

La variante N-glicolilada del gangliósido GM3 en la biología de los tumores: un blanco atractivo para la inmunoterapia del cáncer

Joel de León, Audry Fernández, Marilyn Clavell, Armando López, Mayrel Labrada, Yanin Bebelagua, Circe Mesa, Luis E Fernández

Centro de Inmunología Molecular, CIM
Calle 216, esq. 15, Atabey, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba
E-mail: joel@cim.sld.cu

RESUMEN

Los tumores liberan a su microambiente moléculas con propiedades inmunosupresoras, entre las que se incluyen los gangliósidos. Estos glicoesfingolípidos se distribuyen de manera diferente en el tejido normal. Se ha descrito la presencia de gangliósidos que contienen la variante N-glicolilada del ácido siálico en células tumorales humanas. Tal es el caso del N-glicolil GM3 (NGcGM3), gangliósido que se ha convertido en un blanco atractivo para la terapia antitumoral específica de antígeno. La expresión de este gangliósido en tumores avanzados en humanos contrasta con el efecto de las células cancerosas de reducir su inmunogenicidad, lo que sugiere que desempeña una función relevante en la biología de estas células. En este estudio se evaluó la relevancia del NGcGM3 para el desarrollo tumoral, y se profundizó en la influencia de esta molécula sobre la respuesta inmune. Se demostró que el NGcGM3 contribuye a la progresión tumoral, a partir de modificar la funcionalidad de los linfocitos T auxiliares. Este gangliósido reduce los niveles de expresión de la molécula CD4 en los linfocitos T, y se inserta en la membrana plasmática de estas células. Además, afecta la proliferación y promueve la diferenciación a un patrón de secreción de citocinas antiinflamatorias en los linfocitos T CD4⁺CD25⁻. Este efecto no está mediado por el incremento de la supresión de los linfocitos T reguladores naturales. A su vez, el NGcGM3 afecta la diferenciación y maduración de las células dendríticas.

Introducción

La identificación de moléculas que alteran su patrón de expresión en las células tumorales con respecto al tejido normal, es la estrategia fundamental para el diseño de inmunoterapias antitumorales específicas de antígeno, activas o pasivas. Además, los blancos seleccionados deben desempeñar una función importante para la biología de los tumores, de manera que se promueva una respuesta inmune antitumoral específica que interfiera eventos biológicos relevantes asociados con la progresión tumoral.

A pesar de la implementación de múltiples alternativas para favorecer la generación de una respuesta inmune efectiva contra los tumores, en la actualidad el cáncer constituye un grave problema de salud mundial, con índices de mortalidad elevados. La inmunoterapia no ha resultado suficientemente efectiva, entre otros factores, por la naturaleza de las interacciones entre el tumor y el sistema inmune del hospedero. En este sentido se ha demostrado la existencia de la llamada vigilancia inmunológica contra el desarrollo de neoplasias, en la que se involucran distintos mecanismos efectores del sistema inmune que previenen la aparición de tumores o limitan su progresión una vez establecidos. Los tumores no resultan pasivos ante este efecto, el cual constituye una presión selectiva que promueve el establecimiento de variantes tumorales resistentes a la acción del sistema inmune. Este fenómeno se conoce como edición tumoral, que se ve favorecido por una alta tasa de mutaciones en las células cancerosas [1]. La presión selectiva también promueve la activación de mecanismos en los tumores que conducen a la supresión de la respuesta inmune. Se ha demostrado que las células tumorales liberan moléculas al microambiente que alteran la presentación antigénica, y provocan un impacto negativo sobre la proliferación

linfocitaria, lo cual afecta la actividad de las células efectoras [2].

También se ha señalado que la progresión de los tumores favorece el incremento en la frecuencia de células con propiedades supresoras [3]. Entre las moléculas que inducen diversos efectos inmunosupresores están los gangliósidos [4]. Estos constituyen el grupo más variable entre los glicoesfingolípidos, y se caracterizan por tener al menos una molécula de ácido siálico en su estructura. Los gangliósidos se expresan en la membrana plasmática de las células de los organismos vertebrados. Son componentes esenciales de los llamados microdominios lipídicos: estructuras ricas en colesterol que actúan como sitio de anclaje para una gran variedad de proteínas involucradas en la transmisión de señales al interior celular.

Los gangliósidos se distribuyen de manera heterogénea entre los diferentes tipos de tejidos, en dependencia del nivel de diferenciación de las células. Se ha demostrado que en la composición de los gangliósidos de la membrana plasmática de los tumores ocurren cambios, lo que determina que estas moléculas se conviertan en antígenos asociados a ellos [5]. Entre las modificaciones detectadas en las células tumorales humanas se incluye la presencia de los gangliósidos que contienen en su estructura la variante N-glicolilada del ácido siálico. Aunque se encuentran ampliamente distribuidos entre las diferentes especies de mamíferos, estos gangliósidos tienen una presencia muy limitada en tejidos humanos normales [6]. Ello se debe a la inactivación de la enzima monofosforil citidina-N-acetil ácido siálico hidroxilasa, encargada de catalizar la transformación del ácido siálico N-acetilado a N-glicolilado [7].

La expresión preferencial de los gangliósidos N-glicolilados en las células tumorales humanas se ha

1. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunotherapy. *Annu Rev Immunology* 2004;22:329-60.
2. Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:263-74.
3. Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic cell defects. *Nat Rev Immunology* 2004;4:941-52.
4. Potapenko M, Shurin G, De León J. Gangliosides as immunomodulators. *Adv Exp Med Biol* 2007;601:195-203.
5. Ritter G, Livingston PO. Ganglioside antigens expressed by human cancer cells. *Semin Cancer Biol* 1991;2:401-9.
6. Varki A. N-glycolylneuraminic acid deficiency in humans. *Biochimie* 2001; 83:615-22.
7. Irie A, Koyama S, Kozutsumi Y, Kawasaki T, Suzuki A. The molecular basis for the absence of N-glycolylneuraminic acid in humans. *J Biol Chem* 1998;273: 15866-71.

relacionado con la incorporación de esta variante del ácido siálico al metabolismo de las células tumorales a partir de la dieta, por lo que solo se detectan trazas de estos en las células normales [8]. Esta incorporación se ve favorecida en las células tumorales por el incremento de la expresión de moléculas transportadoras del ácido siálico en el microambiente hipóxico de los tumores [9].

Por tanto, los gangliósidos *N*-glicosilados se han convertido en un blanco atractivo para la terapia antitumoral específica de antígeno. Tal es el caso del gangliósido *N*-glicosil GM3 (NGcGM3), cuya presencia se ha detectado en células tumorales humanas como el carcinoma ductal infiltrante de mama [10] y el melanoma [11]. La expresión de este gangliósido en tumores avanzados contrasta con que las células cancerosas reducen la expresión de aquellas moléculas que las puedan convertir en blanco de los mecanismos de vigilancia inmunológica. Sin embargo, el efecto del NGcGM3 en la biología de los tumores y la interacción de este gangliósido con las células de la inmunidad no se había esclarecido, y constituía una limitación para el diseño de terapias antitumorales más efectivas que utilizan esta molécula como blanco, lo cual restringía la comprensión de los mecanismos de acción asociados a los preparados vacunales que están en estudio.

Resultados

Influencia del NGcGM3 en el crecimiento tumoral *in vivo*

Para determinar la contribución del NGcGM3 en el crecimiento tumoral *in vivo*, se empleó como modelo el mieloma murino X63, línea celular en la que más del 85% del contenido total de gangliósidos está formado por el NGcGM3. Estas células se cultivaron en presencia o no del D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol (D-PDMP), compuesto químico inhibidor de la actividad de la enzima glucosil ceramida sintasa. Este procedimiento redujo, en más del 60%, el contenido de NGcGM3 en las células de mieloma tratadas. Las variantes celulares con mayor o menor contenido de gangliósido se inocularon a ratones BALB/c, y se evaluó el crecimiento tumoral. El porcentaje de animales libres de tumor fue significativamente mayor en los inoculados con las células que expresaron menor cantidad de NGcGM3 en la membrana; mientras que, en ese mismo grupo, la media del volumen tumoral resultó significativamente menor [12]. Además, se evaluó la influencia mutua que pueden ejercer las dos variantes de tumores X63, con un nivel normal o reducido de gangliósido, que crecieron en los flancos opuestos del mismo hospedero. El desarrollo de ambas variantes celulares en el mismo hospedero afectó el crecimiento de las células que contenían niveles mayores de gangliósidos. Ello sugirió una respuesta inmune efectora contra la variante celular pretratada con D-PDMP, que actuó de manera efectiva contra células con alto contenido de gangliósidos. Este resultado llevó a evaluar la vinculación entre el efecto del NGcGM3 en la progresión tumoral y la posibilidad de modificar la actividad funcional del sistema inmune.

Considerando la importancia de los linfocitos T auxiliares CD4⁺ (Th, del inglés *T helper*) en el establecimiento de la respuesta inmune específica, se decidió evaluar si la contribución del NGcGM3 a la progresión tumoral estaría asociada con su interacción con estas células. Para ello, se trataron los ratones BALB/c inoculados con las variantes celulares de X63, pretratadas o no con D-PDMP, con un anticuerpo monoclonal (AcM) específico contra la molécula CD4 murina, para eliminar la población de linfocitos que expresan esta proteína en la membrana. La eliminación de los linfocitos Th CD4⁺ restauró la proliferación *in vivo* de las células X63 con expresión reducida del gangliósido [12]. Ello indicó que el NGcGM3 contribuye al crecimiento tumoral a partir de influir sobre la funcionalidad de estos linfocitos (Figura 1a). Para confirmar esto se extrajo el contenido de gangliósidos en ambas variantes de X63, pretratadas o no con el D-PDMP, y se incubó con linfocitos provenientes de ganglios linfáticos de ratones BALB/c. La incubación de estas células con diferentes diluciones del extracto de gangliósidos indujo una reducción significativa y dependiente de la concentración de gangliósidos en la expresión de la molécula CD4 [12]. A partir de este resultado se decidió profundizar en la influencia del gangliósido NGcGM3 sobre la funcionalidad de los linfocitos Th CD4⁺.

Efecto del NGcGM3 sobre linfocitos Th CD4⁺

Primero se determinó cuánto el NGcGM3 altamente purificado podía regular de manera negativa la expresión de la molécula CD4 en linfocitos murinos y humanos. Los resultados indicaron que el gangliósido redujo de modo significativo los niveles de expresión de la molécula CD4, efecto que resultó dependiente de la dosis. La expresión de otras moléculas relevantes en la funcionalidad de estos linfocitos, como CD3 y CD8, no se vio afectada tras la incubación con diferentes concentraciones del NGcGM3 [12].

El efecto del gangliósido sobre la expresión de la molécula CD4 fue reversible. De hecho, los linfocitos humanos preincubados con el NGcGM3 y cultivados posteriormente en ausencia del gangliósido, restablecieron los niveles de expresión de la molécula CD4 hasta 80%. Esta recuperación ocurrió a partir de la síntesis *de novo* de esta proteína, pues cuando se cultivaron los linfocitos en presencia de cicloheximida (agente químico bloqueador de la síntesis proteica), no sobrevino la recuperación de la expresión de la molécula CD4 en la membrana plasmática [12]. Tras la recuperación de la expresión de la molécula CD4, los linfocitos se mantuvieron sensibles a la modulación negativa del NGcGM3 sobre esta molécula.

También se evaluó si el NGcGM3 se insertaba en la membrana plasmática de los linfocitos T. Para ello se incubaron células provenientes de ganglios linfáticos de ratones BALB/c y células mononucleares periféricas humanas con diferentes concentraciones del gangliósido. Ese tratamiento incrementó los niveles de NGcGM3 detectados en la membrana plasmática de ambas poblaciones celulares, en dependencia de la concentración de gangliósido [12]. Este ensayo permitió demostrar que existe una correlación negativa y estadísticamente significativa entre los fenómenos de

8. Bardor M, Nguyen DH, Diaz S, Varki A. Mechanism of uptake and incorporation of the non-human sialic acid N-glycolylneuraminic acid into human cells. *J Biol Chem* 2005;280:4228-37.

9. Yin J, Hashimoto A, Izawa M, Miyazaki K, Chen GY, Takematsu H, et al. Hypoxic culture induces expression of sialin, a sialic acid transporter, and cancer-associated gangliosides containing non-human sialic acid on human cancer cells. *Cancer Research* 2006; 66:2937-45.

10. Marquina G, Waki H, Fernández LE, Kon K, Carr A, Valiente O, et al. Gangliosides expressed in human breast cancer. *Cancer Research* 1996;56:5165-71.

11. Carr A, Mullet A, Mazonza Z, Vázquez AM, Alfonso M, Mesa C, et al. A mouse IgG1 monoclonal antibody specific for N-glycolyl GM3 ganglioside recognized breast and melanoma tumors. *Hybridoma* 2000;19:241-7.

12. De León J, Fernández A, Mesa C, Clavell M, Fernández LE. Role of tumour-associated N-glycosylated variant of GM3 ganglioside in cancer progression: effect over CD4 expression on T cells. *Cancer Immunology Immunotherapy* 2006; 55: 443-50.

inserción del NGcGM3 en la membrana plasmática y la regulación negativa de la expresión de CD4 en los linfocitos Th murinos y humanos (Figura 1b).

Se exploró el efecto del gangliósido NGcGM3 sobre la expresión de la molécula CD4 en linfocitos T murinos no activados, activados y reguladores naturales. Los resultados indicaron que este gangliósido reduce preferentemente la expresión de CD4 en los linfocitos no activados, mientras que el efecto sobre los linfocitos activados y los reguladores naturales fue similar [13]. Ello indica que la influencia del gangliósido sobre la molécula CD4 es independiente de la expresión de la molécula CD25, receptor de la interleucina 2 (IL2). De hecho, los niveles de esta molécula en membrana no se modifican por efecto del NGcGM3.

En los últimos años se ha concedido gran importancia al papel de los linfocitos T reguladores, no solo en la regulación de la respuesta inmune, sino además en el escape tumoral a la vigilancia inmunológica [14]. Teniendo en cuenta esto, se comparó el efecto del gangliósido sobre la actividad funcional de los linfocitos Th CD4⁺CD25⁻ y los reguladores naturales CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, purificados mediante separación con perlas magnéticas.

Inicialmente se determinó la influencia del NGcGM3 sobre la proliferación de ambas poblaciones celulares, estimuladas con un AcM anti-CD3 y la IL2. El incremento de la concentración del gangliósido produjo una disminución de la capacidad proliferativa de ambas poblaciones celulares. Sin embargo, este efecto resultó significativo y dependiente de la concentración del gangliósido solo en los linfocitos Th CD4⁺CD25⁻. Además, se determinó que el NGcGM3 tuvo una influencia diferencial en la proliferación de los linfocitos Th activados desde su estado en reposo, y en aquellos previamente activados. La proliferación de los linfocitos que en presencia del NGcGM3, se afectó significativamente a partir del estado en reposo, mientras que no hubo una reducción de la proliferación de los

linfocitos Th previamente estimulados [13]. Este resultado confirmó que el NGcGM3 influye preferentemente en la etapa de la activación linfocitaria, más que en la funcionalidad de las células activadas.

La propiedad biológica fundamental asociada con la actividad de los linfocitos T reguladores naturales es que inhiben la proliferación de los linfocitos Th. Se evaluó si el NGcGM3 incrementaba las propiedades inhibitorias de estas células como parte de sus mecanismos de supresión. Para ello se determinó el efecto de los linfocitos T reguladores naturales CD4⁺CD25⁺, previamente incubados o no con el NGcGM3, al suprimir la proliferación de los linfocitos Th CD4⁺CD25⁻ estimulados con un AcM anti-CD3 y en presencia de células dendríticas (DC, del inglés *dendritic cells*). El resultado indicó que la preincubación con el gangliósido no modificó la capacidad supresora de estas células (Figura 2c). Se realizó un ensayo similar en el que se añadió el gangliósido al cocultivo de las células efectoras y reguladoras, lo que demostró que la presencia del gangliósido no potenció la supresión mediada por los linfocitos T reguladores. Aún en ausencia de estos linfocitos, el NGcGM3 suprimió la proliferación de los linfocitos Th en 75% [13]. Estos resultados indican que las propiedades supresoras del NGcGM3 no están mediadas por la modulación de la actividad de los linfocitos T reguladores naturales.

Influencia del NGcGM3 sobre la funcionalidad de las células dendríticas

Atendiendo a los resultados y considerando la importancia de las DC en el establecimiento de la respuesta antígeno específica, se evaluó hasta dónde el NGcGM3 podía afectar la funcionalidad de estas células en su interacción con los linfocitos Th. Además se estudió el efecto directo del NGcGM3 sobre la diferenciación y maduración de las DC.

Se determinó si el NGcGM3 afectaba la proliferación de linfocitos Th cocultivados en presencia de DC

13. De León J, Fernández A, Clavell M, Labrada M, Bebelagua Y, Mesa C, Fernández LE. Differential influence of the tumour-specific non-human sialic acid containing GM3 ganglioside on CD4⁺CD25⁻ effector and naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells function. *International Immunology* 2008;20: 591-600.

14. Gallimore A, Sakaguchi S. Regulation of tumour immunity by CD25⁺ T cells. *Immunology* 2002;1:5-9.

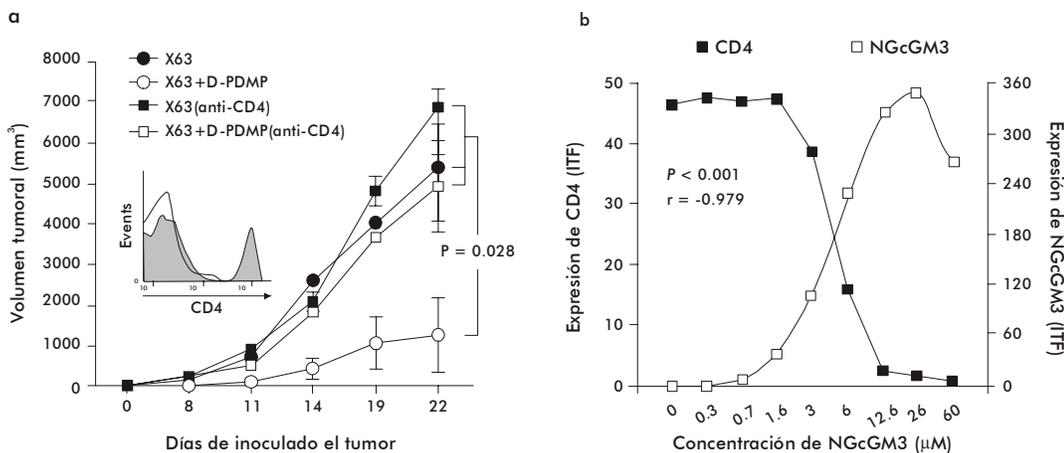


Figura 1. El gangliósido NGcGM3 contribuye a la progresión tumoral *in vivo* a partir de influir sobre la funcionalidad de los linfocitos T CD4⁺. (a) Se inocularon ratones Balb/c con 10⁶ células X63, pretratadas con D-PDMP y sin él. Además, se inocularon por vía intraperitoneal con solución tampón de fosfato (SSTF) o un AcM anti-CD4. La media de los volúmenes tumorales se redujo significativamente en los animales inoculados con la variante celular con menor contenido de gangliósidos. La eliminación de los linfocitos T CD4⁺ restauró el crecimiento tumoral (prueba de Dunn); (b) Se incubaron linfocitos aislados de ganglios linfáticos de ratones BALB/c durante 1 h con diferentes concentraciones del NGcGM3. Se determinó la inserción del gangliósido en la membrana plasmática, así como la expresión de la molécula CD4, por ensayo de citometría de flujo. La capacidad del gangliósido de reducir la expresión de CD4 se correlacionó con la incorporación del NGcGM3 a la membrana celular (prueba de Pearson). Los datos se representan como valores de intensidad total de fluorescencia (ITF).

y estimulados con un AcM anti-CD3. En dependencia de la dosis, el gangliósido redujo la proliferación linfocitaria hasta un 70% (Figura 2a). Esta proliferación se acompañó de la modificación del patrón de secreción de citocinas en estos linfocitos [13]. La presencia del NGcGM3 en el cultivo celular incrementó en tres veces la frecuencia de células T productoras de IL4, y duplicó aquellas que producen IL10, sin incrementar el porcentaje de linfocitos productores de interferón (IFN) gamma (Figura 2b). Este resultado sugirió que el NGcGM3 no solo afecta la proliferación de los linfocitos Th, sino que además promueve en ellos la secreción de un patrón de citocinas antiinflamatorio.

Para evaluar si el NGcGM3 afectaba la diferenciación de las DC a partir de sus precursores en la médula

ósea, se realizó un ensayo de diferenciación de DC *in vitro*, en presencia del gangliósido y sin este. El fenómeno de dendropoiesis se afectó en presencia del NGcGM3, y el número de DC que se recuperan en cada pozo de cultivo se redujo significativamente [13]. A partir del ADN complementario se detectó la presencia del ARNm de la IL10 en las DC diferenciadas en presencia del NGcGM3, lo cual no se evidenció en las células diferenciadas en ausencia del gangliósido. Además, el NGcGM3 afectó la maduración de las DC diferenciadas posteriormente, ante un estímulo inflamatorio inducido con lipopolisacáridos (LPS). Este efecto se evidenció por la reducción del 50% de los niveles de expresión de la molécula coestimuladora CD40 [13].

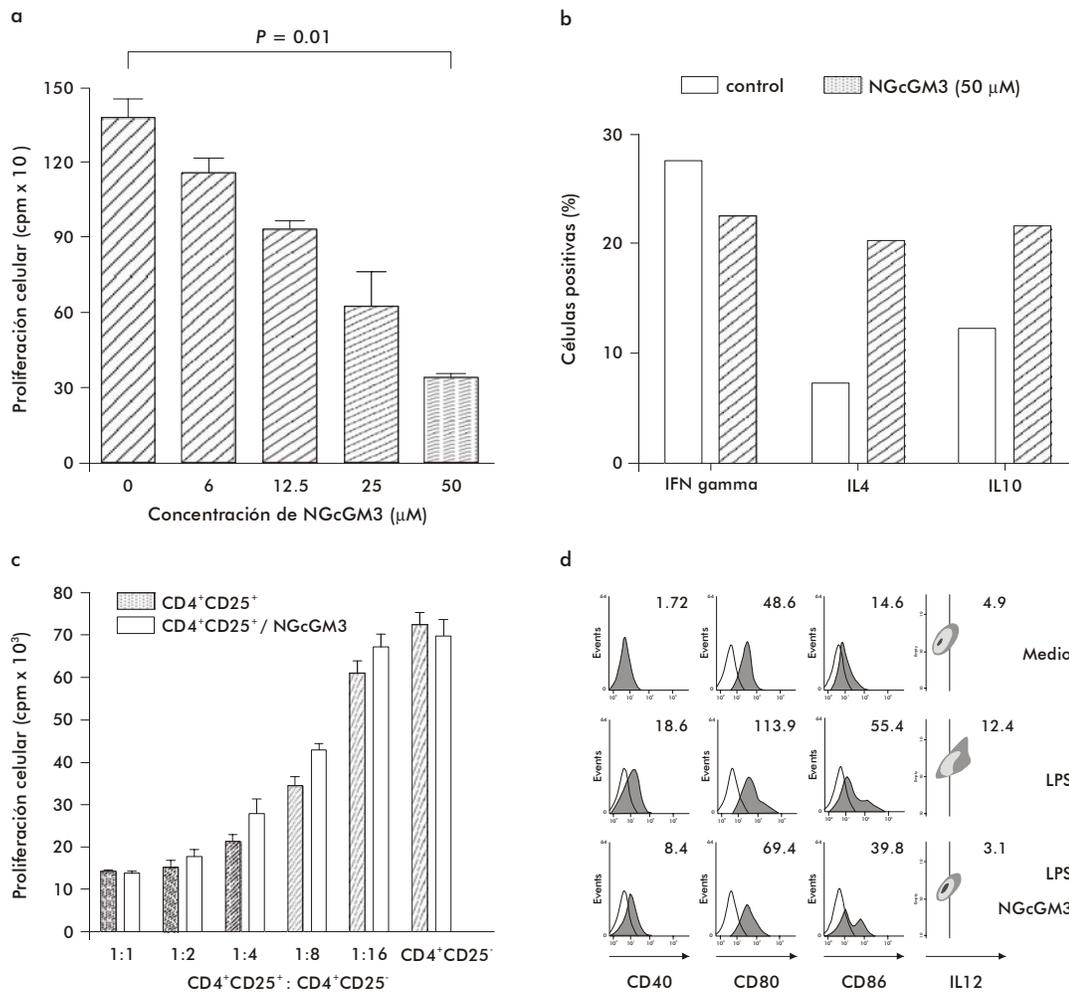


Figura 2. El NGcGM3 afecta la funcionalidad de los linfocitos Th y las DC, sin incrementar la capacidad supresora de los linfocitos T reguladores naturales. (a) Se incubaron linfocitos T CD4⁺CD25⁻ con DC, un AcM anti-CD3 y diferentes concentraciones del NGcGM3. El gangliósido redujo significativamente la proliferación linfocitaria (prueba de Tukey); (b) Se incubaron linfocitos CD4⁺CD25⁻ en presencia del NGcGM3 o no, un AcM anti-CD3 y DC. Por citometría de flujo se determinó la frecuencia de linfocitos productores de IFN gamma, IL4 e IL10. El gangliósido incrementó el porcentaje de células productoras de citocinas antiinflamatorias; (c) Se incubaron linfocitos T CD4⁺CD25⁺ durante 48 h en presencia del NGcGM3 (50 mM) o no. Al cabo de este tiempo, se colectaron las células y se coincubaron en diferentes proporciones con linfocitos CD4⁺CD25⁻, en presencia de DC y un AcM anti-CD3. La capacidad supresora de los linfocitos T reguladores no se modificó por la incubación con el gangliósido (prueba U de Mann-Whitney); (d) Se diferenciaron DC a partir de sus precursores de médula ósea. La maduración de las DC se estimuló por incubación con lipopolisacárido (LPS), en presencia del gangliósido o no. Por citometría de flujo se compararon los niveles de expresión de las moléculas coestimuladoras CD40, CD80 y CD86, además de la frecuencia de células productoras de IL12. El NGcGM3 afectó la capacidad de las DC de madurar ante el potente estímulo proinflamatorio del LPS. Los datos se representan como valores de intensidad total de fluorescencia (ITF). Los histogramas abiertos corresponden al control de células no marcadas.

Entonces se evaluó la influencia del NGcGM3 en la maduración de las DC. Para ello, se estimularon las DC diferenciadas a partir de sus precursores de médula ósea, con LPS en presencia del gangliósido. El NGcGM3 afectó la maduración de las DC, lo cual se evidenció por la reducción de los niveles de expresión de las moléculas coestimuladoras CD40, CD80 y CD86. Además, la producción de IL12 por estas células disminuyó cuatro veces cuando se estimularon con el LPS en presencia del gangliósido (Figura 2d). Esta citocina es determinante en la funcionalidad de las DC para promover un patrón de diferenciación proinflamatorio en los linfocitos Th.

Adicionalmente se evaluó si la diferenciación o maduración de las DC, en presencia del NGcGM3, influye de manera significativa en la capacidad de estas células para modular la producción de citocinas por los linfocitos Th. Para ello, se cocultivaron células Th CD4⁺CD25⁻ con DC que habían sido diferenciadas o maduras en presencia del gangliósido. Entonces se estimularon los linfocitos con un AcM anti-CD3 murino, en presencia del NGcGM3 y sin él. La presencia del NGcGM3 durante la estimulación de los linfocitos T redujo al menos dos veces los niveles de IFN gamma e incrementó significativamente la concentración de IL4 en los sobrenadantes de los cultivos. Este efecto se evidenció solo en presencia del gangliósido, independientemente de la diferenciación o maduración previa de las DC del cultivo en presencia del NGcGM3. No obstante, la producción de IL4 se incrementó aún más cuando, además de la presencia del NGcGM3 durante la estimulación de los linfocitos, las DC empleadas se diferenciaron o maduraron en presencia del gangliósido. Un efecto similar se observó en la determinación de la frecuencia de linfocitos T

CD4⁺ productores de IL10. La presencia del NGcGM3 durante la estimulación fue determinante para que se incrementara al menos tres veces el porcentaje de células productoras de esta citocina, mientras que la estimulación con las DC diferenciadas en presencia del NGcGM3 contribuyó a incrementar los linfocitos T productores de IL10 en 20% más [13]. Estos resultados sugieren que aunque el efecto del NGcGM3 sobre los linfocitos Th es indispensable para modificar su respuesta ante un estímulo como la señalización mediante el TCR, su influencia sobre las DC también contribuye a promover un patrón de secreción de citocinas antiinflamatorias. Este resultado refleja la importancia que puede tener la metástasis a los órganos linfoides secundarios, en la interacción de los tumores con el sistema inmune. En ellos puede haber acumulación de gangliósidos liberados por las células tumorales, la cual incidiría sobre la activación de la población linfocitaria.

Conclusiones

Considerando la importancia de las DC y los linfocitos Th como orquestadores de la respuesta inmune específica, se puede afirmar que el NGcGM3 influye de manera negativa sobre las poblaciones celulares que garantizan la eficacia de la vigilancia inmunológica sobre el desarrollo del cáncer. El conjunto de resultados en esta investigación incrementa el valor de la variante *N*-glicosilada del GM3 como blanco de la inmunoterapia del cáncer, no solo a partir de su expresión preferencial en células tumorales humanas, sino por su relevancia para la biología de los tumores. Actualmente están en curso estrategias de diagnóstico y tratamiento a tumores, que insisten en la importancia de este blanco.