

# EXPRESIÓN DE ÁCIDO SIÁLICO Y DE LA $\beta$ -GALACTÓSIDO- $\alpha$ -2,6-SIALILTRANSFERASA EN CÁNCER\*

Dolores López Morales y Verónica Vallejo

## RESUMEN

Las modificaciones en la glicosilación celular son cambios fenotípicos comunes en el cáncer. Los cambios en la sialilación de las células malignas se han relacionado con el grado, la invasión y las metástasis, dando en consecuencia un pronóstico de vida pobre. En el cáncer se ha reportado el incremento en la  $\alpha$ -2,6-sialilación de los glicoconjugados de la membrana celular como parte del fenotipo maligno. El incremento del ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 es consecuencia de un aumento en la expresión de la sialiltransferasa ST6Gal I, enzima que transfiere el ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6-glicoproteínas. La expresión de la ST6Gal I está regulada principalmente a nivel transcripcional. La intención de esta publicación es revisar la información disponible acerca del incremento en la transcripción de la ST6Gal I en el cáncer y las consecuencias funcionales en la sialilación de los glicoconjugados de la superficie de las células malignas.

**PALABRAS CLAVE:** Glicosilación, ácido siálico, sialiltransferasa, cáncer.

## ABSTRACT

Modifications of cellular sialylation are common phenotypical changes in malignancy. These changes in sialylation are related to grade, invasion and metastasis with a poor prognosis. The increase of  $\alpha$ -2,6-sialylation of cell surface glycoconjugates of carcinoma cells has been reported. The molecular basis of the increase of  $\alpha$ -2,6-sialic acid is related to the alterations in the sialyltransferase ST6Gal I expression, enzyme that mediates  $\alpha$ -2,6-sialylation of type 2 chains on glycoproteins. ST6Gal I regulation is achieved at transcriptional level. The interest of this paper is to analyze the available information concerning the ST6Gal I over-expression in cancer and the functional consequences of an increased sialylation of cell surface glycoconjugates of carcinoma cells.

**KEY WORDS:** Glycosylation, sialic acid, sialyltransferase, cancer.

## INTRODUCCIÓN

Los ácidos siálicos engloban una familia de monosacáridos que comprende alrededor de 40 miembros derivados del ácido neuramínico, éstos pueden presentar diferentes sustituyentes en el grupo amino o hidroxilo. La presencia del grupo carboxilo en el carbono 1 y del grupo amino en el carbono 5, le confieren una carga neta negativa a pH fisiológico (Fig. 1). Los ácidos siálicos se localizan en posición terminal o

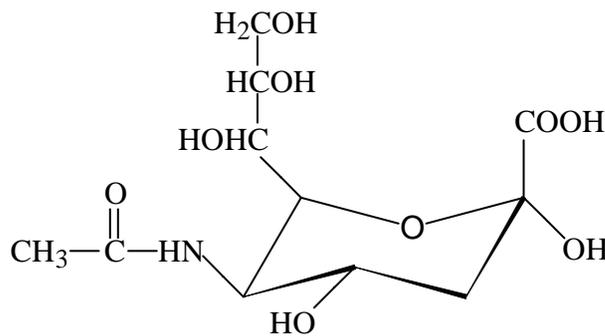
lateral de los oligosacáridos en glicoproteínas y glicolípidos. Debido a su posición terminal y a sus características fisicoquímicas, los ácidos siálicos participan en fenómenos de atracción y repulsión de cargas entre moléculas, desempeñan funciones como moduladores en el transporte de moléculas cargadas positivamente y participan en interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular (1).

Los ácidos siálicos pueden estar unidos en enlace  $\alpha$ -2,3 ó  $\alpha$ -2,6 a

residuos de galactosa (Gal), en enlace  $\alpha$ -2,6 a residuos de N-acetil galactosamina (GalNAc) y en enlace  $\alpha$ -2,8 a otro residuo de ácido siálico. Los diferentes tipos de enlace que forman, así como, la variabilidad que existe en la familia da como resultado una gran diversidad de estructuras derivadas del ácido siálico. La transferencia de ácido siálico a los oligosacáridos se da a partir de un azúcar donador activado (CMP-NeuAc), y es catalizada por una familia de enzimas llamadas sialil-

\*Recibido: 15 de agosto de 2006 Aceptado: 12 de junio de 2007

Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS. Km 4.5 Carretera Federal Atlixco-Metepec, 74360 Metepec, Puebla, México. Tel. (52) (244) 444 01 22. Correo E: dolores\_lm@yahoo.com



**Figura 1.** Ácido Siálico. El grupo *N*-acetilo en el C5 da lugar a ácido *N*-acetilneuramínico (Neu5Ac), cuando se encuentra un grupo -OH, tenemos al 5-desamino-5-hidroxi-ácido neuramínico (KDN). Ocasionalmente, el grupo *N*-acetilo del carbono 5 se encuentra desacetilado para formar el ácido neuramínico (Neu). Si el grupo *N*-5-acetilo se encuentra hidroxilado, tenemos el ácido *N*-glicolilneuramínico (Neu5Gc). La molécula puede presentar sustituciones adicionales en los grupos hidroxilo de los carbonos 4, 7, 8 y 9 por grupos *O*-acetil, *O*-metil, *O*-sulfato y grupos fosfato.

transferasas (STs), estas enzimas se encuentran ancladas a la membrana de la red trans del aparato de Golgi. A la fecha, se conocen 20 sialiltransferasas las cuales presentan diferencias en la afinidad por el sustrato que reconocen y se clasifican en función del tipo de enlace que forman (Tabla 1) (2).

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

### EXPRESIÓN DE ESTRUCTURAS SIALILADAS Y SU PAPEL EN DIFERENTES FUNCIONES CELULARES

Las estructuras sialiladas se expresan de manera específica para cada tejido y están regulados en diferentes fenómenos celulares como son la activación y la diferenciación celular. Por ejemplo, la presencia de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,8 se restringe principalmente a ciertas etapas del desarrollo embrionario en donde las

estructuras conocidas como ácido polisiálico (PSA) presentes en las moléculas de adhesión neural (N-CAM) funcionan como antígenos reguladores de desarrollo del sistema nervioso central (SNC). Durante la formación de moléculas de PSA, se adiciona inicialmente un residuo de ácido siálico en  $\alpha$ -2,3, posteriormente la molécula se alarga con la adición de ácido siálico en  $\alpha$ -2,8. El PSA puede contener de 8 a 200 residuos de ácido siálico (3).

El ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,3 se puede encontrar unido a residuos de galactosa (Gal) en cadenas tipo 1: Gal $\beta$ -1,3-GlcNAc y tipo 2: Gal $\beta$ -1,4-GlcNAc de los glicoconjugados, está presente en muchos tipos celulares y quizá en todos los tejidos en vertebrados. En humanos la expresión de cadenas tipo 1 esta restrin-

gida principalmente a los epitelios (4).

El ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 se presenta sobre terminales de Gal o GalNAc, las estructuras formadas por la adición de ácido siálico sobre GalNAc, incluyen a algunos de los antígenos Thomsen-Freidenreich como son: el sialil-Tn, y sialil-T, los cuales a menudo se han asociado con el grado de progresión tumoral (5)

El ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 sobre Gal forma el antígeno  $\alpha$ -2,6-sialil-lactosamina (Neu5Ac $\alpha$ -2,6-Gal $\beta$ 1,4GlcNAc), el cual se observa frecuentemente en estructuras de N-glicanos ramificados, ya que son portadores del disacárido Gal- $\beta$ 1,4-GlcNAc (lactosamina o cadenas tipo 2) aunque también puede estar presente en O-glicanos y en glicolípidos (6).

Dentro de los fenómenos celulares en los que participa el ácido siálico se encuentra la extravasación de leucocitos activados a sitios de inflamación o el reclutamiento de los mismos a órganos linfoides secundarios, en donde los antígenos sialil Lewis median el reconocimiento a través de moléculas de adhesión de la familia de las selectinas (7). El ácido siálico también modula interacciones moleculares a través del enmascaramiento de la galactosa, evitando así el reconocimiento por galectinas, las cuales son una familia de lectinas de unión a galactosa que participan en una variedad de procesos que incluyen interacciones célula-célula y célula-

**TABLA 1**

| Familias de sialiltransferasas   |                          |                 |
|----------------------------------|--------------------------|-----------------|
| Familia                          | Enlace formado           | Enzimas         |
| $\alpha$ -2-6 Sialiltransferasas | $\alpha$ -2,6-Gal/GalNAc | ST6Gal NAc I-VI |
| $\alpha$ -2-3 Sialiltransferasas | $\alpha$ -2,3-Gal        | ST3Gal I-VI     |
| $\alpha$ -2-8 Sialiltransferasas | $\alpha$ -2,8-Neu5Ac     | ST8Sia I-VIII   |

Se presenta el nombre de la familia. El tipo de enlace formado y el residuo al que se une el ácido siálico. Las enzimas por las que está compuesta cada familia.

matriz extracelular (MEC). Se sabe que la galectina-1 y la galectina-9 inducen apoptosis en células T activadas y se ha propuesto a la galectina-1 como inmunosupresor en padecimientos autoinmunes (8). También se ha documentado la participación del antígeno  $\alpha$ -2,6-sialil-lactosamina en fenómenos de regulación del sistema inmune, por ejemplo, el antígeno CDw75 el cual está formado por la estructura  $\alpha$ -2,6-sialil-lactosamina, se expresa durante la maduración de las células B en etapa de Ig+ y su expresión cesa con la diferenciación terminal a células plasmáticas (9). Estos son algunos ejemplos de cómo los ácidos siálicos modulan diversos fenómenos celulares, de manera que la adición y la remoción de ácido siálico son fenómenos altamente regulados y la alteración en la síntesis de estructuras sialiladas está asociada con el desarrollo de enfermedades entre las que podemos mencionar al cáncer.

### $\alpha$ -2,6-SIALILACIÓN Y CÁNCER

Se sabe que durante la progresión tumoral ocurren cambios en la glicosilación de proteínas y lípidos, dentro de los que se incluyen las alteraciones en los patrones de sialilación de las células tumorales. Si bien, es cierto que las alteraciones en la sialilación son consecuencia y no causa de la transformación neoplásica, se han propuesto como eventos importantes en la inducción de la invasión y metástasis.

Dentro de las alteraciones en los patrones de expresión del ácido siálico en el cáncer, se encuentra la expresión de antígenos sialilados de la familia Thomsen-Freidenreich y sialil Lewis, así como el aumento de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 unido al disacárido Gal $\beta$ -1,4-GlcNAc (lactosamina) (Tabla 2). Estos cambios se observan en diferentes tipos de cáncer y de manera general se ha propuesto que están relacionados con alteraciones en

**TABLA 2**

| <b>Antígenos sialilados que se expresan en cáncer</b> |   |
|---|---|
| Nombre  | Estructura  |
| Sialil-Lewis <sup>x</sup>                             | NeuAc $\alpha$ -2,3-Gal $\beta$ -1,4(Fuc $\beta$ -1,3)GlcNAc  |
| Sialil-Lewis <sup>a</sup>                             | NeuAc $\alpha$ -2,3-Gal $\beta$ -1,3(Fuc $\alpha$ -1-4)GlcNAc |
| Sialil-Tn   | NeuAc $\alpha$ -2,6-GalNAc $\alpha$ -Ser/Thr                  |
| Sialil-T  | NeuAc $\alpha$ -2,3-Gal $\beta$ -1,3-GalNAc $\alpha$ -Ser/Thr |
| $\alpha$ -2,6Sialil-lactosamina                       | $\alpha$ -2,6-Neu5AcGal- $\beta$ 1,4-GlcNAc-R                 |

Su expresión se ha reportado en diferentes tipos de cáncer y se ha asociado con con fenómenos de invasión y metástasis.

la expresión de las sialiltransferasas encargadas de la transferencia de ácido siálico a posiciones terminales de glicoconjugados (5).

Dentro de las alteraciones de la sialilación, el aumento de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 sobre lactosamina, es uno de los fenómenos más estudiados. Se sabe que el aumento en la expresión de ácido siálico se relaciona de manera positiva con la expresión de la sialiltransferasa  $\beta$ -galactósido  $\alpha$ -2,6-sialiltransferasa (ST6Gal I), ya que se ha observado un aumento en el ARNm y/o en la actividad enzimática en tejido tumoral comparado con tejido normal. La importancia de esta alteración radica en la relación que existe entre el aumento de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 en la membrana celular y ciertas características del tumor como son la pérdida de diferenciación y una mayor capacidad invasora de las células tumorales. En algunos tipos de cáncer se ha tratado de establecer como un marcador de supervivencia de los pacientes (5, 6).

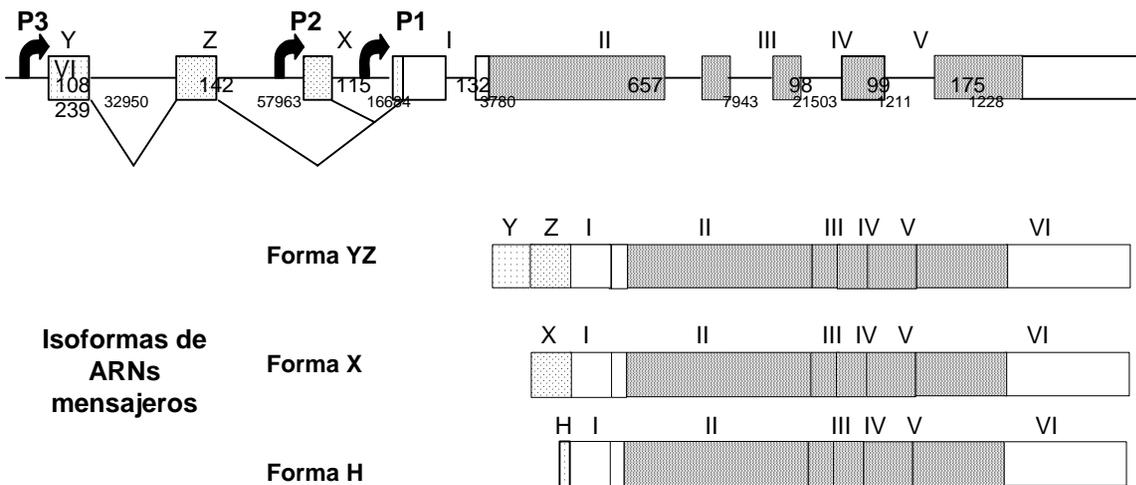
### **INCREMENTO DE LA $\alpha$ -2,6-SIALILACIÓN EN CÁNCER Y SU RELACIÓN CON LA INVASIÓN Y METÁSTASIS**

Como ya se mencionó anteriormente, el incremento de la  $\alpha$ -2,6-sialilación se ha estudiado en diferentes tipos de cáncer y se ha tratado de encontrar la

relación entre el aumento de ácido siálico y aspectos clínicos de la enfermedad. En un estudio realizado en pacientes con cáncer de colon se encontró que alrededor del 90% de los casos presentaron incremento en la actividad de la ST6Gal I, así como en los niveles del ARNm de la enzima, esto se relacionó con un aumento de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 en la membrana celular. Los pacientes con dichas alteraciones presentaron una supervivencia de 5 años, por lo que dichos cambios se han propuesto como indicadores de pronóstico de vida (10, 11).

En un estudio realizado en pacientes con hepatocarcinoma, se encontró un incremento en la reactividad del tumor con la lectina *Sambucus nigra* (SNA), la cual se une específicamente al ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6, por otro lado en los tumores con grado histopatológico 2 se detectaron niveles elevados del ARNm de la ST6Gal I. En cambio, cuando se analizaron pacientes con cirrosis no se detectó alteración en la expresión de la ST6Gal I ni en la  $\alpha$ -2,6-sialilación (12).

Las alteraciones de la  $\alpha$ -2,6-sialilación se han reportado también en cáncer de mama en donde la expresión elevada de la ST6Gal I se relacionó con un diagnóstico histológico grado III (13). En cáncer cervicouterino



**Figura 2.** Mapa genómico del Gen *SIAT1* e isoformas de los ARNm. Los exones se presentan en bloques, los intrones en líneas. Las flechas indican la posición de cada promotor, los números corresponden a número de nucleótidos. La región codificante se presenta punteada entre los exones II-VI. La diferencia entre los mensajeros son los exones YZ, X y el fragmento H, el cual no está definido como exón, ya que en el genoma se encuentra adyacente al exón I.

se reportó el incremento en la expresión de la ST6Gal I, comparado con el tejido normal, en este tipo de cáncer el incremento en la transcripción de la ST6Gal I se relacionó con la invasión a nódulos linfáticos, y un bajo grado de diferenciación celular (14).

Un hecho inherente a las células tumorales es su capacidad de atravesar las barreras naturales de los tejidos y producir metástasis. En este contexto se sabe que las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular son factores determinantes en los procesos de invasión y diseminación de las células tumorales y que la desregulación de los mecanismos de adhesión contribuye a la formación de metástasis. En el contexto que nos interesa, se sabe que las moléculas que median fenómenos de adhesión son proteínas altamente glicosiladas en las que los oligosacáridos que portan son determinantes en su función.

Se ha propuesto que el aumento de ácido siálico en la membrana de las células tumorales favorece la movilidad celular, lo cual podría facilitar la separación de las células del tumor primario. Estas conclusiones son el resultado de estudios en donde

la incubación de células tumorales con sialidasas disminuyó su malignidad. Posteriormente, estudios de transfección genética con el ADNc de la ST6Gal I en células tumorales mostraron que el incremento del ARNm de la enzima, con el consecuente incremento de ácido siálico en la membrana celular da como resultado una disminución en la adhesión célula-célula, al tiempo que se incrementa la capacidad invasora de estas células (15).

Se han realizado estudios que han aportado conocimientos más detallados de las consecuencias funcionales del incremento de ácido siálico en enlace  $\alpha$ -2,6 en la membrana de las células tumorales. En la línea celular de colon humano SW948, la transfección con el ADNc de la ST6Gal I, causó un incremento en la adhesión de las células a moléculas de la matriz extracelular como la fibronectina y la colágena tipo IV, mientras que el tratamiento con neuraminidasa redujo la unión a estas proteínas (16).

**TRANSCRIPCIÓN DE LA SIALILTRANSFERASA ST6Gal I**  
En humanos la ST6Gal I se transcribe a partir del gen denominado SIAT 1

el cual reside en el cromosoma 3(q21-q28) y está compuesto por varios exones de los cuales se producen diferentes transcritos (isoformas de ARNm) resultado del uso de diferentes promotores y por empalme alternativo (17). La importancia de los ARNs mensajeros que se transcriben a partir del gen es que difieren solamente en la región 5' no traducible (la proteína sintetizada no varía, independientemente del ARNm del que proceda), lo que permite un mecanismo de regulación complejo, ya que se expresan a diferentes niveles según el tipo celular o bien en función de procesos de diferenciación o activación celular (Fig 2).

De los diferentes transcritos que se producen a partir del gen SIAT 1, los mejores caracterizados son: la forma denominada YZ que parece corresponder a la expresión constitutiva del gen, ya que se ha detectado a niveles basales en la mayoría de los tejidos, a diferencia de la forma X cuya expresión se ha reportado solamente en células B maduras (18) y la forma H que se expresa abundantemente en hígado (19). La transcripción de estos mensajeros se lleva a cabo por el

promotor P1 para la forma H, P2 para la forma YZ y P3 para la forma X (19, 20)(Fig. 2).

Aunque el incremento en la expresión del ARNm de la ST6Gal I se ha reportado en diferentes tipos de cáncer, no se conocen los mecanismos moleculares que ocasionan el aumento en la expresión del gen SIAT 1. Recientemente se ha reportado que en hepatocarcinoma y en cáncer cervicouterino se acumula la isoforma H del ARNm, lo que sugiere que algunas vías de señalización que regulan la expresión de esta isoforma están alteradas en cáncer (12-14).

En líneas celulares de hepatocarcinoma se ha demostrado que los factores de transcripción HNF-1 (Hepatocyte Nuclear Factor-1), DPB

(D site binding protein) y LAP (liver-enriched transcriptional activation protein), específicos de hígado regulan la transcripción de la forma H y recientemente se demostró en líneas celulares de adenocarcinoma de colon que la mutación del sitio HNF-1 ubicado entre -156 a -1 en el promotor P1, reduce la actividad del promotor en un 80% por lo que se propone que este sitio es importante para la acumulación de la forma H (forma hepática) en cáncer de colon (20). Sin embargo, no se ha estudiado la regulación de la expresión de la forma hepática en otros tipos de cáncer y no se sabe si está relacionada con alguna vía de señalización que encuentre alterada en cáncer.

## PERSPECTIVAS

En diferentes tipos de cáncer se ha detectado un aumento en la expresión de la ST6Gal I y de ácido siálico en la membrana de las células tumorales. Dado que el incremento de ácido siálico en la membrana celular favorece la invasión y metástasis, el esclarecimiento de los factores que afectan la expresión de ésta molécula en el cáncer proporcionaría las bases para disminuir la agresividad del tumor. Adicionalmente, es necesario realizar estudios para caracterizar la presencia de las isoformas del ARNm de la ST6Gal I en los diferentes tipos de cáncer y profundizar en el conocimiento de las vías de señalización que pudieran estar relacionadas con su expresión.

## REFERENCIAS

1. Travig C, Schauer R (1998) Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci* 54:1330-1349.
2. Harduin-Lepers A, Vallejo-Ruiz V, Krzewinski-Recchi MA, Samyn-Petit B, Julien S, Delannoy P (2001) The human sialyltransferases family. *Biochimie* 83:727-737.
3. Haltiwanger RS (2002) Regulation of signal transduction pathways in development by glycosylation. *Curr Opin Struct Biol* 12:593-598.
4. Lowe JB (1999) Structures common to different types of glycans. En: *Essentials of glycobiology*, Chapter 16. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 211-252.
5. Dall'Olio F, Chiricolo M (2001) Sialyltransferases in cancer. *Glycoconj J* 18:841-850.
6. Dall'Olio F (2000) The sialyl- $\alpha$ 2,6-lactosaminyl-structure: biosynthesis and functional role. *Glycoconj J* 17:669-676.
7. Kannagi R (2002) Regulatory roles of carbohydrate ligands for selectins in the homing of lymphocytes. *Curr Opin Struct Biol* 12:599-608.
8. Leffler H (2001) Galectins structure and function. *Results Probl Cell Differ* 33:57-83.
9. Hennet T, Chui D, Paulson JC, Marth JD (1998) Immune regulation by the ST6Gal sialyltransferase. *Proc Natl Acad Sci* 95:4504-4509.
10. Dall'Olio F, Malagolini N, Di Stefano G, Minni F, Marrano D, Serafini Cessi F (1989) Increased CMP-NeuAc: Gal 1,4 GlcNac-R 2,6-sialyltransferase activity in human colorectal cancer tissues. *Int J Cancer* 44:434-439.
11. Gessner P, Riedl S, Quentmaier A, Kemmner W (1993) Enhanced activity of CMP-NeuAc:Gal beta 1-4GlcNac:alpha 2,6-sialyltransferase in metastasizing human colorectal tumor tissue and serum of tumor patients. *Cancer Lett* 75:143-149.
12. Dall'Olio F, Chiricolo M, D'Errico A, Gruppioni E, Altamari A, Fiorentino M, Grigioni WF (2004) Expression of beta-galactoside alpha2,6 sialyltransferase and of alpha2,6-sialylated glycoconjugates in normal human liver, hepatocarcinoma, and cirrhosis. *Glycobiology* 14:39-49.
13. Recchi MA, Hebbar M, Hornez L, Harduin-Lepers A, Peyrat JP, Delannoy P (1998) Multiplex reverse transcription polymerase chain reaction assessment of sialyltransferase expression in human breast cancer. *Cancer Res* 58:4066-4070.

14. Wang PH, Lee WL, Lee YR, Juang CM, Chen YJ, Chao HT, Tsai YC, Yuan CC (2003) Enhanced expression of alpha 2,6-sialyltransferase ST6Gal I in cervical squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 89:395-401.
15. Lin S, Kemmner W, Grigull S, Schlag PM (2002) Cell surface alpha 2,6 sialylation affects adhesion of breast carcinoma cells. *Exp Cell Res* 276:101-110.
16. Chiricolo M, Malagolini N, Bonfiglioli S, Dall'Olio F (2006) Phenotypic changes induced by expression of beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase I in the human colon cancer cell line SW948. *Glycobiology* 16:146-54.
17. Wen DX, Svensson EC, Paulson JC (1992) Tissue-specific alternative splicing of the beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase. *J Biol Chem* 267:2512-2518.
18. Lo NW, Lau JT (1996) Transcription of the beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase gene in B lymphocytes is directed by a separate and distinct promoter. *Glycobiology* 6:271-279.
19. Aas-Eng DA, Asheim HC, Deggerdal A, Smeland E, Funderud S (1995) Characterization of a promoter region supporting transcription of a novel human beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase transcript in HepG2 cells. *Biochim Biophys Acta* 1261:166-9.
20. Xu L, Kurusu Y, Takizawa K, Tanaka J, Matsumoto K, Taniguchi A (2003) Transcriptional regulation of human beta-galactoside alpha2,6-sialyltransferase (hST6Gal I) gene in colon adenocarcinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 307:1070-1074.