-Luminal B: Tiene receptores hormonales positivos, HER2 negativo y Ki67 mayores o iguales al 14%.

Este subtipo representa el 67% de los carcinomas mamarios y suelen incluir a la mayor parte de los carcinomas ductuales, lo que significa que las células que revisten a los conductos galactóforos del seno se han convertido en células malignas; sin embargo, no se han propagado al tejido mamario circundante. Hay variantes histológicas asociadas a este fenotipo, como: tubular, lobulillar clásico, neuroendocrinos y mucinosos (González y Noblía, 2016).

4.3.1.1.2 HER2-positivo

Es un tipo de carcinoma mamario muy heterogéneo que expresa HER2 y es negativo para receptores hormonales. La proteína HER2 está sobreexpresada en el 15% de los

tumores de mama, lo que incrementa la agresividad biológica, y se asocia a una menor supervivencia del paciente y con recaídas tempranas (González y Noblía, 2016).

4.3.1.1.3 Subtipo basal (Símil basal)

Este tipo de tumores contiene expresión génica similar a la célula basal de los conductos mamarios, son tumores negativos para receptores hormonales como receptores de estrógenos (RE) y receptores de progesterona (RP) y para HER2 (también llamado TNBC), por lo tanto, estos tumores representan aproximadamente un 15% de los cánceres de mama. El comportamiento biológico del TNBC suele ser más agresivo y con una mayor tendencia a presentar metástasis en otros tejidos, comparada con los otros subtipos de cáncer de mama (Zaharia y Gómez, 2013) y pueden presentar mutación en la proteína supresora de tumores p53 (González y Noblía, 2016).

4.4 Estadificación del cáncer de mama

La estadificación es la descripción del crecimiento y/o diseminación del cáncer, para determinar la etapa de esta enfermedad y su desarrollo. El sistema TNM (por sus siglas que relacionan el tamaño del tumor “T”, la afectación de los ganglios linfáticos “N”, de “node” en inglés y cualquier metástasis a distancia “M”) fue creado por la Unión Internacional contra el cáncer (UICC) para la estadificación de los tumores desde 1959. Sin embargo, la UICC y la AJCC (American Joint Committee on Cancer) hace ya más de una década unificaron sus clasificaciones en un único sistema TNM. Universalmente, se acepta esta clasificación para así valorar con objetividad el conjunto

de datos que orienten el camino más adecuado para indicar un tratamiento primario para la paciente. El sistema TNM clasifica los tumores por su extensión anatómica mediante asignaciones y luego combina estos grupos en categorías similares desde el punto de vista pronóstico, denominados estadios (Sabadell, Izquierdo, Prats y Modolell, 2016). Esta clasificación universalmente se acepta como la mejor; sin embargo, se encuentra sujeta a revisiones y modificaciones, como ha sucedido frecuentemente en los últimos años. La estadificación brinda una orientación de gran valor para indicar el tratamiento primario, pero deben ser la valoración y la clasificación histopatológica, junto con la valoración de los marcadores tumorales, las que determinen la indicación de terapias futuras y den la pauta para una mejor valoración del pronóstico (Sánchez, Sánchez y Erazo, 2018).

En el cuadro 1 y las tablas 1 y 2 se presenta la reciente actualización llevada a cabo por la AJCC que conjunta las variedades de TNM para la estadificación de los tumores.

Cuadro 1. Sistema AJCC para la clasificación del cáncer de mama.

T (tumor) Tx: no puede ser valorado. T0: no hay evidencia de tumor primario.
Tis: carcinoma <i>in situ</i> Tis (CDIS): carcinoma ductual <i>in situ</i> . Tis (CLIS): carcinoma lobulillar <i>in situ</i> . Tis (Paget): carcinoma <i>in situ</i> tipo Paget.
T1: tumor de menos de 2 cm T1mi: tumor de 1 mm o menos. T1a: tumor mayor de 5 mm. T1b: tumor de 5 a 10 mm. T1c: tumor de 10 a 20 mm.
T2: tumor de 2 a 5 cm
T3: tumor mayor de 5 cm
T4: tumor de cualquier tamaño con: T4a: tumor extendido a la pared costal. T4b: presencia de edema, ulceración o invaginación. T4c: T4a y T4b juntos. T4d: cáncer inflamatorio.
N (ganglios, <i>nodes</i>) Nx: ganglios que no pueden ser evaluados. N0: ausencia de ganglios palpables.
N1: N1mi: micrometástasis menores de 2 mm. N1a: metástasis en uno o tres ganglios axilares menor a 5mm. N1b: metástasis a los ganglios de la cadena mamaria interna (biopsia del ganglio centinela). N1c: metástasis de uno a tres ganglios axilares y ganglios de la cadena mamaria interna.
N2: N2a: metástasis entre cuatro y nueve ganglios axilares. N2b: metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna, no en los de la axila (detección clínica).
N3: N3a: metástasis en 10 o más ganglios axilares o subclaviculares. N3b: metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna y en uno o más de la axila. N3c: metástasis en los ganglios supraclaviculares ipsilaterales.

M (metástasis a distancia)

M0: No hay metástasis a distancia.

M0 (i+): evidencia microscópica o molecular de las células tumorales en la médula ósea, la sangre circulante o los ganglios linfáticos extrarregionales sin evidencia clínica de metástasis.

M1: evidencia de metástasis distantes.

La combinación de las diferentes TNM según el grado de avance de la enfermedad, configura la clasificación y el estadiaje del cáncer de mama según la AJCC.

Tabla 1. Estadios del cáncer de mama respecto a la clasificación TNM.

Estadio	Clasificación TNM
0	Tis, N0, M0
IA	T1, N0, M0
IB	T0 O T1, N1mi, M0
IIA	T0 O T1*, N1, M0
IIB	T2, N0, M0 T2, N1, M0 T3, N0, M0
IIIA	T0-T3, N2, M0 T3, N1, M0
IIIB	T4, N0 a N2, M0
IIIC	T1 a T4, N3, M0
IV	T1 a T4, N1 A N3, M1

T: Tamaño, N: ganglio, M: metástasis

Tabla 2. Clasificación del cáncer de mama respecto a los marcadores presentes y el tratamiento adecuado.

SUBTIPO	DEFINICIÓN	TRATAMIENTO
Luminal A	Luminal A - *RE y/o **RP positivos - ***HER2 negativo - ****Ki 67 < 14%	Hormonoterapia
Luminal B	Luminal B (HER2 negativo) - RE y/o RP positivos - HER2 negativo - Ki 67 > 14%	Hormonoterapia +/- citotóxicos
	Luminal B (HER2 positivo) - RE y/o RP positivos - HER2 positivo - Cualquier Ki67	Citotóxicos + Anti HER2+Hormonoterapia
HER2	HER2 positivo no lum. - HER2 positivo - RE y RP negativos	Citotóxicos + Anti HER2
Basal-Like	Triple negativo - RE y RP negativos - HER2 negativo	Citotóxicos

*RE: receptores de estrógenos, **RP: receptores de progesterona, ***HER2: gen que codifica para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, ****Ki67: factor de proliferación celular.

4.4.1 Estadios del cáncer de mama

Después de que se diagnostica el cáncer de mama en la paciente, los médicos asignan el estadio del cáncer combinando las clasificaciones de la estadificación TNM y, además, se realizan pruebas para determinar si las células cancerosas se han diseminado dentro de la mama o han migrado por la vía linfática o la vía circulatoria a otras partes del cuerpo y determinar también el tamaño del tumor (American Society of Clinical Oncology, 2018).

Para el cáncer de mama se aplican los siguientes estadios:

- **Estadio 0 (carcinoma in situ):** En el estadio cero (0) las células cancerosas se encuentran en los conductos y lobulillos del tejido mamario y no se han diseminado en el tejido circundante de la mama. También se denomina cáncer no invasivo (Tis, N0, M0).
- **Estadio I:** El estadio I se divide en los estadios IA y IB. En el estadio IA, el tumor mide 2 centímetros o menos, el cáncer no se ha diseminado fuera de la mama. En el estadio IB se encuentran pequeños racimos de células cancerosas (mayores a 0.2 mm pero no mayores a 2.0 mm) en los ganglios linfáticos.
- **Estadio II:** El estadio II se divide en los estadios IIA y IIB. En el estadio IIA solo se encuentran células cancerosas en 1-3 ganglios linfáticos en la axila o en los ganglios linfáticos cerca del esternón, también puede que exista un tumor que mida 2 cm o menos y se encuentran células cancerosas en 1-3 ganglios linfáticos en la axila o en los ganglios linfáticos cerca del esternón o el tumor puede medir más de 2 cm, pero menos de 5 cm, y no se ha diseminado a los ganglios linfáticos. En el estadio IIB, el tumor mide más de 2 cm, pero no más de 5 cm y se encuentran pequeños tumores (mayores a 0.2 mm pero menores a 2.0 mm) en los ganglios linfáticos; también el tumor puede medir más de 2 cm, pero no más de 5 cm y las células cancerosas se encuentran en 1-3 ganglios linfáticos de la axila o en los ganglios linfáticos cerca del esternón o el tumor puede medir más de 5 cm, pero no se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares.

- **Estadio III:** Estos tumores son más grandes o están creciendo hacia los tejidos adyacentes o se han propagado a muchos ganglios linfáticos adyacentes. El estadio III se divide en los estadios IIIA, IIIB y IIIC. En el estadio IIIA el tumor, de cualquier tamaño, se ha diseminado de 4 a 9 ganglios linfáticos axilares o a los ganglios linfáticos mamarios internos. No se ha diseminado a otras partes del cuerpo (T0, T1, T2 o T3, N2, M0). El estadio IIIA también puede ser un tumor mayor que 50 mm que se ha diseminado a un número mayor de 1-3 ganglios linfáticos axilares (T3, N1, M0). En el estadio IIIB el tumor puede ser de cualquier tamaño y el cáncer se ha diseminado a la piel de la mama y ha causado hinchazón o la aparición de úlceras. El cáncer se pudo diseminar hasta 9 ganglios linfáticos de la axila o a los ganglios linfáticos cerca del esternón. En el estadio IIIC, el tumor, que puede ser de cualquier tamaño, se ha diseminado a 10 o más ganglios linfáticos axilares, a los ganglios linfáticos mamarios internos o a los ganglios linfáticos debajo de la clavícula. No se ha diseminado a otras partes del cuerpo (cualquier T, N3, M0).
- **Estadio IV:** El cáncer se diseminó a otras partes del cuerpo; como el cerebro, el pulmón, el hígado o el hueso. Se observa cáncer metastásico al momento del primer diagnóstico de cáncer en aproximadamente del 5 % al 6 % de los casos (American Society of Clinical Oncology, 2018).

La **Figura 8** ejemplifica el tamaño de los tumores en los diferentes estadios del cáncer de mama de acuerdo a la clasificación TNM.

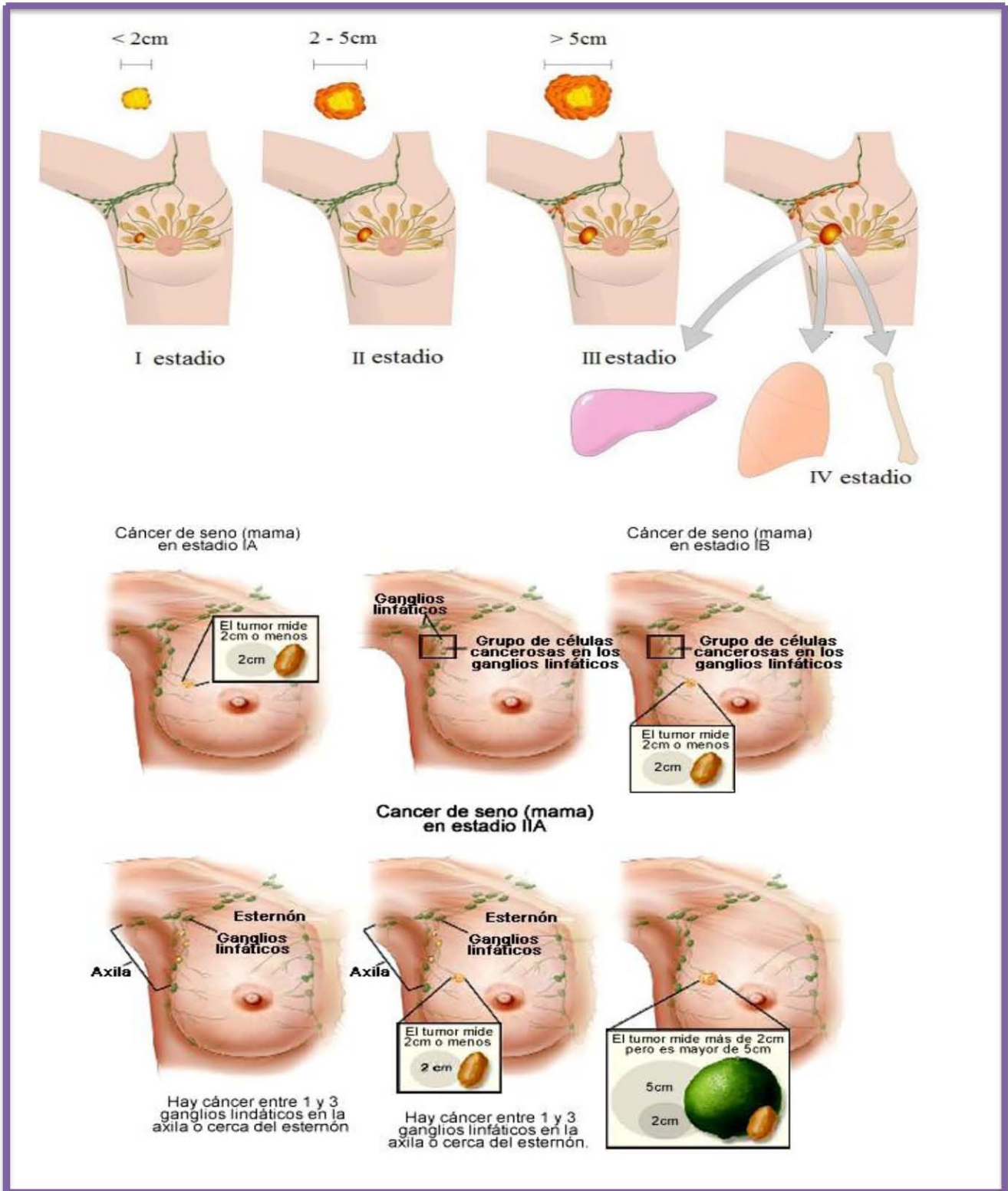


Figura 8. Ejemplo del tamaño de los tumores y la localización de células cancerígenas en diferentes estadios del cáncer de mama. Tomado de <https://www.cancer.net/es>.

4.5 Epidemiología del cáncer de mama

En el ámbito mundial, el cáncer de mama es la neoplasia más frecuente en la población femenina, con un estimado de 2 088 849 nuevos casos diagnosticados en septiembre del 2016, según la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) (International Agency for Research on Cancer, 2016). El incremento en su incidencia se registra en los países más desarrollados, como es el caso de Europa Occidental, con relación a los países menos desarrollados (Globocan Cancer Observatory, 2018).

En América Latina, el cáncer de mama es la neoplasia más frecuente, con 152 059 casos diagnosticados anualmente; así como la segunda causa de muerte por tumor maligno con 43 208 defunciones (Organización Mundial de la Salud, 2018). La incidencia y la mortalidad, según la IARC, son mayores en las mujeres que superan los 40 años, en comparación con mujeres menores. Con base en las predicciones del crecimiento poblacional, se estima que en años futuros se presentarán nuevos casos y más muertes por cáncer de mama (International Agency for Research on Cancer, 2016).

Respecto al panorama epidemiológico en México, según los datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en el año 2014, el cáncer de mama representó la segunda causa de muerte, con un incremento en las defunciones en el periodo de 2011 a 2016 (INEGI, 2018). En el año 2016, de acuerdo con las cifras del INEGI, se ubicó la tasa más alta de muertes, con 16 defunciones por cada 100 000 mujeres. Las entidades con mayor número de fallecimientos por cáncer de mama son: Sonora (28.6%), Nuevo León (26%), Coahuila (25.7%), Chihuahua (24.8%), Ciudad de México

(24.7%) y Sinaloa (22.2%). La edad promedio en México de presentación, respecto a los casos de cáncer de mama, es de 54.9 años (Secretaria de Salud, 2015).

4.6 Tamizaje y diagnóstico temprano del cáncer de mama

Las medidas para diagnosticar el cáncer de mama de manera precoz y así reducir la mortalidad en las pacientes con esta enfermedad se basan en el tamizaje y en el diagnóstico temprano, los cuales incluyen el autoexamen y la mamografía. El tamizaje es una prueba realizada en las mujeres asintomáticas que distingue aquellas que tienen la enfermedad de las que no tienen la enfermedad. Los objetivos del tamizaje son la detección precoz de la enfermedad, con reducción de las tasas de mortalidad, así como mejorar la calidad de vida; además el tamizaje debe presentar características como tener un costo reducido, ser fácil de realizar y de interpretar. La técnica que reúne estos requisitos y es la mejor herramienta disponible para la detección del cáncer de mama en sus etapas iniciales es la mamografía (Lazcano, Escudero y Usanga, 2014).

4.6.1 Autoexamen

El autoexamen de mama lo efectúa la propia mujer frente a un espejo. Como primer paso, los brazos se dejan caer a lo largo del cuerpo y después se levantan por encima de los hombros para realizar la búsqueda de abultamientos, desviaciones del pezón o descamación de la piel. Posteriormente, se levanta el brazo izquierdo por detrás de la cabeza con el codo en alto y con la mano derecha se examina la mama izquierda deslizándose en forma circular los tres dedos intermedios de la mano alrededor del seno, comenzando en la periferia hasta llegar al pezón (poner especial cuidado en el área de

la mama que se encuentra entre el pezón y la axila). Se realiza el mismo procedimiento en el seno derecho, pero ahora examinándose con la mano izquierda (Wiesner et al., 2015). De esta manera, se podrán detectar anomalías físicas en las mamas, por ejemplo, la asimetría en el tamaño de las mamas, retracción del pezón y desviación de la dirección de los pezones, entre otras. El segundo paso es la palpación, la cual comprende en explorar los cuadrantes internos, areóla y pezón con el propósito de detectar alguna otra alteración, como un abultamiento en la mama. El autoexamen se debe realizar una vez por mes y de preferencia en los días intermedios del ciclo menstrual debido a que los niveles hormonales durante este ciclo pueden ocasionar inflamación y sensibilidad (Organización Mundial de la Salud, 2017).

4.6.2 La mamografía

La mamografía consiste en tomar radiografías de las mamas con una técnica específica y un aparato especialmente diseñado para ello y así obtener las imágenes radiográficas con un mínimo posible de radiación a la glándula **(Figura 9)** (Organización Mundial de la Salud, 2017) ya que ésta puede causar rupturas de doble cadena en el ADN, un tipo de lesión relacionada con el cáncer. Por lo anterior, para las mujeres que tienen un riesgo de presentar cáncer de mama, la Sociedad Americana Contra el Cáncer recomienda efectuarse mamografías anualmente a partir de los 40 años de edad. Esta frecuencia debe mantenerse hasta los 55 años, a partir de lo cual pueden empezar a realizarse la prueba cada dos años. La Mammography Quality Standards (MQSA) recomienda radiaciones menores de 0.30 rad (unidad de dosis de radiación absorbida) por imagen. Actualmente, la radiación promedio que se aplica al obtener cada imagen es de 0.16 rad (Breast Cancer Action, 2018).

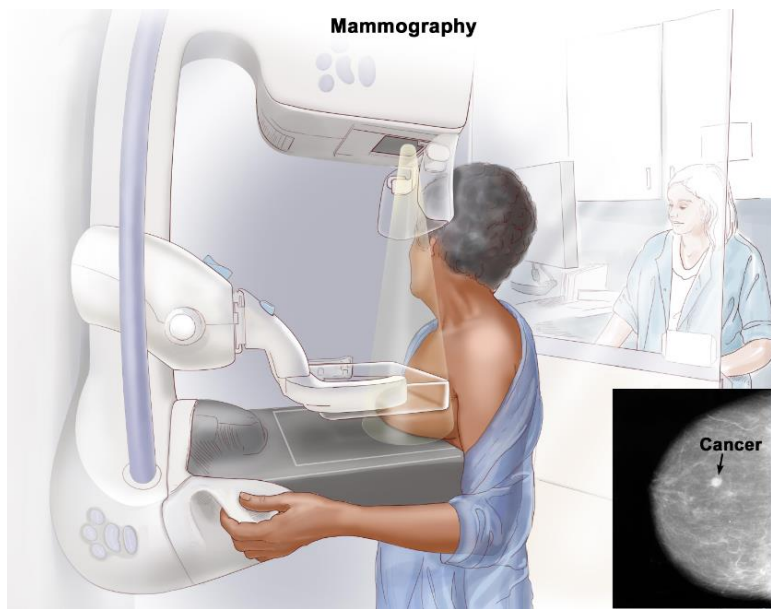


Figura 9. Mamografía. El pecho se presiona entre dos placas. Tomado de Bethesda (2016).

Los estudios a este respecto informan que la mamografía beneficia más a los grupos de mujeres de 50 años o más. Aquellas mujeres que pertenecen a familias donde hay tendencia al cáncer de mama, serán candidatas a mamografías a edades más tempranas (Organización Mundial de la Salud, 2017).

Las estimaciones del US National Cancer Institute apoyadas con CISNET (Cancer Intervention and Surveillance Modeling Network) (Marmot et al., 2013) sugieren que al menos el 20% de la reducción observada en la incidencia y mortalidad del cáncer de mama se debe a la mamografía apoyada por otros estudios (Liu et al., 2018).

5. Glicobiología

5.1 Los carbohidratos

Los carbohidratos se conocen también como azúcares, sacáridos o glúcidos. Muchos glúcidos, aunque no todos, poseen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$; algunos glúcidos también contienen nitrógeno, fósforo y azufre. Desde el punto de vista químico, se definen como polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas (Laguna, Piña, Martínez, Pardo y Riveros, 2013) (**Figura 10**). Se forman durante la fotosíntesis, proceso bioquímico que se lleva a cabo en las plantas en el que se captura la energía luminosa y se utiliza para impulsar la biosíntesis de moléculas orgánicas con energía abundante a partir de las moléculas CO_2 y H_2O o también mediante la gluconeogénesis, proceso que se lleva cabo en los organismos superiores para la biosíntesis de glucosa. A los carbohidratos se les confieren una amplia gama de funciones biológicas, como fuentes de energía (glucosa), elementos estructurales (celulosa y quitina en los vegetales y en los hongos, respectivamente) y como precursores de la producción de otras biomoléculas (aminoácidos, lípidos, purinas y pirimidinas); sin embargo, en las últimas décadas, se ha demostrado que los carbohidratos participan en procesos fisiológicos y patológicos (McKee y McKee, 2014). Los carbohidratos se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, según el número de unidades de azúcares sencillos que contengan. Los monosacáridos o azúcares sencillos son carbohidratos que no se pueden hidrolizar. Un disacárido es un azúcar que puede hidrolizarse a dos monosacáridos; por ejemplo, la sacarosa. Los oligosacáridos consisten en cadenas cortas de unidades de monosacáridos, o residuos, unidas por enlaces glicosídicos. Los polisacáridos son polímeros que contienen más de 20 unidades de monosacáridos;

algunos polisacáridos constan de centenares o millares de unidades de monosacáridos (Nelson y Cox, 2014).

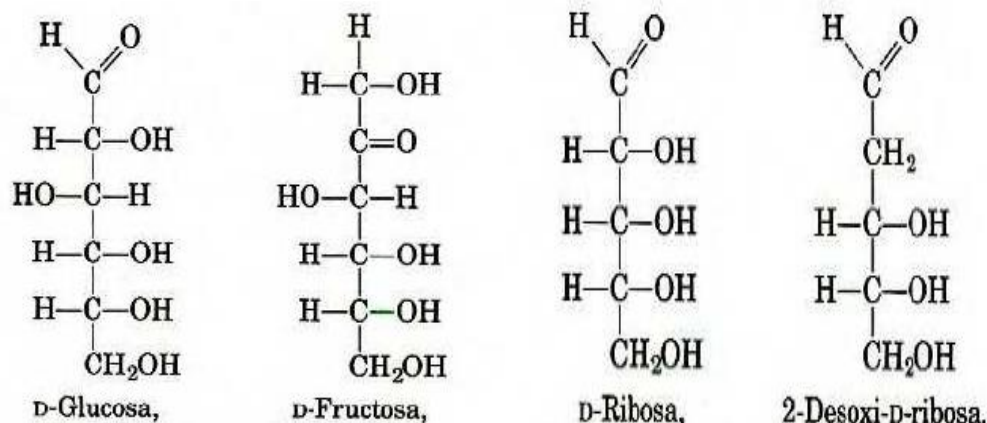


Figura 10. Monosacáridos representativos. Tomado de Nelson y Cox (2014).

Una gran parte de los átomos de carbono a los que se unen los grupos hidroxilo son los centros quirales (también llamados carbonos asimétricos) que dan lugar a muchos estereoisómeros de los azúcares que se encuentran en la naturaleza (Nelson y Cox, 2014). Un centro quiral es cualquier átomo que tiene un conjunto de ligandos (o grupos funcionales) diferentes entre sí; los estereoisómeros tienen la misma secuencia en su enlace, pero difieren en la orientación de sus átomos en el espacio (Wade, 2016).

En cuanto a la estructura de los carbohidratos, el esqueleto de los monosacáridos comunes consiste en una cadena de carbonos unidos por enlaces sencillos. En las formas de cadena abierta, uno de los átomos de carbono está unido a un átomo de oxígeno por un doble enlace, formando un grupo carbonilo; cada uno de los demás átomos de carbono tiene un grupo hidroxilo. Si el grupo carbonilo se halla en un extremo de la cadena carbonada, es un grupo aldehído y el monosacárido recibe el nombre de aldosa; si el grupo carbonilo está en otra posición, es un grupo cetona y el

monosacárido se denomina cetosa. Los átomos de carbono del monosacárido se numeran empezando por el extremo de la cadena más próximo al grupo carbonilo (Nelson y Cox, 2014).

Para representar sobre el papel la estructura de los azúcares se emplean las fórmulas de proyección de Fischer, las cuales evidencian la estereoquímica en todos los átomos de carbono asimétricos. La proyección de Fischer representa cada átomo de carbono asimétrico por medio de una cruz, con los enlaces horizontales hacia el espectador y los enlaces verticales alejándose de él. La cadena de carbonos está ordenada a lo largo de los enlaces verticales, con el carbono 1 en la parte superior, los enlaces horizontales se proyectan hacia fuera del plano del papel, hacia el lector y los enlaces verticales se proyectan por detrás del papel, alejándose del lector (**Figura 11**) (Wade, 2016).

La estructura cíclica de los azúcares con frecuencia se dibuja en la proyección de Haworth, la molécula se ve por arriba del plano del anillo; los enlaces más cercanos al observador son marcados y engrosados y los grupos hidroxilo están por arriba o por debajo del plano del anillo (Murray et al., 2013). También se utiliza la conformación de silla con posiciones axiales y ecuatoriales para colocar los sustituyentes, como son los grupos hidroxilo (**Figura 12**) (Wade 2016).

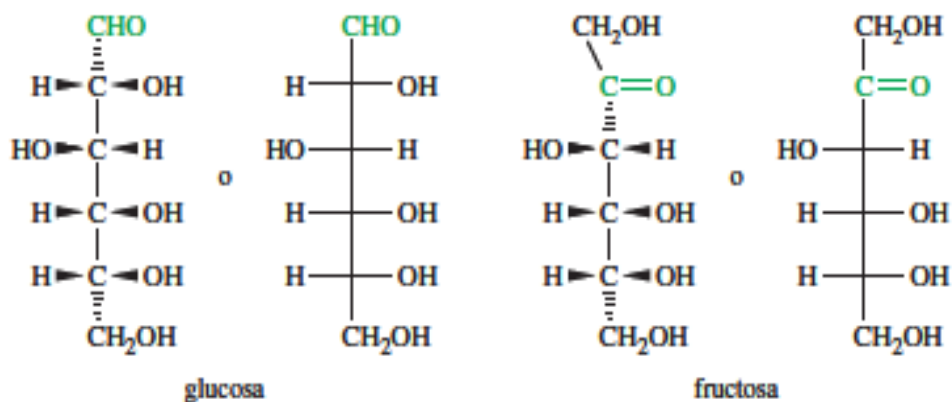


Figura 11. Proyección de Fischer de los azúcares glucosa y fructosa. Tomado de Wade (2016).

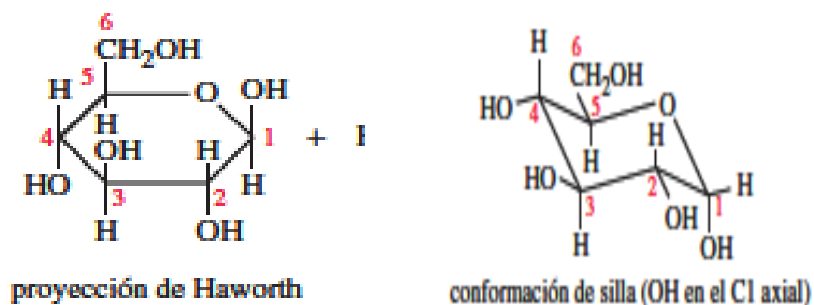


Figura 12. Representación cíclica de la glucosa como una proyección de Haworth y una conformación de silla. Tomado de Wade (2016).

Los esteroisómeros de azúcar con la forma D o L está determinada por su relación espacial con el compuesto gliceraldehído (**Figura 13**) (Murray et al., 2013). Cuando el grupo hidroxilo del átomo de carbono asimétrico se halla en la parte inferior a la derecha en la fórmula de proyección de Fisher, el azúcar es un isómero D; cuando el grupo hidroxilo del carbono asimétrico se encuentra en la parte inferior a la izquierda es un isómero L (**Figura 14**) (Nelson y Cox, 2014).

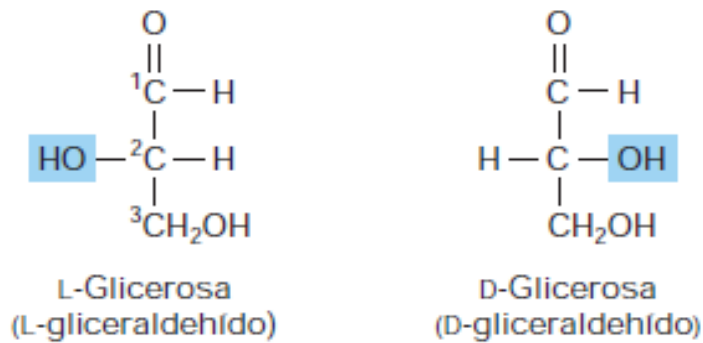


Figura 13. Isomerismo L y D del gliceraldehído. Tomado de Murray *et al* (2013).

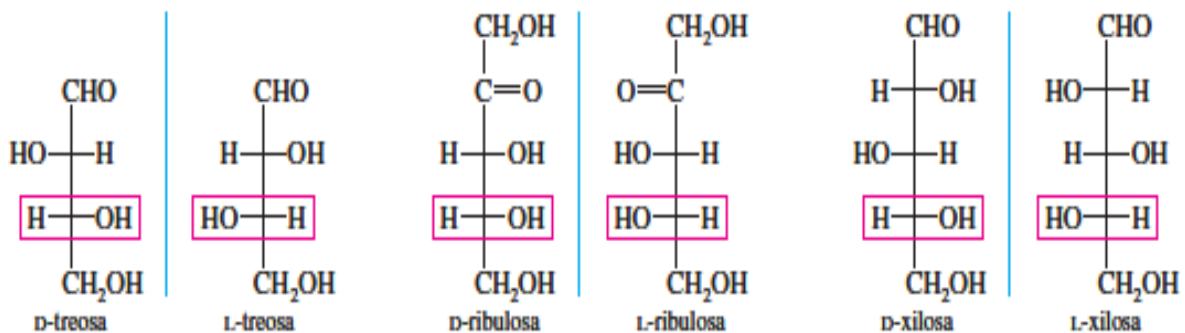


Figura 14. Representación de los isómeros D y L de monosacáridos. Tomado de Wade (2016).

Todos los monosacáridos con cinco o más átomos de carbono en su cadena suelen encontrarse en disolución acuosa en forma de estructuras cíclicas (en anillo), en las que el grupo carbonilo ha formado un enlace covalente con el oxígeno de un grupo hidroxilo perteneciente a la misma cadena (Nelson y Cox, 2014); de esta manera, se forman hemiacetales o hemicetales, si la estructura en anillo corresponde a una aldosa o cetosa, respectivamente, dando origen a los anómeros α y β , que es otro tipo de estereoisomerismo en los azúcares (Nelson y Cox, 2014). Cuando el anómero con el

grupo hidroxilo se encuentra en posición axial (abajo) se le llama anómero α y al que tiene el grupo hidroxilo en la posición ecuatorial (arriba) se denomina anómero β (**Figura 15**). Las estructuras en anillo de los monosacáridos son similares a las estructuras en anillo de pirano (un anillo de seis miembros) o furano (un anillo de cinco miembros); suelen nombrarse piranosas y furanosas, respectivamente (Wade, 2016).

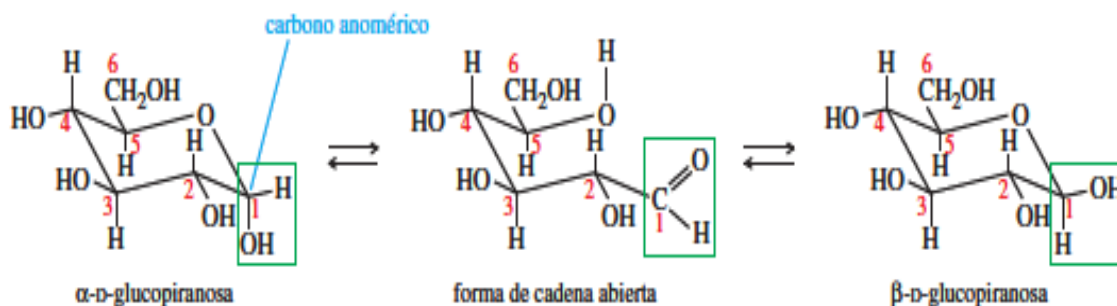


Figura 15. Anómeros de la glucosa. El grupo hidroxilo en el carbono anomérico se encuentra en posición axial (arriba) en el anómero α y, en la posición ecuatorial (abajo) el anómero β . Tomado de Wade (2016).

Además de las hexosas simples como la glucosa, la galactosa y la manosa, existe una serie de derivados de los azúcares en los que un grupo hidroxilo del compuesto original está reemplazado por otros sustituyentes, tal es el caso de la glucosamina, la galactosamina y la manosamina, en donde el grupo hidroxilo en C-2 del compuesto original se halla reemplazado por el grupo amino (Nelson y Cox, 2014).

Respecto a los disacáridos (tales como la maltosa, la lactosa y la sacarosa) están formados por dos monosacáridos unidos covalentemente mediante un enlace O-glicosídico, que se forma cuando un grupo hidroxilo de un azúcar reacciona con el carbono anomérico de otro (**Figura 16**). Este enlace puede ser α o β -glicosídico,

dependiendo de la posición que ocupa el grupo hidroxilo del primer monosacárido (hacia abajo α y hacia arriba β) (Murray et al., 2013)

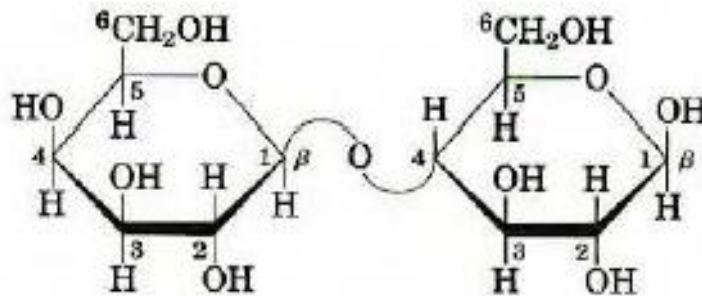


Figura 16. Proyección de Haworth del disacárido lactosa. Tomado de Nelson y Cox (2014).

Los polisacáridos difieren entre sí en la longitud de sus cadenas, en los tipos de enlaces que se forman entre las unidades y en el grado de ramificación. Los homopolisacáridos contienen un único tipo de monómero; en cambio los heteropolisacáridos contienen dos o más tipos diferentes (**Figura 17**) (Nelson y Cox, 2014); además sirven de reserva energética y de componentes estructurales en las paredes celulares y en la matriz extracelular. Estos polisacáridos juegan un papel central en el reconocimiento y la adhesión célula-célula, en la migración celular durante el desarrollo, en la coagulación sanguínea, en la respuesta inmunitaria, en la cicatrización de las heridas y en otros procesos celulares (Murray et al, 2013).

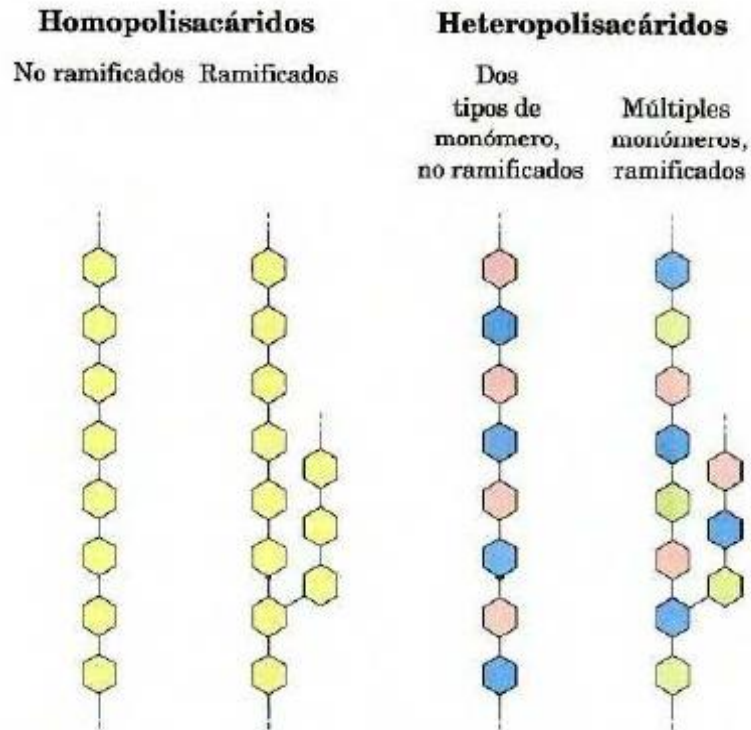


Figura 17. Homo- y heteropolisacáridos. Tomado de Nelson y Cox (2014).

Las investigaciones de los procesos biológicos, como la transducción de señales, las interacciones célula-célula y la endocitosis, entre otros procesos, han descubierto que, en general, se encuentra relacionada la participación de glicoconjugados (los cuales son conjugados de proteínas o lípidos unidos covalentemente a glúcidos) con estos procesos biológicos (**Figura 18**) (McKee y McKee, 2014).

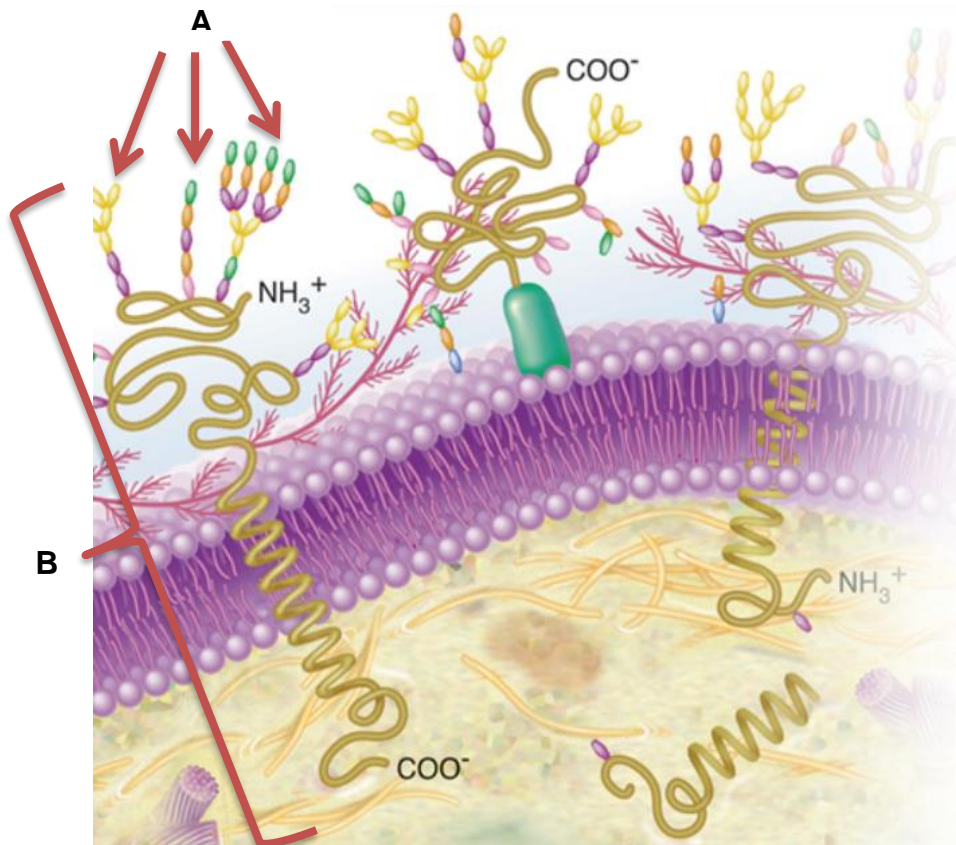


Figura 18. Glúcidos (A) y glicoproteínas (B) en la célula. Los glúcidos unidos a proteínas de membrana y lípidos son, en especial, prominentes en la superficie externa de las células. Tomado y modificado de McKee y McKee (2014).

5.2 Glicosilación

La glicosilación es un proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula, esta molécula se denomina aceptor. Una molécula aceptor puede ser de naturaleza proteica o lipídica. Por ejemplo, en las glicoproteínas, la glicosilación puede ser una modificación co- traduccional que se lleva a cabo en el retículo endoplásmico (RE) o también puede ser un proceso post-traduccional, que modifica los residuos de azúcar unidos a las proteínas en diferentes compartimientos del aparato de Golgi (Cylwik, Naklicki, Chrostek y Gruszewska, 2013). La transcripción, la traducción y el

procesamiento posterior a la traducción pueden variar según el estado de diferenciación y el microambiente de cada célula (Henrissat, Surolia y Stanley, 2015). La glicosilación es un proceso dinámico que depende del tipo de células, de su estado fisiológico de activación/diferenciación, de la expresión epigenética de diversas enzimas (glicosiltransferasas y glicosidasas), de factores de crecimiento y de citosinas, entre otros (Pinto, Morosi, Maller y Rabinovich, 2017).

Las glicoproteínas contienen una o más cadenas de carbohidratos unidas de modo covalente a la proteína. El glúcido puede representar del 1 al 70% o más de la masa de la glicoproteína (Varki et al., 2017). Se encuentran normalmente en el lado externo de la membrana plasmática (formando parte del glicocalix), en la matriz extracelular y en la membrana de los eritrocitos. Las porciones oligosacáridas de las proteínas son muy heterogéneas y forman sitios altamente específicos para el reconocimiento y la afinidad de las proteínas ligadoras de glúcidos llamadas lectinas. Las glicoproteínas presentan diversas funciones biológicas (Tabla 3); entre éstas se encuentran funciones protectoras, estabilizadoras, de organización y de señalización, etc. **(Figura 19)** (Murray et al., 2013); un ejemplo de lo anterior es el glicocálix, que cubre a todas las células eucariontas. La ubicación externa de los glicanos en la mayoría de las glicoproteínas puede proporcionar un escudo general para proteger al polipéptido subyacente del reconocimiento por proteasas o anticuerpos. Los glicanos también participan en el plegamiento adecuado de los polipéptidos recién sintetizados en el RE y/o en el mantenimiento posterior de la solubilidad y conformación de las proteínas, así mismo la glicosilación también puede modular la interacción de las proteínas entre sí y mediar un efecto de activación o desactivación en la célula.

Tabla 3. Funciones biológicas de las glicoproteínas.

Glicoproteínas	Función
Colágenos	Molécula estructural.
Mucinas	Agente lubricante y protector.
Transferrina, ceruloplasmina	Moléculas de transporte.
Inmunoglobulinas, antígenos de histocompatibilidad	Molécula inmunitaria.
Gonadotropina coriónica, hormona estimulante de la tiroides (TSH)	Hormona.
Varias proteínas involucradas en interacciones entre una célula y otra (p. ej., espermatozoide-oocito), entre virus y célula, entre bacteria y célula, y entre hormona y célula	Sitio de reconocimiento de fijación celular.
Ciertas proteínas plasmáticas de peces de agua fría	Anticongelante.
Lectinas, selectinas (lectinas de adherencia celular)	Interactúa con carbohidratos específicos.
Diversas proteínas involucradas en la acción de hormonas y medicamentos	Receptor.
Calnexina, calreticulina	Participan en el plegado de ciertas proteínas.
Notch (receptor en la transducción de señales) y sus análogos, proteínas clave en el desarrollo	Regulación del desarrollo.
Glucoproteínas específicas sobre membranas de superficie de plaquetas	Hemostasia (y trombosis).

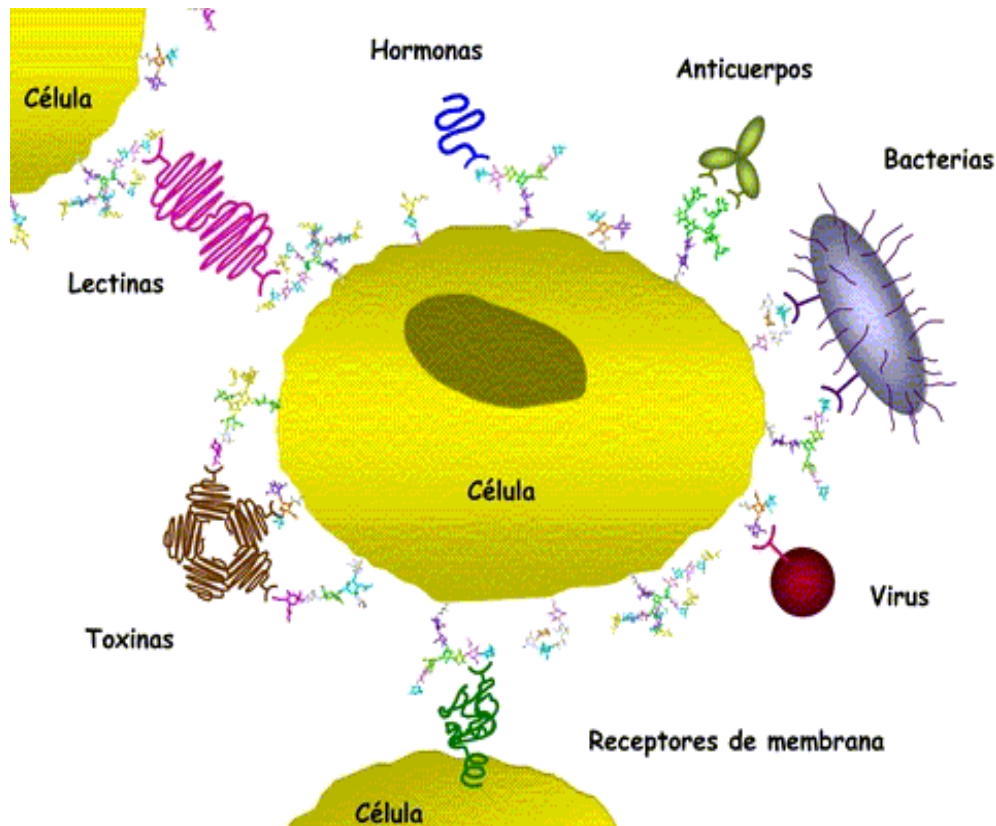


Figura 19. Funciones biológicas de los carbohidratos, los cuales funcionan como ligandos de microorganismos o receptores de membrana en las células para el reconocimiento de hormonas, anticuerpos, toxinas, etc. Tomado de <http://energiayconsumo16in.blogspot.com/2016/03/funciones-biologicas-de-los.html>.

Las modificaciones en los carbohidratos afectan las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, lo cual genera nuevas estructuras que pueden ser consideradas como determinantes antigénicos y podrían utilizarse como marcadores moleculares (Murray et al., 2013).

5.2.1 Tipos de glicosilación

A las glicoproteínas se les adicionan los oligosacáridos por distintos mecanismos, siendo los principales: la N-glicosilación y la O-glicosilación. El glúcido se une mediante

un enlace O-glicosídico con el oxígeno del grupo hidroxilo de un residuo de serina (Ser) o treonina (Thr) (O-unidos) o mediante un enlace N-glicosídico con el nitrógeno amídico de un residuo de asparagina (Asn) (N-unidos) (Varki et al., 2017).

5.2.1.1 N-Glicosilación

En este tipo de glicosilación se lleva a cabo la síntesis de un oligosacárido precursor unido a una molécula de dolicolfosfato (Dol-P) donde hay transferencia de este oligosacárido al nitrógeno de un residuo de asparagina del sitio consenso de glicosilación (Asn-X-Ser/Thr) de la proteína (**Figura 20**), esto ocurre en el RE y, finalmente, se lleva cabo el procesamiento del oligosacárido por eliminación y adición de diferentes azúcares. Las reacciones anteriores son catalizadas por glicosidasas y glicosiltransferasas, para dar lugar a glicanos más complejos y especializados, estos mecanismos se efectúan en el RE y en el aparato de Golgi (Murray et al., 2013). Este proceso de expresión de la glicoproteína puede regularse durante el desarrollo y la diferenciación de la célula, así como también las modificaciones que se efectúan cuando hay alguna patología (Stanley, Schachter y Taniguchi, 2015).

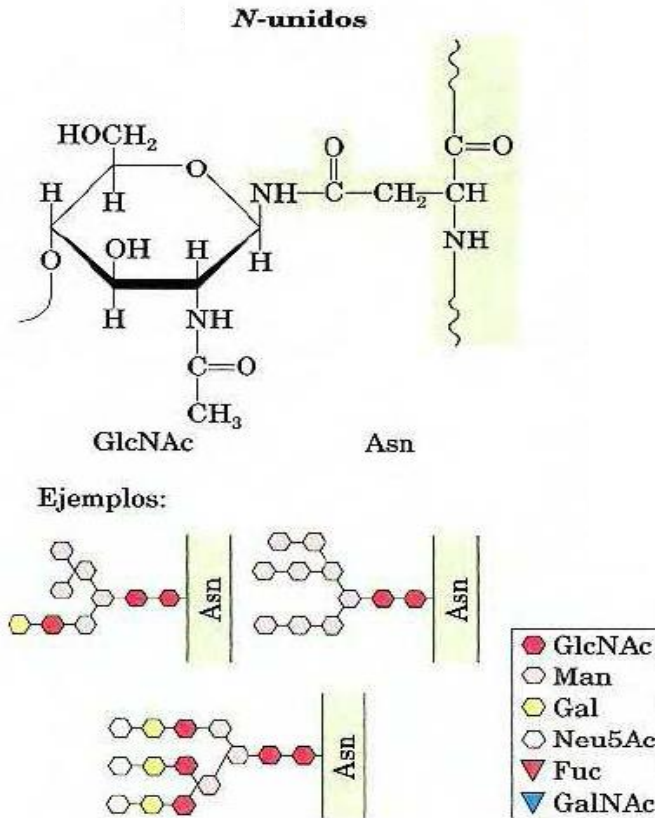


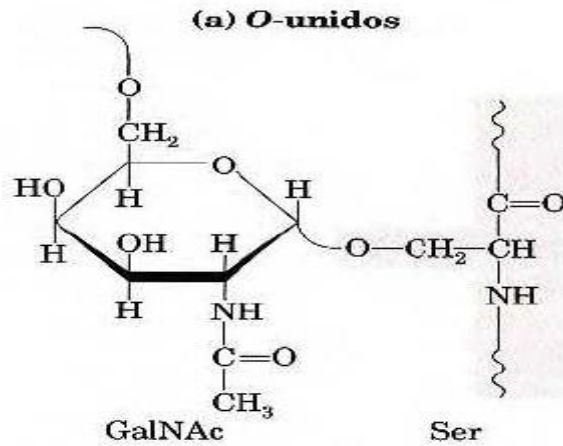
Figura 20. N-glicanos. Los N-glicanos (u oligosacáridos N-unidos) tienen un enlace N-glicosídico con el nitrógeno de la amida del residuo de Asn. Tomado de Nelson y Cox (2014).

En cuanto a los oligosacáridos unidos por N-glicosilación, se encuentran tres clases importantes de N-oligosacáridos: complejos, híbridos y con alto contenido de manosa. Cada tipo comparte un pentasacárido, $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, pero difieren en sus ramas externas. La presencia del pentasacárido común se explica por el hecho de que las tres clases de N-oligosacáridos comparten un mecanismo de biosíntesis inicial. La mayoría de todos los oligosacáridos complejos contienen 2, 3 o 4 ramas externas o antenas, así, pueden encontrarse estructuras biantenarias, triantenarias, tetraantenarias y pentaantenarias. Otras cadenas complejas pueden terminar en los monosacáridos

galactosa (Gal) o fucosa (Fuc). Los oligosacáridos con alto contenido de manosa (Man) típicamente tienen de dos a seis residuos de Man adicionales y enlazados al centro pentasacárido. Las moléculas híbridas contienen características de las otras dos clases (Murray et al., 2013).

5.2.1.2 O-glicosilación

La O glicosilación de proteínas es un proceso en el que se lleva a cabo la unión de un átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de los aminoácidos de Ser o Thr hacia un azúcar como N-acetil-galactosamina (GalNAc-Ser[Thr]) (**Figura 21**). En este caso todo el proceso tiene lugar en el lumen del Aparato de Golgi. Algunos ejemplos de O-glicanos son los O-N-acetilglucosaminilglicanos (tipo mucina), los O-xilosilglicanos (glucosaminoglicanos), los O-manosilglicanos y los O-fucosilglicanos (Murray et al., 2013).



Ejemplos:

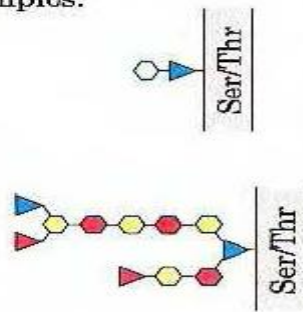


Figura 21. O-glicanos. Los o-glicanos (u oligosacáridos o-unidos) tienen un enlace glicosídico con el grupo hidroxilo de los residuos de Ser o Thr. Tomado de Nelson y Cox (2014).

Por su gran complejidad y diversidad, los O-glicanos participan en diversas funciones, por ejemplo: en la conformación de la estructura secundaria y terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas, como es el caso de las mucinas; además, muchos de los O-glicanos presentes en las glicoproteínas participan activamente en el reconocimiento celular actuando como ligando, asimismo se encuentran en diversas moléculas que juegan un papel relevante en la regulación de la respuesta inmunológica y en la transducción de señales (Gallegos et al., 2016).

Las cadenas oligosacáridicas unidas a proteínas están constituidas por tres regiones principales: (a) el núcleo o core, es la región en donde se encuentran los carbohidratos más cercanos al sitio de unión con la cadena polipeptídica, (b) el esqueleto, es la región en la cual se determina la longitud del oligosacárido y (c) la región periférica, en la que se encuentran los antígenos de importancia biológica (Gallegos, Cuevas, Pérez, Coutiño y Hernández, 2013).

La biosíntesis de glicanos está determinada principalmente por las glicosiltransferasas las cuales tienen la capacidad de catalizar una reacción de transferencia de un azúcar de un sustrato donador (por ejemplo, UDP-Gal, GDP-Fuc o CMP-Sia) a un sustrato aceptor (por ejemplo, oligosacáridos, monosacáridos, proteínas, etc.). Su especificidad es hacia el donante de azúcar y hacia el aceptor de glicanos. El resultado final es un polímero lineal y/o ramificado de monosacáridos unidos entre sí (Rini, Esko y Varki, 2015).

Otras enzimas involucradas en la biosíntesis de los glicanos son las glicosidasas que eliminan monosacáridos para formar intermediarios que luego son activados por las glicosiltransferasas (Rini, Esko y Varki, 2015).

5.2.2 Modificaciones secundarias a la glicosilación

Frecuentemente se lleva a cabo otro tipo de modificaciones terminales en las glicoproteínas, como es la sialilación y la fucosilación, las cuales están implicadas en funciones biológicas vitales y que también participan en el cáncer (Vajaria y Patel, 2017).

5.2.2.1 Sialilación

Los ácidos siálicos (Sia's) pertenecen a una familia de monosacáridos que comprenden alrededor de 40 miembros derivados del ácido neurámico, éstos pueden presentar diferentes sustituyentes en el grupo amino o hidroxilo (Vinogradova, Flores, Larios, Velázquez y Yacaman, 2014). Los Sia's se localizan en posición terminal o lateral de los oligosacáridos en las glicoproteínas (tanto en N-glicanos como en O-glicanos) y en los glicolípidos. Debido a su posición terminal y a sus características fisicoquímicas, los Sia's participan en mecanismos de atracción y repulsión de cargas, desempeñan funciones como moduladores en el transporte de moléculas y participan en interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular (Dadhich et al., 2014).

La biosíntesis de algunos glicanos es finalizada de manera normal o anticipada por la transferencia de Sia en las posiciones terminales de los carbohidratos. Esta transferencia es mediada por alguna de las 12 sialiltransferasas (STs) específicas para cada tipo de célula o tejido.

Los Sia's pueden estar unidos en el enlace α -2,3 ó α -2,6 a residuos de Gal, el enlace α -2,6 a residuos de N-acetil galactosamina (GalNAc) y el enlace α -2,8 a otro residuo de Sia. La transferencia de Sia a los oligosacáridos se da a partir de un azúcar donador activo el cual es el ácido N-acetilneuramínico citidina-5'-monofosfato (CMP-Neu5Ac). La sialilación está regulada por un balance de dos familias de enzimas: las sialiltransferasas (que agregan Sia) y las sialidasas (o neuraminidasas, Neu) que eliminan Sia (Jacob et al, 2016). Las sialiltransferasas se clasifican en 4 familias con

base en la cadena lateral de carbohidratos que sintetizan: ST3Gal (α 2, 3-ST), ST6Gal (α 2, 6-ST), ST6GalNAc y ST8Sia (α 2, 8-ST) (Ma et al., 2016).

El ácido Neu5AC es la forma predominante del Sia. Su fórmula química es $C_{11}H_{19}NO_9$. La molécula del Sia está compuesta por un anillo de piranosa en conformación de “silla” (**Figura 22**) (Hernández et al., 2017).

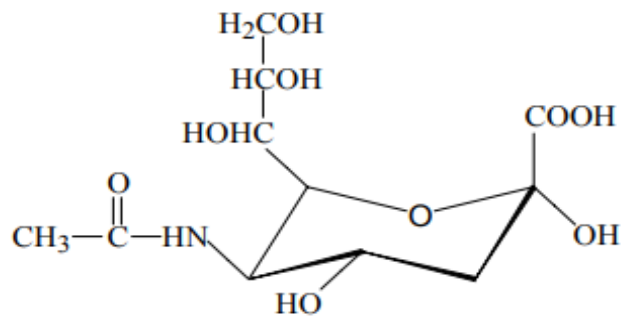


Figura 22. Estructura química del Sia o Neu5Ac.

El Sia puede tener sustituciones de uno o más grupos hidroxilo con grupos acetilo, metilo, lactilo, fosfato o sulfato, con lo que cambia el significado biológico y las propiedades de las moléculas que los contienen. Por ejemplo, una expresión alterada del Sia puede estar asociada con el comportamiento de algunas neoplasias (Hernández et al., 2017).

5.2.2.2 Fucosilación

La fucosilación es otro de los procesos pertenecientes de la modificación postraduccional por glicosilación de las proteínas. Consiste en la transferencia de un residuo de Fuc (desde el sustrato donador activo que es el guanosín difosfato-fucosa,

GDP-fucosa) a varios sustratos aceptores de azúcar, incluidos los oligosacáridos, glicoproteínas y glicolípidos (Feng et al., 2016). Las moléculas fucosiladas tienen un papel muy importante en diversos procesos biológicos y patológicos que ocurren en las células eucariontas (desarrollo tisular, angiogénesis, adhesión celular, inflamación, diseminación tumoral, entre otras) (Murray et al., 2013); por ejemplo, participa en funciones reguladoras para moléculas de adhesión y receptores del factor de crecimiento, como: la integrina $\alpha 3\beta 1$, receptor del factor de crecimiento epidérmico y receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (Wang et al., 2015).

Las reacciones de transferencia de unidades de Fuc son catalizadas por la familia de enzimas llamadas fucosiltransferasas (FUT) (Yue et al., 2016).

Según la posición en la que se incorpore el residuo de Fuc, se encuentran:

- Fucosilación $\alpha 1-2$, en este tipo de reacción se añaden residuos de Fuc mediante el enlace $\alpha 1-2$ a la Gal terminal a un resto de lactosamina. Esta reacción la catalizan la FUT1 y la FUT2.
- Fucosilación $\alpha 1-3$, se añaden unidades de Fuc mediante el enlace $\alpha 1-3$ a la GlcNAc de una lactosamina. Esta reacción es catalizada por las enzimas FUT3, FUT4, FUT5, FUT6, FUT7 y FUT9.
- Fucosilación $\alpha 1-4$, se añaden unidades de Fuc mediante el enlace $\alpha 1-4$. Esta reacción es característica de las FUT3 y FUT5, que son las únicas glicosiltransferasas capaces de catalizar la formación de más de un tipo de enlace, $\alpha 1-3$ o $\alpha 1-4$.

- Fucosilación α 1-6, también denominada fucosilación del core porque la transferencia del residuo de Fuc mediante un enlace α 1-6 se realiza sobre el resto de GlcNAc más interno del núcleo oligosacárido del N-glicano. La única enzima capaz de catalizar esta transferencia es la α 1-6 fucosiltransferasa, codificada por el gen FUT8 (Fernández, 2014).

5.3 Glicosilación en cáncer de mama

En los últimos años, la glicobiología ha tenido un papel relevante en la investigación del cáncer debido a que las moléculas glicosiladas participan en diversos mecanismos relacionados con esta enfermedad. Se ha observado que los niveles de glicosilación están relacionados con el aumento en la transformación maligna de las células tumorales y la metástasis (Vajaria y Patel, 2017); además, las alteraciones en la expresión del glicano pueden estar relacionadas con una alta o baja expresión de glicosiltransferasas (estas glicosiltransferasas están reguladas a nivel de epigenética en la transcripción) y con su actividad; por otra parte se encuentra la disponibilidad y presencia de donadores de nucleótidos de azúcar y del buen funcionamiento del aparato de Golgi, ya que es el sitio donde se localizan muchas glicosiltransferasas (Padler, 2014). De esta forma, diferentes tipos de glicoconjugados interfieren en los procesos relacionados con células cancerosas, por ejemplo, en el microambiente tumoral (Pinho y Reis, 2015), la modificación de los carbohidratos favorece la progresión del tumor (en algunos casos) debido a las interacciones de los carbohidratos con ligandos que promueven diseminación, o bien, alteran el reconocimiento normal por moléculas de la respuesta inmunológica (Gorocica, 2008).

Los cambios más frecuentes en el cáncer, asociados a la glicosilación, son la sialilación, fucosilación, truncamiento de O-glicanos y en las ramificaciones de N y O glicanos (Pinho y Reis, 2015).

Recientemente, se encontró que existen niveles altos de Sia en las células cancerosas. Vinogradova et al. (2014) demostraron que existen cantidades de Sia significativamente más altas en la saliva de pacientes con cáncer de mama que en los controles, utilizando espectroscopia mejorada de superficie Raman (SERS) (Vinogradova, Flores, Larios, Velázquez y Yacaman, 2014). Por lo tanto, se ha sugerido a esta molécula como un biomarcador que se puede obtener de manera no invasiva ya que no se involucran instrumentos que perforan la piel o que penetren físicamente en el cuerpo; además la recolección de la muestra es simple, segura y no dolorosa para la paciente (Hernández et al., 2017).

Por otra parte, también se ha demostrado la presencia de otro tipo de moléculas sialiladas en el cáncer de mama, como es el antígeno sialil-Tn (Neu5Ac α 2-6GalNAc α -O-ser/Thr), también conocido como STn. El antígeno Tn y su forma sialilada (STn) son moléculas que están presentes en todas las glicoproteínas con oligosacáridos O-unidos. El antígeno Tn forma el esqueleto polipeptídico GalNAc -Thr/Ser presente en la O-glicosilación, el cual es el precursor del antígeno T o de Thomsen-Friedenreich (Gal β 1,3GalNAc-Thr/Ser) que se forma mediante la acción de la glicosiltransferasa β 1,6GlcNAc-T (Pérez, Goncalvez, Mogollón y Bonfante, 2013). El antígeno STn (NeuAc2, 6GalNAc-Thr/Ser) se genera mediante la actividad de una sialiltransferasa que incorpora Sia en unión α 2,6 al antígeno Tn (Pérez, Goncalves, Mogollón y Bonfante, 2013). Los antígenos Tn y STn están presentes en el suero de pacientes con

cáncer de mama, en un 92%; por lo tanto, este aspecto plantea la posibilidad de la utilidad de estas moléculas en el diagnóstico precoz de esta enfermedad (Limpías, Pérez, Acosta, Vega y Ricaurte, 2013).

Ma et al. (2016) identificaron alteraciones en los genes de las sialiltransferasas (STs) en una línea celular, MDA-MB-231, la cual es una de las más utilizadas en el estudio experimental in vitro del cáncer de mama y es obtenida de un adenocarcinoma muy agresivo. Esta línea celular expresó los siguientes genes: *ST6GALNAC5*, *ST8SIA4* y *ST8SIA5*, los cuales regulan los glicoconjugados sialidados, mientras que MCF-10A, otra línea celular de cáncer de mama, pero menos agresiva, expresó en menor medida los genes: *ST6GALNAC6*, *ST8SIA2* y *ST8SIA6*. La importancia de estos genes radica en que pueden ser indicativos del nivel de agresión en el cáncer de mama debido a que en este estudio se demostró que el gen *ST8SIA4* estuvo presente, en mayor medida, en los tejidos de cáncer de mama de pacientes y en las células MDA-MB-231, por lo tanto, se especula que *ST8SIA4* sea un factor clave en la progresión maligna de la enfermedad, poniendo en evidencia la participación de la glicosilación en el desarrollo de cáncer de mama, en este caso, de los genes que codifican a glicanos sialidados (Ma et al., 2016).

La fucosilación es otro tipo de glicosilación aberrante que se presenta en el cáncer. Se ha relacionado a la fucosilación alterada con la transformación maligna, invasión y metástasis de ciertos tipos de cáncer, como el hepatocelular, el gástrico, el pancreático, el prostático y el cáncer de mama (Mehta, Herrera y Block, 2015). La fucosilación de proteínas tiene importantes funciones reguladoras, por ejemplo; las glicoproteínas fucosiladas participan como moléculas de adhesión y receptores de factores de

crecimiento, como: la integrina $\alpha 3\beta 1$, el receptor del factor de crecimiento epidérmico y el receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (Wang et al., 2015). Recientemente, se encontró que la expresión de FUT8 (la cual es una fucosiltransferasa involucrada en la fucosilación de proteínas y su gen contribuye en la malignidad de la expresión del cáncer y de la metástasis) se asocia con un pobre pronóstico hacia la paciente con cáncer de mama (Yue et al., 2016).

Respecto a los cambios presentes en la N-glicosilación, se presenta un aumento en la ramificación de GlcNAc en los N-glicanos, el cual se debe a una mayor actividad de GnT-V (alfa-1,6-manosilglicoproteína 6-beta-N-acetilglucosaminiltransferasa, involucrada en la síntesis de oligosacáridos unidos a proteínas y lípidos), que está codificada por el gen *MGAT5*. La expresión del gen *MGAT5* está regulada por RAS-RAF-MAPK (secuencia de cinasas que participan en la señalización intracelular), vía que se activa en el cáncer (Pinho y Reis, 2015) debido a las mutaciones que pueden afectar a las distintas cinasas provocando que las células cancerosas adquieran diversas funciones, como evadir la apoptosis, adquirir un potencial ilimitado de replicación y producir metástasis, entre otras (Mondragón et al., 2016). La sobreexpresión de *MGAT5* en una línea celular epitelial pulmonar resultó en la pérdida de la inhibición de contacto, aumento en la motilidad de las células y la formación de tumores en ratones atímicos, así como en la metástasis en células de ratón de carcinoma mamario (Pinho y Reis, 2015).

Durante la transformación tumoral maligna, en la O-glicosilación aberrante, se observó una sobreexpresión de glicanos truncados, como el disacárido Thomsen-Friedenreich (antígeno T también conocido como núcleo 1) y el monosacárido GalNAc (conocido

como Tn) y sus formas sializadas (ST y STn) (Kudelka, Ju, Cummings y Heimborg, 2015). La forma STn rara vez se expresa en tejidos sanos normales, pero puede detectarse en la mayoría de los carcinomas, entre ellos, el de mama (Scholz et al., 2014), correlacionándose con el aumento del crecimiento tumoral, aumento en la migración de células tumorales y pobre pronóstico para la paciente. Por lo tanto, se ha propuesto a STn como un importante marcador de pronóstico y objetivo para el diseño de vacunas anticancerígenas (Burchell, Beatson, Graham, Taylor y Tajadura, 2018).

Por otro lado, se ha observado que las mucinas se modifican de manera estructural y funcional como respuesta a procesos cancerígenos. Las mucinas son glicoproteínas que se caracterizan por tener cadenas complejas de oligosacáridos unidos mediante enlaces O-glicosídicos (Van den Steen et al., 1998); por ejemplo, la presencia de la mucina humana MUC1 en el tejido tumoral (la cual es una glicoproteína que constituye uno de los principales componentes de la superficie de las células del tejido glandular), provoca la pérdida de la polaridad de las células, interfiere en la adhesión celular y protege a la célula tumoral del reconocimiento de células del sistema inmune, favoreciendo de esta forma la metástasis (Li et al., 2006); además el acortamiento en las cadenas de O-glicanos unidos a MUC1 genera que se expongan regiones en la cadena polipeptídica que pueden ser inmunogénicas, permitiendo la generación de anticuerpos monoclonales contra éstas, los cuales han sido empleados en técnicas de IHQ para la detección temprana del cáncer de mama (Croce et al., 2006).

5.4 Lectinas

Las lectinas son un grupo de proteínas distribuidas en vegetales, animales y microorganismos; son proteínas o glicoproteínas de unión específica a carbohidratos

que no modifican la estructura de los glúcidos y no son producto de una respuesta inmunológica (a diferencia de los anticuerpos) (Murray et al., 2013). Las tablas 4 y 5 presentan algunas lectinas importantes y la especificidad que tienen hacia los oligosacáridos, respectivamente.

Tabla 4. Algunas lectinas importantes.

Lectinas	Ejemplos o comentarios
Lectinas de legumbres	<i>Concanavalina A</i> , lectina de chícharo.
Aglutinina de germen de trigo	Ampliamente usada en estudios de superficies de células normales y células cancerosas.
Ricino	Glicoproteína citotóxica derivada de las semillas de la planta ricino.
Toxinas bacterianas	Enterotoxina <i>E.coli</i> lábil al calor y toxina del cólera <i>Vibrio cholera</i> .
Hemaglutinina del virus de la influenza	Se encarga de la fijación de la célula huésped.
Lectinas tipo C	Se caracterizan por un dominio de reconocimiento de carbohidrato (CDR) dependiente de Ca^{2+} , incluyen el receptor de asialoglicoproteína de mamífero, las selectinas y la proteína de unión a manosa. Como: Langerina y DC-SIGN.
Lectina de tipo S	Lectinas de origen animal de unión a β -galactosidasa con funciones en interacciones entre una célula y otra, y entre célula y matriz.
Lectinas tipo I	Miembros de la superfamilia de inmunoglobulina, p. ej., la sialoadhesina media la adherencia de macrófagos a diversas células.

Tabla 5. Tres lectinas vegetales y los azúcares con los cuales interactúan.

Lectina	Abreviatura	Azúcares
<i>Canavalia ensiformis</i>	ConA	α -D-manosa y α -D-glucosa
<i>Amaranthus leucocarpus</i>	ALL	N-acetil- α -D-galactosamina
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	N-acetil- β -D-glucosamina

Las lectinas casi siempre presentan especificidad para la naturaleza anomérica del enlace glicosídico (α o β).

Las interacciones moleculares basadas en el reconocimiento específico entre las lectinas y glicanos cumplen un papel muy importante en múltiples procesos biológicos, ya que reconocen carbohidratos terminales específicos de los glicoconjugados en células, cortes de tejidos y fluidos biológicos, siendo valiosas herramientas en biotecnología, incluyendo el diagnóstico y aplicaciones terapéuticas (Barroso et al., 2017); (Da Silva et al., 2014); (Hirabayashi, 2015).

5.4.1 El dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC) de las lectinas

El análisis de la estructura de diferentes monómeros de lectinas ha revelado una alta similitud estructural entre estas moléculas. Los aminoácidos conservados en las lectinas incluyen aquellos que corresponden al dominio de reconocimiento de carbohidrato (DRC) (Bezerra et al., 2013). El DRC es una de las características estructurales ampliamente estudiada de las lectinas (Varki, Etzler, Cummings y Esko, 2015). El DRC presenta dos subsitios, el primero de ellos corresponde al sitio donde se da la interacción con el monosacárido, mientras que el otro, que se conoce como sitio extendido, permite la interacción con oligosacáridos más complejos. El DRC posee la capacidad de unirse a ciertos azúcares mediante interacciones moleculares no

covalentes, como puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Vázquez, Rivadeneyra y Díaz, 2014).

5.4.2 Clasificación y actividad biológica de las lectinas

Inicialmente, las lectinas se clasificaron por su especificidad en el reconocimiento de carbohidratos. Estudios realizados al respecto han permitido establecer nuevas clasificaciones (Varki, Etzler, Cummings y Esko, 2015), entre ellas, las lectinas animales que están involucradas en procesos de reconocimiento y señalización en el sistema inmune, así como en procesos vasculares (por ejemplo, los receptores para lectina tipo C [C-type lectin receptors, CLRs] que constituyen un grupo muy diverso de lectinas en mamíferos, en el que se incluyen el receptor de manosa de macrófagos, la selectina E y la proteína sérica de unión a manosa, entre otros), las lectinas de unión a Sia (también llamadas siglecs, las cuales son proteínas transmembranales exclusivas de los vertebrados que se caracterizan por poseer un DRC en la región amino-terminal, al igual que las lectinas de tipo I), las lectinas de tipo P (que reconocen manosa 6 fosfato y son exclusivas de vertebrados) y las galectinas (que se caracterizan por su capacidad por unirse a Gal y, además, son secretadas) (**Figura 23**) (Pinto, Morosi, Maller y Rabinovich, 2017).

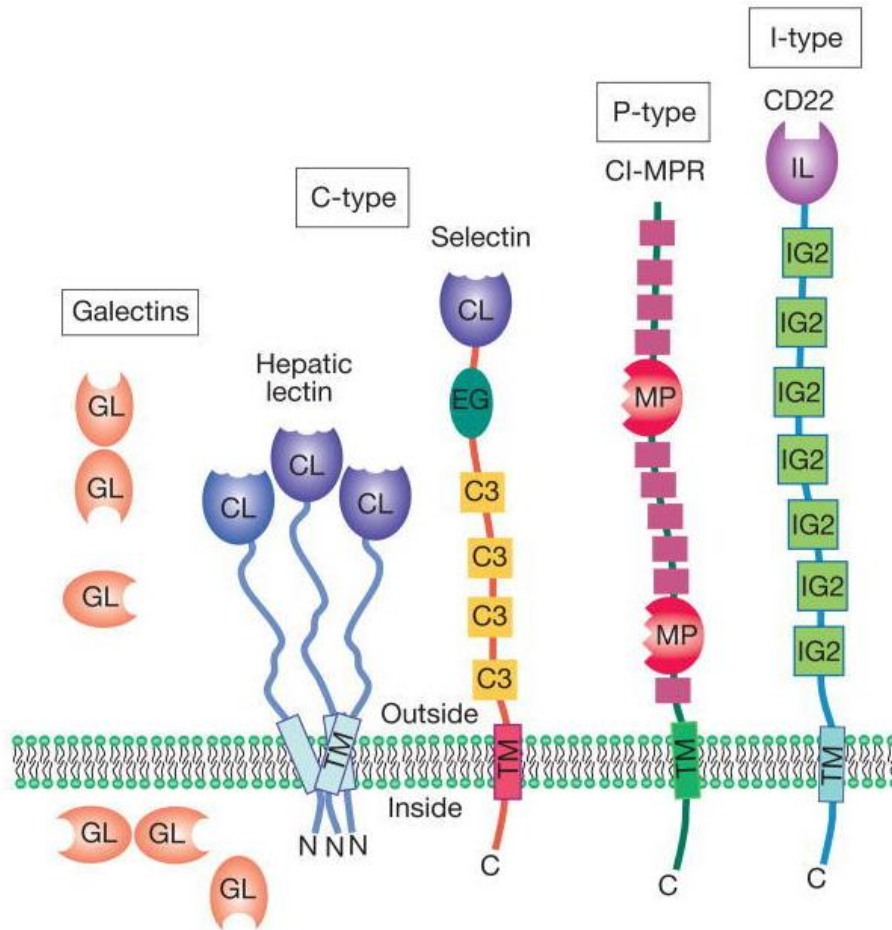


Figura 23. Ejemplos de los principales tipos de lectinas animales. Se representa el dominio extracelular y los dominios de reconocimiento para carbohidratos (DRC): (CL) lectina CRD de tipo C; (GL) lectina de tipo S; (MP) lectina de tipo P; (IL) lectina tipo I. Tomado de Varki, Etzler, Cummings & Esko (2015).

Todas las actividades biológicas descritas para las lectinas tienen en común el reconocimiento de carbohidratos y presentan gran importancia debido a sus propiedades biológicas, como son el reconocimiento y la eliminación de glicoproteínas del sistema circulatorio, la eliminación de células envejecidas, de células tumorales y de microorganismos, entre otros. En cuanto a las galectinas, participan en mecanismos de inmunomodulación, la adhesión celular, regulación del crecimiento, metástasis y

proliferación celular, etc. (Gallegos, Cuevas, Pérez, Coutiño y Hernández, 2013). A su vez, las galectinas se subdividen en tres grupos con base a sus características estructurales: las galectinas “prototipo” (galectinas 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 y 15) que poseen un único DRC y pueden encontrarse como monómeros o como dímeros, las galectinas de tipo “tándem” (galectinas 4, 6, 8, 9 y 12), las cuales contienen dos DCRs homólogos en una misma cadena polipeptídica y la galectina 3, que es la única perteneciente del grupo “quimera” y posee un único DRC (**Figura 24**) (Pinto, Morosi, Maller y Rabinovich, 2017).



Figura 24. Clasificación de las galectinas según su estructura. Tomado de Gallegos, Cuevas, Pérez, Coutiño y Hernández (2013).

En cuanto a las lectinas vegetales, presentan diversas funciones: participan en las interacciones entre las bacterias fijadoras de nitrógeno con la raíz de leguminosas y pueden tener efectos protectores en contra de ciertos microorganismos patógenos, como es el caso de nemátodos fitopatógenos, entre otras. Las lectinas vegetales suelen clasificarse de varias maneras; por ejemplo, hacia las estructuras oligosacáridicas que reconocen (Díez, 2013). Actualmente, debido a la gran cantidad

de datos cristalográficos de lectinas vegetales, se ha propuesto una nueva clasificación de ellas con base en su estructura molecular; por ejemplo, las lectinas aisladas de leguminosas, las lectinas con dominios tipo heveína o específicas de quitina, las lectinas aisladas de monocotiledóneas específicas de Man, las lectinas de tipo jacalina y las lectinas de tipo amaranto (Vázquez, Rivadeneyra y Díaz, 2014).

Las lectinas se consideran valiosas herramientas en el campo de la genética, la biomedicina y la inmunología debido a su especificidad para reconocer carbohidratos, por ello, se han utilizado ampliamente para la identificación de glicanos presentes en algunas patologías, como en el cáncer (Rodríguez et al., 2013); por ejemplo, mediante la técnica de histoquímica, se ha descrito el uso de la lectina vegetal de *Vicia villosa* (VVA), con especificidad hacia GalNAc, para reconocer al antígeno Tn (GalNAc α -Ser/Thr) en el cáncer de mama; obteniendo una intensa marcación en muestras de carcinomas ductuales *in-situ* e infiltrantes en comparación con muestras provenientes de la glándula mamaria no neoplásica, demostrando que existe un aumento significativo de este antígeno en procesos cancerígenos; por lo tanto éste último puede ser considerado como factor pronóstico en esta enfermedad (Limpas et al., 2010). Respecto a las lectinas de animales, se ha visto que la galectina 3 es necesaria para el inicio de la transformación celular en el desarrollo del tumor (Simone et al., 2014).

5.4.3 Lectinas en el análisis de glicoproteínas

Como se ha mencionado anteriormente, la glicosilación anormal ocurre en casi todos los tipos de cáncer en humanos y un gran número de glicanos se relacionan con la presencia de tumores. La detección específica de los glicanos modificados asociados al

cáncer tienen una gran promesa para mejorar el diagnóstico de estados precoces de esta enfermedad (Burchell, Beatson, Graham, Taylor y Tajadura, 2018) ya que ofrecen biomarcadores más precisos y específicos para el tratamiento y monitorización del cáncer debido a que su estructura puede variar ampliamente de un tipo de cáncer a otro y, potencialmente, mostrar especificidad hacia una determinada enfermedad. En la glicosilación, la expresión anormal de una sola enzima que participe en dicho proceso puede alterar los pasos siguientes y causar estructuras aberrantes de oligosacáridos; además, las glicosilaciones alteradas en las células cancerosas presentan una correlación positiva en la progresión del tumor; por lo tanto, se destaca la importancia de obtener información sobre los patrones de glicosilación alterados para entender la condición fisiopatológica del tumor (Kudelka, Ju, Cummings y Heimburg, 2015). Aunque hay muchas glicoproteínas descritas como marcadores candidatos para varios tipos de cáncer, sólo diez han sido aprobadas por la Administración de Drogas y Alimentos de los E.U.A. (FDA) para su uso como diagnóstico clínico en el cáncer presente en humanos (Tabla 6) (Bennet et al., 2013).

Tabla 6. Lectinas que presentan la especificidad de algunos glicanos como marcadores de varios tipos de cáncer aprobados por la FDA de los E.U.A.

Tipo de Cáncer	Marcador glicoproteína	Glicano de reconocimiento	Lectina específica
Pecho	CA15-3/ CA27-29	3-sulfatado core1; Sialilación terminal	Galectina-4
	HER2	Fucosilación proximal	Aglutinina <i>Ulex europaeus</i>
Próstata	PSA	α 2-3 Sialilación	Aglutinina <i>Maackia amurensis</i>
Ovario	CA125 (MUC16) HE4	GalNAc (Tn) Antígenos de grupos sanguíneos	Lectina <i>Vicia villosa</i> <i>Griffonia simplicifolia</i>
Colorectal	CEA	Sialil Lewis ^x	DC-SING
Carcinoma hepatocelular	AFP	α -1,6 fucosilación core	Aglutinina <i>Lens culinaris</i>
Toroides	Tg	Galactosilación terminal	Aglutinina <i>Wisteria floribunda</i>
Cáncer pancreático	CA19-9	Sialil Lewis ^A	N.A.

La mayoría de los marcadores tumorales asociados al desarrollo del cáncer que han sido descritos hasta la fecha son glicoproteínas y, debido a que los cambios en la glicosilación se presentan antes que los cambios morfológicos y fisiológicos sean evidentes durante la transformación neoplásica en la célula cancerosa, la identificación y caracterización de dichas estructuras tiene un gran potencial para llevar a cabo un diagnóstico oportuno (Kirwan, Utratna, O'Dwyer, Joshi y Kilcoyne, 2015). Dado la afinidad de las lectinas para distinguir entre diferentes estructuras de glicanos, éstas pueden ser utilizadas para identificar glicanos específicos del cáncer, lo cual ayudaría a mejorar la especificidad del diagnóstico de esta enfermedad. Se ha demostrado la

utilidad de las micromatrices de lectina para estudiar múltiples interacciones de lectina-glicano en un solo experimento (Hirabayashi, Yamada, Kuno y Tateno, 2013).

5.4.3.1 Micromatrices de lectina

Las micromatrices de lectina pueden fungir como una alternativa atractiva para estudiar múltiples interacciones lectina-glicano en un solo experimento sin la necesidad de obtener oligosacáridos purificados a partir de una muestra (Hirabayashi, 2015). Así, las micromatrices de lectina presentan una ventaja sobre los métodos convencionales, incluyendo el HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento) y MS (espectroscopia de masas) para el análisis de los glicanos. Con los métodos convencionales, existe la necesidad de una eliminación previa de la región proteica perteneciente a los glicoconjugados seguido de un marcaje inmunohistoquímico fluorescente para permitir la detección; por ejemplo, en la MS, que ha sido utilizada para la identificación de glicoproteínas presentes en el suero, éste último debe ser digerido con tripsina, seguido de la captura de glicoproteínas utilizando una o más lectinas. El complejo lectina-glicoproteína es desglicosilado y, posteriormente, analizado por MS. Aunque la MS permite la identificación de glicoproteínas de baja concentración en el suero, esta técnica utiliza la muestra con poco rendimiento debido al tratamiento que recibe (Drake et al., 2014).

Una mezcla o muestra cruda, como muestras de suero y extractos de tejido sin un tratamiento previo, se pueden aplicar directamente en las micromatrices de lectina sin la necesidad de un prefraccionamiento de los glicanos (Pilobello, Agrawal, Rouse y Manal, 2013). Aunque la técnica de micromatrices de lectina no proporciona

información detallada sobre la estructura o composición del glicano, ciertamente lo hace con ayuda de la identificación de los patrones de unión de las lectinas, que tienen diferentes especificidades de unión a carbohidratos, del cual se tiene un conocimiento previo (Pilobello, Agrawal, Rouse y Manal, 2013).

Recientemente, las micromatrices de lectina han sido utilizadas para describir los carbohidratos modificados en el carcinoma pulmonar (Hirao et al., 2014), el colorrectal (Nakajima et al., 2015), el gástrico y el cáncer de próstata. (Yamashita et al., 2016).

5.4.3.1.1 Fabricación de micromatrices de lectina

Se inmovilizan múltiples lectinas en puntos separados en una superficie sólida, por ejemplo, un portaobjetos. Estos portaobjetos suelen ser precubiertos en la superficie con varios químicos, tales como ésteres N-hidroxisuccinimidil, epóxidos, estreptavidina biotina e hidrogeles 3D (Hirabayashi, 2015). Sin embargo, estos paneles de lectinas inmovilizadas en la superficie de las micromatrices a menudo se obtienen de fuentes naturales y se derivan problemas asociados con algunas variaciones en los lotes de estas lectinas a partir de sus métodos de obtención. Tales variaciones pueden llevar a complicaciones en las características de reconocimiento. Estos problemas se pueden resolver, ya sea mediante la desglicosilación de las lectinas o mediante el uso de lectinas de bacterias que carecen de glicosilación (Ribeiro y Mahal, 2013). La estrategia de producción de lectinas recombinantes puede ayudar a solucionar estos problemas y también a la producción de alto rendimiento de estas moléculas (Syed et al., 2016).

5.4.3.1.2 Preparación de muestras y detección de interacciones lectina-glicano en micromatrices

Con una mínima cantidad de muestra y sin la necesidad de la purificación de glicanos, las micromatrices de lectina permiten un rendimiento alto y rápido; además, son sensibles a diferentes muestras clínicas, tales como secciones de tejido, muestras de suero, orina y saliva (Syed et al., 2016). El método de etiquetado directo es el más empleado para la preparación de muestras. En este método se tratan los tejidos tumorales (preparados con parafina y fijados con formalina) con xileno y etanol. Las muestras están marcadas con un tinte fluorescente, como Cy3 (colorante sintético de cianinas) que se utiliza para identificar las interacciones entre la lectina y el glicano **(Figura 25)** (Matsuda et al., 2015); (Roy et al., 2014); (Hirabayashi, Yamada, Kuno y Tatenno, 2013); (Hirao et al., 2014).

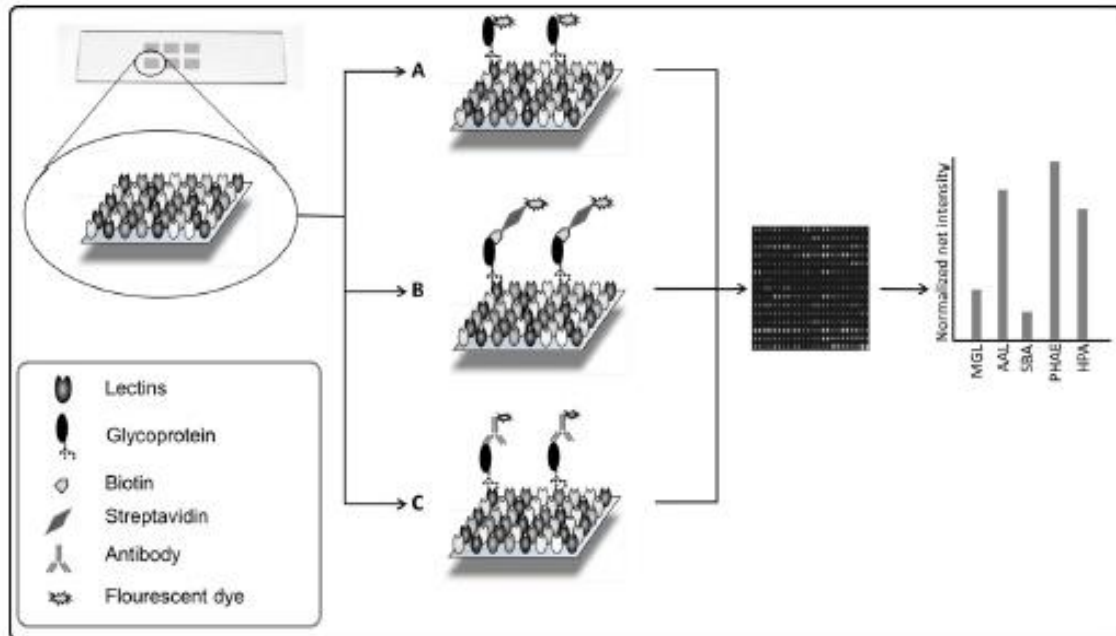


Figura 25. La ilustración describe la metodología para la identificación de la interacción lectina-glicano. Las lectinas, que se inmovilizan en el portaobjetos, se pueden sondear con (A) una glicoproteína directamente marcada con un colorante fluorescente, (B) una glicoproteína biotinilada la cual es detectada por estreptavidina marcada con fluorescencia, o (C) una glicoproteína no marcada que se detecta usando anticuerpos marcados con fluorescencia. Las señales obtenidas de las micromatrices de lectina se someten a análisis estadístico. Tomado de Syed *et al.* (2016).

5.4.3.2 Micromatrices de lectina en el diagnóstico de cáncer de mama

Como se ha mencionado anteriormente, los cambios aberrantes en los glicanos de las células, como la sialilación, fucosilación, O-glicanos truncados y aumento en la ramificación de N-glicanos están relacionados con la progresión del cáncer provocando metástasis, lo cual refleja la necesidad de encontrar estos glicanos modificados para obtener un diagnóstico más específico (Zhou *et al.*, 2015). Así, las micromatrices de lectina surgen como una tecnología significativamente prometedora para obtener las

características de las modificaciones de glicanos pertenecientes a las células cancerosas (Pilobello, Agrawal, Rouse y Manal, 2013).

Actualmente, existe una necesidad urgente de entender los mecanismos asociados a la metástasis en cáncer de mama triple negativo (TNBC), el cual corresponde al peor pronóstico de cáncer de mama, caracterizado por la falta de expresión de receptores y la sobreexpresión de HER2. En un estudio realizado por Zhou et al. (2015), utilizaron una micromatriz de lectina (**Figura 26**) que contenía 91 lectinas para comparar los glicanos presentes en la superficie celular de una línea celular de TNBC, la cual fue MDA-MB-231 y otras cinco líneas celulares diferentes (SCP2, SCP4, SCP6, SCP28 y 4175), provenientes de un carcinoma mamario de oveja. Se encontró que una sola lectina específica de Gal terminal, aglutinina I *Ricinus communis* (RCA-I), se une a estas células en un grado que es proporcional a su capacidad metastásica. Este resultado fue confirmado utilizando micromatrices de lectinas con muestras de tejidos derivados de pacientes con TNBC, donde se observó una mayor unión a una etapa de la enfermedad con alta capacidad metastásica (Kang y Pantel, 2013), por lo tanto, un beneficio adicional de este medio de caracterización es la capacidad de identificar lectinas específicas que podrían correlacionarse directamente con la capacidad metastásica de las células. En general, estos resultados demuestran una participación notable de RCA-I en la identificación de los glicanos presentes en la membrana celular que son específicos en la metástasis del TNBC y, de manera importante, identificar a RCA-I en las micromatrices de lectina como un posible medio de diagnóstico para este tipo de cáncer de mama (Zhou et al., 2015).

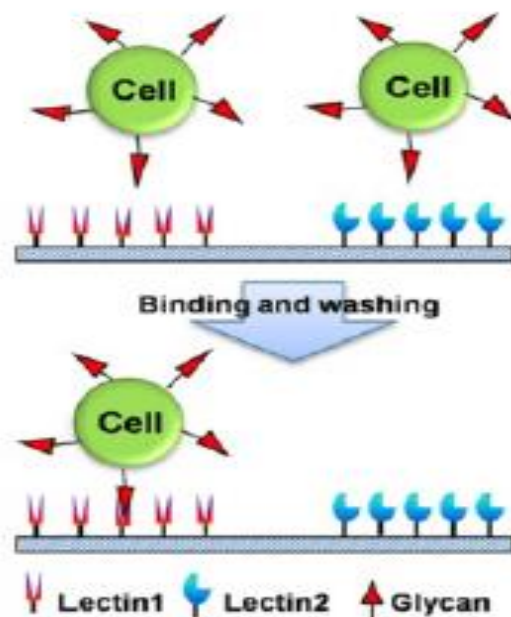


Figura 26. Identificación de la unión de la lectina específica de metástasis a las células TNBC. Tomado de Zhou *et al.* (2015).

En una investigación realizada por Fry *et al.* (2013) se llevó a cabo otro estudio con micromatrices de lectina. Se utilizaron 45 lectinas que cubrían la detección de la mayoría de los glicoconjugados conocidos formados por N-glicanos y O-glicanos, las muestras que se emplearon fueron tumores de mama primarios en FFPE (formalin-fixed paraffin-embedded) provenientes de ganglios linfáticos; además se tomaron muestras de suero y orina de pacientes con cáncer de mama primario, con sus respectivos controles positivos y negativos. El patrón de unión a lectina parece ser indicativo de cambios en la glicosilación que se producen en el cáncer de mama metastásico y no metastásico. Por ejemplo, dos de las lectinas empleadas, *Psophocarpus tetraganobus* (PTL-I) proveniente del frijol alado (la cual reconoce el azúcar Gal) y la lectina Jacalina, proveniente de la yaca (con especificidad hacia α -

manósidos) mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) hacia la unión en las muestras de tumores de mama metastásicos en comparación con los tumores de mama sin metástasis; sin embargo, en muestras provenientes de suero y orina de pacientes con metástasis, fueron dos lectinas que presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$) respecto a la unión con los glicoconjugados presentes: las lectinas AOL (*Aspergillus oryzae* proveniente del hongo koji) y GNA (*Galanthus nivalis* proveniente de la planta “campanilla”) las cuales muestran una unión más elevada respecto a la unión de las lectinas RCA120 (aglutinina *Ricinus communis*, de la semilla del árbol de ricino) y PHA-E (eritroaglutinina *Phaseolus vulgaris*, provenientes del frijol). La lectina AOL manifiesta unión específica hacia el núcleo de Fuc y la lectina GNA presenta preferencia de unión por los N-glicanos que contienen en su membrana varios grupos de Man; por lo tanto, lo anterior es indicativo de que existe un aumento de Fuc y Man en el suero y en la orina de pacientes con metástasis. Fry et al. (2013) sugirieron que las micromatrices de lectinas, compuestas por lectinas que presentan afinidad hacia diferentes oligosacáridos, muestran una mayor predicción del diagnóstico en comparación con marcadores individuales, especialmente en una enfermedad heterogénea, como lo es el cáncer de mama, en donde se llevan a cabo distintas modificaciones en la glicosilación. Además, se logró demostrar que algunos glicanos son indicativos de metástasis y que pueden ser analizados a partir de muestras como el suero y la orina; sin embargo, también sugieren que los patrones de unión derivados de las distintas muestras (tumores, sangre y orina) difieren entre sí, por lo que se debe considerar el tipo de muestra a analizar para presentar resultados homogéneos y confiables (Fry et al., 2013).

5.4.3.3 Las lectinas aportan información en distintos tipos de estudio sobre el cáncer

En estudios previos se ha investigado el uso de nuevos biomarcadores en pacientes con cáncer, ejemplo de ello, el receptor de manosa (MR) (Liu, Guan, Gao, Jiang y Kang, 2017). El MR es una proteína transmembranal de 175 kDa que contiene un dominio amino terminal rico en cisteínas (DRC, que participa en el reconocimiento de azúcares sulfatados) un dominio único de fibronectina del tipo II (FNII, que participa en la unión a colágeno), ocho dominios de lectina de tipo C (CTDLs, dependientes de Ca^{2+} , encargados del reconocimiento de carbohidratos), un dominio intermembrana y una porción intracelular de 45 aminoácidos (**Figura 27**); además esta proteína puede sufrir modificaciones postraduccionales tales como N- y O-glicosilación (Arancibia, 2013). El MR está involucrado en múltiples funciones, como en la unión e internalización de una gran variedad de glicoproteínas que poseen residuos terminales de Man, Fuc y GlcNAc, participa en la limpieza de diversas macromoléculas solubles que normalmente son liberadas a los fluidos corporales durante los procesos inflamatorios tales como enzimas lisosomales, mieloperoxidasas derivadas de neutrófilos, hormonas tiroideas y mucinas que poseen residuos sulfatados del tipo Lewis^x, entre otras (Fang, Tao, Zhang y Lu, 2019). El MR fue descubierto en humanos, específicamente en macrófagos, para luego ser encontrado en células dendríticas y una gran variedad de células endoteliales y epiteliales (Wileman, Lennartz y Stahl, 2013).

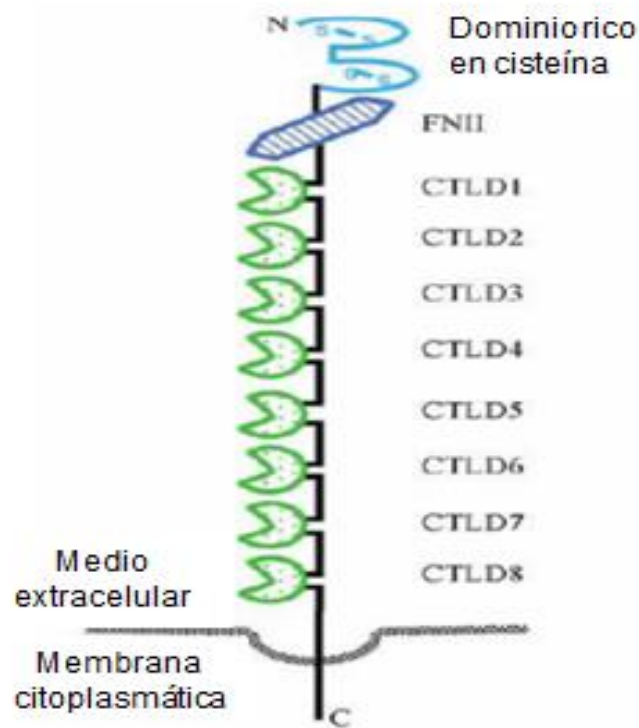


Figura 27. Esquema de los dominios del MR. Tomado de http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2012/qf-arancibiaz_sa/pdfAmont/qf-arancibiaz_sa.pdf.

El MR está presente en el suero de personas sanas, además de ser una proteína transmembranal, pero también se ha detectado en fluidos y tejidos corporales provenientes de distintos tipos de cáncer, por ejemplo, en la glándula mamaria, anteriormente el MR sólo se había detectado en secreciones de la glándula mamaria durante la lactancia, en las que se había hallado un solo sitio de glicosilación en esta molécula (Picariello, Ferranti, Mamone, Roepstorff y Addeo, 2013); sin embargo, en un estudio realizado por Fang et al. (2019) se encontró que los MRs solubles se encuentran en muestras de suero de pacientes sanos como en muestras de suero de pacientes con cáncer de mama; mientras que el MR tipo membrana está únicamente

en el suero de pacientes con cáncer de mama, incluyendo los 4 subtipos de esta enfermedad (Luminal A, Luminal B, HER + y TNBC). Lo anterior fue descubierto utilizando técnicas como Western Blot y ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) con el uso de anticuerpos específicos para MR tipo membrana (**Figura 28**) (Fang et al., 2019).

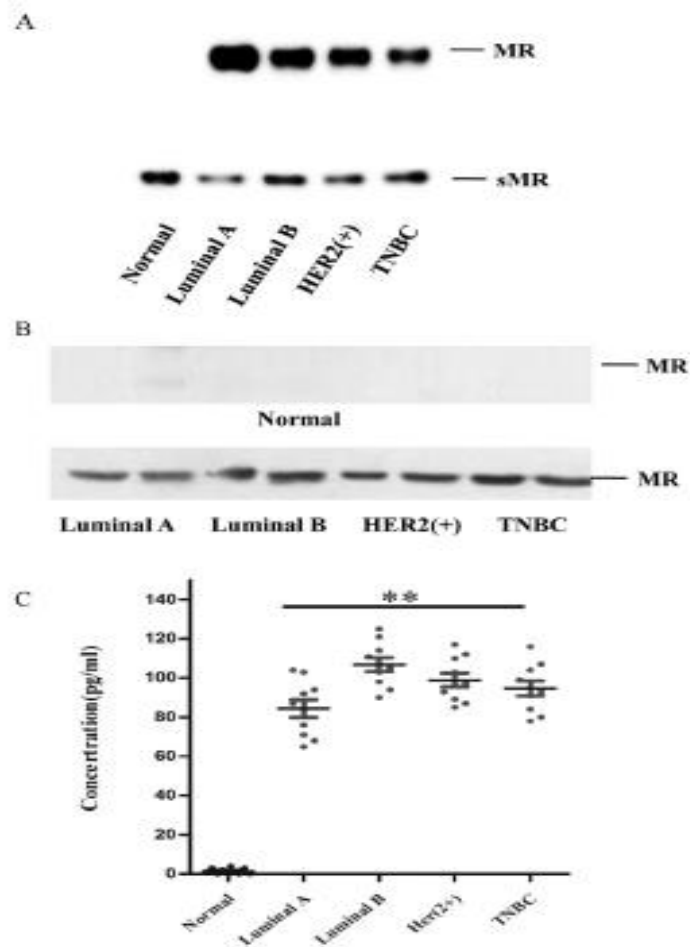


Figura 28. Detección de la expresión de MR mediante Western Blot y ELISA. A) Western blot de la muestra de suero usando anticuerpos anti-MR. B) Western blot de la muestra de suero usando un anticuerpo específico anti-MR tipo membrana. C) Resultados de la prueba de ELISA del suero de pacientes sanos y pacientes con cáncer de mama usando anticuerpos específicos anti-MR tipo membrana, Los valores se presentan como media \pm s.e.m, *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$. Tomado de Fang, Tao, Zhang y Lu (2018).

Además, se utilizaron lectinas con especificidad distinta hacia diferentes carbohidratos: LCA (*Lens culinaris*) y SNA (*Sambucus nigra*) para el reconocimiento de glicanos complejos y ácido siálico, así como ConA (*Canavalia ensiformis*) y PHA-E (*Phaseolus vulgaris*) para el reconocimiento de Man y carbohidratos híbridos, respectivamente. Los resultados obtenidos muestran que MR tipo membrana en pacientes con cáncer está compuesta por glicanos complejos y Sia (**Figura 29**).

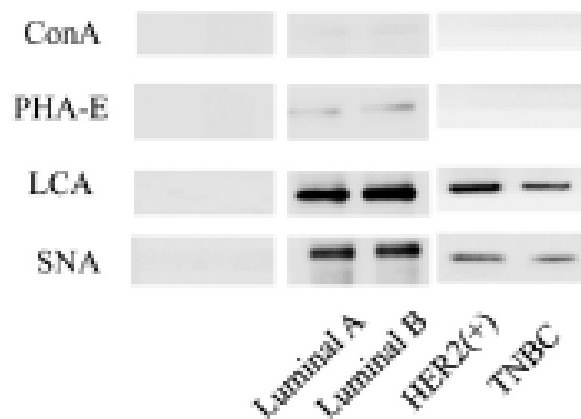


Figura 29. Western blot de las muestras de suero usando 4 tipos distintos de lectina (ConA, PHA-E, LCA, SNA) mostrando que las lectinas LCA y SNA presentan mayor reconocimiento hacia los azúcares presentes en el cáncer de mama Luminal A y luminal B, los cuales corresponden a glicanos complejos y Sia. Tomada de Liu et al. (2017).

Sin embargo, para distinguir el tipo de glicosilación de forma más completa, se utilizó la técnica de MS encontrando 6 tipos de glicosilación. Comparando cada subtipo de cáncer de mama, se descubrieron diferencias en los sitios de glicosilación del MR tipo membrana lo cual puede deberse a que la glicosiltransferasa se expresa, de forma diferente, en los distintos subtipos de este tipo de cáncer (Suman et al., 2016). De acuerdo con los resultados anteriores se pudo establecer un “código de barras” con

base a los distintos tipos de glicosilación ya cada subtipo de esta enfermedad presenta su propio sitio de glicosilación en su MR. Con los resultados obtenidos se demuestra que las glicoproteínas aberrantes presentes en cáncer de mama podrían funcionar como biomarcadores para el diagnóstico y así poder obtener resultados más precisos. Además, el suero de un paciente es considerado como la muestra clínica más deseable en este tipo de estudios ya que se puede obtener de manera no invasiva (Farber et al., 2017). De manera tradicional, se utiliza la técnica de IHQ en muestras provenientes de tejidos y la detección de biomarcadores glicosilados en el suero puede ahorrar mucho tiempo, adicionalmente de que es una técnica rápida, fácil, segura y confiable para el diagnóstico y para la identificación de estos biomarcadores sin la necesidad de una cirugía, como las biopsias.

5.4.3.4 Lectinas y anticuerpos en el diagnóstico del cáncer de mama

Además de las técnicas antes mencionadas, las lectinas se han empleado junto con los anticuerpos para establecer una mayor sensibilidad en la técnica. Park et al. (2013) utilizaron una técnica similar al ensayo de ELISA tipo sándwich para detectar una glicoproteína (CA15-3) presente en el cáncer de mama mediante el uso de lectinas. En el ensayo ELISA tipo sandwich convencional, se recubre un pocillo con un primer anticuerpo, posteriormente se aplica la muestra problema que contiene al antígeno el cuál será reconocido por el primer anticuerpo para ser detectado por un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado y así presentar una señal de detección (Pascacio, 2013). En este estudio, en la técnica de ELISA, se utilizó un anticuerpo y dos lectinas para la detección de un antígeno específico, el cual fue CA15-3 (antígeno de carbohidrato 15-3), que detecta la proteína MUC1 soluble. En estudios anteriores se ha

demostrado que CA15-3, en concentraciones normales en el suero, se encuentra por debajo de 30 µg/mL; sin embargo, cuando el cáncer de mama avanza, la concentración de esta glicoproteína se eleva significativamente en comparación con personas sanas. Las lectinas empleadas para identificar la porción del glicano unido a CA15-3 corresponden a la aglutinina de cacahuete (PNA) y la aglutinina SNA, las cuales tienen especificidad hacia el antígeno TF y el Sia presentes en la glicoproteína CA15-3, respectivamente. En el ensayo sandwich, se fijó el anticuerpo anti-CA15-3, posteriormente, se agregó la lectina PNA y SNA, ambas marcadas con fluoromicroperlas y mediante microscopia de fluorescencia se observaron las señales ópticas. El propósito de usar un anticuerpo y una lectina es para tener una mayor sensibilidad en la técnica, ya que el anticuerpo monoclonal reconoce el esqueleto peptídico de CA15-3 y las lectinas identifican los glicanos presentes en la glicoproteína. Al emplear la lectina y el anticuerpo en conjunto se optimizaron las condiciones de detección de afinidad, cubriendo de esta manera el rango de detección clínico requerido y el límite de señalización.

El estudio realizado por Park et al. (2013) resulta prometedor para un diagnóstico con una alta sensibilidad y especificidad utilizando a CA15-3 como biomarcador y las lectinas PNA y SNA como un medio para su detección debido a que los cambios en la concentración de CA15-3 en el suero de pacientes es importante para el diagnóstico precoz del cáncer de mama (Park et al, 2013).

5.5 La galectina-3 en el desarrollo del cáncer de mama

Desde el descubrimiento de las galectinas, éstas se han ido relacionando con el desarrollo del cáncer, la insuficiencia cardiaca, los procesos autoinmunes e inflamatorios, entre otros. El papel de las galectinas en diversas neoplasias ha sido ampliamente estudiado, siendo la galectina-3 unas de las más relevantes (Alalawi et al., 2014).

La galectina-3 es una proteína de 26 KDa y funciona como un receptor para ligandos que contienen poli N-acetil-galactosamina y también reconoce residuos terminales de β -galactosa (Mayoral et al., 2018). Se encuentra en el epitelio de diferentes órganos y en células de la respuesta inflamatoria (como macrófagos, células dendríticas y células de Kupffer); además presenta funciones intracelulares y extracelulares. Entre sus funciones intracelulares, se encuentra su participación en el ciclo celular, reduce la apoptosis de las células T, participa como un factor de empalme del RNA mensajero; además es secretada por monocitos, macrófagos y células epiteliales. Como funciones extracelulares, algunas de ellas son la activación de monocitos, macrófagos, mastocitos e interviene en las interacciones entre célula-célula y entre las células-matriz extracelular, entre otras. Se sintetiza en el citoplasma y habitualmente se encuentra en el núcleo y en el líquido extracelular (Gallegos, Cuevas, Pérez, Coutiño y Hernández, 2013).

Existe evidencia que la expresión de la galectina-3 es necesaria para el inicio de la transformación celular en el desarrollo del tumor. Se ha descrito experimentalmente la expresión aberrante de galectina-3 en cáncer de mama; por ejemplo, se sabe que el

potencial invasivo de las células metastásicas se relaciona con la interacción de la galectina-3 que circula en los vasos sanguíneos de las pacientes con cáncer, sugiriendo que la galectina-3 puede fungir como un marcador tumoral; sin embargo, Simone *et al.* (2014) investigaron la unión que tiene la galectina-3 presente en la membrana de células metastásicas y la galectina-3 presente en el entorno circulante para corroborar cuál de las dos fungía como un marcador efectivo del cáncer de mama metastásico. El resultado fue que la galectina-3 presente en la membrana celular corresponde al biomarcador real del cáncer de mama (**Figura 30**) (Simone et al., 2014).

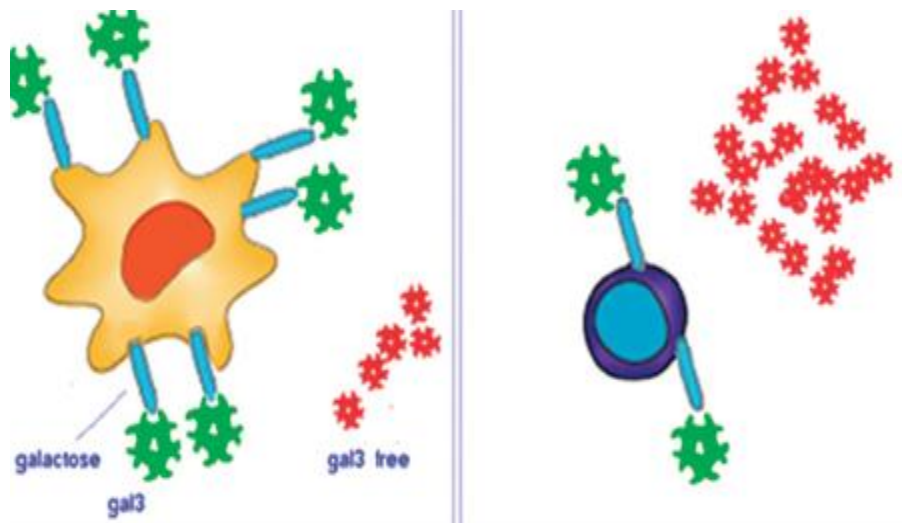


Figura 30. Representación gráfica del reconocimiento de la galectina-3 libre y la galectina-3 unida a la membrana de células cancerosas. Tomado de Simone et al. (2014).

En estudios *in vitro* (Noratto, Porter, Byrne y Cisneros, 2014) se determinó que el bloqueo de la expresión de galectina-3 en el núcleo y el citoplasma de la línea celular cancerígena de alta malignidad, MDA-MB-435, inyectada a ratones knockout, suprimía

el crecimiento de tumores, sugiriendo que la expresión de galectina-3 es necesaria para el desarrollo de tumores en el cáncer de mama MDA-MB-435.

En un estudio realizado por Mayoral et al. (2008) se demostró que la galectina-3, en el cáncer de mama, participa en el desarrollo de la metástasis hacia el cerebro. Para ello, se utilizaron tejidos de la mama normal, tejidos con cáncer de mama ductual y tejidos provenientes de tumores metastásicos en el cerebro. Mediante IHQ, con anticuerpos anti-galectina-3, se observó que la galectina-3 fue negativa en el tejido de la mama normal, pero la reactividad de la galectina-3 aumentó significativamente en los tejidos de cáncer de mama y en los tejidos de cerebro que presentaron metástasis. Del mismo modo, mediante la técnica de histoquímica con lectinas, se obtuvo un mayor reconocimiento por parte de la lectina *Machaerocereus eruca* (MEA) (con especificidad hacia $Fu\alpha_{1,2}$ ($GalNAc\alpha_{1,3}$) $Gal\beta_{1,4}$ en estructuras de mucina complejas) en tejidos de tumor de la mama y en tejidos provenientes del cerebro con metástasis; sin embargo, la reactividad que presentó la lectina MEA disminuyó en las lectinas *Amaranthus leucocarpus* (ALL) y *Arachis hipogea* (PNA) (ambas con especificidad hacia $Gal\beta_{1,3}$ - $GalNAc-\alpha_{1,0}$ -Ser/Thr). La co-localización de los glicanos tipos mucina (ya que la lectina MEA reconoce estos carbohidratos) y la galectina-3 presentes en el cáncer de mama y en los tejidos de cerebro que presentaron metástasis sugiere que existe una biosíntesis aumentada de glicanos complejos tipo mucina en el desarrollo del cáncer; además estos resultados revelan que la presencia de O-glicanos y la galectina-3, así como la interacción entre ellos, podría ser uno de los varios mecanismos que provocan la metástasis (Mayoral et al., 2008).

6. Conclusiones

-Los métodos de detección para el cáncer de mama presentan limitaciones y desventajas hacia las pacientes, como es la exposición a radiaciones, realización de biopsias innecesarias y diagnósticos incorrectos, entre otros.

-Los estudios recientes están dirigidos a explorar los cambios moleculares que se producen en fase temprana del cáncer de mama para identificar biomarcadores, lo cual permitirá ayudar en la rutina clínica respecto a la toma de decisiones.

-La glicosilación anormal ocurre en casi todos los tipos de cáncer en humanos y un gran número de epítomos de glicanos se relacionan con el desarrollo de tumores, por ello, la detección específica de estos glicanos aberrantes asociados al cáncer tiene un gran futuro para mejorar el diagnóstico de estadios de esta enfermedad de manera precoz.

- De manera tradicional se utiliza la IHQ para la detección molecular del cáncer de mama a partir de muestras provenientes de biopsias.

-Las lectinas son proteínas importantes para la caracterización de oligosacáridos y debido a su especificidad por los carbohidratos presentes en los glicoconjugados han sido utilizadas para detectar cambios de la glicosilación de células cancerosas; por ello, las lectinas ofrecen la posibilidad para la identificación de carbohidratos a un costo económico, comparado con otras técnicas que actualmente se usan; además el análisis de los glicanos utilizando estas proteínas o glicoproteínas es rápido y requiere de pocos reactivos de laboratorio, así como equipos de laboratorios sencillos.

-Los glicanos presentes en las glicoproteínas aberrantes en cáncer de mama, como son la Gal terminal, la Fuc, los N-glicanos con alta Man, los galactósidos ligados a N-

glicanos, los glicanos complejos, el Sia, la Man, los carbohidratos híbridos, son potentes biomarcadores en estadios tempranos del cáncer de mama dado que lo reconocen las lectinas RCA-I, AOL, GNA, PHA-E, LCA-SNA, ConA, PHA-E, respectivamente.

-La implementación de un método de detección de biomarcadores glicosilados en el suero de las pacientes puede ahorrar mucho tiempo, además de que es una técnica rápida, fácil, segura y es factible para el diagnóstico y la identificación sin la necesidad de cirugía; por ejemplo, la glicoproteína presente en el suero, CA15-3, que en condiciones malignas expresa el antígeno TF y Sia, los cuales son reconocidos por las lectinas PNA y SNA, respectivamente.

-Las micromatrices de lectina representan una nueva tecnología capaz de proporcionar el análisis de superficie de células para exámenes comparativos utilizando diversas lectinas y, teniendo el conocimiento sobre la condición o estadio en la que se presentan estos glicanos aberrantes durante el desarrollo del cáncer de mama, se podrían comparar entre sí para tener un diagnóstico más certero sobre la enfermedad.

-Las lectinas, junto con los anticuerpos, se emplean en otro tipo de técnicas, como es la ELISA, para optimizar la sensibilidad de la técnica.

-La Galectina-3 es relevante como biomarcador en el diagnóstico del cáncer de mama.

8. Perspectivas

-Los nuevos conocimientos en el campo de la glicobiología, como son los glicanos aberrantes presentes en condiciones malignas y el uso de nuevas herramientas en la detección de estos glicanos (micromatrices de lectina, lectinas en distintas pruebas,

como son ELISA y en conjunto con los anticuerpos) tendrán una importante colaboración en la rutina diaria para un diagnóstico precoz más específico del cáncer de mama.

9. Bibliografía

- American Society of Clinical Oncology (ASCO®), 2018. Cáncer de mama. Estadios. [En línea] (Actualizado en 2018). Disponible en <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cáncer/cáncer-de-mama/estadios>. [Último acceso el 11 de junio de 2019].
- Alalawi, Z., Mirandola, L., Rakhshanda, R., Scott, D., Nguyen, D., Jenkins, M., . . . Ebrahim, A. H. (2014). Galectins in cancer: carcinogenesis, diagnosis and therapy. *Ann Transl Med*, 2(9), 88-95.
- Antoine, C., Paesmans, M., Rozenberg, S., & Ameye, L. (2014). Systematic review about breast cancer incidence in relation to hormone replacement therapy use. *Climacteric*, 17(2), 116-132.
- Arancibia, S. A. (2013). *Participación de receptores tipo-lectina en la inmunogenicidad y en el efecto antitumoral de hemocianinas de moluscos en mamíferos* (tesis de doctorado). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Arango, M., & Rodríguez, C. (2016). Protagonismo del sistema inmune en el microambiente de los tumores malignos de la mama. *Revista Cubana de Hematología, inmunología y Mematoterapia*, 32(2), 1-17.
- Bagci, O., & Kutgöz, S. (2015). Amplification of cellular oncogenes in solid tumors. *N Am J Med Sci*, 7(8), 341-346.
- Barroso, L. C., dos Santos, P., Menezes, V. L., Viana, E., Guedes, P. M., Henrique, T., & dos Santos, M. T. (2017). Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 156(2), 514-564.
- Bennet, E. P., Mandel, U., Clausen, H., Gerken, T. A., Fritz, T. A., & Tabak, L. A. (2013). Control of mucin-type O-glycosylation: a classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology*, 22(6), 736-756.
- Bethesda, M. D. (2016). *PDQ Cancer Information Summaries*. Estados Unidos de América: National Cancer Institute.

- Bezerra, M. J., Rodríguez, N. V., Pires, F., Bezerra, G. A., Nobre, C. B., Alencar, K. L., . . . Cavada, B. S. (2013). Crystal structure of Dioclea violacea lectin and a comparative study of vasorelaxant properties with Dioclea rostrata lectin. *Int J Biochem Cell Biol.*, 45(4), 807-815.
- Bland, K., & Copeland, E. (2016). *La mama. Manejo multidisciplinario de las enfermedades benignas y malignas*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Brandan, N., Aguirre, V., Todaro, J., Stoyanoff, T., Heitrich, M., & García, D. (2014). *Genética del cáncer. Protooncogenes y genes supresores de tumores*. Barcelona, España: Facultad de Medicina, Cátedra de Bioquímica.
- Breast Cancer Action, 2018. *The Breast Cancer*. [En línea]. (Actualizado en 2018). Disponible en www.bcaction.org/Pages/SearchablePages/[Último acceso el 3 de noviembre de 2018].
- Burchell, J. M., Beatson, R., Graham, R., Taylor, P., & Tajadura, V. (2018). O-linked mucin-type glycosylation in breast cancer. *Biochem Soc Trans.*, 46(4), 779-788.
- Bustamante, L. M., Marín, S. J., & Cardona, D. (2013). Mortalidad por cáncer: segunda causa de muerte del adulto mayor en Medellín, 2002-2006. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 30(1), 17-25.
- Chlebowski, R. T., & Anderson, G. L. (2015). Menopausal hormone therapy and breast cancer mortality: clinical implications. *The Adv. Drug Saf.*, 6(2), 45-56.
- Croce, M., Isla, M., Remes, F., Colussi, A., Lacunza, E., Kim, K., Gendler, S. & Segal, E. (2006) A MUC1 cytoplasmic tail detection using CT33 polyclonal and CT2 monoclonal antibodies in breast and colorectal tissue. *Histol Histopathol.* 21(9), 849-855.
- Croci, D. O., Cerliani, J. P., Dalotto, T., Méndez, S. P., Mascafroni, I. D., Dergan, S., . . . Rabinovich, G. A. (2014). Glycosylations-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors. *Cell*, 156(4), 744-758.
- Cuenca, C., Beltrán, Y., & Despaige, A. E. (2013). Factores de riesgo de cáncer de mama en mujeres pertenecientes a un consultorio médico del Centro Urbano "José Martí". *Medisan*, 17(9), 1029-1039.
- Cunningham, L. (2013). The anatomy of the arteries and veins of the breast. *J Surg Oncol*, 9(1), 71-85.

- Cylwik, B., Naklicki, M., Chrostek, L., & Gruszewska, E. (2013). Congenital disorders of glycosylation. Part I. Defects of protein N-glycosylation. *Acta Biochim Pol.*, 60(2), 151-161.
- Da Silva, P., Filho, C., De Paula, R., Coelho, L., Da Silva, M., & Correia, M. (2014). Cratylia mollis lectin: a versatile tool for biomedical studies. *Current Bioactive Compounds*, 10(1), 44-54.
- Dadhich, M., Prabhu, V., Pai, V., D'Souza, J., Harish, S., & Jose, M. (2014). Serum and salivary sialic acid as a biomarker in oral potentially malignant disorders and oral cancer. *Indian J. Cancer*, 51(3), 214-218.
- De Civetta, M. & Civetta, J. (2013). Carcinogénesis. *Salud Pública Mex*, 53(2), 405-414.
- Díez, N. (2013). *Las galectinas de mamífero en el desarrollo de los axones in vitro. Papel de las galectinas 3 y 4.* (Tesis de doctorado). Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas.
- Domínguez, L. (2013). Principios generales de carcinogénesis: Carcinogénesis química y Hormonal. *Biocáncer* 1(3), 1-9.
- Drake, R. R., Schwegler, E. E., Malik, G., Díaz, J., Block, T., Mehta, A., & Semmes, O. J. (2014). Lectin capture strategies combined with mass spectrometry for the discovery of serum glycoprotein biomarkers. *Mol Cell Proteomics*, 5(10), 1957-1967.
- Estourgie, S. H., Nieweg, O. E., Olmos, R. A., Rutgers, E. J., & Kroon, B. B. (2013). Lymphatic drainage patterns from the breast. *Ann Surg*, 239(2), 232-237.
- Fang, J., Tao, T., Zhang, Y., & Lu, H. (2019). A barcode mode based on glycosylation sites of membrane type mannose receptor as a new potential diagnostic marker for breast cancer. *Talanta*, 1(191), 21-26.
- Farber, N., Kim, C., Modi, P., Hon, J., Sadimin, E., & Singer, E. (2017). Renal cell carcinoma: the search for a reliable biomarker. *Transl Cancer Res.*, 6(3), 620-632.
- Feng, X., Zhao, L., Gao, S., Song, X., Dong, W., Zhao, Y., . . . Jia, L. (2016). Increased fucosylation has a pivotal role in multidrug resistance of breast cancer cells through miR-224-3p targeting FUT4. *Genes*, 578(2), 232-241.
- Fernández, S. (2014). *Estudio de expresión de proteínas α (1,6) fucosiladas implicadas en la malignización del cáncer colorrectal.* (Tesis de maestría). Universidad de Coruña. Facultad de ciencias.

- Fry, S. A., Afrough, B., Lomax, H. J., Timms, J. F., Velentzis, L. S., & Leathem, A. J. (2013). Lectin microarray profiling of metastatic breast cancers. *Glycobiology*, 21(8), 1060-1070.
- Gallegos, B., Cuevas, B., Pérez, E., Coutiño, R., & Hernández, P. (2013). El papel de la Galectina 3 en el desarrollo del cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica*, 32(1), 3-12.
- Gallegos, B., Osalde, C., Pina, S., Solórzano, C., Pérez, Y., & Hernández, P. (2016). El papel del antígeno Thomsen-Friedenreich en el desarrollo del cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica*, 35(2), 28-37.
- García, R., & Borges, Y. (2017). Importancia de la pesquisa del cáncer de mama. *Finlay*, 7(1), 23-24.
- Globocan Cancer Observatory, 2018. *Cancer today*. [En línea].[Actualizado en 2018]. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>. [Último acceso el 29 de agosto de 2018].
- Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart, M., Thürlimann, B., & Senn, H. J. (2013). Personalizing the treatment of woman with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*, 24(9), 2206-2223.
- González, E., & Noblía, C. (2016). *Diagnóstico y tratamiento de cáncer de mama: guía de procedimientos*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Journal, S.A.
- Gorocica, P., Atzín, J., Saldaña, A., Espinosa, B., Urrea, F., Vásquez, N. & Lascurain, R. (2008). Comportamiento tumoral y glicosilación. *Rev Inst Nal Enf Res Mex*, 21(4), 280-287.2
- Guzmán, K., Gómez, E., García, F., Morales, K. V., Hernández, A. W., & Sánchez, S. H. (2013). Carcinoma ductual infiltrante, el tipo de cáncer de mama más común. *IMedPub Journal*, 8(1), 1-8.
- Hanahan, D. & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Henrissat, B., Suroliá, A., & Stanley, P. (2015). A genomic view of glycobiology. In A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, . . . M. E. Etzler, *Essentials of glycobiology*. Nueva York: Cols Spring Habor Laboratory Press.
- Hernández, A., Vinogradova, E., Zermeño, J. J., Kolosovas, E. S., Velázquez, J. J., Yacamán, M. J., & Navarro, H. R. (2017). Diagnosis of breast cancer by analysis

of sialic acid concentrations in human saliva by surface-enhanced Raman spectroscopy of silver nanoparticles. *Nano Research*, 10(11), 3662-3670.

Hirabayashi, J. K. (2015). Development and applications of the lectin microarray. *Top Corr Chem.*, 367(1), 105-124.

Hirabayashi, J., Yamada, M., Kuno, A., & Tateno, H. (2013). Lectin microarrays: concept, principle and applications. *Chem. Soc. Rev.*, 42(10), 4443-4458.

Hirao, Y., Matsuzaki, H., Iwaki, J., Kuno, A., Kaji, H., Ohkura, T., . . . Narimatsu, H. (2014). Glycoproteomics approach for identifying glyco biomarker candidate molecules for tissue type classification of non-small cell lung carcinoma. *J Proteome Res.*, 13(11), 4705-4716.

Infocáncer, 2018. *El cáncer en el mundo y México*. [En línea]. (Actualizado en 2018). Disponible en <https://www.infocancer.org.mx/?c=conocer-el-cancer&a=estadisticas-mundiales-y-locales>. [Último acceso el 25 de mayo de 2018].

Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2018. *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (4 de febrero)*. [En línea]. [Actualizado en 2018] (2 de febrero de 2018). Disponible en: http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018_Nal.pdf. [Último acceso el 16 de septiembre de 2018].

International Agency for Research on Cancer, 2016. *Cancer Fact Sheets*. [En línea]. [Actualizado en 2016]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancer>. [Último acceso el 3 de octubre de 2018].

Kang, Y., & Pantel, K. (2013). Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients. *Cancer cell*, 23(5), 573-581.

Ki, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J. & Loscalzo, J. (2016). *Principios de medicina interna*. Ciudad de México, México: McGrawHill.

Kirwan, A., Utratna, M., O'Dwyer, M., Joshi, L., & Kilcoyne, M. (2015). Glycosylation-based serum biomarkers for cancer diagnostics and prognostics. *BioMed Research International*, 14(2), 1-17.

Kudelka, M. R., Ju, T., Cummings, R. D., & Heimbürg, J. (2015). Simple sugars to complex disease mucin-type O-glycans in cancer. *Adv Cancer Res*, 126(53), 135-145.

Laguna, J., Piña, E., Martínez, F., Pardo, J.P. & Riveros, H. (2013). *Bioquímica de Laguna*. Ciudad de México, México: Manual Moderno.

- Lagunas, M. Valle, A. & Soto, I. (2014). Ciclo celular: Mecanismos de regulación. *Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 17(2), 98-107.
- Lazcano, E., Escudero, P. y Usanga, C. (2014). *Cáncer de mama. Diagnóstico, tratamiento, prevención y control*. Morelos, México: *Instituto Nacional de la Salud Pública*.
- Li YS, Kaneko M, Sakamoto DG, Takeshima Y, Inai K. (2006). The reversed apical pattern of MUC1 expression is characteristics of invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Breast Cancer*. 13(12), 58-63.
- Limpías, C., Pérez, G., Acosta, J., Vega, N., & Ricaurte, O. (2013). Detección del antígeno Tn en tumores epiteliales con la lectina de Vicia villosa isolectina B4. *Rev Fac Med Univ Nac Colom*, 58(4), 293-304.
- Liu, D. R., Guan, Q. L., Gao, M. T., Jiang, L., & Kang, H. X. (2017). Mannose receptor as a potential biomarker for gastric cancer: a pilot study. *Int J Biol Marker*, 32(3), 278-283.
- Liu, X., Yu, H., Qiao, Y., Yang, J., Shu, J., Zhang, J., & Zhang, Z. (2018). Salivary Glycopatterns as Potential Biomarkers for Screening of Early-Stage Breast Cancer. *E Bio Medicine*, 28(18), 70-79.
- Ma, X., Dong, W., Su, Z., Zhao, L., Miao, Y., Li, N., . . . Jia, L. (2016). Functional roles of sialylation in breast cancer progression through miR-26a/26b targeting ST8SIA4. *Cell Death Dis*, 7(12), 29-39.
- Marmot, M., Altman, D., Cameron, D., Dewar, J., Thompson, S., & Wilcox, M. (2013). The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review. *Br. J. Cancer*, 380(11), 1778-1786.
- Matsuda, A., Kuno, A., Nakagawa, T., Ikehara, Y., Irimura, T., Yamamoto, M., . . . Narimatsu, H. (2015). Lectin microarray-based sero-biomarker verification targeting aberrant O-linked glycosylation on mucin 1. *Anal Chem.*, 87(14), 7274-7281.
- Mayoral, M., Mayoral, C., Meneses, A., Villavalzo, L., Guzmán, A., Espinosa., B., Ochoa, J., Zenteno, E. & Guevara, J. (2008) Identification of Galectin-3 and Mucin-Type O-Glycans in Breast Cancer and Its Metastasis to Brain. *Cancer Investigation*, 26(4), 615-623.
- McKee, T., & McKee, J. (2014). *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida*. Ciudad de México, México: *Mc Graw-Hill*.

- Mehta, A., Herrera, H., & Block, T. (2015). Glycosylation and liver cancer. *Adv Cancer Res*, 126(6), 257-279.
- Miguel, P. E., Argüelles, I., & Peña, M. (2016). Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria. *Finlay*, 6(4), 121-122.
- Mondragón, P., López, L., Gutiérrez, J., Suárez, J., Luna, R., & Valle, A. (2016). Mecanismos de señalización intracelular en cáncer de tiroides. *Cirugía y cirujanos*, 84(5), 351-444.
- Mora, J., Ruelas, E., Tapia, R., Castañón, R., de León, M. E., Lomelín, G., & Quintanilla, M. L. (2013). *Compendio de anatomía patológica de la glándula mamaria*. Ciudad de México, México: Secretaria de Salud.
- Murray, R., Bender, D., Botham, K., Kennely, P., Rodwell, V., & Weil, P. (2013). *Harper. Bioquímica Ilustrada*. Ciudad de México, México: Mc Graw-Hill.
- Nakajima, K., Inomata, M., Iha, M., Hiratsuka, T., Etoh, T., Shiraishi, N., . . . Kitano, S. (2015). Establishment of new predictive markers for distant recurrence of colorectal cancer using lectin microarray analysis. *Cancer Med.*, 4(2), 293-302.
- Nelson; D. L. & Cox, M. M. (2014). *Lehninger: principios de bioquímica*. Barcelona, España: Omega.
- Noratto, G., Porter, W., Byrne, D., & Cisneros, L. (2014). Polyphenolics from peach (*Prunus persica* var. Rich Lady) inhibit tumor growth and metastasis of MDA-MB-435 breast cancer cells in vivo. *J. Nutr Biochem.*, 25(7), 796-800.
- Omenn, G. S., Guan, Y., & Menor, R. (2014). A new class of protein cancer biomarker candidates: differentially expressed splice variants of ERBB2 (HER2/neu) and ERBB1 (EGFR) in breast cancer cell lines. *J. Proteomics*, 31(107), 103-112.
- Organización Mundial de la Salud, 2017. *Cáncer de mama: prevención y control*. [En línea]. [Actualizado en 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>. [Último acceso el 6 de septiembre de 2018].
- Osborne, C., Wilson, P., & Tripathy, D. (2015). Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. *Oncologist*, 9(4), 361-377.
- Padler, K. V. (2014). Aiming the sweet side of cancer: aberrant glycosylation as possible target for personalized medicine. *Cancer Lett*, 352(1), 102-112.

- Park, J., Kim, S., Kim, K., Han, Y., Yang, S., & Yoon, H. (2013). Lectin-based optical sensing for quantitative analysis of cancer antigen CA15-3 as a breast cancer marker. *Sensors and Actuators B. Chemical*, 186(13), 571-579.
- Pascacio, R. Instituto de biotecnología, 2013. [En línea]. (Actualizado en 2013). Disponible en <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>. [Último acceso el 23 de octubre de 2018].
- Pérez, M. C., Goncalves, L., Mogollón, N., & Bonfante, R. (2013). O-glicosilación incompleta en células cancerígenas y parásitos: Importancia biomédica. *Salus*, 17(2), 42-48.
- Picariello, G., Ferranti, P., Mamone, G., Roepstorff, P., & Addeo, F. (2013). Identification of N-linked glycoproteins in human milk by hydrophilic interaction liquid chromatography and mass spectrometry. *Proteomics*, 8(18), 3833-3847.
- Pilobello, K. T., Agrawal, P., Rouse, R., & Manal, L. K. (2013). Advances in lectin microarray technology: optimized protocols for piezoelectric print conditions. *Curr Protoc Chem Biol.*, 5(1), 1-23.
- Pinho, S. S., & Reis, C. A. (2015). Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Cancer*, 15(9), 540-555.
- Pinto, N. A., Morosi, L. G., Maller, S. M., & Rabinovich, G. A. (2017). Circuitos inmunológicos y vasculares mediados por lectinas y glicanos: implicancias en el desarrollo de nuevas terapias en cáncer y enfermedades autoinmunes. *Química Viva*, 16(1), 3-16.
- Polley, M. Y., Leung, S. C., McShane, L. M., Gao, D., Hugh, J. C., Mastropasqua, M. G., . . . Nielsen, T. O. (2013). An international Ki67 reproducibility study. *J Natl Cancer Inst*, 105(24), 1897-1906.
- Ribeiro, J. P., & Mahal, L. K. (2013). Dot by dot: analyzing the glycome using lectin microarrays. *Curr Opin Chem Biol.*, 17(5), 827-831.
- Rini, J., Esko, J., & Varki, A. (2015). Glicosiltransferasas y enzimas procesadoras de glicano. En A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, . . . M. E. Etzler, *Essentials of Glicobiology* (págs. 267-278). Nueva York, Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Rodríguez, A. J., Reyes, B. L., García, T., Solís, J. C., García, P., Hernández, H. L., . . . Camacho, N. (2013). Las lectinas en biomedicina: un reto prometedor. *Revista Médica del Centro*, 8(9), 11-27.

- Rojas, O. (2017). *Inmunología (de memoria)*. Ciudad de México, México: *Editorial Médica Panamericana*.
- Roy, B., Chattopadhyay, G., Mishra, D., Das, T., Chakraborty, S., & Maiti, T. K. (2014). On-chip lectin microarray for glycoprofiling of different gastritis types and gastric cancer. *Biomicrofluidics*, 8(3), 34-47.
- Sabadell, M. D., Izquierdo, M., Prats, M., & Modolell, A. (2016). *Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama*. Barcelona, España: Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria.
- Sánchez, E. R., Sánchez, C., & Erazo, M. A. (2018). *Cáncer de mama: Actualidades y controversias*. Ciudad de México, México: Alfil.
- Scholz, C., Toth, B., Barthell, F., Mylonas, I., Welssenbacher, T., Friese, K., & et al. (2014). Glycodelin expression in correlation to grading, nodal involvement and steroid receptor expression in human breast cancer patients. *Anticancer Res*, 30(5), 1599-1603.
- Secretaria de Salud, 2015. *Estadística de Cáncer de Mama y Cáncer Uterino*. [En línea][Actualizado en 2015]. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud%7Ccnegsr/acciones-y-programas/informacion-estadistica-cancer-de-mama>. [Último acceso el 3 de septiembre de 2018].
- Simone, G., Malara, N., Trunzo, V., Renne, M., Perozziello, G., Di Fabrizio, E., & Manz, A. (2014). Galectin-3 coats the membrane of breast cells and makes a signature of tumours. *Mol Biosyst.*, 10(2), 258-265.
- Stanley, P., Schachter, H., & Taniguchi, N. (2015). N-glicanos. In A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, P. S. Freeze, R. R. Bertozzi, G. W. Hart, & M. E. Etzler, *Essentials of Glycobiology* (pp. 302-312). Nueva York, Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Suman, S., Basak, T., Gupta, P., Mishra, S., Kumar, V., Sengupta, S., & Shukla, Y. (2016). Quantitative proteomics revealed novel proteins associated with molecular subtypes of breast cancer. *J Proteomics*, 4(148), 183-193.
- Syed, P., Gidwani, K., Kekky, H., Leivo, J., Petterson, K., & Lamminmäki, U. (2016). Role of lectin microarrays in cancer diagnosis. *Proteomics*, 16(8), 1257-1265.
- Vajaria, B. N., & Patel, P. S. (2017). Glycosylation: a hallmark of cancer? *Glycoconj J*, 34(2), 147-156.
- Van der Steen, P., Rudd, M., Dwek, A. & Opdenaller, G. (1998). Concept and principles of O-glycosylation. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 33(2), 151-208.

- Varki, A., Cummings, R., Esico, J., Stanley, P., Hart, G., Aebi, M., . . . Seeberg, P. (2017). *Essentials of Glicobiology*. Nueva York, Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Varki, A., Etzler, M., Cummings, R., & Esko, J. (2015). Descubrimiento y clasificación de las proteínas de unión a glicano. En A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, . . . M. E. Etzler, *Essentials of Glicobiology* (pp. 408-418). Nueva York, Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Vázquez, A., Rivadeneyra, E., & Díaz, R. (2014). Lectinas en frutas y plantas comestibles: nuevas posibilidades de interacción entre la ciencia de los alimentos y la biomedicina. *Ciencia UAT*, 6(3), 60-66.
- Vici, P., Pizzuti, L., Natoli, C., Di Lauro, L., Bárbara, M., Gamucci, T., . . . Marchetti, P. (2015). Triple positive breast cancer: a distinct subtype? *Cancer Treat Rev.*, 41(2), 69-76.
- Vinogradova, E., Flores, A., Larios, E., Velázquez, J. J., & Yacaman, J. M. (2014). Surface-enhanced Raman scattering of N-acetylneuraminic acid on silver nanoparticle surface. *J. Raman Spectr.*, 45(9), 17-23.
- Wade, L. G. (2016). *Química Orgánica. Volumen 1*. Ciudad de México, México: Pearson .
- Wang, Y., Fukuda, T., Isaji, T., Lu, J., Gu, W., Ohkubo, Y., . . . Gu, J. (2015). Loss of α 1,6-fucosyltransferase suppressed liver regeneration: implication of core fucose in the regulation of growth factor receptor-mediated cellular signaling. *Sci Rep.*, 5(5), 82-92.
- Wiesner, C., de Vries, E., Acosta, J., Pérez, J., Gamboa, O., Puerto, D., & Salazar, L. (2015). *Manual para la detección temprana del cáncer de mama*. Bogotá, Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social.
- Wileman, T. E., Lennartz, M. R., & Stahl, P. D. (2013). Identification of the macrophage mannose receptor as a 175-kDa membrane protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83(8), 2501-2105.
- Wittekind, C. y Neid, M. (2005). Cancer invasion and metastasis. *Oncology*, 69(1), 14-16.
- Yamashita, K., Kuno, A., Matsuda, A., Ikehata, Y., Katada, N., Hirabayashi, J., . . . Watanabe, M. (2016). Lectin microarray technology identifies specific lectins

related to lymph node metastasis of advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*, 19(2), 531-542.

Yue, L., Han, C., Li, Z., Li, X., Liu, D., Liu, S., & Yu, H. (2016). Fucosyltransferase 8 expression in breast cancer patients: A high throughput tissue microarray analysis. *Histol Histopathol*, 31(5), 547-555.

Zaharia, M. & Gómez, H. (2013). La quimioterapia neoadyuvante en el tratamiento del cáncer de mama localmente avanzado. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30(1), 73-78.

Zhou, J. M., Cheng, L., Gou, S. J., Wang, Y., Czajkowsky, D. M., Gao, H., . . . Tao, S. C. (2015). Lectin RCA-I specifically binds to metastasis-associated cell surface glycans in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research*, 17(36), 1-15.