Glicopatología, glicoterapéutica y marcadores tumorales glicánicos

José Antonio Cabezas Fernández del Campo

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Catedrático Emérito de la Universidad de Salamanca. Spain.
Recibido el 14 de abril de 2011.
e-mail: edicion@ranf.com

RESUMEN

La desregulación (por causas genéticas o adquiridas) de la actividad de ciertas glicosiltransferasas, glicosidasas o isomerasas que catalizan los procesos metabólicos en que participan los glicoconjugados –moléculas resultantes de la unión entre glúcidos y prótidos o glúcidos y lípidos- ocasiona anomalías en la estructura química de estos compuestos, por originarse moléculas (generalmente truncadas o con ramificación aberrante) incapaces de efectuar sus funciones biológicas normales. Surgen así *anomalías por almacenamiento*, provocadas por disfunción o ausencia de la actividad catabólica a cargo de enzimas lisosómicas (“*Lysosomal Storage Disorders*”) o *desórdenes congénitos de glicosilación* (“*Congenital disorders of Glycosylation, CDG*”) que afectan a la biosíntesis de estas sustancias. La Glicopatología resultante se halla estrechamente vinculada con procesos infecciosos por:virus (gripe, SIDA, etc.), bacterias (*E. coli, Streptococcus* sp., *Helicobacter pylori*, etc.), hongos o protozoos, así como con *procesos cancerosos o inmunitarios*.

Afortunadamente, se dispone en la actualidad de eficaces agentes (de naturaleza glicoconjugada), pertenecientes a la rama denominada Glicoterapéutica, capaces de prevenir o de curar las consecuencias de tales anomalías, o destinados al normal mantenimiento de los seres humanos. Así, antibióticos aminoglicosídicos, inhibidores enzimáticos, enzimas (como la glucocerebrosidasa), vacunas de polisacáridos conjugados, anticoagulantes (como la heparina), condroitín-sulfato u hormonas (como la eritropoyetina). Además, las técnicas biotecnológicas están siendo últimamente aplicadas para la preparación o el perfeccionamiento de algunos de estos fármacos.

Asimismo, existen valiosos marcadores tumorales, de cuya composición forma parte un componente glicánico, relacionados frecuentemente desde el punto de vista

estructural con antígenos de algunos grupos sanguíneos, que (sin ser estrictamente específicos) resultan de gran utilidad para el diagnóstico, pronóstico y, sobre todo, para el seguimiento del estado de salud de pacientes de diversos tipos de cáncer. También, ciertas lectinas pueden considerarse como *indicadores* de estos trastornos, aunque no como auténticos *marcadores tumorales*.

Palabras clave: Glicopatología; Glicoterapéutica; Marcadores tumorales; Marcadores tumorales glicánicos; Glicoconjugados; Anomalías por almacenamiento causadas por enzimas lisosómicas; Desórdenes congénitos de glicosilación; Glicosilación y Terapéutica.

ABSTRACT

Glicopatology, Glycotherapeutic and Glycan Tumor Markers

The disregulation (due to genetic or acquired factors) of the activity of certain glycosyltransferases, glicosidases or isomerases which catalyse the metabolic processes related to the glycoconjugates –molecules resulting of the link between carbohydrates and proteins or between carbohydrates and lipids- produces anomalies in the chemical structure of these compounds (generally truncated structures or aberrant chain branching) who preclude their normal biological functions. So, *Lysosomal Storage Disorders* (by abnormalities in the catabolic way) or *Congenital Disorders of Glycosylation* (by abnormalities in the biosynthetic route) arise. Infectious processes, either by viruses (influenza, AIDS, etc.) or bacteria (*E. coli, Streptococcus* sp., *Helicobacter pylori*, etc.) or fungi or protozoa, as well as cancer or immune processes, belong to the chapter of the Glycopathology.

Fortunately, several efficient agents (which are glycoconjugates) are now available to prevent or heal the above-mentioned illness or to maintain the health state of humans. So, aminoglycosidic antibiotics, enzymatic inhibitors, enzymes (such as glucocerebrosidase), polysaccharide conjugate vaccines, anticoagulants (heparin), chondroitin-sulphate or hormones (erytropoetin), etc. Lately, the biotechnological techniques are employed for the preparation or the improvement of these drugs.

Furthermore, there are several Glycan Tumor Markers, with structures related to those of certain antigens of blood groups, which are very useful for the diagnostic, prognostic and, mainly, for the follow-up of cancer patients (even if they are not strictly specific for this illness). Also, certain lectins might be considered as *indicative* of this disorder, although not true markers.

Keywords: Glicopathology; Glycotherapeutics; Tomo(u)r Markers; Glycan Tumo(u)r markers; Lysosomal Storage Disorders; Congenital Disorders of Glicosylation; Glicosylation and Therapeutics.

1. INTRODUCCIÓN

Conceptos generales y antecedentes históricos

Si ya en el **siglo XVIII** se reconocía la diferencia entre la composición química del mundo mineral y la de los organismos vivos, dando origen a las denominaciones de "Química Inorgánica" y "Química Orgánica" –pasando ésta a definirse acertadamente después como la "Química del carbono"- para las disciplinas que, respectivamente, estudiaban estas cuestiones, es en el **siglo XIX** cuando se perfilan en esta última ciencia las diferencias entre los distintos *principios inmediatos* –sustancias caracterizadas mediante un análisis suave por sus propiedades físicas y químicas-, que fueron clasificados como *hidratos de carbono, grasas* y *sustancias albuminoideas*, correspondientes a los llamados, después más precisamente, *glúcidos, lípidos* y *prótidos*, respectivamente, dentro de la entonces incipiente Bioquímica.

Lógicamente, a medida que se avanzaba en el conocimiento de la composición de estas sustancias –que pronto se observó eran particularmente complejas y lábiles-, se apreció que existían, además, compuestos formados por la unión fuerte de algunos componentes de esos principios inmediatos, entre sí. De este modo, se reconoció, ya en **1865**, por Eichwald (médico ruso que trabajaba en Alemania con Scherer), que tanto las *mucinas* de algún tipo de quiste ovárico como las secreciones del caracol se hallaban formadas por una "genuina proteína y otra porción que se libera como azúcar". Esta es quizá la primera definición que anticipa acertadamente el concepto que después se consideraría específico del grupo de las *glicoproteínas* o *glicoproteidos*, a su vez pertenecientes a lo que, en **1973**, bautizaría el investigador francés Jean Montreuil –recientemente fallecido- con el nombre de *"glycoconjugués"* (= *glicoconjugados* = "*glycoconjugates*").

La composición, estructura, funciones y peculiaridades de dichos glicoconjugados, además de en los textos de Bioquímica, se hallan descritas en revisiones y artículos sobre esta materia (1-5). Brevemente, algunos de los logros conseguidos en este campo han sido los siguientes: Ya en la década de **1930** se averiguaron datos importantes sobre la naturaleza química de dichos compuestos, conocimientos que se ampliarían a partir de **1940** acerca de las rutas biosintéticas de los mismos, estableciéndose, por otro lado, después de **1950**, la estructura de grupos sanguíneos y *polisacáridos* bacterianos, hasta perfeccionarse a partir de **1960** la información relativa a la estructura de las glicoproteínas, así como lo esencial sobre la intervención de las *glicosiltransferasas* en los procesos de biosíntesis, con datos que se ampliaron y afianzaron acerca de este mecanismo, en la década de **1970**, gracias especialmente al trabajo del Premio Nobel Luis F. Leloir y sus colaboradores.

También a partir de 1970 se avanzó notablemente en el conocimiento inicial que se tenía acerca de la *vinculación existente entre ciertas enfermedades y estructuras anómalas de algunos glicoconjugados*, a causa de la degradación anormal de dichos compuestos motivada por la disfunción o ausencia de actividad de ciertas *glicosidasas* de origen lisosómico. En seguida, se pudo detectar que tales deficiencias podían proceder asimismo de las anomalías en los procesos de su biosíntesis, siendo particularmente graves las de origen genético, ocasionadas por *glicosiltransferasas* o glicosidasas no lisosómicas.

El conjunto de datos relativos a la composición y a los mecanismos de biosíntesis y degradación de los glicoconjugados que tienen lugar normalmente en los seres vivos constituye el objeto de la *Glicobiología*. Esta entidad puede considerarse como una rama de la Bioquímica, de forma similar a otras, como la Enzimología; o, quizá más acertadamente como una orientación peculiar de la Bioquímica en que se concede un papel relevante no sólo al aspecto estructural de los glicoconjugados sino especialmente a la faceta de su decisiva participación en numerosas, complejas e importantísimas funciones biológicas; lo cual justificaría su propia denominación: Glico-*biología*.

Pero, si por causas genéticas o del entorno los patrones normales de la composición de cualquiera de los grupos de glicoconjugados (glicoproteínas, *glicolípidos* y *glicolipoprotéidos*) o sus componentes (*glicopéptidos, ácidos siálicos, gangliosidos* o *derivados del fosfatidilinositol*, etc.) resultan aquéllos alterados significativamente y se producen anomalías en las funciones biológicas en que participa alguno de estos compuestos, este estudio queda incorporado dentro de la *Glicopatología*. Ha sido a partir de la década de **1980** y, principalmente en la de **1990**, cuando se ha progresado más en el conocimiento de la participación de la fracción glucídica –la constituida por los denominados *glicanos*- en las correspondientes funciones biológicas, sean éstas fisiológicas o patológicas. Obviamente, se ha profundizado en el estudio de las enzimas que catalizan estos procesos: glicosiltransferasas (cuyos genes han sido clonados), glicosidasas, isomerasas, etc.; y, asimismo, en el esclarecimiento de la estructura tridimensional de algunas glicoproteínas.

Finalmente, en la década del **2000**, el aspecto glicotecnológico ha experimentado un notable avance, orientado fundamentalmente a una preparación más perfeccionada de fármacos, dentro de la nueva *Glicoterapéutica* –de raíces, sin embargo remotas-, aspecto que se trata de desarrollar en el seno de la naciente *Glico(bio)tecnología*.

2. GLICOPATOLOGÍA

2.1. Algunos datos relativos a alteraciones en los procesos catabólicos

En la primavera de 1962, se recibió en el "Physiologisch-Chemisch Institut" de la Universidad de Colonia por su Director Prof. Ernst Klenk (codescubridor de los ácidos siálicos) la inesperada noticia siguiente: En el laboratorio de Prof. Jean Montreuil, en Lille, habían encontrado que un muchacho eliminaba habitualmente por orina una notable cantidad de compuestos conteniendo el *ácido* siálico N-*acetilneuramínico* (cuya estructura había sido establecida por E. Klenk y su colaborador Hans Faillard en 1954). Tal noticia fue recibida en Colonia con escepticismo por los que allí investigábamos sobre la naturaleza de este y otros ácidos siálicos en sueros, eritrocitos, tejido nervioso, etc. Retrospectivamente, se puede deducir que esta información constituye un valioso dato, verosímilmente el primero, sobre el trastorno denominado *sialuria*. En la actualidad, se sabe que es motivado por la disfunción o inactividad de la enzima *sialidasa* (= neuraminidasa, EC 3.2.1.18), que ocasiona la interrupción del proceso normal de degradación de los *sialoglicoconjugados*, provocando la acumulación de *sialiloligosacáridos*; (véanse Figura 1 y Tabla 1).

Algunas de las alteraciones mejor conocidas acerca de glicoproteínas (Figura 1 y Tabla 1), glicolípidos (Figuras 2 y 3 y Tabla 1) y *glicosaminoglicanos* (Tabla 1), por ausencia, inactividad o disfunción de las enzimas o isoenzimas que catalizarían el proceso normal catabólico de dichos compuestos, quedan resumidas en estas figuras y tabla. Puede observarse que dichas alteraciones llevan frecuentemente el nombre del investigador que las descubrió o analizó principalmente, además de la indicación abreviada de la anomalía en cuestión.

Tales **anomalías por almacenamiento** ocasionan un aumento anormal de la concentración del producto de la etapa inmediata anterior (por no haber sido degradado), cuya etapa se convierte irregularmente en etapa final del proceso. Ello ha facilitado, desde hace años, los primeros estudios sobre dichos trastornos, conocidos en la nomenclatura anglosajona como "***Lysosomal Storage Disorders***".

El origen, genético o adquirido, de estas anomalías puede ser variado. Así: *a)* por no ser sintetizada la enzima o la isoenzima correspondiente, debido a causas genéticas; *b)* por no ser catalíticamente activa dicha enzima o isoenzima; *c)* por no hallarse éstas en la localización adecuada; *d)* por ser inestables; *e)* por faltar el agente activador que les es imprescindible para su acción; *f)* por actuar en el proceso un agente inhibidor, que bloquea éste. (Tales agentes inhibidores pueden ser doblemente útiles: para el estudio del proceso metabólico o como potenciales fármacos; véase más adelante, Figura 4).

Tabla 1.- Alteraciones patológicas relacionadas con glicoconjugados

Disfución enzimática	Sustancia acumulada	Trastorno
α-L-Fucosidasa	Glicoconjugados conteniendo L-fucosa	Frucosidosis
Asparragenil-*N*-acetilglucosaminidasa	Glicoconjugados conteniendo asparragina	Asparragenil-*N*-acetilglucosaminuria
Sialidasas α(2>3) y α(2>6)	Sialiloligosacáridos α(2>3) y α(2>6)	Sialidosis (tipo A)
Sialidasa α(2>6)	Sialiloligosacáridos α(2>6)	Sialidosis (tipo B)
β-Galactosidasa	Gangliósido GM_1 y Oligosacáridos con galactosa terminal	Gangliosidosis GM_1
β-Hexosaminidasa A (=β-*N*-Acetilhexosaminidasa A)	Gangliósido GM_2	Enfermedad de Tay Sachs
β-Hexosaminidasa A y B (=β-*N*-Acetilhexosaminidasa A y B)	Gangliósido GM_2 y otros glicoconjugados	Enfermedad de Sandhoff
α-Manosidasa	Oligosacáridos con manosa terminal	α- Manosidosis
Glucocerebrosidasa	Glucocerobrósido	Enfermedad de Gaucher
Galactocerebrosidasa	Galactosilesfingosina	Enfermedad de Krabbe
Cerebrosidasa-sulfatasa	Cerebrósido-sulfato	Leucodistrofia metacromática
α-Galactosidasa	Ceramida-trihexósido	Enfermedad de Fabry
Ceramidasa	Ceramida	Enfermedad de Faber
Enfingomielinasa	Esfingomielina	Enfermedad de Nieman-Pick
α-L-Idutonidasa -L-Idutonidasa	Heparán-sulfato y dermatán-sulfato	Mucopolisacaridosis I_H (Enfermedad de Hurler) y Mucopolisacaridosis I_S (Enfermedad de Schele)
α-L-Idutonidasa-sulfatasa	Heparán-sulfato y dermatán-sulfato	Mucoposacaridosis II (Enfermedad de Hunter)
Sulfamidasa	Heparán-sulfato	Mucoposacaridosis III_A (Enfermedad de Sanfilippo A)
α-*N*-Acetilglucosaminidasa	Heparán-sulfato	Mucoposacaridosis III_B (Enfermedad de Sanfilippo B)
N-Acetilgalactosamin-6-sulfato-sulfatasa, y galactosa-6-sulfato-sulfatasa	Queratán-sulfato y condroitin-sulfato	Mucopolisacaridosis IV (Enfermedad de Morquio)
β-Glucuronidasa	Dermatán-sulfato y heparán-sulfato	Mucopolisacaridosis VI

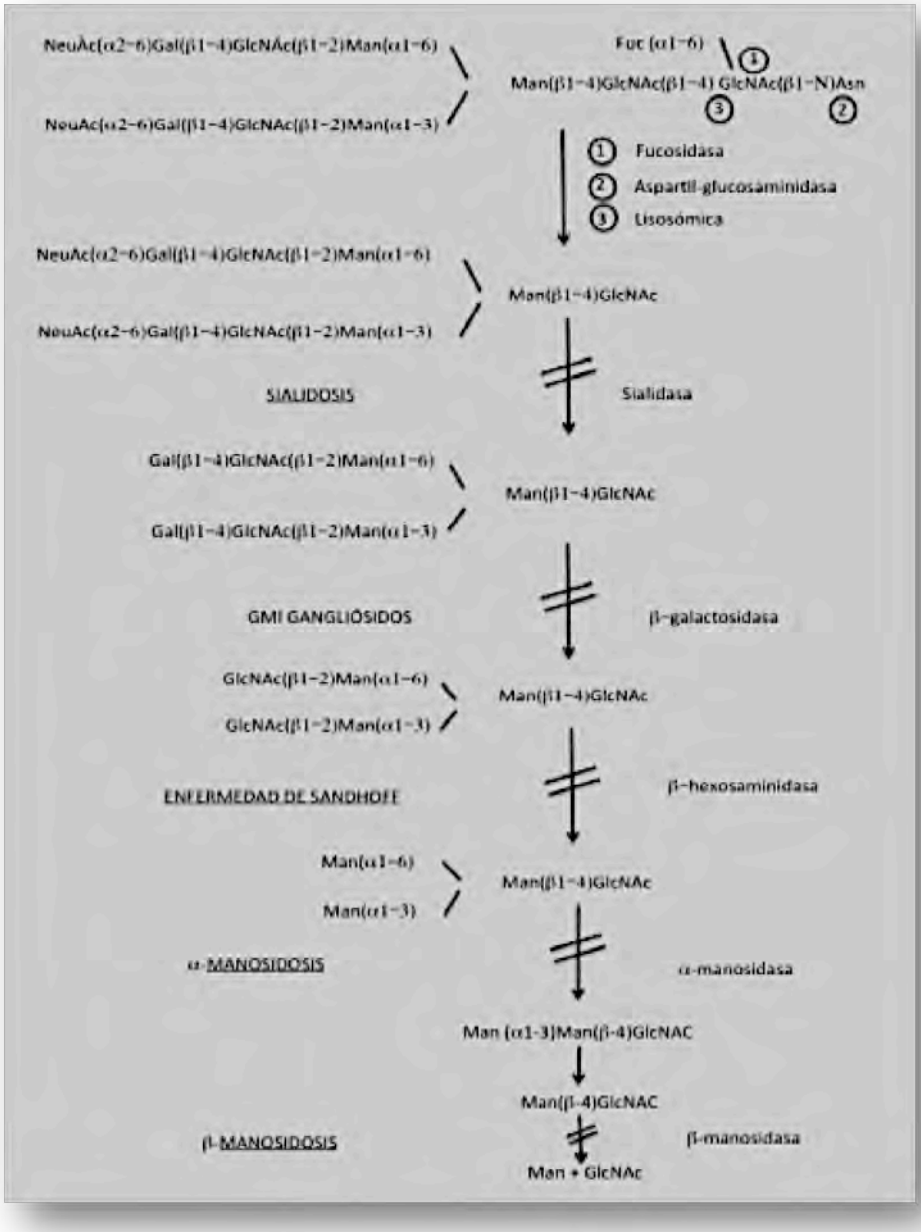

Figura 1.- Degradación de una glicoproteína. El proceso catabólico puede ser interrumpido, anormalmente, en alguna etapa (II) ocasionando la acumulación del correspondiente compuesto y generalmente el subsiguiente trastorno. Por el contrario, en condiciones normales el proceso continuaría hasta concluir en el o los productos finales.

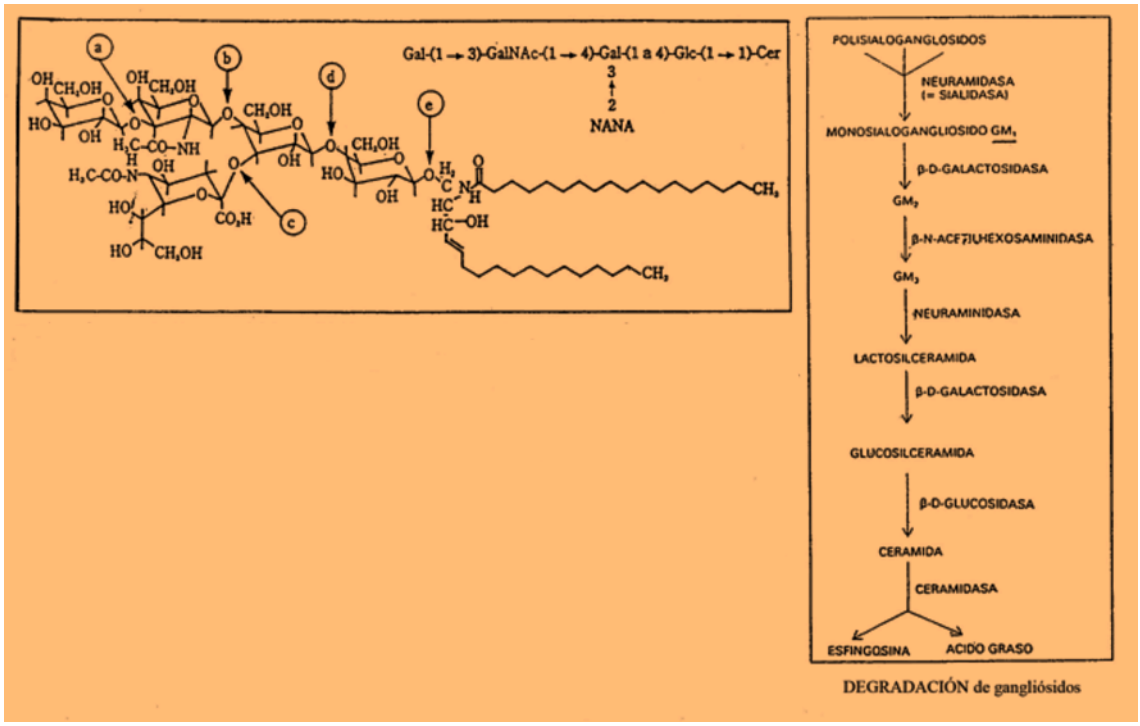

Figura 2.- Degradación normal del gangliósido GM1; a: β-Galactosidasa, b: β-N-acetilgalactosaminidasa; c: neuraminidasa; d: β-galactosidasa; y e: β-glucosidasa.

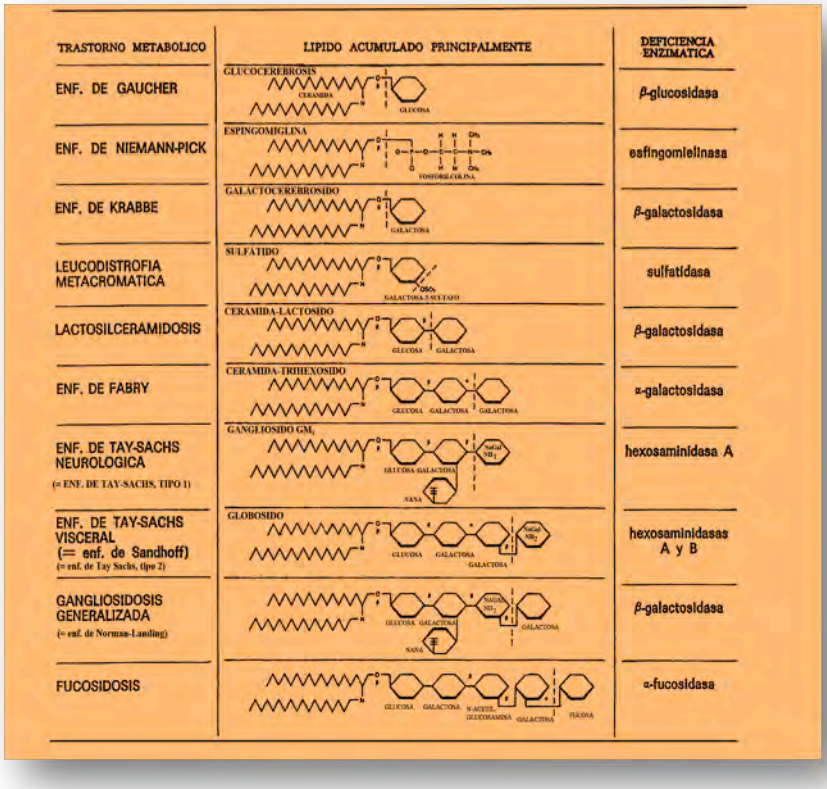

Figura 3.- Esfingolipidosis.

2.2. Glicopatología relativa principalmente a procesos biosintéticos

Al conjunto de anomalías relacionadas con la degradación de glicoconjugados se ha añadido posteriormente otro grupo que afecta a los procesos de biosíntesis. En este caso se trata de anomalías vinculadas con cualquiera de las numerosas enzimas que participan en tan complejo proceso -cuyo detalle no procede intentar hacer aquí- que la célula efectúa en diversos compartimentos (retículo endoplásmico, aparato de Golgi, etc.).

Mutaciones en 7 de los 30-40 *genes* necesarios para la síntesis y transferencia de oligosacáridos desde el donador lipídico a los aceptores nacientes de la proteínas causan los **Desórdenes Congénitos de Glicosilación Tipo I** (***"Type I Congenital Didorders of Glycosilation, CDG***". El **Grupo II** incluye todas las etapas de la ruta de procesado de los glicoconjugados de enlace *N*, probablemente con > 50 genes, de los que sólo 4 son defectuosos (6). Por lo menos 11 tipos de CDG han sido descritos.

Las enzimas afectadas son: isomerasas, glicosiltransferasas y sus componentes (donadores y aceptores), y glicosidasas (integradas en las membranas, diferentes de las de localización lisosómica). Así, para el *Tipo I*: *Ia*, fosfomanomutasa; *Ib*, fosfomanoisomerasa; *Ic*, α1,3glucosiltransferrasa; *Id*, α1,3manosiltransferasa; *Ie*, manosafosfatoliquilsintasa; *If*, (relacionado con doliquilmanosafosfato); *Ig*, α1,2manosiltransferasa. *Tipo II*: *IIa*, *N*-acetilglucosaminiltransferasa-II; *IIb*, α-glucosidasa-I; *IIc*, transportador de guanosíndifosfato-fucosa; y *IId* (6). Transferasas y glicosidasas, alargando y recortando, respectivamente, la cadena glicánica en formación determinan la estructura definitiva del glicoconjugado.

Principalmente las mutaciones que afecten a cualquiera de ellas pueden ocasionar la formación de *estructuras aberrantes*, generalmente truncadas o con ramificaciones anómalas, carentes de actividad biológica normal.

Los pacientes de glicoproteinosis, glicolipidodosis y mucopolisacaridosis de esta procedencia presentan alteraciones de índole varia, que suelen afectar al sistema nervioso, provocando lesiones que habitualmente dañan la capacidad intelectual, los movimientos, o ceguera, o la muerte a corta edad. Estadísticamente, la frecuencia de estos trastornos no suele ser elevada, salvo en grupos de población caracterizados por su endogamia, como el de los judíos askenazíes.

2.3. Glicopatología relativa a mecanismos inmunitarios

El *antígeno Tn* [cuya estructura es: β-Galactosa (1-3) *N*-Acetilgalactosamina-Serina/Treonina] puede actuar como un antígeno que ocasiona trastornos por *mecanismos autoinmunes*. El proceso es debido a la

capacidad de respuesta a la producción de anticuerpos frente a antígenos de tipo glicoconjugado, ya sea éste de procedencia endógena o exógena.

La llamada "*enfermadad del suero*", ocasionada frecuentemente (antes de la era de los antibióticos) al usarse sueros de caballos inmunizados para prevenir la infección que provocaría la bacteria causante del tétanos, se debe a que los "*anticuerpos HD*" –así llamados por haber sido investigados en la década de 1920 por los checos M. Hangunitziu y H. Deicher, independientemente- existentes en dichos antisueros contienen un *glicoesfingolípido* de cuya molécula forma para el *ácido N-glicolilneuramínico* (ácido siálico no biosintetizado por los seres humanos y del cual éstos carecen o, si lo poseen, es en ínfima proporción, procedente de ciertos alimentos). Ahora bien, no sólo gangliósidos integrados por este ácido sino también glicoproteínas que lo contengan pueden desencadenar la temida reacción anafiláctica (para más detalle, véase artículo de la referencia 7).

Análogamente, este aspecto ha de tenerse en cuenta asimismo en la utilización por los humanos de órganos procedentes de otras especies (como el cerdo) en los denominados *xenotrasplantes*, al poder contener dichos órganos residuos inmunogénicos.

Es de advertir, sin embargo, que la capacidad de originar anticuerpos las células humanas frente a antígenos de naturaleza glicoconjugada es, en general, poco elevada. Probablemente ello es debido al efecto de "enmascaramiento" que efectúa la fracción glicánica situada en la parte periférica de la molécula del glicoconjugado.

Por otro lado, una glicosilación anormal en *inmunoglobulinas* se estima como cofactor en la patogénesis de : *artritis reumatoidea* y en la *glomeronefritis* (afectando a la IgG); en *trastrornos alérgicos, asma,* y *enfermedad celíaca* (respecto a la IgE).

2.4. Glicopatología relacionada con procesos infecciosos

«Todas las células en la Naturaleza están cubiertas con un denso revestimiento de glicanos, que es importante no sólo para los procesos biológicos de los hospedadores sino también para la unión ["binging"] de los patógenos a las células» (8).

Referido este revestimiento únicamente a los ácidos siálicos, se considera que existen de dichos ácidos «10 millones en la membrana del eritrocito humano» (9).

Téngase en cuenta que el primer contacto que un agente patógeno (sea virus, bacteria, hongo o protozoo) establece con la membrana de la célula a la que se va a unir, pudiendo provocar ulteriormente la infección, es con un residuo

terminal de tipo glicoconjugado; frecuentemente (pero no siempre) con un resto de *ácido* N-*acetilneuramínico* integrante de un gangliosido o una glicoproteína.

Tabla 2.- Moléculas receptoras de la bacteria *Helicobacter pylori*

Composición / Proceso biológico / Función	Referencia
Ciertos glicoesfingolípidos ácidos.	Saitoh, H. *et al.,FEBS L.*, 1991
αFuc | Proteínas del grupo Lewis b: αFuc-βGal-GlcNac—.	Boren, T. *et al.*, *Science*, 1993
La 3'sialil-lactosa y el antígeno Lewis b [NeuAc(α2-3)-Gal(β1-4)Glc] son agentes terapéuticos, por inhibir competitivamente la unión entre bacteria y hospedador.	Halcomb, R. *et al.*, *JACS*, 1994
Poligliocosilceramidas	Miller, H. *et al.*, *Glyco. J.*, 1996
Ácidos polisiálicos α-2,3 (para ciertas cepas)	Hirmo, S. *et al.*, *Glyco. J.* 1996
Glicoproteínas de neutrófilos con la secuencia terminal NeuAc(2,3)-βGal-GlcNAc-βGal-GlcNAc.	Teneberg, S. *et al.*, *JBC*, 1997
Gangliósido GM3 y glicoproteínas. *[Posible uso terapéutico de sialil-lactosa y poliglicosilceramidas sialiladas]*.	Lingwood, C., *BBA*, 1999
Gliocoesfingolípido sialil-dimérico-Lewis x sería el receptor de las adhesinas (proteínas expresadas por el *H. pilori*). *Las personas de grupo sanguíeno O se hallan más predispuestas a sufrir úlcera péptica]*.	Mahdavi, J., *Science* 2002
Gangliósidos (excepto los que contengan NeuGc, NeuAcα6 ó NeuAcα8) se unen mediante la adhesina.	Roche, N. *et al.*, *Infect. & Immun.*, 2004
Glicoproteínas de neutrófilos: NeuAc(2-3)- βGal-GlcAc-βGal-GlcNAc.	Roche, N. *et al.*, *Infect. & Immun.*, 2004
Antígenos fucosilados de los grupos sanguíneos O, A y B.	Aspholm, M., *Science*, 2004
La unión del *H. pylori* a los sialoglicoconjugados celulalares necesita: los grupos carboxilo y acetamido, la cadena glicerol del NeuAc, partes de la Gal; es secundaria la GlcNAc. *El NeuAc libre es inactivo como inhibidor.*	Johansson, P., *Glycobiol.*, 2005
La endosimbiosis entre el H. pylori *y las células del estómago "podría contribuir a la tumoregénesis gástrica"*.	Giannakis, M., *PNAS*, 2008
Neoglicanos, derivados de la *N*-acetil-lactosamina se unen a *H. pylori*	Miller, H., *Glycobiol.* 2009

Algunos ejemplos son los siguientes: *a)* En lo concerniente al ***virus*** *de la gripe*, este proceso está muy analizado, desde hace algunas décadas; pero aún quedan aspectos por esclarecer. Datos sobre el tipo de enlace de los componentes glicánicos de los glicoconjugados del tracto respiratorio participantes en la unión del virus y posterior penetración de éste en la célula infectada se hallan en publicaciones recientes (10-16). *b)* Por su especial interés, se sigue investigando lo relativo a *glicoproteínas* como la *gp120*, vinculadas a la infección por VIH causante del SIDA (17). *c)* La **bacteria** *Escherichia coli* puede unirse, según el tipo a que

pertenezca, a glicoproteínas o a esfingolípidos (de variada composición en este caso) del tracto urinario o del intestino. *d)* Esto mismo ocurre si se trata de la bacteria *Neisseria gonorrheae*. *e)* En cambio, para *Streptococcus pneumoniae* la fijación se hace en el tracto respiratorio merced al componente glicánico formado por *N*-Acetilglucosamina (β1-3)Galactosa. *f)* La bacteria *Helicobacter pylori* viene siendo muy estudiada desde la década de 1990 por su relación con la úlcera y el cáncer gástricos. Alguno datos relativos a estos procesos, así como a su posible tratamiento, se resumen en la Tabla 2. *g)* El **hongo** *Candida albicans* efectúa su unión con la piel y mucosas mediante el disacárido Galactosa (β1-4) Glucosa. *h)* En cambio, para el **protozoo** *Entamoeba histolytica* esta unión con las células del intestino se hace mediante Galactosa (β1-4) *N*-Acetilglucosamina. *i)* Por último, para el protozoo *Giardia lamblia* dicha unión, también en el intestino, la realiza el monosacárido activado Manosa-6-Fosfato.

2.5. Glicopatología en relación con el cáncer y otros trastornos

Hacia mediados de la década de 1960, Leonard Warren y Mary-Catherine Glick, en la Universidad de Pensilvania (EE.UU.), mostraron las peculiaridades que presentan ciertos *glicopéptidos de células transformadas*. Más tarde, se dio a conocer este importante resultado como "*fenómeno de Warren-Glick*". Las alteraciones en las estructuras de los glicoconjugados han sido intensamente analizadas después por A. Kobata (en Japón) y por S.-H. Akomori (en EE.UU.) y otros.

Se ha detectado un incremento en la concentración del *ácido* N—*glicolilneuramínico* en procesos tumorales, ácido que en adultos humanos se halla normalmente a concentraciones escasísimas o nulas. Sin embargo, ocurre lo contrario en el estado embrionario.

En relación con este estado, conviene mencionar a las *lectinas*. Éstas son proteínas o mayoritariamente glicoproteínas de tipo no inmune presentes en toda clase de organismos, capaces de unirse (por su porción peptídica) de forma muy específica y reversible a componentes glicánicos. Aunque su clasificación ha intentado hacerse tomando en consideración su estructura (puesto que ya se conoce incluso la estructura tridimensional de algunas de ellas), suelen utilizarse las clasificaciones fundadas en su especificidad respecto a los monosacáridos integrantes de los glicoconjugados o las relacionadas con el origen del material de su procedencia. Interés especial tienen las lectinas llamadas "*siglecs*" (de "*sialic acid binding immunoglobulin superfamily lectins*"), caracterizadas por reconocer íntegramente la molécula del ácido siálico. Una de las cinco de ellas es la *sialoadhesina* (= *siglec* 1). En conexión con el cáncer, se distinguen tres tipos de lectinas: *a)* las endógenas que se expresan tanto en tejidos tumorales como en los normales; *b)* las que se hallan sólo en tumores y en tejidos en desarrollo, pero no

en tejidos adultos (por lo que se consideran *de expresión oncofetal*); y *c)* aquellas cuyas características no permiten que se las incluya en ninguno de los dos grupos anteriores.

Otro ácido siálico, el N-*Acetil-9-O-acetilneuramínico*, que integra glicoproteínas, experimenta una desacetilación en la posición 9 en carcinomas humanos de colon, mientras que en melanomas se detecta en él una acetilación incrementada en esa misma posición (pero para dicho ácido componente del gangliósido GD3). Ciertos cambios se han detectado también en los *ácidos polisiálicos*.

El capitulo de los glicoconjugados en relación con el cáncer es difícil de interpretar todavía, pero de gran significación. (Véase, más adelante, lo relativo a *marcadores tumorales*).

Por otro lado, el *gangliósido GM1*y otros gangliósidos han sido relacionados con trastornos del sistema nervioso y la *enfermedad de Parkinson*.

Además, no hay que olvidar que, en 1999, Prusiner y colaboradores encontraron diferencias de glicosilación entre las isoformas de las sialoglicoproteínas normales y patológias que constituyen los *priones*.

Finalmente, alteraciones en los *glicosaminoglicanos* se han vinculado con ciertas enfermedades como *nefrolitiasis* causantes de cálculos renales.

3. GLICOTERAPÉUTICA

3.1. Generalidades

Si todo lo expuesto hasta aquí podría inducir a una impresión pesimista acerca de la previsible situación de los humanos frente a trastornos que podrían ser ocasionados por virus, bacterias, protozoos, etc. (alteraciones producidas mediante los mecanismos en que están implicados los glicoconjugados tanto del agente patógeno como de la célula receptora), afortunadamente para ésta, «la diversidad, complejidad, hidrofilia y movilidad estructural de los glicanos de la superficie celular, así como su naturaleza combinatoria, determinan la posibilidad de cambios rápidos para evitar que los patógenos se enlacen a los glicanos »(8); por lo que el riesgo de infección se restringe o se impide. De todos modos, tales cambios son independientes de los que pudieran afectar al componente protídico (en el caso de las glicoproteínas), al lipídico (si se tratara de los glicolípidos) o a ambos (si fueran los glicolipoprotéidos), ya que los procesos de biosíntesis y degradación de dichos componentes son distintos.

Desde un punto de vista histórico, podrían distinguirse *diversas etapas en la utilización de fármacos de naturaleza glicoconjugada*. Así: 1ª) Ciertos antibióticos aminoglicosídicos (como la estreptomicina) o agentes anticoagulantes (como la

heparina) o vacunas constituidas por polisacáridos bacterianos han venido utilizándose desde hace ya bastantes años, inicialmente en ocasiones (alguno de ellos) de modo empírico. 2ª) *a)* Otro grupo comprendería a aquellos compuestos que fueron ideados para bloquear el ciclo biológico de un virus, como el de la gripe, al inhibir la actividad de una enzima que es indispensable para la liberación del virus recién formado en la célula hospedadora, y su propagación. Se trata en este caso de un análogo estructural del que hubiera sido el producto normal de la reacción enzimática. *b)* Otros inhibidores que bloqueen alguna etapa de la biosíntesis de un glicoconjugado vírico se pueden convertir en potenciales agentes terapéuticos. Pero la posibilidad de que se bloquee también la biosíntesis del respectivo glicoconjugado de la célula que se pretende proteger limita la aplicación de estos inhibidores (que suelen ser análogos estructurales del sustrato enzimático o alcaloides) (Figura 4). 3ª) Otro grupo de agentes, de más reciente estudio, intenta actuar, no en relación con el sustrato o el producto implicados en la reacción enzimática, sino sobre la propia enzima que cataliza una etapa del proceso. Una variante de este método consiste en modificar las peculiaridades del proceso mediante técnicas biotecnológicas. Así se pueden obtener fármacos de composición algo diferente de los respectivos aislados de diversos materiales naturales, y con mejores propiedades biológicas; tal es el caso de eritropoyetinas y heparinas artificiales (5).

3.2. Algunos ejemplos de fármacos de tipo glicoconjugado

En la publicación de la referencia 4 se comentan datos relativos a medicamentos que son glicoconjugados, comprendiendo esta revisión hasta el año 2000. Allí se mencionan, entre otros, a los siguientes:

- Antibióticos aminoglicosídicos (estreptomicina, neomicina, gentamicina, kanamicina y tobramicina).
- Citocinas.
- Antiinflamtorios (que actúan oponiéndose a la adhesión a endotelios).
- Manosa (para curar trastornos como alguno del antes indicado grupo CDG, ocasionados por deficiencias relacionadas con dicha hexosa).

Otros fármacos también descritos en esa revisión (4) han experimentado desde entonces perfeccionamientos ya sea por modificación de su estructura o en las técnicas de su preparación (frecuentemente por Biotecnología); o han surgido otros nuevos.

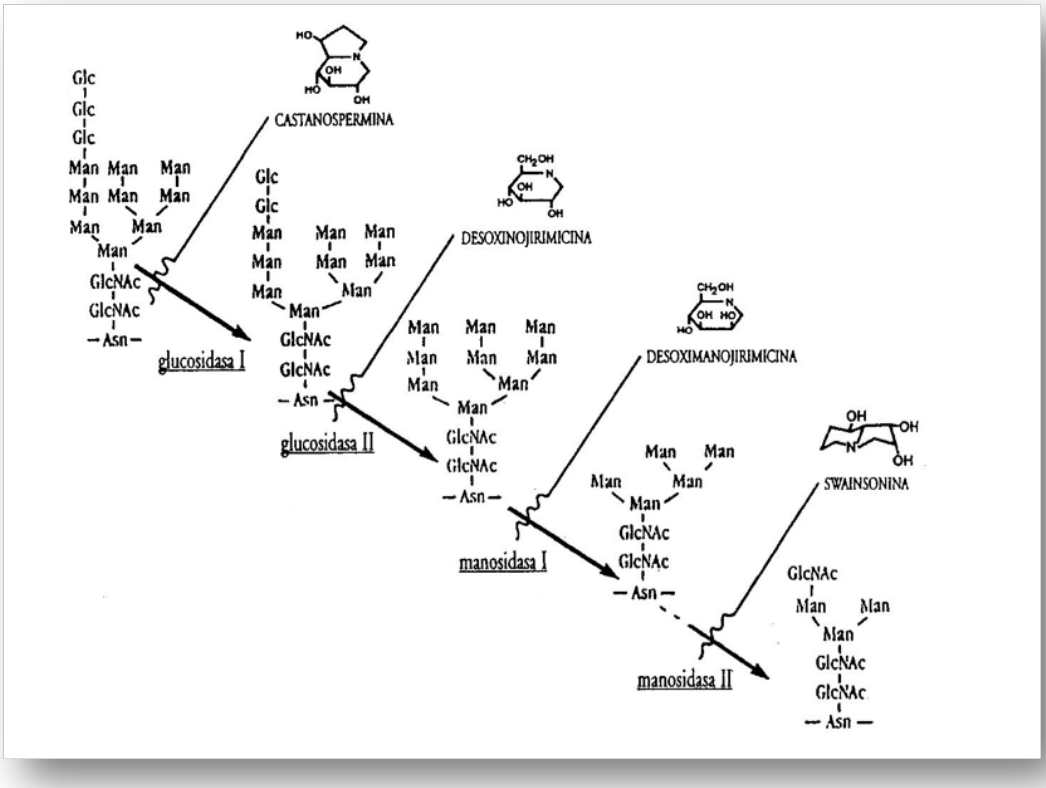

Figura 4.- Estructura de la castanospermina y de la desoxinojirimicina (inhibidores de la glucosidsa I –la desoxinojirimicina también lo es de la glucosidasa II-), de la desoximanojirimicina (inhibidor de la manosidasa I), y de la swainsonina (inhibidor de la manosidasa II).

Así, en lo referente a *vacunas de polisacáricos conjugados*: *a)* Ya desde 1976, como mínimo, se disponía de *vacunas poliosídicas* contra enfermedades por meningococos A y C, neumonías y fiebres tifoideas. Purificados los antígenos respectivos, una vez introducidos en el organismo receptor, determinan la proliferación de linfocitos B y la secreción de inmunoglobulinas. Son "antígenos T-independientes". Desde la década de 1980 se viene investigando sobre un nuevo concepto de vacunas: las *vacunas de polisacáridos* (= *poliósidos*) *conjugados*. En ellas, el acoplamiento químico del polisacárico capsular específico de cada serotipo con una proteína transportadora convierte a los poliósidos en "antígenos T-dependientes". *b)* Como candidatos a vacunas contra *Leishmania* se han preparado sintéticamente, desde 1999, *neoglicoconjugados* (neoglicoproteínas y neoglicolípidos) conteniendo enlaces fosfodiester entre unidades repetidas de tipo glucídico. Entre ellas: Gal-Man, o Gal-Man-Gal-(Glc)-Man, etc. *c)* También se han intensificado, a partir del año 2000, los estudios acerca de *vacunas contra algunos tipos de cáncer*. Así, para el cáncer de mama y el ovárico, la constituida por el *sialil-Tn sintético*; y para el de próstata, el *globósido H. d)* En 2004, se ha descrito que un conjugado obtenido por vía sintética, constituido por *polirribosilfosfato*, está dirigido preferentemente contra infecciones provocadas por *Haemophilus*

influenzae, Streptococcus pneumaniae y también *Neisseria meningitidis*. *e)* Análogamente, para evitar efetos perjudiciales que puede ocasionar el uso de la *heparina* natural (tales como trombocitopenia por interacciones con el factor plaquetario 4, etc.), se han preparado *heparinas sintéticas*, como la constituida por un pentasacárido, la cual posee las propiedades antitrombóticas deseadas y carece de dichos inconvenientes. *f)* Por otro lado, se sigue estudiando la participación de los *proteoglicanos* del tipo del *heparan-sulfato*, actuando como receptores, en los procesos del desarrollo celular (tales como la adhesión, la motilidad, la proliferación, la diferenciación o la morfogénesis). *g)* Además, los *heparán-sulfatos*, por su efecto inhibidor sobre el crecimiento de tumores y metástasis, podrían considerarse como potenciales agentes anticancerosos. *h)* Asimismo, se investiga el papel de dichos *heparán-sulfatos* en la regulación de la homeostasis tisular, al actuar protegiendo contra las degradaciones proteolíticas que pueden producirse en los factores de crecimiento, citocinas, etc. Así, cuando se origina una agresión o una lesión celular, las enzimas denominadas heparanasas se activan y son causa de la liberación de citocinas al degradar los heparán-sulfatos. Ahora bien, ciertos heparán-sulfatos (conteniendo grupos funcionales seleccionados) pueden proteger contra esas degradaciones proteolíticas. *i)* En cuanto al *condroitin-sulfato*, téngase en consideración que resulta útil en el tratamiento de las artrosis de rodilla y cadera, si se emplea en las primeras fases de estos trastornos. *j)* Finalmente, acerca de los compuestos de tipo glicoconjugado dotados de *actividad antigripal* actualmente autorizados (*oseltamivir* = "tamiflu" y *zanamivir* = "relenza"), que son inhibidores de la enzima vírica sialidasa o neuraminidasa (E.C. 3.2.1. 18), antes indicados, su composición, mecanismo de acción, etc., se hallan detallados especialmente en las publicaciones de las referencias 10, 13 14 y 16. *k)* De modo análogo, lo concerniente a la hormona *eritropoyetina*, a la enzima *glucocerebrosidasa* y a *otros sialoconjugados* de interés terapéutico puede consultarse en la reciente revisión de la referencia 5.

3.3. Datos posteriores al año 2000 relativos a glicosilación y terapéutica

Si ya en los comienzos de la década de 1990 aparecen artículos relativos a estos temas, como los de las referencias 18-20, a partir del año 2000 se ha incrementado notablemente su número. Los títulos de las referencias 21-32 indican claramente su contenido, que abarca diversas facetas de tan complejo asunto.

Acerca de la importante cuestión de la obtención de este tipo de medicamentos por técnicas biotecnológicas, conviene recordar que los sistemas enzimáticos empleados para ello –ya sean procedentes de bacterias, levaduras, insectos o, frecuentemente, de células de ovario de hámster chino (CHO = "Chinese hamster ovary")- no siempre garantizan la biosíntesis de un glicoconjugado de idéntica estructura química a la del natural (dada la habitual microheterogeneidad

de estos compuestos), pero mediante glicosilaciones o desglicosilaciones ulteriores adecuadas pueden obtenerse fármacos de igual o, frecuentemente, mayor actividad biológica que las de sus homólogos naturales (4).

3.4. Algunos grupos recientes de fármacos de naturaleza glicoconjugada, y aspectos económicos con ellos relacionados

Principalmente a partir de los comienzos de la década de 2000, se ha incrementado, sobre todo en EE.UU., el número de empresas –vinculadas frecuentemente al ámbito universitario- dedicadas a la fabricación de medicamentos pertenecientes a este grupo. Parece ser que sus resultados económicos han sido generalmente muy notables, pero también algunas de ellas fueron clausuradas, dado su escaso rendimiento.

Procede aquí comentar únicamente la índole de algunos de los fármacos que han sido oficialmente aceptados en los últimos años, una vez superados los exigentes trámites para su aprobación. Destacan: Análogos de *iminoglúcidos* (que perfeccionan antiguos antibióticos de esta naturaleza, evitando algunos de los efectos secundarios desfavorables de aquéllos), *oligosacáridos conjugados* (como componentes de vacunas), vacunas conteniendo el *gangliósido GM2* o vacunas conteniendo un *glúcido bacteriano acoplado a una proteína*; y también, *enzimas relacionadas con procesos de glicosilación y desglicosilación* (como variedad de nuevas terapias). Asimismo, atención especial está mereciendo el grupo de los "*sugar mimics*", que son moléculas muy similares estructuralmente a ciertos glúcidos, capaces de bloquear la biosíntesis de estos compuestos en procesos cancerosos o en enfermedades como la hepatitis C, o de reducir la biosíntesis del glicolípido que se acumula en la enfermedad de Gaucher.

Respecto a los aspectos económicos, es significativo el ejemplo de las ventas de una *eritropoyetina* (la comercializada con el nombre de "Aranesp®") cuyas cifras en la década de 2000 no han cesado de aumentar y fueron en el año 2005 de 2.500 millones de dólares (EE.UU.) (5). Otro glicoconjugado de amplio uso es la *heparina*, con el consiguiente elevado importe económico. Y piénsese en la altísima cuantía que representan mundialmente las *vacunas antigripales* (33) (que deben ser renovadas anualmente), incluso en ausencia de pandemias; pero que ahorran en actividad laboral no perdida, ausencia de hospitalizaciones y en bienestar cantidades muy superiores (16). Evidentemente, el consumo de otros fármacos de este grupo es mucho más restringido y, por tanto, lo son sus rendimientos económicos. No obstante, una considerable cifra corresponde a la venta de los *agentes destinados al diagnóstico* vinculados con los glicoconjugados (véase más adelante).

3.5. La "Glicoproteína P" disminuye la eficacia de fármacos anticancerosos

En relación con aspectos terapéuticos, cabe señalar la peculiaridad de esta glicoproteína (de tamaño molecular cercano a 170.000, situada en la membrana de células cancerosas), que tiene la propiedad de actuar como una bomba energética capaz de expulsar de la célula ciertos agentes anticancerosos, ocasionando así resistencia multifarmacológica y el fracaso de la quimioterapia aplicada en la lucha contra este enfermedad.

4. MARCADORES TUMORALES GLICÁNICOS

4.1. Características y ejemplos

Marcadores tumorales pueden contener un componente glicánico o de naturaleza peptídica. Respecto a los primeros, debe advertirse que «estrictamente hablando, desde una base química, no hay "estructuras específicas de tumores" [sino] […] "estructuras no-específicas» (34). De ahí que su valor para este fin sea limitado. Aún mayores restricciones deben aplicarse a las enzimas aplicadas para estos ensayos.

Generalmente, se acepta que un marcador tumoral es una sustancia producida por las células tumorales o por el organismo hospedador, detectable y valorable en el suero o en otros materiales biológicos, que es indicador de la existencia o seguimiento de la enfermedad.

«El marcador tumoral ideal debería estar presente solamente, o incrementado, en pacientes con tumores malignos, debería correlacionarse con el tamaño del tumor, debería ser fácil de analizar, tener una semi-vida corta, y debería estar presente en todos los tumores de un órgano específico. […] Pocos marcadores tumorales tienen estas características» (35). Es decir, deberían poseer una elevada *sensibilidad* y una *especificidad* tal que garantizaran el poder distinguir a los pacientes de cáncer –incluso señalando el tipo de cáncer- respecto a los sujetos normales o a los pacientes de otras enfermedades. En general, estas condiciones suelen cumplirlas, aunque sea sólo parcialmente, la mayor parte de los marcadores usuales.

Concretamente, ciertos glicoconjugados satisfacen esencialmente tales exigencias, probablemente por tener las siguientes características: *a)* Ser moléculas producidas en exceso (respecto a las escasas concentraciones normales) o poseer estructuras peculiares (véase más adelante), ya sea por truncamiento (y por consiguiente menor tamaño) de las cadenas glicánicas, o por ramificación incrementada de las uniones β1-6, como consecuencia de la desregulación de la actividad de las glicosiltransferasas y las glicosidasas que catalizan su biosíntesis. *b)* Ser sustancias de alta polaridad (al contener residuos de ácidos siálicos), por lo

que entran rápidamente en circulación. *c)* Ser relativamente resistentes a la degradación metabólica, por lo que pueden liberarse en cantidades que permiten su detección y valoración por las modernas técnicas analíticas.

Unos marcadores son los *derivados del tumor*, que son moléculas producidas por las propias células tumorales, entre los que se distinguen los antígenos oncofetales (como el CEA) y los antígenos tumorales (CA 19.9, etc.); y otros son los marcadores *asociados al tumor*, que son moléculas producidas por células del organismo hospedador, cuyas moléculas existen normalmente pero a menor concentración (así la ferritina). Por tanto, algunas de estas sustancias pueden hallarse no sólo en células neoplásicas sino en las normales, sobre todo de embriones, pero incluso también de adultos. Esto explica el hecho de los "resultados falsamente positivos".

Por otro lado, un marcador glicánico puede serlo de diferentes tipos de cáncer, aunque lo sea con distinto grado de especificidad. En este sentido, se clasifican en: *los de elevada especificidad* (que escasean), *los de especificidad intermedia* (como el CEA, que suelen ser los más habituales), y *los de baja especificidad*. Asimismo, se deduce que, frecuentemente, un marcador puede ser más útil en el seguimiento que en el diagnóstico de un determinado tipo de cáncer. Otra faceta a considerar es su aplicación para el pronóstico en cuestión.

La *estructura química* de algunos marcadores tumorales, así como su relación con grupos sanguíneos, se indica en la Figura 5. En la Tabla 3 se muestran algunos ejemplos de marcadores glicánicos y su vinculación con el tipo de tumor.

Desde el punto de vista histórico, el *antígeno carcino-embrionario* ("*carcino embryonic antigen*", *CEA*) se utilizó para la detección, pronóstico y seguimiento del cáncer colo-rectal de modo empírico inicialmente, pues no se conocía exactamente su composición. Sólo a partir de 1987 se empezó a conocer la estructura de su porción glicánica, y hasta 1991 no se sabía que esta glicoproteína aparece expresada como dos formas (de masas moleculares 200.000 y 130.000) en tejidos normales, mientras que en células cancerosas aparece como una única glicoproteína de tamaño molecular variable, inferior a 170.000, a causa de las diferencias en el proceso de la *N*-glicosilación.

Otro antígeno importante, que es asimismo un glicconjugado (aunque no una glicoproteína sino un gangliósido), es el denominado *CA 19.9* (= "*carbohydrate antigen 19.9)* Su porción glicánica corresponde al antígeno Lewis^a sialilado (véase Figura 5); exactamente, dicho CA 19.9 es un sialosil-fucosil-lactotetraosil-ceramida. Usado ampliamente como marcador del cáncer colo-rectal, su sensibilidad es inferior a la del CEA, considerándosele como más valioso para el pronóstico que para el diagnóstico de dicha enfermedad.

Por otro lado, van adquiriendo cada vez mayor importancia los datos sobre *señales glucídicas* celulares (="*carbohydrate signals*") relacionadas con pronóstico y metástasis de carcinomas humanos. Se consideran como tales (para cáncer colo-rectal) los siguientes compuestos: *Sialosil-Tn, sialosil-dimérico-Lewis^x (EH6), antígenos de los grupos sanguíneos ABH* y ciertos *oligosacáridos con ramificación β1-6*. La composición de sus epitopos contiene moléculas de Ácido *N*-acetilneuramínico, *N*-acetilgalactosamina, β-galactosa o L-fucosa.

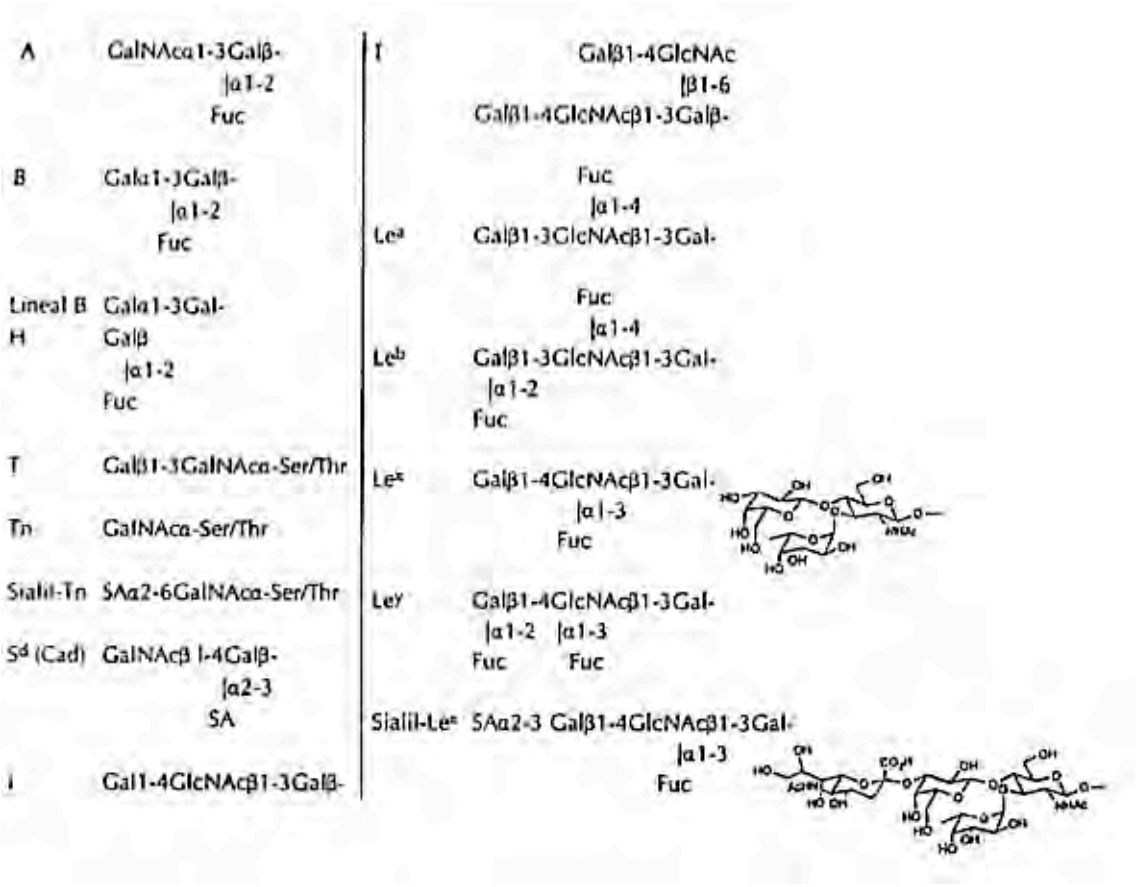

Figura 5.- Estructura de algunos antígenos relacionados con marcadores tumorales.

La investigación sobre marcadores glicánicos se ha dirigido últimamente al perfeccionamiento del conocimiento de sus peculiaridades (ventajas y limitaciones) y también a la búsqueda de otros nuevos. Ejemplos de éstos son los siguientes (36): *a) Glicanos incompletamente glicosilados*, en relación con pacientes de artritis reumatoidea. *b) Glicanos con glicosilación aberrante,* vinculados con desórdenes congénitos de glicosilación. *c) Glicoformas específicas (<70% Fuc, >sialil-Le^x)*, respecto a cáncer de próstata. *d) Hiperfucosilación (>α-1,6 Fuc)* en relación con carcinoma hépato-celular (en pacientes por virus de hepatitis B). *e) Gelatinasas B (alteración en los* O*-glicanos de esta metaloproteinasa de la matriz extracelular)*, en procesos de metástasis.

Tabla 3.- Marcadores glicánicos y localización del tumor.

Marcador glicánico	Tipo de tumor
Le^x Sialil-Tn Sialil-Le^x dimérico Ramificaciones β1-6 de los *N*-glicanos	Colo-rectal
Galβ1-4GlcNAcβ1-6Gal/GalNAc	Gástrico
H/Le^y/Le^b Le^a-Le^x	Pulmón
Sialil-Le^x dimérico Le^x	Vejiga
Le^b	Mama
Le^a, Le^x, Le^y	Esófago
GM_3/GD_3	Melanomas
Ácidos polisiálicos	Neuroendocrinos

4.2. Lectinas, ácido N-acetilneuramínico y hexosaminas séricos como potenciales marcadores/indicadores tumorales

Las lectinas (proteínas o glicoproteínas con alta capacidad de reconocimiento selectivo de estructuras glicánicas) pueden detectar los cambios que se producen en estas estructuras por truncamiento, ramificación β1-6, etc. de *N*-glicoproteínas, (fundamento del denominado "fenómeno de Warren-Glick"), coincidiendo con un proceso tumoral. Realmente lo que detectan es el resultado de la desregulación producida en el metabolizmo de dichos glicoconjugados. La especificidad de ciertas lectinas (generalmente de procedencia vegetal) está determinada por su capacidad de fijación selectiva, ya sea a monosacáridos (como el ácido *N*-acetilneuramínico, la α-L-fucosa, la α-manosa) o a diversos oligosacáridos (véase artículo de la referencia 37).

Trabajos de nuestro laboratorio (37) han hallado que determinaciones con las **lectinas** siguientes pueden ser útiles en el seguimiento del estado de salud de personas operadas de cáncer colo-rectal: **SNA**, de *Sambucus nigra*, cuya especificidad es para los oligosacáridos: Ácido *N*-acetilneuramínico (α2-6)-Galactosa, y Ácido *N*-acetilneuramínico (α2-6)-*N*-acetilgalactosamina; **LEL**, de *Licopersicon esceulentum*, específica para Ácido *N*-acetilneuramínico (α2-3)-Galactosa; y **LTL**, de *Lotus tetragonolobus*, específica para el monosacárido α-L-Fucosa.

Aun careciendo de esta especificidad, estudios anteriores (38) ya habían encontrado que las concentraciones en suero de **ácido *N*-acetilneuramínico** y de **hexosaminas**, procedentes de pacientes de diversos tipos de cáncer (mama, intestino, útero y pulmón), eran significativamente elevadas respecto a las normales. En este caso tal alteración es común a otras enfermedades; por lo que no pueden considerarse como determinaciones específicas, aunque probablemente sí como indicadores complementarios.

4.3. Glicosidasas en diversos tipos de cáncer

La determinación de **α-L-fucosidasa** y **β-*N*-acetilhexosaminidasa** en sueros de pacientes de cáncer gástrico muestra valores elevados significativamente en comparación con los normales (39, 40). Este resultado confirma el anterior (38) relativo a otros tipos de cáncer. A su vez, un incremento también significativo en la actividad de la **β-D-glucosidasa** se ha observado en pacientes de cáncer de pulmón (41).

Como antes se advirtió, tampoco estas valoraciones enzimáticas pueden considerarse como auténticos *marcadores* tumorales, pero sí cabe considerarlas como útiles *indicadores* de una situación (de carácter patológico) que afectaría al metabolismo de algunos glicoconjugados.

Finalmente, no una glicosidasa, sino una peptidasa, la **catepsina L** –cuyo comentario no procede hacer aquí- puede estimarse (por otros motivos) como enzima más valiosa en cuanto a esta especificidad (42). Análogamente, el marcador tumoral denominado **CA 125** no es un glicoconjugado, sino un péptido. Muy probablemene es el mejor marcador para efectuar el seguimiento de pacientes de cáncer de ovario.

5. REFERENCIAS

1. Cabezas, J.A. (1993) Glicobiología: Antecedentes y evolución de su contenido. Discurso de apertura del curso 1993-94. Universidad de Salamanca. 1-102.
2. Cabezas, J.A. (1995) Glicoconjugados: Algunos aspectos bioquímicos y farmacéuticos. *An. R. Acad. Farm.*61: 177-188.
3. Cabezas, J.A. (1995) Glicoconjugados: Su participación en funciones de los seres vivos. Mundo Científico. 159: 634-659.
4. Cabezas, J.A. (2000) Glicociencia: Glicobiología, Glicopatología, Glicoterapéutica, Glico(bio)tecnología. Instituto de España. Madrid. 1-54.
5. Cabezas, J.A. (2008) Influencia de la sialilación y de la «pegilación» de la molécula de ciertos medicamentos en su actividad. An. R. Acad. Farm. 74: 409-429.
6. Freeze, H.H. (2002) Human disorders in *N*-glycosylation and animal models. Biochim. Biophys. Acta. 1573: 388-393.
7. Cabezas, J.A. (2011) El ácido siálico *N*-glicolilneuramínico: Se relación con la biodiversidad y con procesos inmunitarios e infecciosos. An. R. Acad. Nac. Farm. 77: 72-86.
8. Varki, A. (2006) Nothing in Glycobiology Makes Sense, except in the Light of Evolution. Cell 126: 841-845.
9. Varki, A. & Schauer, R. (299) Sialic Acids. *In* A. Varki *et al.* (ed), Essentials of Glycobiology. (The Consort, La Jolla, Calif.). 1-13.

10. Cabezas, J.A. (2004) Datos actuales sobre virus de la gripe de patos salvajes y pollos, y virus de la gripe tipo C. Agentes antigripales. Monografía conjunta de las R. Acad. Nac. de Med y Farm. 49-74.
11. Cabezas, J.A. (2005) Nuevos datos acerca del virus causante de la pandemia de gripe de 1918-19 y su relación con los de la gripe aviar. Datos recientes relativos a éstos. An. R. Acad. Nac. Farm. 71: 83-110.
12. Cabezas, J.A. (2006) Gripe Aviar: Situación actual. An. R. Acad. Nac. Farm. 72: 301-315.
13. Cabezas, J.A. (2006) Inhibidores de la neuraminidasa y nuevas estrategias terapéuticas frente al virus de la gripe. R. Acad. Nac. Farm. Monografía XXI : 187-239.
14. Cabezas, J.A. (2009) El virus de la gripe aviar: Nuevos aspectos relativos a su patogenicidad y a estrategias para combatirlo. An. R. Acad. Nac. Farm. 75: 233-254.
15. Cabezas, J.A. (2009) La nueva gripe A/H1N1 o gripe A/H1N1(2009). An. R. Acad. Nac. Farm. 947-963.
16. Cabezas, J.A. (2010) La gripe A/H1N1(2009) y su tratamiento: Resumen de sus principales aspectos. An. R. Acad. Nac. Farm. 76: 241-258.
17. Feizi, T. & larkin, M. (1990) AIDS and glycosylation. Glicobiology. 1: 17-23.
18. Cumming, D.L. (1991) Glycosylation of recombinant protein therapeutics: control and functional implications. Glycobiology *1: 115-130.*
19. Rademacher, T.W. (1992) Therapeutics challenges: does Glycobiology have a role? TIBTECH 10: 227-230.
20. Stiegler, G.; Kresse, G.-B. & Buckel, P. (1997) Biotecnología de fármacos. Inv. & Ciencia 254: 52-61.
21. Koeller, K.M. & Wong, C.–H. (2000) Emerging themes in medicinal glycoscience. Nature Biotech. 18: 835-841.
22. Rudd, P.M.; Elliot, T. […] & Dwek,, R.A. (2001) Glycosylation and the Immune System. Science. 291: 2370-2376.
23. Zopt, D. & Vergis, G. (2991) Glycosylation: a critical issue in protein development and manufacturing. Pharmaceutical Visions. *:10-14.*
24. Alper, J. (2003) Turning Sweet on Cancer. Science 301: 159-160.
25. Sinclair, A.M. & Elliott, S. (2005) Glycoengineering: The effect of Glycosylation on the Properties of Therapeutic Proteins. J. Pharm. Scien. 94: 1626-1635.
26. Ohtsubo, K. & Marth, J.D. (2006) Glycosylation in Cellular Mechanisms of Health and Disease. Cell. 126: 855-867.
27. Walsh, G & Jefferis, R. (2006) Post-traslational modifications in the context of therapeutic proteins. Nature Biotech. 24: 1241-1252.
28. Martin, O. (2007) Glycochimie et Thérapeutique. Les Iminosucres: applications thérapeutiques actuelles et futures. Ann. Pharm. *Fr.* 65: 5-13.
29. Schellekens, H. (2008) Why some proteins have sugars? Epoetins, from alfa to zeta. EJHP Practice. 14:29-35.
30. Laughlin, S.T. & Bertozzi, C.R. (2009) Imaging the glycome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106: 12-17.
31. Blow, N. (2009) A spoonful of sugar. Nature. 457: 617-621.
32. Beck, A.; Cocher, O. & Wurch, T. (2010) GlycoFi`stechnology to control the glycosylation of recombinant therapeutic proteins. Expert Opin. Drug Discov. 5: 95-111.
33. Strauss, S. (2010) BARDA funds vaccine makers aiming to phase out eggs. *Nature* Biotech. 28: 1227-1228.
34. Hakomori, S.-I. (1992) Tumor-associated carbohydrate markers. In: Serological cancer markers, Sell, S. (ed.) Totowa, N.J. (U.S.A.), 207-232.
35. Ørntoft, T. & Bech, E. (1995) Circulating blood group related carbohydrate antigens tumour markers. Glycoconjugate J. 12: 200-205.
36. Rudd, P.M. & Dweek, R.A. (2006) Glycobiology and Medicine. High-throughput glycan analysis and disease markers. The Biochemist. June: 18-21.
37. Cabezas, J.; Sánchez Martín, M.-M. […]; Gómez-Alonso, A. […]& Monsigny, M. (2011) Potential use of certain lectins for the follow-up of patients operated for colorectal cancer. An. R. Acad. Nac. Farm. (en prensa).
38. Cabezas, J.A. & Porto, E. (1970) Ácidos siálicos. XIII. Contenido en ácido *N*-acetilneuramínico, hexosaminas y ácido pirúvico, y actividad *N*-acetil-β-glucosaminidásica de sueros normales y cancerosos. Rev. Esp. Fisiol. 26: 339-346.

39. Reglero, A.; Carretero, M.-I. & Cabezas, J.A. (1980) Increased serum α-L-fucosidase and β-*N*-acetylglucosaminidase activities in diabetic, cirrhotic and gastric cancer patients. Clin. Chim. Acta. 103: 1455-158.
40. Reglero, A.; Carretero, M.-I. & Cabezas, J.A. (1980) Determinación de siete actividades glucidásicas en sueros normales y de pacientes con algunos trastornos metabólicos. An. R. Acad. Farm. 46: 55-68.
41. Calvo, P.; Barba, J.L. & Cabezas, J.A. (1982) Serum β-*N*-acetylglucosaminidase, β-D-Glucosidase, β-D-Fucosidase, α-L-Fucosidase and β-D-Galactosidase levels in acute viral hepatitis, pancreatitis, myocardial infarction and breast cancer. Clin. Chim. Acta. 199: 15-19.
42. Sánchez-Martín, M-M.; Cabezas, J.A. […] & Gómez-Alonso, A. (1999) Levels of cathepsin L and several glycosidases in patients operated for colorectal cancer. Cancer Let. 141: 73-77.