



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

TITULO

La proteína MAD2 como posible biomarcador diagnóstico en cáncer

Presenta:

Bio. Exp. Daniela Galindo Alcazar

Comité tutorial:

Codirectora externa:

Dra. Ana María Espinosa García.

Hospital General de México

Servicio de Farmacología Clínica.

Codirectora interna:

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz

UAM Iztapalapa

Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo

Asesor:

Dr. Héctor Fernando Serrano

UAM Iztapalapa

Laboratorio de Biología Molecular y Regulación Endócrina Intragonadal

CDMX., diciembre del 2021

Declaración de originalidad

La) que suscribe Daniela Galindo Alcazar, alumno (a) del posgrado en Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor(a) de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: “La proteína MAD2 como posible biomarcador diagnóstico en cáncer”,

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el H. Jurado para la obtención del grado de maestría es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad

de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 06 de diciembre del 2021.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Daniela Galindo Alcazar', is written over a light blue grid background.

Daniela Galindo Alcazar

Nombre y firma del alumno

Este documento debe ser firmado con tinta azul y debe anexarse copia en la tesis o idónea comunicación de resultados (tesina, reporte, etc.), el documento original será conservado por el Coordinador del Posgrado. Eliminar este párrafo en la versión que incluyan en la tesis.

“El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001481, en el Nivel Consolidado y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020”.

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: **763419**

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada: "La proteína MAD2 como posible biomarcador diagnóstico en cáncer" que presentó

Daniela Galindo Alcazar

El día 15 de diciembre del año 2021

Sinodales:

Presidente

Dr. Héctor Fernando Serrano. Laboratorio de Biología Molecular y Regulación Endócrina Intragonadal, UAMI

Secretario

Dra. Arianna Rodríguez Cal y Mayor. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"

Vocal 1

Dra. Elsa Cervantes Ríos. Lab. de Biología Celular y Citometría de Flujo. Dpto. Ciencias de la Salud. UAM-Iztapalapa

Vocal 2

Dra. Roxana Uri Miranda Labra. Departamento: Ciencias de la Salud, DCBS, UAM-I

Miembros del Comité de tutores, tipo de participación y adscripción.

Codirectora externa:

Dra. Ana María Espinosa García

Servicio de Farmacología Clínica, Hospital General de México, México City, México.

Codirectora interna:

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz

Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo, Universidad Autónoma

Metropolitana, México City, México

Asesor:

Dr. Héctor Fernando Serrano

Laboratorio de Biología Molecular y Regulación Endócrina Intragonadal, Universidad

Autónoma Metropolitana, México City, México

Agradecimientos

Le dedico este trabajo a mi familia, que, aunque no pase mucho tiempo con ustedes, siempre estaban presentes en mi mente y corazón, por su amor y apoyo incondicional, que sin ellos jamás habría llegado hasta donde me encuentro ahora.

Quiero agradecer a mis padres Higinio y Martina, los cuales me han dado su amor y todo lo que está en sus manos para mi desarrollo profesional, gracias por los consejos y los regaños, ya que sin ellos no hubiera logrado convertirme en la mujer que soy ahora. ¡Los amo demasiado!

A mis hermanos Ofelia, Marcelo y Sofia, por las risas y quizá los disgustos, aun así, siempre han estado conmigo apoyándome en todo lo que he hago. Y también a mi pequeña petunia y mi Borlita, me han dado alegría y muchos besitos.

A mis amigos, aunque no nos vimos mucho, pero los tengo en mi corazoncito, Jesús, Vane, Diana, Héctor, Víctor, Adán, Ilse, Yos, gracias por darme su amistad y estar ahí en los momentos de tristeza y de alegría. Escuchándome y dándome ánimos en épocas difíciles y apoyándome siempre.

Quiero agradecer de todo corazón a la Dra. Ana María Espinosa García, por aceptar de nuevo, ser mi tutora de este proyecto, ahora de maestría, por darme su apoyo y consejos que sirvieron para mi formación tanto personal como profesionalmente. Usted es y será una inspiración para mí.

Al Dr. Héctor Fernando Serrano, por aceptar ser mi asesor interno y por su incondicional apoyo en este trabajo.

También quiero darle las gracias a la Dra. Alda Rocío por aceptar ser mi codirectora interna.

RESUMEN

El ciclo celular mitótico es un proceso complejo necesario para el crecimiento y división de la célula, en diferentes tipos de enfermedades como el cáncer, el efecto común es una alteración en la proliferación celular como producto de las alteraciones en alguno de los mecanismos asociados al ciclo celular. Varias proteínas del ciclo celular se han propuesto como posibles blancos para el diagnóstico en diferentes tipos de cáncer; algunas de ellas incluso, ya se encuentran, en estudios de fase clínica I y II. La proteína de detención mitótica deficiente 2 (MAD2), se ha propuesto como candidato a biomarcador en cáncer. MAD2 es necesaria para un buen funcionamiento de la segregación cromosómica y el incremento en su expresión se ha encontrado asociada en varios tipos de cáncer. Debido a la situación que vivimos actualmente, la pandemia de COVID-19 no se pudo realizar el protocolo experimental, que tenía como objetivo general ver la “Expresión de los genes MAD2 y PLK4 en líneas de cáncer cervical” sin embargo realizamos estandarizaciones de algunas técnicas de biología molecular como la extracción de RNA, cuantificación de RNA, electroforesis en gel de agarosa al 1% y la RT-qPCR de un gen control. La comisión del posgrado nos dio alternativas para obtener el grado de maestría, por lo que elegimos la realización de una revisión sistemática. El objetivo de esta revisión fue investigar la expresión de MAD2 en diferentes tipos de cáncer, seleccionando trabajos en los cuales evalúan la expresión de proteína mediante ensayo de inmunohistoquímica (IHC) y la expresión del gen MAD2 por RNAm. En la revisión sistemática, la búsqueda de información se realizó en tres bases de datos, PUBMED, SCOPUS y WEB OF SCIENCE. Un total de 26 artículos fueron seleccionados para la revisión, los tipos de cánceres más frecuentes en donde

se observó la expresión de MAD2 son: gástrico, ovario y pulmón. Encontrando en la mayoría una alta expresión de MAD2, mientras que en tres artículos se reporta una disminución en la expresión. Este trabajo de revisión concluye que la expresión de la proteína MAD2 en los diferentes tipos de cáncer favorece el proceso de carcinogénesis, indicando que MAD2 puede ser considerado un posible blanco de diagnóstico en diferentes tipos de cáncer, sin embargo, aún es necesario realizar más estudios que demuestren la función molecular de esta proteína.

ABSTRACT

The mitotic cell cycle is a complex process necessary for cell growth and division, in different types of diseases such as cancer, the common effect is an alteration in cell proliferation because of alterations in some of the mechanisms associated with the cycle mobile. Several cell cycle proteins have been proposed as possible targets for diagnosis in different types of cancer; some of them are even in clinical phase I and II studies. The deficient mitotic arrest protein 2 (MAD2) has been proposed as a candidate for biomarker in cancer. MAD2 is necessary for a proper functioning of chromosomal segregation and the increase in its expression has been found associated in several types of cancer. Due to the situation, we are currently living in, the COVID-19 pandemic could not carry out the experimental protocol, which had as a general objective to see the "Expression of the MAD2 and PLK4 genes in cervical cancer lines", however we carried out standardizations of some techniques of molecular biology such as RNA extraction, RNA quantification, 1% agarose gel electrophoresis and RT-qPCR of a control gene. The postgraduate commission gave us alternatives to obtain a master's degree, so we chose to carry out a systematic review. The objective of this review was to investigate the expression of MAD2 in different types of cancer, selecting works in which they evaluate protein expression by immunohistochemical assay (IHC) and expression of the MAD2 gene by mRNA. In the systematic review, the information search was carried out in three databases, PUBMED, SCOPUS and WEB OF SCIENCE. A total of 26 articles were selected for the review, the most frequent types of cancers where MAD2 expression is shown are: gastric, ovary and lung. Finding in the majority a high expression of MAD2, while in

three articles a decrease in the expression is reported. This review work concludes that the expression of the MAD2 protein in different types of cancer favors the carcinogenesis process, indicating that MAD2 can be considered a possible diagnostic target in different types of cancer, however, more studies are still necessary. that demonstrate the molecular function of this protein.

INDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	14
Epidemiología.....	14
Ciclo celular y cáncer.	16
Biomarcadores en cáncer.	19
Firmas de expresión genética.	23
La proteína de detención mitótica deficiente 2 (MAD2).	28
JUSTIFICACIÓN	32
OBJETIVO	33
OBJETIVOS PARTICULARES	33
MATERIALES Y MÉTODOS	34
Líneas celulares.	34
Extracción de RNA.	34
Transcripción reversa conversión a cDNA.	35
RT-qPCR.....	36
Estrategia de búsqueda en base de datos para la proteína MAD2.	37
Análisis bioinformático.	39
RESULTADOS	40
Extracción y cuantificación de RNA.	40
Electroforesis en agarosa.	40
RT-PCR.	41
Revisión bibliográfica acerca de la proteína MAD2 mediante inmunohistoquímica y PCR.	42
La participación de MAD2 en diferentes tipos de cáncer.	44
Análisis bioinformático	54
DISCUSIÓN	57
CONCLUSIÓN	66
PERSPECTIVAS	67
ANEXOS	86
REFERENCIAS	89

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. A) Distribución de nuevos casos en los cánceres más comunes.....	15
Figura 2. Estadísticas de Cáncer en México 2020 (Tomado y modificado de Globocan, 2020).....	16
Figura 3. El ciclo celular.....	17
Figura 4. Desarrollo de biomarcadores y utilidad clínica.....	20
Figura 5. Tipos de biomarcadores usados en la detección de cáncer.....	22
Figura 6. Componentes mitóticos dirigidos a la terapia contra el cáncer.....	23
Figura 7. Inhibidores de CDK4/6.....	26
Figura 8. Ensamblaje del punto de control del ensamblaje del huso (SAC).....	29
Figura 9. Regulación del ciclo celular.....	31
Figura 10 . Electroforesis en gel de agarosa al 1%.....	40
Figura 11. Análisis de expresión génica. RT-PCR gen 18S ribosomal.....	41
Figura 12. Flujograma de la búsqueda de la literatura y los criterios de selección (PRISMA).....	43
Figura 13. Numero de artículos obtenidos en la búsqueda de la expresión de MAD2 en diferentes tipos de cáncer.....	44
Figura 14. Mecanismos potenciales de la regulación de BRCA1 en respuesta al daño de los microtúbulos.....	46
Figura 15. Análisis de expresión de MAD2 en muestras de cáncer cervical.....	54
Figura 16. STRING - Redes de asociación de proteínas funcionales y su interacción con otras proteínas involucradas en el proceso mitótico.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

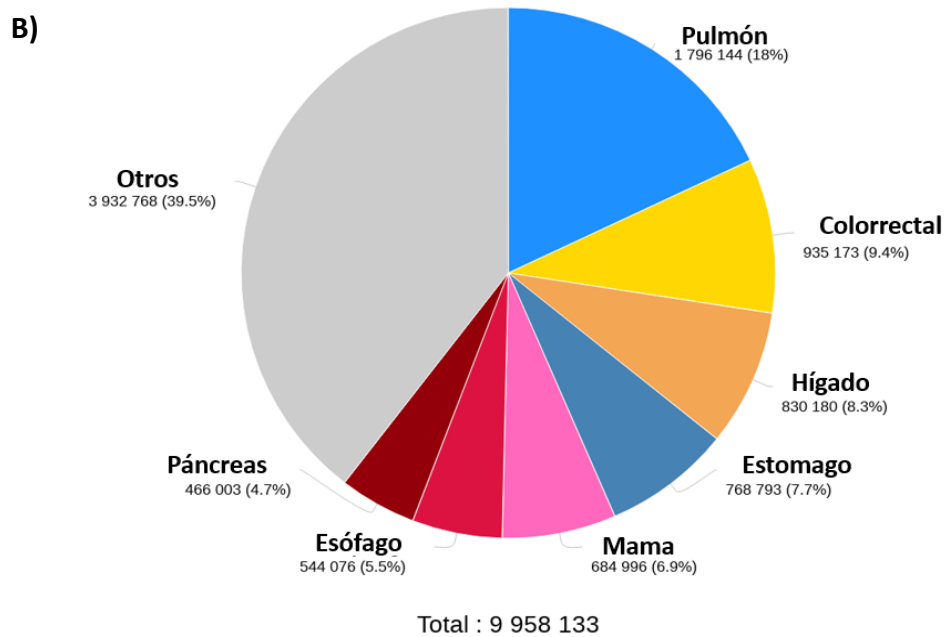
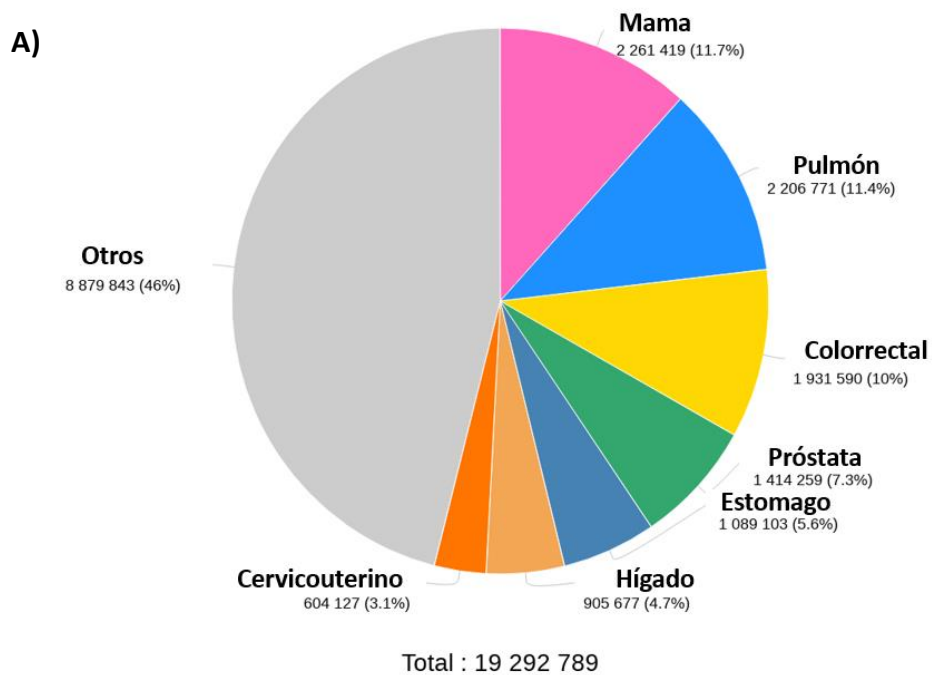
Tabla 1. Genes incluidos en la prueba Oncotype DX.....	24
Tabla 2. Fármacos que se dirigen a los factores reguladores del ciclo celular como posibles terapias para el cáncer.....	27
Tabla 3. Estrategia de búsqueda para la revisión sistemática.....	38
Tabla 4. Estudios que reportan la expresión de MAD2 en diferentes tipos de cáncer: revisión sistemática.	51

INTRODUCCIÓN

Epidemiología.

El cáncer es una de las principales causas de muerte, según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), con casi 10 millones de muertes en 2020, colocándolo como la primera causa, antes de la edad de 70 años (Sung et al., 2021). Los tipos de cáncer más frecuentes en el 2020 fueron: mama, pulmón, colorrectal, próstata, piel y estómago, mientras que los cánceres que produjeron mayor número de muertes en ese año son: pulmón, colorrectal, hígado, estómago y mama, estos datos en ambos sexos (OMS, 2020) (Figura 1). Estas cifras continúan creciendo rápidamente y se prevé que el cáncer será el primer y más importante problema de salud pública en todos los países y un obstáculo más para la esperanza de vida.

El problema de salud que actualmente afecta al mundo es la pandemia por COVID-19, pero además ha afectado el diagnóstico y tratamiento en los pacientes para otras patologías. En cáncer se observó una suspensión en el acceso a los programas de detección oportuna en el sistema de salud, y existe la preocupación que a corto plazo la incidencia de cáncer aumente, seguido de un mayor número de diagnósticos en etapa avanzada y por consiguiente la mortalidad por cáncer sea mayor en algunos entornos (Sung et al., 2021). Por esta razón es necesario identificar biomarcadores y desarrollar herramientas diagnósticas complementarias a las existentes, los biomarcadores pueden servir como auxiliares en la interpretación de resultados y mejorar así el tamizaje en los pacientes.



En Figura 1. A) Distribución de nuevos casos en los cánceres más comunes en el mundo, en ambos sexos; B) Distribución de muertes en los cánceres más comunes en el mundo, en ambos sexos. (Tomado y modificado de Globocan, 2020)

México entre enero y agosto de 2020 se registraron alrededor de 600 mil defunciones, de las cuales 9% se deben a tumores malignos, la distribución por sexo indica que en

el periodo de enero-agosto del 2020 hubo más muertes por cáncer en mujeres (51%) que en hombres (49%), el rango de edad en hombres fue de 30 a 59 años, murieron por cáncer de colon, recto y ano con el 12 %, seguido de cáncer de estómago (10%) tráquea, bronquios y pulmón. En mujeres, en el rango de edad de 30 a 59 años, el cáncer de mama ocupa el primer en muerte (23%), seguido del cáncer de cuello uterino (13%) y de ovario (9%) (INEGI, 2021), (Figura 2).

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Población	63071 486	65 861 267	128 932 753
Numero de nuevos casos	89 536	105 963	195 499
Tasa de incidencia estandarizada por edad	139.7	142.4	140.4
Riesgo desarrollar cáncer antes de 75 años	14.7	14.1	14.3
Numero de muertes	44 140	46 082	90 222
Tasa de mortalidad estandarizada por edad	67.2	60.4	63.2
Riesgo de morir de cáncer antes de los 75 años	6.9	6.5	6.7
Casos prevalentes a los 5 años	237 855	292 747	530 602
Top de los 5 canceres mas frecuentes excluyendo a melanoma	Próstata Colorrectal Estomago Pulmón Non-Hodgkin Linfoma	Mama Cervicouterino Tiroides Colorrectal Útero	Mama Próstata Colorrectal Tiroides Cervicouterino




Figura 2. Estadísticas de Cáncer en México 2020 (Tomado y modificado de Globocan, 2020)

Ciclo celular y cáncer.

El ciclo celular está controlado por una maquinaria compuesta por reguladores y controles, que garantizan que durante este proceso no se cometan errores, antes de que la célula ingrese y progrese a través del ciclo celular, este proceso se divide en dos etapas, interfase y fase de mitosis (Matthews, Bertoli, & de Bruin, 2021). A su vez la interfase se divide en cuatro fases, I) La fase G_0 corresponde al estado en que la célula se ha retirado reversiblemente del ciclo, II) G_1 el momento en que la célula es

sensible a señales positivas y negativas, III) la fase S, cuando se produce la replicación del DNA, IV) fase G₂, la célula se prepara para entrar a mitosis y finalmente la fase M, cuando la célula se divide en dos células hijas (Williams & Stoeber, 2012). Este proceso es impulsado por proteínas llamadas cinasas dependientes de ciclina (CDKs) y monitoreado por mecanismos sensores, conocidos como puntos de control, que mantienen el orden correcto de los eventos (Figura 3), (Williams & Stoeber, 2012).

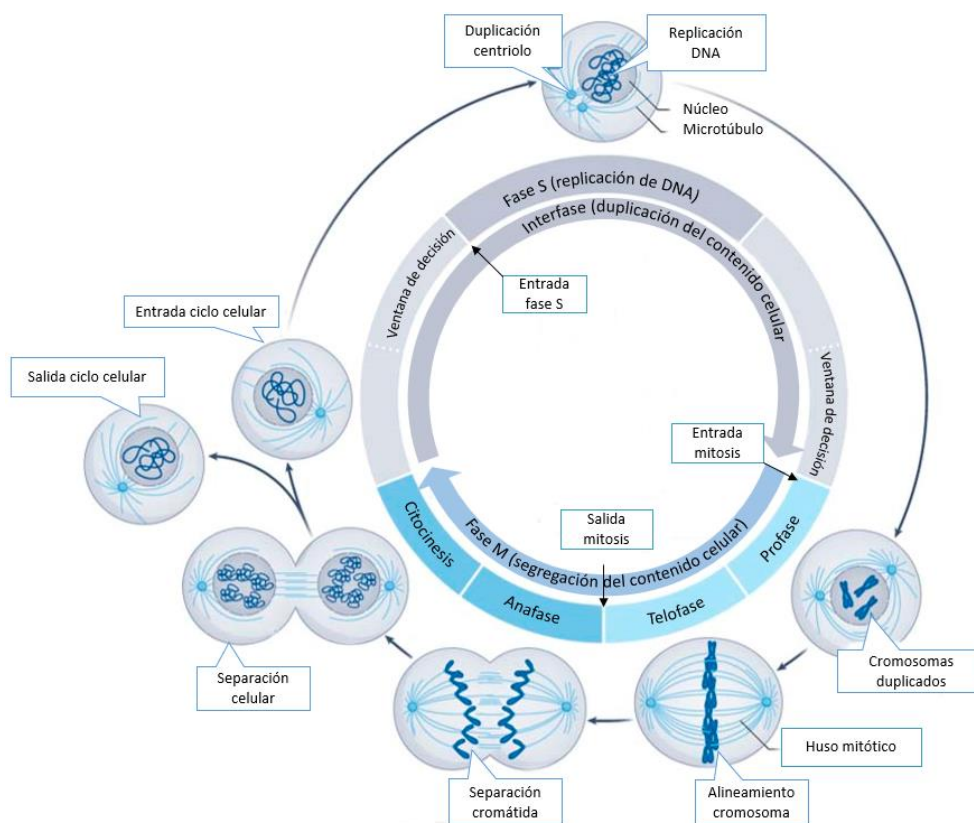


Figura 3. El ciclo celular es el proceso por el cual una célula duplica todo su contenido celular durante la interfase y, a través de la división en la fase M, crea dos células genéticamente idénticas. (Tomado y modificado de Matthews, Bertoli, & de Bruin, 2021).

En cáncer existe una proliferación celular descontrolada, debido a mutaciones o modificaciones epigenéticas que alteran las proteínas relacionadas con el control del

ciclo celular, lo que le confiere a las células tumorales sus capacidades invasivas, metastásicas, farmacorresistentes y antiapoptóticas (Kai Liu et al., 2020).

Actualmente ya se conocen más componentes que participan en el ciclo celular, en diferentes células se han encontrado elementos de regulación y pueden participar como intermediarios, como las proteínas que están involucradas en el ciclo celular y se encuentra alteradas en múltiples tipos de cáncer, algunas de estas proteínas, se han propuesto como posibles blancos diagnóstico (Kai Liu et al., 2020). Un ejemplo es el eje CDK4/6–RB, que es fundamental para la entrada al ciclo celular, en la mayoría de los cánceres, su alteración promueve proliferación, además la desregulación de la ciclina D1 es común en el cáncer de mama y la pérdida de p16^{INK4A} es particularmente frecuente en el glioblastoma (Asghar, Witkiewicz, Turner, & Knudsen, 2015), la expresión anormal de CDC25C se asocia con la iniciación, desarrollo, metástasis y mal pronóstico en diferentes tipos de cáncer (Kai Liu et al., 2020) o la desregulación de AURKB se observa en varios tipos de tumores y su aumento en la expresión está frecuentemente relacionada con la invasión de células tumorales, metástasis y resistencia a fármacos, por lo que AURKB se ha convertido en un blanco farmacológico que ha llevado al desarrollo de inhibidores de moléculas pequeñas (Borah & Reddy, 2021). La validación de estos nuevos biomarcadores es importante para un diagnóstico eficaz del cáncer.

Biomarcadores en cáncer.

Los biomarcadores son moléculas que pueden medirse y evaluarse objetivamente como indicadores de un proceso biológico normal, un proceso patógeno o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica (L. Wu & Qu, 2015), existen biomarcadores de diagnóstico los cuales nos ayudan a detectar o clasificar a los pacientes y biomarcadores de pronóstico los cuales predicen la supervivencia, este tipo de moléculas son muy importantes en el desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer (Louie, Huntington, Carlsen, Zhou, & El-Deiry, 2021). Generalmente, no se espera que los biomarcadores tumorales muestren simplemente el estado del tumor, sino que también exhiban funciones importantes para la supervivencia, el crecimiento y la metástasis del tumor (Lin et al., 2019).

Los biomarcadores de diagnóstico sugieren la presencia de una enfermedad, de este modo, cuando existen niveles elevados de éstos se puede inferir la presencia de cáncer y, por lo tanto, son útiles como una herramienta de detección oportuna en individuos sanos o pueden ayudar a respaldar otras medidas de diagnóstico, como la obtención de imágenes y la biopsia (Figura 4). Existen varios biomarcadores de diagnóstico de cáncer, los cuales son ya de uso común en la práctica clínica, como el antígeno prostático específico, utilizado para el diagnóstico de cáncer de próstata (Welch & Albertsen, 2009); el biomarcador sérico considerado el estándar de oro para el diagnóstico de adenocarcinoma ductal pancreático, el antígeno del cáncer 19-9 (CA 19-9) (Poruk et al., 2013) y CA-125, un biomarcador clásico en el cáncer de ovario (Felder et al., 2014). Algunos ejemplos de los biomarcadores de pronóstico, que

predicen la sobrevida global del paciente, independientemente de la terapia, como por ejemplo el antígeno carcinoembrionario, el cual indica una sobrevida general deficiente en pacientes con cáncer colorrectal, de mama y de pulmón, aunque solo se usa regularmente con más frecuencia para el pronóstico del cáncer colorrectal (Dixon et al., 2003).

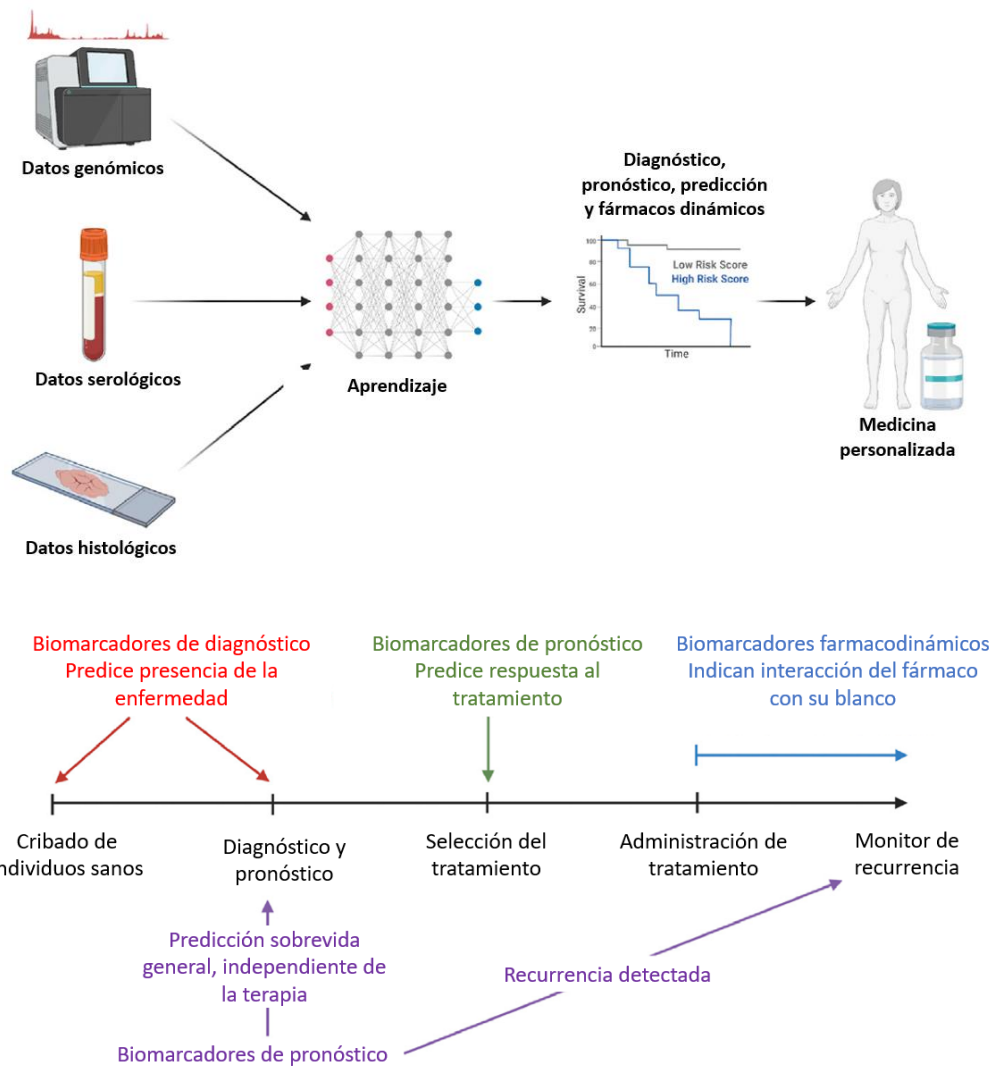


Figura 4. Biomarcadores y utilidad clínica. (A). Descripción general de los métodos de desarrollo, prueba y utilización clínica de biomarcadores. (B). Tipos de biomarcadores con un cronograma de oportunidades de utilización. (Tomado y modificado de Louie, Huntington, Carlsen, Zhou, & El-Deiry, 2021).

En la actualidad existe una gran variedad de biomarcadores, que pueden incluir proteínas (enzima o receptor), ácidos nucleicos (microRNA u otro RNA no codificante), anticuerpos y péptidos, también puede ser una colección de alteraciones en la expresión génica (Henry & Hayes, 2012). Estos biomarcadores se pueden detectar en la circulación sanguínea (sangre total, suero, o plasma) o excreciones y secreciones (heces, orina), (Figura 5), estas moléculas pueden ser evaluadas de forma no invasiva representando una ventaja para los métodos tradicionales, inclusive podrían ser evaluadas en serie (Henry & Hayes, 2012), sin embargo, es necesario continuar evaluando nuevas moléculas que puedan servir como biomarcadores en otros tipos de cáncer, cánceres menos frecuentes o que incluso esto debe considerarse por incidencia por región geográfica.

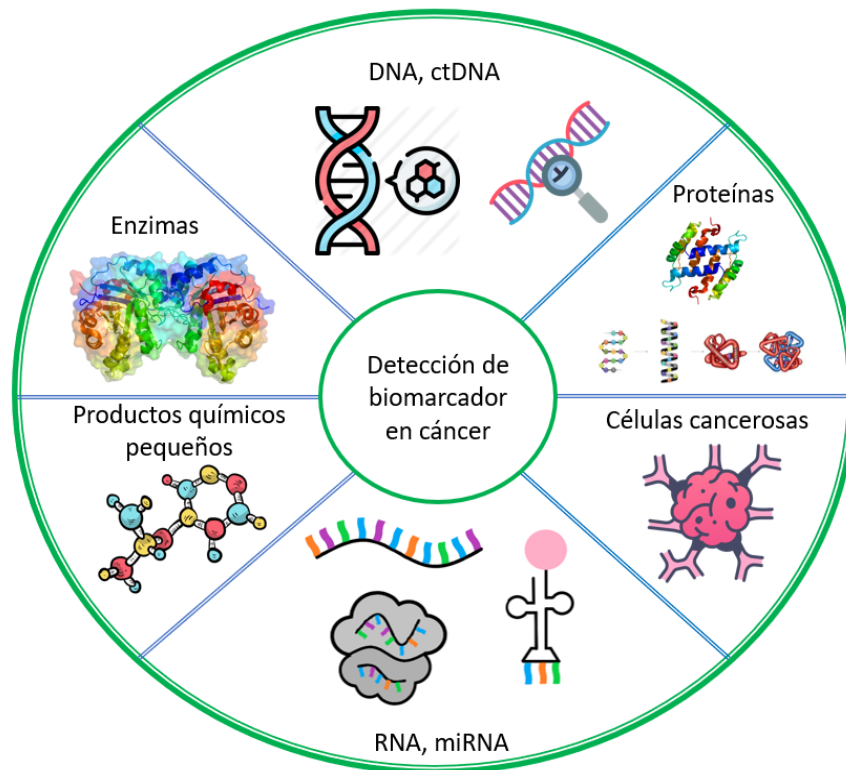


Figura 5. Tipos de biomarcadores utilizados en la detección del cáncer.
(Tomado y modificado de L. Wu & Qu, 2015).

Los avances recientes en la búsqueda e identificación de nuevos biomarcadores, mediante análisis genómicos o proteómicos, nos pueden ayudar a identificar características relevantes para la enfermedad y contribuir a la posible terapia clínica en esta enfermedad (Louie et al., 2021), existen genes que se expresan en diferentes procesos celulares, por ejemplo, durante el ciclo celular el cual se encuentra alterado en múltiples tipos de cáncer (Figura 6), (Espinosa, 2019).

Las Polo Like Kinasas (PLKs), son proteínas cinasas, que en cáncer presentan alteraciones en su regulación, lo que promueve la proliferación celular descontrolada y la división celular aberrante, y la pérdida de la regulación en la expresión de

diferentes miembros de la familia PLKs está reportada en varios tipos de cáncer y se ha asociado con un mal pronóstico (Figura 6), (X. Liu, 2015).

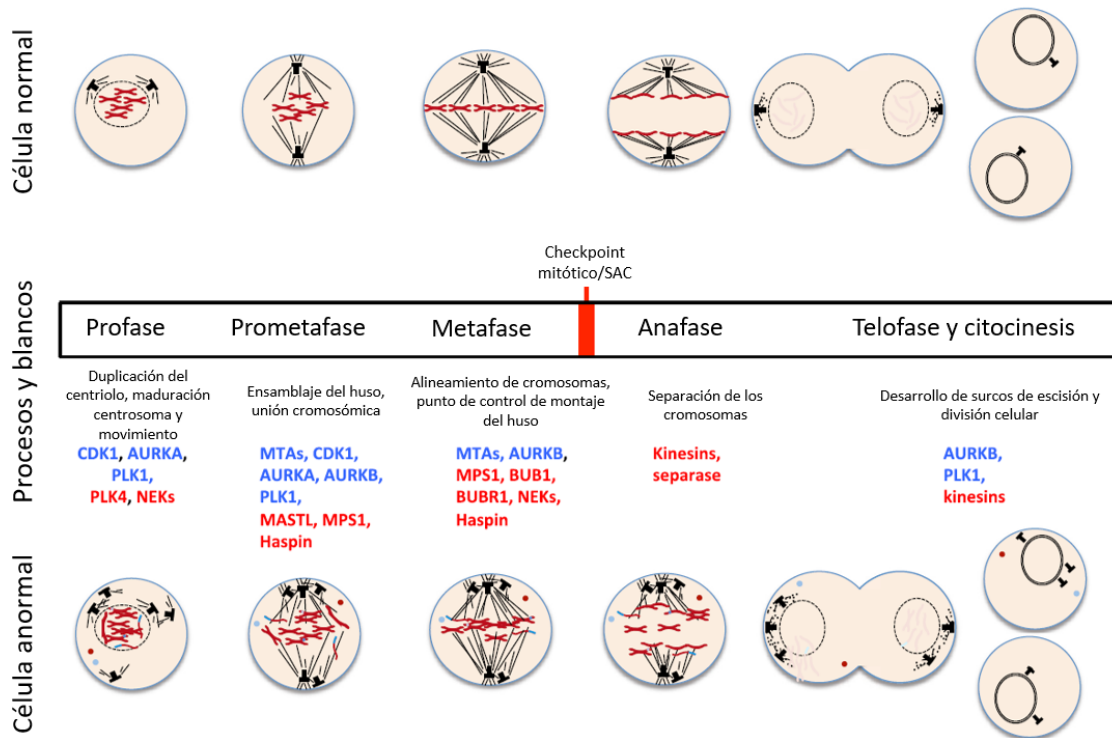


Figura 6. Componentes mitóticos dirigidos a la terapia contra el cáncer. Se han desarrollado compuestos diseñados para atacar diversos aspectos de la mitosis, incluidos los microtúbulos del huso (agentes dirigidos a los microtúbulos, MTA), cinasas mitóticas dependientes de ciclina, proteínas motoras y complejos de múltiples proteínas, como el punto de control del ensamblaje del huso (SAC). (Tomado y modificado de Dominguez-Brauer et al., 2015).

Firmas de expresión genética.

Son conjuntos de genes, proteínas, variantes genéticas u otras variables que pueden usarse como marcadores para un fenotipo particular. Estas firmas moleculares podrían aportar información valiosa sobre la biología celular y los mecanismos del desarrollo de enfermedades (Nilsson, Björkegren, & Tegnér, 2009).

Con los avances en la tecnología genómica se han desarrollado diferentes herramientas de utilidad en la clínica, existen firmas de expresión genética que nos ayudan para el diagnóstico o pronóstico de diferentes tipos de cáncer, por ejemplo, en cáncer de mama, la plataforma *Oncotype*, es una prueba diagnóstica *in vitro* que permite medir el perfil de expresión de un grupo de 21 genes específicos del cáncer de mama primario y la medida de los cambios de expresión de estos genes puede ayudar a establecer el pronóstico de los pacientes, la posibilidad de recaída o metástasis a distancia y la respuesta al tratamiento (Tabla 1).

Tabla 1. Genes incluidos en la prueba Oncotype DX	
Gen	Grupo
Ki-67 STK15 Survivin Ciclin B1 MYBL2	Proliferación
ER PR Bcl2 SCUBE2 Stromelysin 3 Cathepsin L2	Estrógeno
GBR7 HER2	Invasión
GSTM1 CD68 BAG 1	Otros
Beta-actina GAPDH RPLPO GUS TFRC	Referencia (no relacionados con el cáncer)

Otro ejemplo es la firma molecular, MammaPrint[®] es una prueba diagnóstica *in vitro* que clasifica los pacientes en dos grupos de riesgo, en función de los niveles de expresión del RNA, usando un microarreglo en el que se encuentran fijadas

secuencias de 70 genes seleccionados por su relación con el pronóstico de la neoplasia de interés. MammaPrint® mide los niveles de expresión de cada gen en una muestra de tumor de mama y emplea un algoritmo para determinar si el paciente tiene un alto riesgo de desarrollar metástasis a lo largo de 10 años (probabilidad de 50%) o bajo (probabilidad entre 10% y 15%), con la finalidad de determinar la necesidad la indicación de quimioterapia adecuada (FDA, 2021); (Buyse, et al. 2006), otra firma molecular, EndoPredict, emplea un análisis basado en RNA de 11 genes, para estratificar a los pacientes con cáncer de mama y los receptores hormonales-positivos en un bajo o alto riesgo de recurrencia (Filipits et al., 2011) por lo que estas firmas representan un gran avance en la investigación en del cáncer de mama, también tenemos ColoPrint®; un ejemplo para cáncer de colon, una prueba de diagnóstico, con una firma de expresión de 18 genes (Kopetz et al., 2015).

En la investigación en cáncer el estudio de moléculas inhibidoras también tiene gran importancia y aplicación principalmente en la búsqueda de blancos terapéuticos para esta enfermedad, los inhibidores han sido estudiados desde los años noventa. La primera generación de inhibidores de CDKs, incluían a Flavopiridol y Roscovitine y su principal función fue bloquear el ciclo celular para inhibir la proliferación celular y la actividad enzimática de CDKs, sin embargo una desventaja de los inhibidores de esta generación es tener un mala selectividad y una alta toxicidad con efectos incluso en células normales; la segunda generación de inhibidores fueron desarrollados con una mejor selectividad y pocos efectos (Zhang et al., 2021). Actualmente ya existen inhibidores para algunas proteínas del ciclo celular, como ejemplo: el primer inhibidor

específico de CDK4/6: Palbociclib mismo que demostró eficacia contra una amplia gama de líneas celulares de cáncer humano, incluido el cáncer de mama y su primer ensayo clínico comenzó en 2007 (Suski, Braun, Strmiska, & Sicinski, 2021), también se demostró la eficacia de Palbociclib contra el linfoma (Suski et al., 2021), los estudios *in vitro* indicaron que Palbociclib tiene un efecto de inhibición casi equivalente en CDK4 y CDK6 (Figura 7), mientras que Abemaciclib y Ribociclib son más potentes contra CDK4 que CDK6 (Tabla 2), (Zhang et al., 2021).

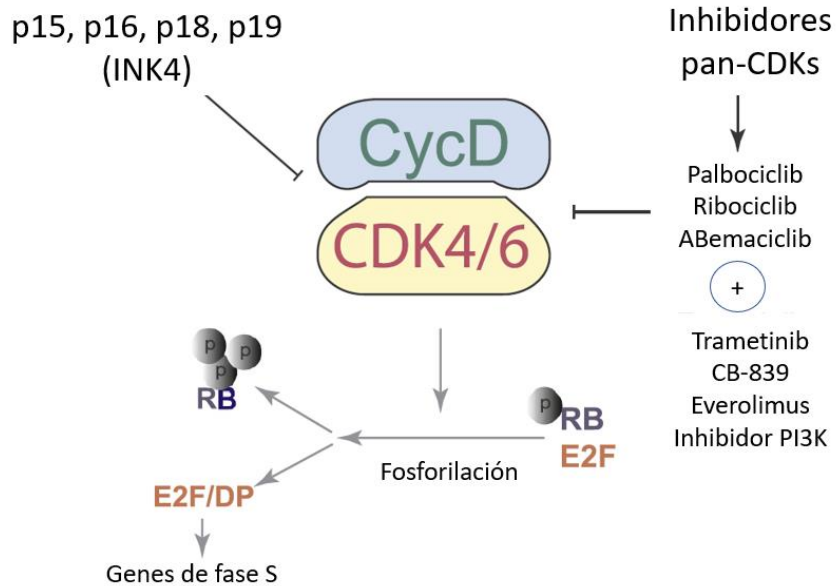


Figura 7. Inhibidores de CDK4/6. Los inhibidores específicos de CDK4/6 han demostrado un cierto nivel de eficacia clínica que les permite alcanzar la aprobación como medicamentos contra el cáncer en ciertos tipos de tumores. (Tomado y modificado de Leal-Esteban & Fajas, 2020).

Tabla 2. Fármacos que se dirigen a los factores reguladores del ciclo celular como posibles terapias para el cáncer

Blanco molecular	Fármaco	Uso clínico	Referencia
Fuerzan la salida del ciclo celular			
CDK4 y CDK6	Palbociclib	Aprobado para ER + y HER2- cáncer de mama metastásico; ensayos clínicos para múltiples tumores sólidos	(Whittaker, Mallinger, Workman, & Clarke, 2017), (Finn, Aleshin, & Slamon, 2016), (Fry et al., 2004)
	Ribociclib	Aprobado para ER + y HER2- cáncer de mama metastásico; ensayos clínicos para múltiples tumores sólidos	(Whittaker et al., 2017), (Hortobagyi et al., 2016), (Rader et al., 2013), (Tripathy et al., 2018)
CDK7	ICEC0942 (CT7001)	Fase I / II, ER + cáncer de mama, AML	(Whittaker et al., 2017),
Fuerzan la progresión del ciclo celular			
WEE1	Adavosertib (AZD1775)	Fase II, SCLC recidivante, cáncer de ovario, CPCNP, LMA, adenocarcinoma gástrico y varios tumores sólidos avanzados	(Ghelli Luserna di Rorà, Cerchione, Martinelli, & Simonetti, 2020), (Forment & O'Connor, 2018)
Deterioro de la tolerancia al estrés de la replicación			
ATR	VX-970	Fase II, cáncer de ovario, peritoneal primario o de trompas de Falopio recurrente y carcinoma urotelial metastásico	(Forment & O'Connor, 2018)
CHK1	LY2606368	Fase II, SCLC, cáncer de mama u ovario con mutación BRCA1 / BRCA2, TNBC, HGSOC, CRPC metastásico y tumores sólidos avanzados con defectos de HRR o alteraciones genéticas indicativas de estrés de replicación.	(Forment & O'Connor, 2018)
Inducen inestabilidad catastrófica del genoma			
Huso mitótico	Taxanos (paclitaxel, docetaxel y nanopartículas unidas a albúmina paclitaxel)	Aprobado para su uso en una amplia gama de cánceres, incluidos cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, melanoma y cáncer de esófago.	(Penna, Henriques, & Bonatto, 2017), (Weaver, 2014), (Zasadil et al., 2014)
	Alcaloides de la vinca (vinblastina y vincristina)	Aprobado para su uso en una variedad de cánceres, incluidos ALL, AML, HL, neuroblastoma y NSCLC	(Penna et al., 2017), (Tischer & Gergely, 2019)
SAC	Inhibidores de MPS (BAY 1161909 y BAY 1217389)	Estudios preclínicos en neuroblastoma, meduloblastoma y cáncer de mama (en combinación con taxanos). Ensayos clínicos de fase I recientemente ingresados	(Maia et al., 2018), (Schulze et al., 2020)
	Inhibidores de Aurora B (varios, incluidos AZD1152 y AT9283)	Fase II en AML, mieloma múltiple, SCLC y cáncer de próstata. Fase I en varios tumores sólidos	(Borah & Reddy, 2021)

(Tomado de Matthews et al., 2021)

La proteína de detención mitótica deficiente 2 (MAD2).

La proteína MAD2, contiene un dominio horma, es codificada por el gen MAD2L1 de 11,5 kb en el cromosoma 4q27. Esta proteína se acumula en los cinetocoros y genera una señal para secuestrar a CDC20 e inhibir la actividad de APC/C, hasta que los microtúbulos del huso se hayan alineado correctamente en la placa de metafase (Bates et al., 2020b). En la mitosis, MAD2 es un componente crítico del punto de control del huso, inhibe la ubiquitina ligasa llamada complejo promotor de anafase o ciclosoma (APC/C) mediante la unión a su activador, CDC20, en la transición de metafase a anafase, el complejo APC/C, ubiquitina a la securina y la ciclina B, la degradación de la securina y la ciclina B activa la separasa, que escinde el complejo de cohesina que mantiene la cohesión de las cromátidas hermanas; la disolución de la cohesión de las cromátidas permite el movimiento dependiente de los microtúbulos y la partición equitativa de las cromátidas separadas entre las dos células hijas. La separación prematura de las cromátidas hermanas antes del establecimiento de una unión cinetocoro-microtúbulos adecuada conduce a la pérdida o ganancia de cromosomas y aneuploidía en las células hijas (Figura 6), (Luo & Yu, 2008).

MAD2 existe en dos conformaciones, una cerrada (C-MAD2) forma un complejo heterotetramérico con MAD1L1 en el cinetocoro no unidos durante la prometafase, este complejo recluta moléculas de conformación abierta de MAD2L1 (O-MAD2) y además promueve la conversión de O-MAD2 en C- MAD2 (Figura 8), (Ji, Luo, Ahmad, & Liu, 2018).

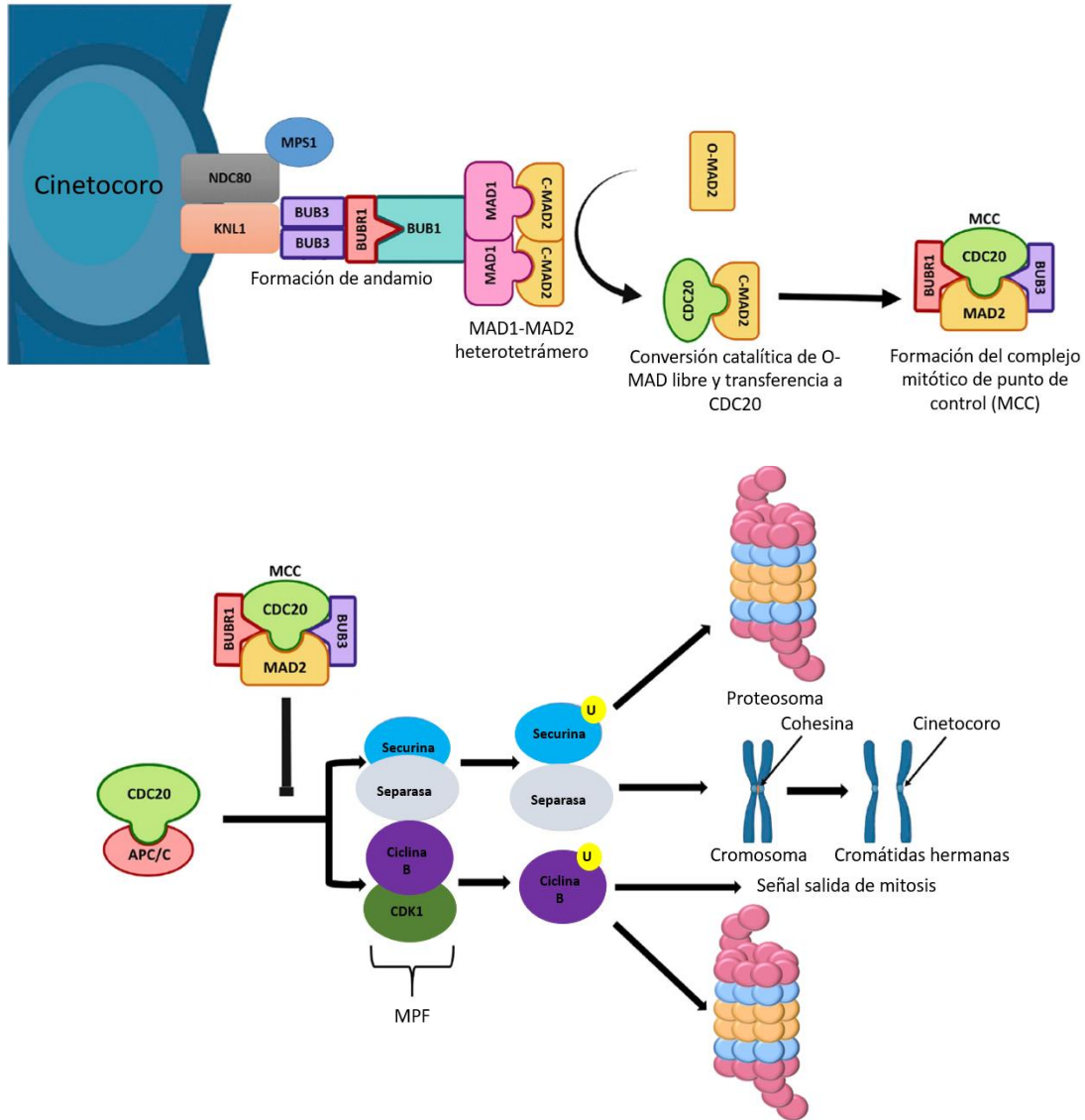


Figura 8. Ensamblaje del punto de control del ensamblaje del huso (SAC). El SAC representa un punto de control clave del ciclo celular que tiene como objetivo prevenir aberraciones cromosómicas como la aneuploidía o la tetraploidía, que son las principales características del cáncer. Cuando el SAC está activo, un andamio multiproteico se ensambla en los cinetocoros cromosómicos que no se han alineado con los microtúbulos del huso para la segregación. Este complejo multiproteico, que consiste en KNL1, NDC80 y miembros de la familia BUB (que son reclutados por fosforilación mediada por MPS1) a su vez, recluta un heterotetrámero C-MAD2-MAD1 que escinde catalíticamente el O-MAD2 soluble libre en C-MAD2. Este C-MAD2 convertido catalíticamente luego se une a CDC20. Este complejo luego se asocia con BUB3 y BUBR1 formando el complejo de punto de control mitótico (MCC) que previene la progresión de la anafase y la salida mitótica al inhibir la degradación mediada por APC / C / CDC20 de Ciclina B y Securina. (Tomado y modificado de Bates et al., 2020a).

Como describieron Scvartzman et al. (2011), el aumento en la expresión de MAD2 afecta la función reguladora de p53 y Rb que propicia el aumento en la frecuencia de aneuploidías o tetraploidías que pueden resultar en el desarrollo de cáncer o mantener la detención del ciclo celular y muerte celular (Schvartzman, Duijf, Sotillo, Coker, & Benezra, 2011).

La participación de las proteínas mitóticas en diferentes tipos de cáncer se ha descrito, su expresión puede encontrarse alterada, dependiendo del tipo de cáncer, los niveles de expresión altos o bajos se han correlacionado con tasas bajas de sobrevida en los pacientes y dependerá de eso si podrá actuar como un oncogén o incluso pueda tener función como supresor de tumores. Se ha descrito que MAD2 en la mayoría de los cánceres, se encuentra sobreexpresada.

Estudios recientes han descrito que esta proteína aumenta su expresión en diferentes tipos de cáncer como: pulmón (Kato et al., 2011), ovario (Furlong et al., 2012), gástrico (Tanaka et al., 2001); (C. W. Wu, Chi, & Huang, 2004), cérvix (Morishita et al., 2012), vejiga (Choi, Kim, Lee, & Kim, 2013), colorrectal (G. Q. Li, Li, & Zhang, 2003) y en la mayoría de estos trabajos se observa que podría tener un papel como oncogén, por todos estos antecedentes se consideró importante realizar una revisión sistemática para evaluar la función de esta proteínas en el proceso tumoral, evaluando su expresión y los hallazgos reportados en los diferentes tipos de cáncer (Figura 9).

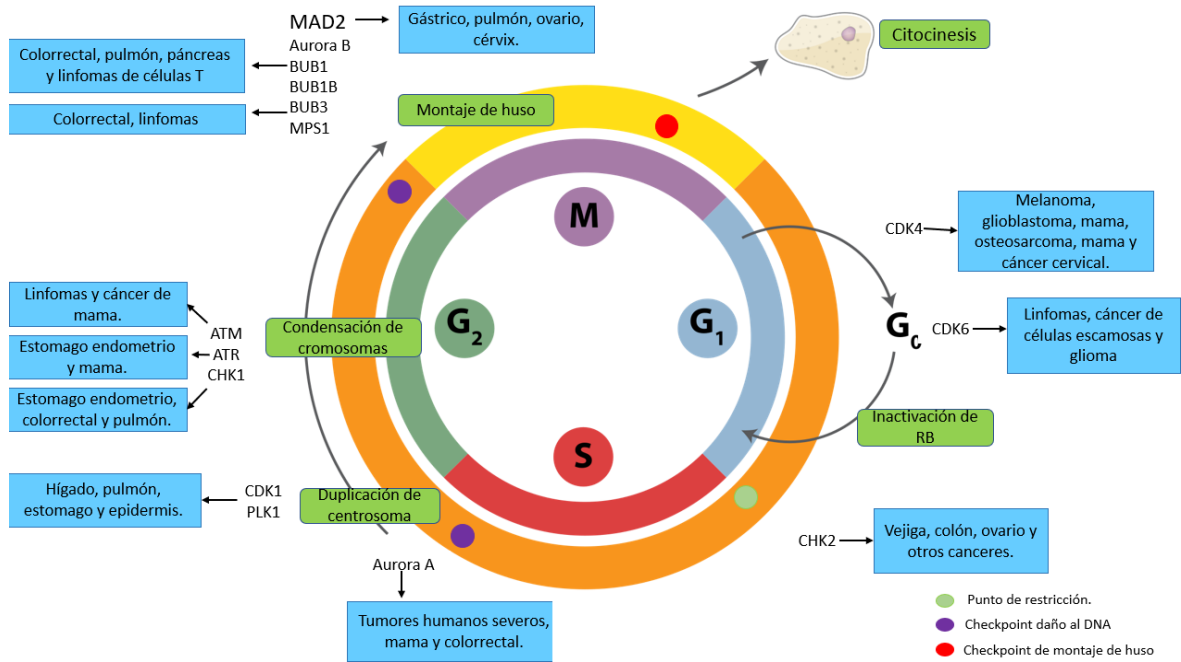


Figura 9. Regulación del ciclo celular por proteínas cinasas de interés y su potencial uso en la terapia del cáncer. Las cinasas dependientes de ciclina en interfase (CDK) impulsan a la célula fuera de la inactividad (G₀) y más allá del punto de restricción, lo que hace que la célula se comprometa irreversiblemente con la transición de fase de síntesis de DNA (S). Las cinasas del punto de control del daño del DNA (CHK) actúan como proteínas sensoras que pueden inducir la detención del ciclo celular en las fases de la primera brecha (G₁) y G₁-S en respuesta a las lesiones del DNA. Diferentes cinasas pueden actuar en varias etapas del ciclo celular y modular las actividades de otras cinasas relacionadas con el ciclo celular. Los cánceres asociados a la alteración genética de cinasas específicas se indican en recuadros azules. (Tomado y modificado de Lapenna & Giordano, 2009).

JUSTIFICACIÓN.

El cáncer es un problema de salud pública tanto a nivel mundial como en México. Los métodos de diagnóstico actualmente utilizados son mediante diagnóstico por imágenes o detección de sustancias que parecen expresarse de forma anormal en algún tipo de cáncer. Estas moléculas pueden ser obtenidas mediante análisis de orina, sangre, radiografías, endoscopias, métodos moleculares, etc. El problema radica en que estas sustancias se pueden expresar en otros tipos de padecimientos o incluso en ciertos estados metabólicos y también algunos de estos procedimientos son invasivos. A la fecha no se han descubierto biomarcadores específicos o únicos para cada tipo de cáncer es por eso por lo que es necesarios desarrollar herramientas diagnósticas complementarias a las existentes, entre ellos los biomarcadores que pueden ser auxiliares en la interpretación de estos resultados y mejorar el diagnóstico en los pacientes.

Existen genes que pueden ser prometedores como biomarcadores, especialmente porque ya se ha demostrado su función y puede actuar como un factor que favorece la carcinogénesis en algunos tipos de cáncer. Uno de estos genes está involucrado en procesos mitóticos como el gen *MAD2*.

OBJETIVO.

- Evaluar la expresión de la proteína MAD2 como posible biomarcador diagnóstico en cáncer.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Realizar una revisión sistemática en la expresión de la proteína MAD2 en diferentes tipos de cáncer
- Realizar una revisión sistemática enfocada en la expresión de MAD2 a nivel de proteína y RNA mensajero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Líneas celulares.

Las líneas celulares HeLa, SiHa y C33-A se obtuvieron por una donación de la Dra. Icela Palma Lara del Laboratorio de Morfología y Biología Celular, Escuela Superior de Medicina, IPN. Las células provenientes de cultivo se mantuvieron en incubación con 70 % de humedad, 5 % de CO₂ y temperatura de 37 °C en medio de cultivo RPMI, suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 5% y antibióticos (ampicilina). Al tener una confluencia de 80% las células fueron tripsinizadas y posteriormente fueron lavadas con medio de cultivo, esto fue repetido dos veces y el botón celular fue resuspendido directamente en Trizol, almacenado a -70° C hasta su uso.

Extracción de RNA.

Los RNA's totales se extrajeron de las células cultivadas, con la técnica de Trizol, siguiendo las recomendaciones de manufactura del proveedor. Brevemente, se descongelaron las muestras que ya contenían el Trizol (500 µl), colocándolas en hielo, se mezclaron en el vórtex y se homogenizaron pasando varias veces el Trizol por la punta (1000 µl), escurriendo el material de los bordes. Se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugaron a 12,000 Xg por 10 minutos 4° C. Se recolectó el sobrenadante en tubo eppendorf de 1.5 ml y se adicionaron 200 µL de la mezcla de cloroformo: alcohol isoamílico, agitando vigorosamente por 15 segundos, primero manualmente y después con ayuda del vórtex. Se incubaron durante 3 minutos a temperatura ambiente, mezclando cada minuto y se centrifugaron a 12,000 Xg por 15 minutos de 4°C y el sobrenadante se recolectó en

otro tubo de 2 ml, aproximadamente 400 μ l. Se adicionaron 500 μ L de isopropanol absoluto y agitaron por inversión y se incubó la muestra a temperatura ambiente por 10 minutos (o por 1 hora a -20° C). Posteriormente se centrifugaron a 12,000 Xg por 15 minutos de 4° C. Se decantó el sobrenadante en un vaso para desechos y se lavó el pellet con etanol al 80 % agregando 1000 mL, se mezclaron por inversión hasta despegar el pellet. Nuevamente se centrifugaron a 10,000 Xg por 5 minutos de 4° C y decantó el sobrenadante en un vaso para desechos, estos pasos se repitieron dos veces para posteriormente dejar secar el RNA a temperatura ambiente, durante 3 horas. Después de esto, el pellet de RNA se disolvió con la pipeta en 30 μ l de agua libre de RNAsas, se colocó en hielo y almacenó a -80° C hasta su uso. Se realizó la cuantificación en espectrofotómetro (DeNovix). La concentración fue expresada en ng/mL y fue ajustada a $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en todas las muestras. La pureza y la concentración se determinó leyendo la absorbancia a 260 y 280 nm. Se realizó la electroforesis en un gel de agarosa al 1% (TBE-DEPC) para verificar las bandas 28S y 18S y colocaron en un carril el RNA extraído de linfocitos como control. Se corrió el gel a 115 V por 1 hora, tomando una foto a los 40 min y al final de la corrida. Se verificó en el transiluminador.

Transcripción reversa conversión a cDNA.

La transcripción reversa de RNA total fue realizada usando el kit "High Capacity cDNA Archive Kit" (Applied Biosystem, CA) en un volumen final de 20 μ L. La mezcla de reacción incluía RNA total 2 μ g, buffer RT 10X 2 μ L, dNTP 100 μ M 0.8 μ L, random primer RT 10X 2 μ L, Transcriptasa Reversa MultiScribe™ (5 U/ μ L), 1 μ L e inhibidor

de RNasa (2 U/ μL), 1 μL . Las reacciones fueron incubadas por 10 min., a 25°C, por 120 min., a 37° C y 5 seg., 98°C y posteriormente el cDNA fue almacenado a -20° C hasta su uso.

RT-qPCR.

La expresión se propuso para 3 genes, MAD2, PLK4 y el gen de referencia 18S ribosomal todas sondas de hidrólisis Taqman para MAD2, ID de Hs01554513_g1; para PLK4, Hs00179514_m1 y como control de expresión 18S, Hs03003631_g1. Estos genes se propusieron para evaluarlos en las tres líneas celulares: SiHa, HeLa y C33A con qRT-PCR usando sondas TaqMan (Applied Biosystem, CA). El gen incluido 18s ribosomal fue utilizado como control interno, la utilización de este gen se ha descrito previamente (Lossos, Czerwinski, Wechser, & Levy, 2003). Se utilizó la sonda TaqMan®, para el gen 18S con tamaño de amplicón de 80 pb. Todos los experimentos fueron corridos por duplicado en un volumen final de reacción de 20 μL , incluyendo cDNA molde 200 ng, mezcla de Universal PCR Máster mix (Applied Biosystems) 10 μL y sonda Taqman 20X, 1 μL y agua libre de RNAsa 7 μL . Las condiciones reacción en el termociclador fueron las siguientes: etapa inicial de activación a 50° C por 2 min., seguido de 10 min., a 95° C y 40 ciclos cada uno con una etapa de fusión por 15 segundos., a 95° C y alineación/extensión por 1 min., a 60° C. En el equipo CFX96 Touch Deep Well (BIO-RAD). Al finalizar la amplificación se analizaron los resultados.

Estrategia de búsqueda en base de datos para la proteína MAD2.

La estrategia de búsqueda se desarrolló en tres bases de datos: PUBMED, SCOPUS y WEB OF SCIENCE, la búsqueda fue realizada en mayo del 2021. Se utilizó la estrategia PICO (Paciente, Intervención, Comparación y Resultados) Tabla 3.

Se utilizaron criterios de inclusión y fueron los siguientes: artículos publicados en un periodo de veinte años (2001 a 2021), tumores en humanos, estudios de expresión de la proteína mediante inmunohistoquímica y RNA mensajero.

Mientras que los criterios de exclusión fueron: Estudio en animales, artículos con información incompleta, análisis bioinformáticos, revisiones sistemáticas, conferencias o congresos y cartas al editor.

Tabla 3. Estrategia de búsqueda para la revisión sistemática.

PASO 1	IDEA DE ESTUDIO	Expresión de MAD2 en cáncer	
PASO 2	PROBLEMA DE ESTUDIO	P (paciente/población/problema)	Pacientes (Mujeres y hombres)
		I (Intervención)	Expresión de MAD2 y en tejidos con cáncer.
		C (intervención de comparación)	Alta expresión, baja expresión, alta o baja regulación.
		O (resultado)	Sobrevida, recurrencia, carcinogénesis progresión tumoral y mal pronóstico.
PASO 3	PREGUNTA CLINICA	¿En personas con cáncer, habrá una sobreexpresión de MAD2 la cual estará asociada con la sobrevida, riesgo de recurrencia y mal pronóstico?	
PASO 4	DeCS	MAD2	MAD2, Mad2, MAD2L1, Mitotic arrest deficient 2, Mitotic arrest defective protein 2, Mitotic-arrest deficiency 2, Mitotic arrest deficiency protein 2, mitotic arrest defect 2, Mitotic arrest deficiency 2
		Paciente	Patient
		Expresión	Gene Expression.
		cáncer, tumores, tejidos	Cancer, tumor, tissue.
		Alta expresión	Overexpression
		Baja expresión	Low expression
		Alta regulación	Upregulated
		Baja regulación	Downregulation
		Sobrevida, recurrencia, mal pronóstico, Carcinogénesis, Progresión tumoral	Survival, Recurrence, Prognosis, prognostic Carcinogenesis Disease Progression, Progression-Free Survival
PASO 5	SIMILITUD DE MESH EN PUBMED PARA MAD2	#1	(MAD2 OR Mad2 OR MAD2L1 OR HSMAD2 OR "Mitotic arrest deficient 2" OR "Mitotic arrest defective protein 2" OR "Mitotic-arrest deficiency 2" OR "Mitotic arrest deficiency protein 2" OR "Mitotic arrest defect 2" OR "Mitotic arrest deficiency 2")
		#2	(Patient*) OR (Patients)
		#3	(Tumor* OR Tumors OR Cancer* OR Cancers OR Tissue* OR Tissues)
		#4	(Expression OR "Gene Expression" OR Overexpression OR Low Expression OR Upregulated OR Downregulated OR Downregulation)
		#5	(Survival OR Recurrence OR Prognosis OR Prognostic OR Carcinogenesis OR "Disease Progression" OR "Progression-Free Survival").

(((((MAD2 OR Mad2 OR MAD2L1 OR "Mitotic arrest deficient 2" OR "Mitotic arrest defective protein 2" OR "Mitotic-arrest deficiency 2" OR "Mitotic arrest deficiency protein 2" OR "Mitotic arrest defect 2" OR "Mitotic arrest deficiency 2"))) AND ((Patient*) OR (Patients))) AND ((Tumor* OR Tumors OR Cancer* OR Cancers OR Tissue* OR Tissues))) AND ((Expression OR "Gene Expression" OR Overexpression OR Low Expression OR Upregulated OR Downregulated OR Downregulation))) AND ((Survival OR Recurrence OR Prognosis OR Prognostic OR Carcinogenesis OR "Disease Progression" OR "Progression-Free Survival"))

Análisis bioinformático.

Para realizar el análisis bioinformático de los niveles de expresión de MAD2 en cáncer cervical y así como en otros tipos de cáncer que están asociados al virus del papiloma humano (VPH), se utilizó la plataforma en línea de ONCOMINE, otros análisis para conocer la interacción proteína-proteína, ubicación celular, función molecular de MAD2, mediante la plataforma STRING y el enriquecimiento de vías mediante la plataforma KEGG y DAVID.

RESULTADOS

Extracción y cuantificación de RNA.

Para la extracción de RNA, solo fue posible realizarla con la línea celular HeLa (VPH18+), mediante la técnica de Trizol. La cuantificación se realizó utilizando un espectrofotómetro DeNovix (Dinamarca), en el cual se midió el blanco y posteriormente las muestras, los datos obtenidos se leyeron a una longitud de onda de 260/280. Teniendo una concentración promedio en las 4 muestras de 662.12 ng/ μ l.

Electroforesis en agarosa.

Después de la cuantificación se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, en él se colocaron las muestras de RNA extraído de la línea celular HeLa. En el gel representativo se pueden observar las bandas correspondientes a los rRNA de diferentes longitudes, 18S y 28S para las cuatro muestras que se obtuvieron, se puede observar en el carril 1 el marcador de peso molecular (Invitrogen), y los demás carriles se observan las muestras de los cultivos en diferentes días, cargando 3 μ l (Figura 10).

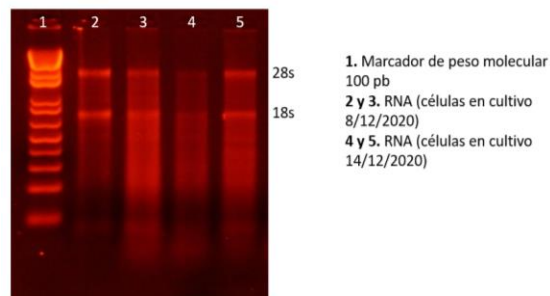


Figura 10 . Electroforesis en gel de agarosa al 1%. Muestras de RNA total proveniente de la línea celular HeLa.

RT-PCR.

Para evaluar los niveles de expresión del mRNA, inicialmente se realizó una RT-qPCR, solo fue una línea celular Hela y se procesaron 4 muestras de diferentes cajas de cultivo. El gen que se evaluó fue el control de expresión 18s ribosomal, se incluyeron las cuatro muestras (muestra y duplicado respectivamente y el control negativo (Figura 11). Se puede observar en la imagen de amplificación en el recuadro las curvas melting, que indican la amplificación de un solo producto (Figura 11).

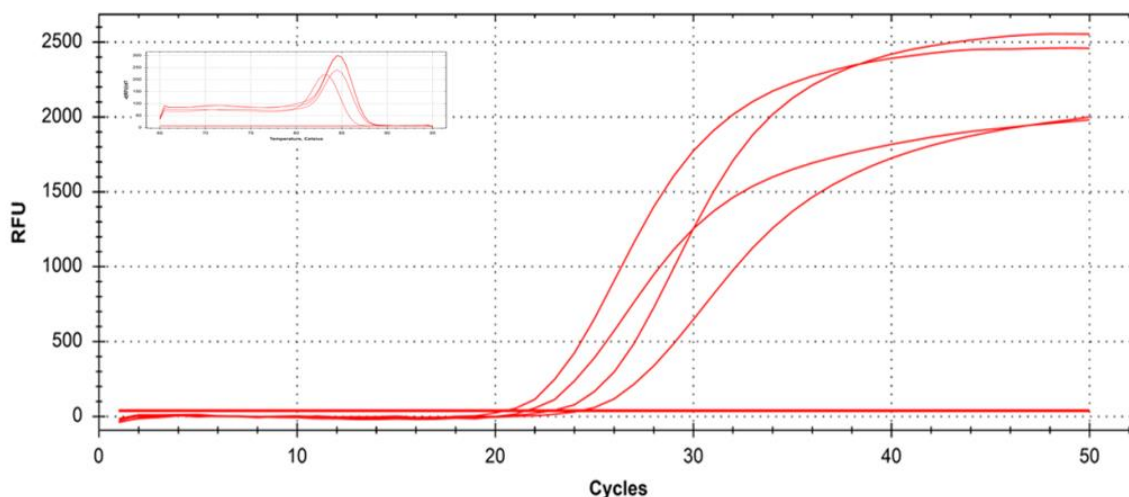


Figura 11. Análisis de expresión génica. RT-PCR gen 18S ribosomal. En el recuadro en la parte superior se puede observar las curvas de amplificación melting.

Debido a las restricciones por pandemia COVID-19 no se pudo continuar con el protocolo sometido al principio de la maestría, se optó por otra alternativa para obtener el grado de maestría y fue realizar una revisión sistemática acerca de la proteína MAD2 y someterla a una revista CONACYT o JCR. A continuación, se muestra el proceso que seguimos para la elaboración de la revisión sistemática.

Revisión bibliográfica acerca de la proteína MAD2 mediante inmunohistoquímica y PCR.

Nuestra estrategia de búsqueda que fue aplicada en tres bases de datos (PUBMED, SCOPUS Y WEB OF SCIENCE (WOS), arrojó un total de 295 artículos, PUBMED (94), SCOPUS (115) y WOS (86), para eliminar los duplicados se utilizó el gestor de referencias EndNote, obteniendo así 132 artículos, siguiendo el proceso de selección, se leyeron los títulos y resúmenes, excluyendo los que no estaban relacionados con nuestro tema, que fueron 130, se realizó una siguiente eliminación, debido a que no cumplían con los criterios de inclusión (artículos publicados en un periodo de veinte años (2001 a 2021), tumores en humanos, estudios de expresión de la proteína mediante inmunohistoquímica y RNA mensajero) y fueron eliminados 132, finalmente hubo una lectura completa de los artículos y se excluyeron 7, al finalizar este procedimiento, el número de artículos fue de 26 para la proteína MAD2, el diagrama de flujo PRISMA (Page et al., 2021) para esta revisión sistemática se muestra en la Figura 12.

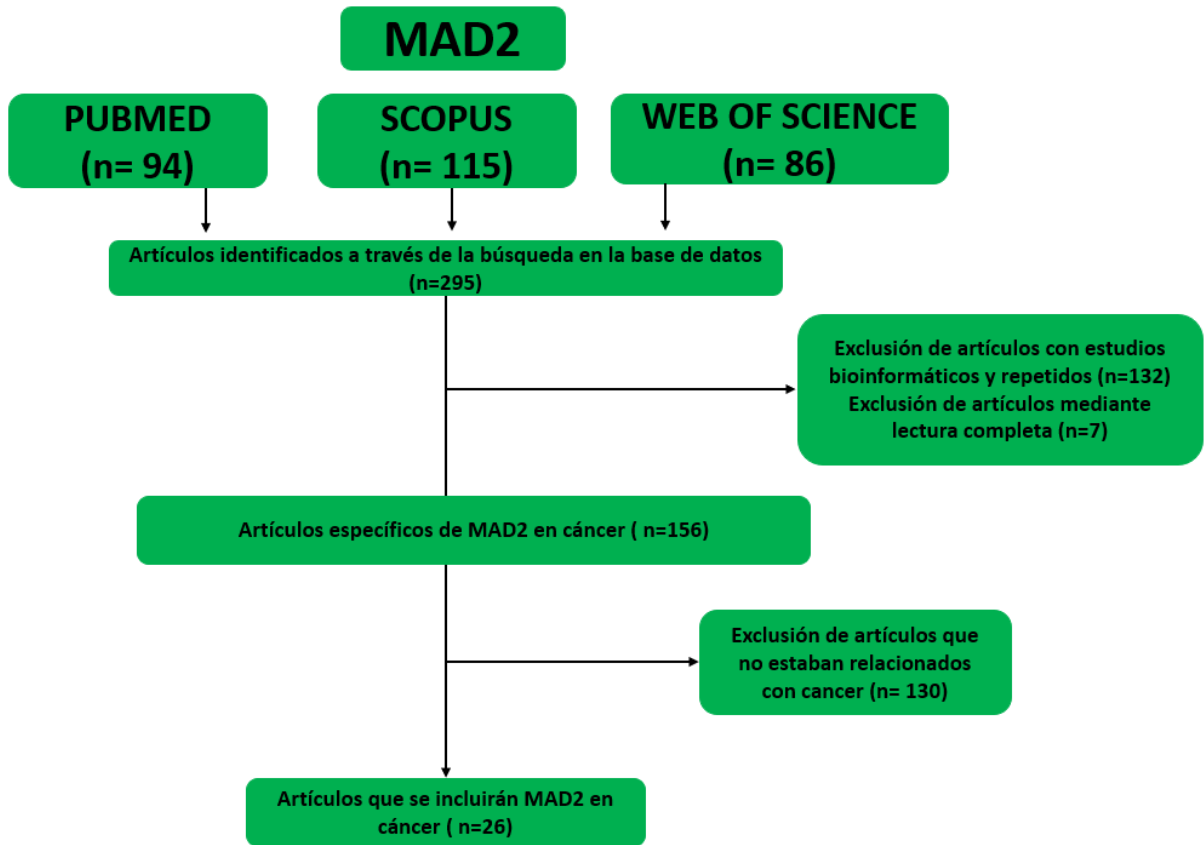


Figura 12. Flujograma de la búsqueda de la literatura y los criterios de selección (PRISMA).

La participación de MAD2 en diferentes tipos de cáncer.

De acuerdo con los resultados obtenidos y siguiendo el procedimiento anteriormente mencionado, a continuación, se muestran artículos obtenidos de los tipos de cáncer en el que se ha reportado la expresión de MAD2.

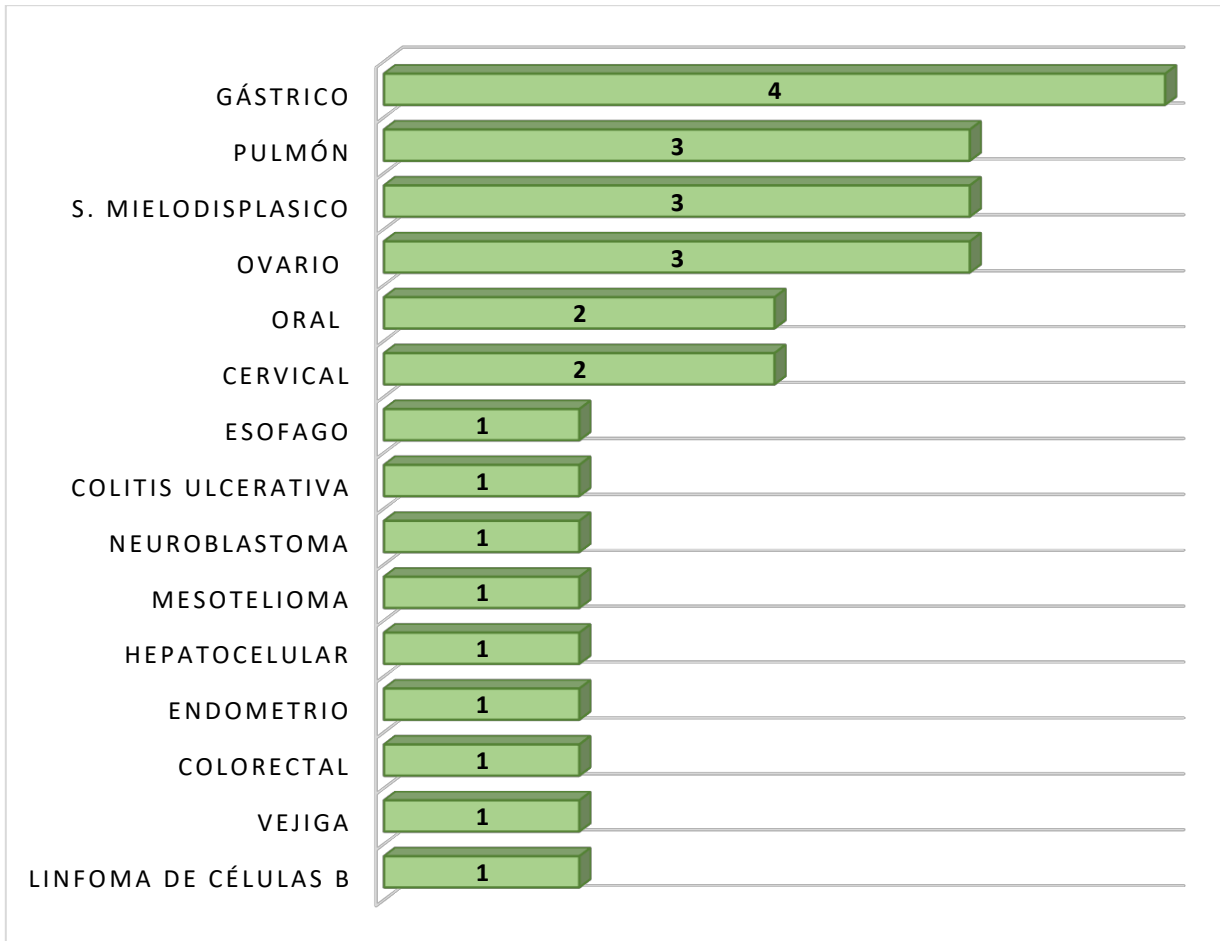


Figura 13. Numero de artículos obtenidos en la búsqueda de la expresión de MAD2 en diferentes tipos de cáncer. Un total de 26 artículos incluidos en las revisión sistematica.

Los detalles de la expresión, el número de muestras, año de publicación y autor se pueden observar en la Tabla 4.

El aumento en la expresión de la proteína MAD2 en varios tipos de cáncer puede asociarse con el proceso de carcinogénesis, en cáncer gástrico se menciona que el

nivel de la proteína MAD2 fue significativamente alto en los tejidos tumorales en comparación con el tejido normal (C. W. Wu et al., 2004) y en dos estudios más detectan a esta proteína MAD2 localizada principalmente en el citoplasma y además estos trabajos muestran la posible relación que existe entre la expresión de MAD2 con los datos clínicopatológicos (Enjoji, Iida, et al., 2009). La expresión de la proteína MAD2 está asociada con la metástasis hacia ganglios linfáticos (L. Wang et al., 2009). En 13 artículos obtenidos en esta revisión, reportan un aumento en la expresión de la proteína MAD2, sin embargo, también es importante mencionar que hay tres trabajos en los cuales la expresión de MAD2 disminuye, uno de estos trabajos fue el reportado por McGrogan et al., los cuales demuestran que la proteína MAD2 se correlaciona con el aumento de la proliferación celular y localizándola principalmente en el núcleo pero en menor proporción en los tejidos tumorales, asociando esto con una menor supervivencia libre de recurrencia (McGrogan et al., 2014), mientras que el trabajo publicado por Byrne et al, mencionan que existe una baja intensidad nuclear de la proteína MAD2, la cual se asoció en los carcinomas de ovario seroso de alto grado con una mejor supervivencia específica de la enfermedad y hubo una correlación positiva significativa entre la expresión de BRCA1 y MAD2, (Byrne et al., 2018).

El trabajo realizado en mesotelioma, demuestran que la pérdida de expresión del eje BRCA1/MAD2, confiere resistencia al fármaco vinorelbina, no hay mantenimiento de la integridad de los cromosomas (Busacca et al., 2021). Otro estudio también ha demostrado que BRCA1 está involucrado en la regulación transcripcional de MAD2, a través de su capacidad para interactuar y controlar la

actividad del complejo CDC20/APC/C (R.-H. Wang, Yu, & Deng, 2004a), en el trabajo de Mullan et al, proponen que la capacidad de BRCA1 para regular al alza MAD2 podría ser un mecanismo para garantizar un control inhibitorio adecuado en el complejo cdc20/APC/C para evitar la inactivación prematura del punto de control del huso, esto a su vez permitiría a BRCA1, monitorear la integridad del huso y promover la activación y apoptosis en caso de daño de los microtúbulos (Mullan, Gorski, & Harkin, 2006), (Figura 13).

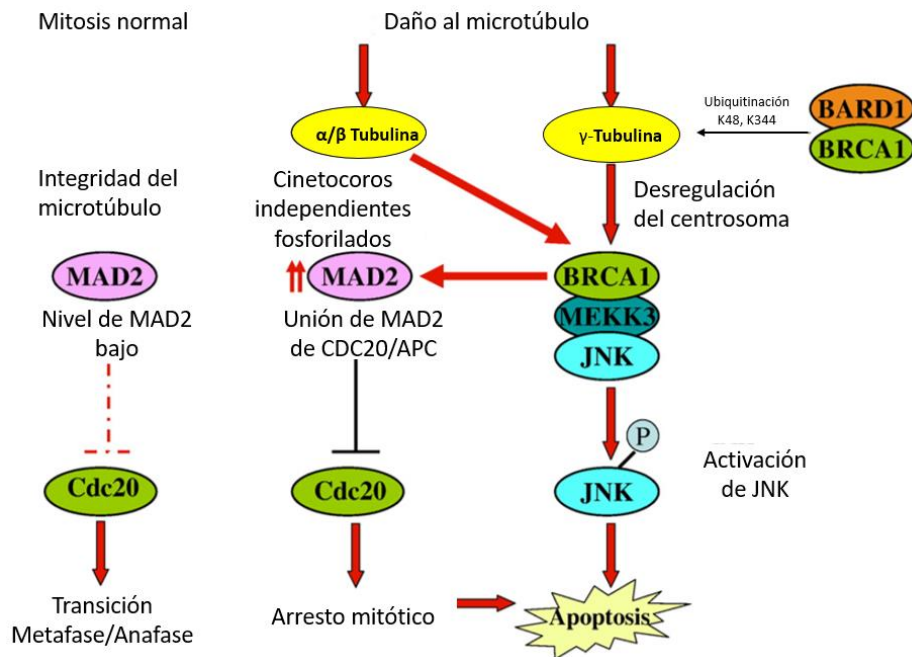


Figura 14. Mecanismos potenciales de la regulación de BRCA1 en respuesta al daño de los microtúbulos. (Tomado y modificado de Mullan, Gorski, & Harkin, 2006).

Un hallazgo importante fue demostrado en pacientes con cáncer de pulmón, los autores muestran una alta expresión de la proteína MAD2 y se asocia con una baja supervivencia (Kato et al., 2011) también este mismo grupo de investigación observaron que la expresión de CDC20 y MAD2 en tejidos tumorales

tuvo una correlacionada significativamente alta y esto se encontró asociada a la sobrevida general a 5 años fue significativamente menor (Kato et al., 2012b) y el equipo de Wu, et al, muestra que la expresión de MAD2 es más alta en los carcinomas de células pequeñas y esa alta expresión se asoció con la metástasis a los ganglios linfáticos (Y. Wu et al., 2018).

La expresión de MAD2 no solo se encontró en tumores sólidos, también se ha reportado en tumores líquidos como el síndrome mielodisplásico en donde los autores demuestran que la expresión de MAD2 fue alta y se asocia con una mala sobrevida y también con el incremento de desarrollar una enfermedad más agresiva (Heredia et al., 2014); (Genga et al., 2015). Contradictoriamente otro estudio en síndrome mielodisplásico, reportó una disminución en la expresión de MAD2, en pacientes con cáncer comparada con el grupo control y esto contribuye al mal pronóstico de la enfermedad (Borges et al., 2018).

Para nuestro grupo de trabajo es de gran importancia el estudio de cáncer cervical. Inicialmente nuestro objetivo de estudio fue analizar la expresión de la proteína MAD2 en cáncer cervical, sin embargo, no fue posible realizarlo experimentalmente por motivos de la pandemia COVID-19. En la revisión sistemática para cáncer cervical, da como resultado dos artículos, mostrando la expresión de MAD2 en el núcleo de las células tumorales además este aumento de expresión es un factor de riesgo para el mal pronóstico de la enfermedad, también reportan que existe asociación con diferentes datos clínicopatológicos (edad, tipo histológico e invasión estromal) y observaron una correlación estadísticamente significativa con la

proteína CDC20 en tejidos con cáncer (Kim, Choi, Lee, & Kim, 2014b). El otro estudio en cáncer cervical se asoció la alta expresión de la proteína MAD2 con la progresión del tumor y la resistencia a la quimioterapia (Morishita et al., 2012). En ambos estudios está sobreexpresada la proteína MAD2.

En cáncer de ovario, reportaron una baja intensidad de tinción de MAD2, que fue evaluada mediante IHQ, y esto se asoció con la reducción de la supervivencia libre de enfermedad e incluso ensayos *in vitro* demostraron que células con baja expresión de MAD2, eran menos sensibles a paclitaxel (Furlong et al., 2012). En cáncer de endometrio la tasa positiva de MAD2 fue relacionada con el estadio clínico y el grado histológico, correlacionando negativamente con la expresión de la proteína Bub1 (L. Li, Xu, Zhao, & Hao, 2013a, 2013b).

Anteriormente se había hecho una búsqueda de información sobre la proteína MAD2 en cáncer, eso nos dio como resultado otros trabajos en los cuales estudiaron la expresión de MAD2 embargo, estos estudios no los obtuvimos con la estrategia de búsqueda que realizamos para la revisión sistemática. Consideramos importante mencionarlos porque muestran la expresión de la proteína MAD2 en diferentes tipos de cáncer.

En cáncer de ovario mucinoso, el grupo de Nakano et. al, estudia la expresión de la proteína MAD2 en varios estadios, y esta fue significativamente más alta en el grupo con cáncer avanzado sugiriendo que la alta expresión de la proteína MAD2 puede ser correlacionada con la carcinogénesis (Nakano, Sumi, Morishita, et al., 2012). Este grupo, también estudia la expresión de la proteína MAD2 en relación a la

recaída y respuesta al tratamiento, ellos concluyen que los niveles de expresión de la proteína MAD2 pueden indicar sensibilidad a los fármacos quimioterapéuticos y riesgo de recurrencia (Nakano, Sumi, Teramae, et al., 2012).

Otro trabajo realizado en cáncer de ovario demostró una asociación significativa entre el grado del carcinoma y el nivel de expresión de la proteína MAD2, de acuerdo con el grado histológico, el carcinoma seroso de bajo grado mostró una expresión baja de MAD2, mientras que el carcinoma seroso de alto grado mostró una expresión de alta de MAD2 (Park, Jeong, Kim, & Park, 2013).

En un estudio en cáncer cervical, demostraron que la expresión de MAD2 fue significativamente menor en lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado comparadas con cervicitis crónica y las lesiones intraepiteliales de bajo grado, y la eliminación de MAD2 aumentó el crecimiento celular, reforzó la capacidad de invasión y potenció la migración, inhibió la apoptosis, concluyendo que la disminución de la expresión de MAD2, se asoció con el comportamiento maligno (Li Wang et al., 2019).

En cáncer oral, el estudio de Rizzardi et al., muestran que en tejidos cancerosos existe un incremento en la expresión de MAD2 y está asociada con la progresión, favoreciendo la carcinogénesis oral (Rizzardi et al., 2014). Teixeira et al., mencionan que la expresión de la proteína MAD2 está aumentada, esto fue demostrado en líneas celulares de queratinocitos y ese incremento contribuye a la proliferación celular (Teixeira et al., 2015).

En el estudio de carcinoma hepatocelular la expresión de RNAm de MAD2 y el nivel de proteína fue más alta significativamente en tejidos tumorales y esta expresión se relacionó con varias características clínicopatológicas, como el tamaño del tumor, el grado de tumor y el estadio tumoral (Y. Li, Bai, & Zhang, 2017), por otro lado, en cáncer colorrectal la proteína está significativamente sobreexpresada en tejidos con cáncer comparado con la mucosa normal (G. Q. Li et al., 2003), en cáncer de esófago observaron la expresión tanto de MAD2 como del punto de control mitótico serina/treonina quinasa (BBubR1) fue significativamente mayor en los tejidos tumorales y existió una asociación positiva entre estas dos proteínas (Tanaka et al., 2008). Un estudio realizado en linfoma se reportó el mismo comportamiento, sin embargo, este aumento en la expresión se correlacionó positivamente con la proteína de proliferación celular Ki67, los autores concluyen, analizando todos estos resultados que esto favorece que la sobrevida libre de enfermedad sea baja (Chen, Liu, Zhou, Shen, & Zuo, 2016).

Finalmente en tejidos de neuroblastoma, los autores señalan que existe una correlación positiva significativamente entre la expresión de MAD2 y la sensibilidad a paclitaxel y esto induce la apoptosis, sin embargo también la alta expresión en los pacientes fue asociada con mal pronóstico (Otake et al., 2011) y por último, un estudio en tejidos de cáncer de vejiga también existe alta expresión de MAD2 en los estadios avanzados y esto se asocia con una baja sobrevida (Choi et al., 2013).

Tabla 4. Estudios que reportan la expresión de MAD2 en diferentes tipos de cáncer: revisión sistemática.

Tipo de cáncer	Muestras	N	Métodos de cuantificación	Resultados de expresión	Función	Análisis de sobrevida	Referencia
Linfoma de células B	Tejidos	38	IHC	MAD2 tiene unos niveles muy altos de expresión en tejidos con cáncer comparados con tejidos normales, su sobreexpresión está correlacionada positivamente con Ki67 y la sobrevida libre de enfermedad mala.	oncogén	Si	(Chen et al., 2016)
Vejiga	Tejidos	339	IHC	Alta expresión de MAD2 se correlaciona con alto grado, estadio avanzado y patrón de crecimiento no papilar y también está asociada a una mala sobrevida.	Oncogén	Si	(Choi et al., 2013)
Cervical	Tejidos	53	IHC	MAD2 se expresó en núcleo en tejidos tumorales y esta sobreexpresión es un factor de riesgo para un mal pronóstico.	oncogén	Si	(Morishita et al., 2012)
	Tejidos	332	IHC	Expresión de MAD2 fue en el núcleo de las células tumorales, y muy baja o ausente en tejidos normales y está altamente regulado en SCC.	oncogén	No	(Kim, Choi, Lee, & Kim, 2014a)
Colorectal	Tejidos	38	IHC WB	La proteína MAD2 esta significativamente sobreexpresada en tejidos con cáncer.	oncogén	No	(G. Q. Li et al., 2003)
Endometrio	Tejidos	63	IHC	Expresión de MAD2 incremento significativamente en tejidos con cáncer de endometrio comparados con los tejidos normales.	oncogén	No	(L. Li et al., 2013b)
Gástrico	Tejidos	32	IHC WB PCR	MAD2 en tejidos con cáncer esta sobreexpresada en comparación con los tejidos normales y es detectada principalmente en el citoplasma de las células con cáncer.	oncogén	No	(Tanaka et al., 2001)
	Tejido Línea celular	204 6	IHC WB PCR	MAD2 se expresaba principalmente en citoplasma en muestras con cáncer. También su expresión fue mayor en el cáncer gástrico metastásico de los ganglios linfáticos.	oncogén	No	(L. Wang et al., 2009)
	Tejidos	100	PCR	Expresión de MAD2 fue significativamente más alta en tejidos cancerosos comparados con los normales. Y en relación con los datos clínicopatológicos, estaba significativamente	oncogén	Si	(Enjoji, Iida, et al., 2009)

				asociada con la metástasis hacia nodos linfáticos.			
	Tejidos	829	IHC	Expresión de MAD2 esta incrementada en lesiones gástricas premalignas y malignas.	oncogén	Si	(Kim, Choi, Lee, & Kim, 2019)
Carcinoma hepatocelular	Tejido Línea celular	675	RT-qPCR WB	La expresión del RNAm de MAD2 y el nivel de proteína estaba significativamente más alto en tejidos tumorales.	oncogén	No	(Y. Li et al., 2017)
Pulmón	Tejidos	358	IHC PCR	El análisis sobrevida indico asociaciones significativas entre niveles altos de MAD2 en NSCLC y sobrevida a 5 años específica del tumor y libre de recurrencia. Los pacientes con adenocarcinomas con alta expresión de MAD2 revelaron una sobrevida más corta que aquellos con baja expresión de MAD2.	oncogén	Si	(Kato et al., 2011)
	Tejidos	362	IHC	La expresión de CDC20 y MAD2 estuvo significativamente correlacionado en adenocarcinomas y los carcinomas de células escamosas.	oncogén	Si	(Kato et al., 2012a)
	Tejidos	70	qRT-PCR	La expresión de MAD2 es mal alta en pacientes con SCLC que en pacientes con NSCLC y se asocia con la metástasis hacia los nodos linfáticos y el tiempo de sobrevida.	oncogén	No	(Y. Wu et al., 2018)
Mesotelioma	Tejido Línea celular	483	IHC qRT-PCR	Perdida de la expresión de MAD2 se correlaciona con una mala sobrevida y confiere resistencia al fármaco.	Supresor de tumor	Si	(Busacca et al., 2021)
Síndrome mielodisplásico	Muestras de medula ósea	60	qRT-PCR	Los niveles de expresión de MAD2 se asoció con el incremento de desarrollar la enfermedad más agresiva.	oncogén	No	(Heredia et al., 2014)
	Tejidos	40	IHC	Alta expresión de MAD2 fue asociado con trombocitopenia severa y con una mala sobrevida en pacientes con este síndrome.	oncogén	Si	(Genga et al., 2015)
	Muestras de medula ósea	101	qRT-PCR	Expresión de MAD2 era baja en pacientes con MDS comparada con el grupo control sugiriendo que estos datos contribuyen a un mal pronóstico en la enfermedad.	Supresor de tumor	No	(Borges et al., 2018)
Neuroblastoma	Tejido Línea celular	514	RT-PCR	Existe una correlación entre la expresión de MAD2 y la sensibilidad a paclitaxel, induciendo apoptosis. Expresión de MAD2 es significativamente más alta en pacientes con	oncogén	Si	(Otake et al., 2011)

				mal pronóstico que en pacientes con buen pronóstico.			
Colitis ulcerativa	Tejido	31	IHC	Niveles de MAD2 no cambiaron	NR	NR	(Burum-Auensen et al., 2007)
Esófago	Tejido Línea celular	21	PCR	Expresión de MAD2 fue mayor en el tejido canceroso que en el tejido normal. Se reporta una asociación positiva entre MAD2 y BubR1 en tejido canceroso.	oncogén	No	(Tanaka et al., 2008)
Oral	Tejido	49	IHC	Tejidos cancerosos mostraban un incremento en la expresión de MAD2, esta expresión se asoció con el grado histológico.	oncogén	No	(Rizzardi et al., 2014)
	Tejido Línea celular	65	IHC PCR	MAD2 esta sobreexpresada en las líneas celulares, esto contribuye a La proliferación celular. También hay una alta expresión en tejidos de carcinoma oral de células escamosas.	oncogén	Si	(Teixeira et al., 2015)
Ovario	Tejido Línea celular	45 5	IHC PCR	La baja intensidad de tinción de MAD2 se asoció significativamente con una reducción de la sobrevida libre de progresión y las células con baja expresión de MAD2 eran menos sensibles al paclitaxel.	Supresor de tumor	Si	(Furlong et al., 2012)
	Tejido	72	IHC	MAD2 se expresó predominante en el núcleo, el incremento de la distribución del porcentaje de MAD2 fue también fuertemente asociado con el incremento de la expresión de ki67.	oncogén	Si	(McGrogan et al., 2014)
	Tejido	94	IHC	La baja intensidad nuclear de MAD2 se asoció con una mejor sobrevida específica de la enfermedad en carcinomas seroso de alto grado.	oncogén	Si	(Byrne et al., 2018)
IHC: inmunohistoquímica; WB: Western blot; qRT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; NR: no reportado; MDS: síndrome mielodisplásico; NSCLC: carcinoma de pulmón de células no pequeñas; SCLC: carcinoma de pulmón de células pequeñas; SCC: carcinoma de células escamosas.							

Análisis bioinformático

Se utilizó la plataforma ONCOMINE para ver los niveles de expresión de RNAm de MAD2 en tejidos con cáncer comparados con los tejidos normales. En el cáncer de cérvix, se observó una alta expresión de MAD2 en diferentes conjuntos de datos. En el conjunto de datos de Biewenga cérvix reveló que la expresión de RNAm de MAD2 en el tejido del cáncer de cuello uterino era 2.559 veces mayor que la que se encuentra en el tejido cervical normal 1.26^{10} y de manera similar, encontramos que los niveles de expresión de RNAm de MAD2 en el conjunto Pyeon, en el cual estudian para distintos de cáncer asociados con VPH (multi-cáncer), aumentaron significativamente 4.861 veces en los tejidos del cáncer de cuello uterino (Figura 14).

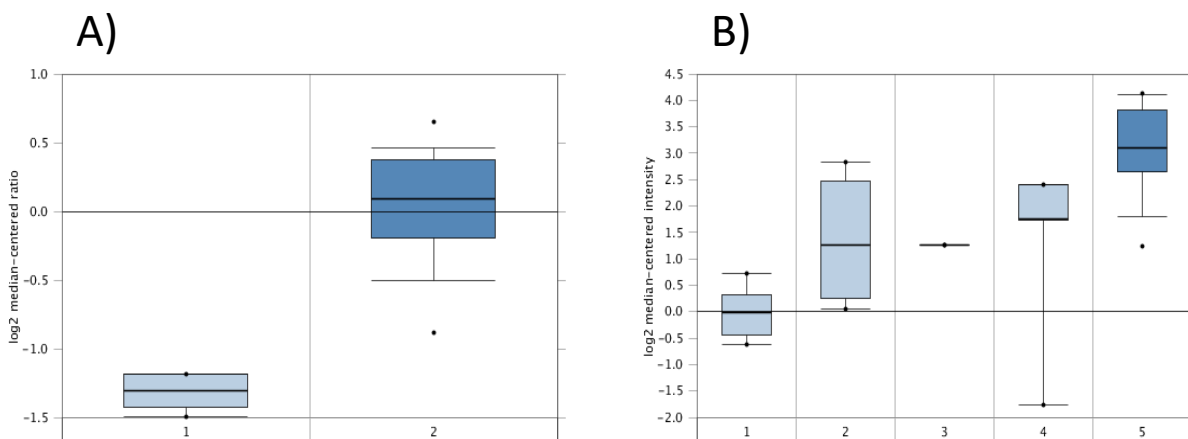


Figura 15. Análisis de expresión de MAD2 en muestras de cáncer cervical. A) Analisis tomado de Biewenga Cervix Statics Reporter: A_23_P92441. 1) Cérvix uterino 2) Carcinoma cervical de células escamosas (2008). B) Analisis en canceres asociados con VPH Pyeton Multi-cancer Statistics Repoter: 1554768_a_at. Leyenda 1. Cérvix uterino, 2. Cavidad oral, 3. Paladar, 4. Amigadala, 5. Cáncer cervical. (2007)

Después de explorar los niveles de expresión de RNAm de MAD2 *in silico*, a continuación, se construyó la red de interacción proteína de genes expresados

diferencialmente, que incluye 11 nodos, esto fue obtenido utilizando el programa STRING (Figura 15). y se también se realizó el análisis los principales elementos del enriquecimiento de gene ontology (GO); uno de ellos fue el proceso biológico, que mostró, los genes relevantes para MAD2 en el cáncer de cérvix, se asocian particularmente con: segregación mitótica de cromátidas hermanas, organización de microtúbulos del citoesqueleto, división nuclear, ciclo celular, puntos de control del ciclo celular mitótico, entre otras.

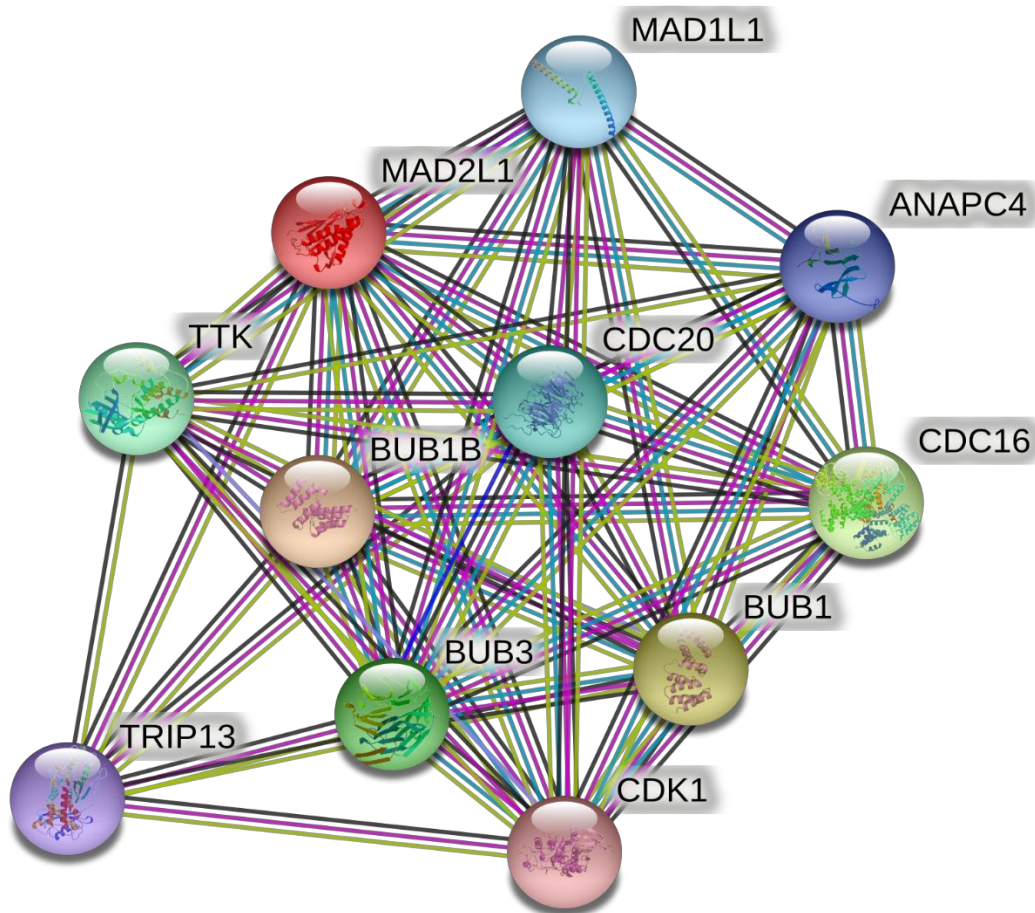


Figura 16. STRING - Redes de asociación de proteínas funcionales y su interacción con otras proteínas involucradas en el proceso mitótico.

Finalmente se utilizó el análisis de enriquecimiento de KEGG para comprender las vías de señalización relevantes entre ellas, está: como ya lo hemos estado mencionando es una proteína que está involucrada en el ciclo celular, es componente del punto de control del ensamblaje del huso que evita el inicio de la anafase hasta que todos los cromosomas estén correctamente alineados en la placa de metafase. Además, es requerido para la ejecución del punto de control mitótico que monitorea el proceso de unión cinetocoro-huso e inhibe la actividad del complejo promotor de anafase secuestrando CDC20 hasta que todos los cromosomas estén alineados en la placa de metafase.

DISCUSIÓN

En este estudio realizamos una revisión sistemática de la expresión de MAD2 en varios tipos de cáncer, evaluada en tejidos por IHC y su función como posible marcador diagnóstico, el periodo de búsqueda fue de los últimos 20 años. La identificación de nuevos biomarcadores es necesaria para el diagnóstico temprano del cáncer, esto permitirá ayudar al paciente con un mejor diagnóstico y tratamiento más especializado para la enfermedad, basado en la evidencia.

En la práctica clínica se utilizan varios marcadores para el diagnóstico de la enfermedad, un ejemplo de esto es la alfa-feto proteína (AFP) un biomarcador serológico en carcinoma hepatocelular, su aplicación clínica es el diagnóstico, estadificación, riesgo de recurrencia y seguimiento de la terapia (Kirwan et al., 2015). Otro claro ejemplo es el antígeno prostático específico (PSA), el cual se ha utilizado ampliamente para detectar en los hombres el cáncer de próstata (Kirwan et al., 2015). En el cáncer de mama se han propuesto pruebas genéticas como biomarcadores, las mutaciones en *BRCA1*, *BRCA2* y otros genes que tienen susceptibilidad en este cáncer y han servido para mejorar las estrategias de detección, prevención y marcadores para la terapia dirigida (Walsh, Nathanson, Couch, & Offit, 2016); (Tung & Garber, 2018) y aun cuando se ha avanzado en la búsqueda de biomarcadores, actualmente solo existen para algunos tipos de cáncer.

La proteína MAD2, se ha reportado que aumenta su expresión principalmente como se muestra en esta revisión, y puede considerarse un buen candidato a biomarcador tumoral, todo esto se ha demostrado a través estudios de expresión de MAD2 en

tejidos tumorales comparados con los tejidos normales, evaluado por IHC en algunos casos se observó que influye en la sensibilidad a fármacos quimioterapéuticos (Morishita et al., 2012); (Furlong et al., 2012). Así, favorece la supervivencia de los pacientes, se propone que esta proteína funciona como un oncogén y esto influye en la tumorigénesis de la enfermedad (Malumbres, 2011).

Para mejorar el diagnóstico, pronóstico o los posibles blancos terapéuticos, es necesaria la identificación de nuevos biomarcadores, que nos ayuden al diagnóstico oportuno, sería de gran importancia el identificar marcadores que principalmente contribuyan a un diagnóstico en etapas tempranas. Ya existen algunos biomarcadores, pero aún siguen siendo insuficientes para todos los tipos de cáncer, por eso es importante conocer a detalle más de estas moléculas y como es su participación en el proceso tumoral.

El crecimiento de las células tumorales se caracteriza por tener una proliferación celular descontrolada causada por un ciclo celular anormal y la expresión alterada de proteínas relacionadas con el ciclo celular que confiere a las células tumorales sus capacidades invasivas, metastásicas, farmacoresistentes y anti apoptóticas (K. Liu et al., 2020). En el estudio de la proteína MAD2, de acuerdo a los resultados presentados en esta revisión, se muestra que los niveles de expresión de MAD2 pueden influir en la promoción de cáncer, esto se observó en líneas celulares, el aumento en la expresión de MAD2 está asociada a la progresión, metástasis o incluso resistencia a fármacos (Alfarouk et al., 2015) (Bargiela-Iparraguirre et al., 2014), este proceso, es una forma de progresión del cáncer, dando así como resultado un fracaso terapéutico y eventualmente la muerte (Alfarouk et al., 2015) y

es una característica de cánceres muy agresivos, como por ejemplo el cáncer de mama triple negativo (Nedeljković & Damjanović, 2019).

Los complejos de proteínas de múltiples subunidades son responsables de la mayor parte de la funcionalidad de la célula (Ryan, Kennedy, Bajrami, Matallanas, & Lord, 2017). Sin embargo, puede existir una mala regulación de estos complejos, que son capaces de propagar o iniciar eventos de señalización fisiopatológica, lo que provoca la adquisición de características moleculares que contribuyen a la etiología o progresión de muchas enfermedades como el cáncer (Stefan, Troppmair, & Bister, 2018). Existe interacción con diferentes proteínas que están involucradas en mitosis, como BUB1, CDC20, ANAPC1, MAD1L1, CCNB1, RCF4 entre otras, las cuales pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad (Yang, Pan, & You, 2019) (Figura 8).

En esta revisión, también en varios artículos muestran la relación de MAD2 y otras proteínas como BRCA1, esta proteína se puede unir a OCT-1 y regula positivamente a MAD2 (R.-H. Wang, Yu, & Deng, 2004b). En cáncer de ovario se demostró que BRCA1 estaba fuertemente correlacionada con MAD2 en tejidos tumorales (Byrne et al., 2018).

Mientras que en el trabajo acerca de mesotelioma, demuestran que la pérdida de expresión del eje BRCA1/MAD2, confiere resistencia al fármaco vinorelbina, por lo que no hay mantenimiento de la integridad de los cromosomas (Busacca et al., 2021). Otra proteína que también tiene relación con MAD2 es p53, el conocido guardián del genoma. Se ha reportado que cuando existen defectos en MAD2 da

como resultado la aneuploidía y esto conduce a la acumulación de p53 y la detención del ciclo celular G₁ mediada por p21 (Narkar et al., 2021); (Burds, Lutum, & Sorger, 2005); (Schvartzman et al., 2011). Otro ejemplo es la proteína CDC20, del ciclo celular que participa en conjunto con MAD2; en estos trabajos se reporta una relación de la expresión de ambas proteínas y eso influyen en la tumorigénesis (Kato et al., 2012b), (Kim et al., 2019).

Los resultados reportados en estos trabajos reflejan el papel de BRCA1 en el mantenimiento de la integridad del genoma al interactuar con diferentes proteínas p53 y otros genes involucrados en el proceso mitótico e incluso la apoptosis (R.-H. Wang et al., 2004b). Con base en estos estudios y evidencias, consideramos que la proteína MAD2 debe estudiarse también en función a su asociación e interacción con otras proteínas, así como también evaluar la posibilidad de que esa asociación podría considerarse como un conjunto de genes/proteínas y podrían ser propuestas como biomarcadores.

Otros trabajos reportan también la expresión a nivel de proteína de MAD2, mediante otras metodologías diferentes a IHC, como ejemplo el estudio de cáncer gástrico, se realizó un análisis de Western blot, una metodología no incluida en nuestros criterios de inclusión, se observaron niveles elevados de la expresión de MAD2 (C. W. Wu et al., 2004), en otro estudio que no fue incluido en la revisión, fue en cáncer de esófago, la expresión de los dos genes y BUB1 utilizados entre ellos MAD2, fueron muy variables, se observaron aumentos y disminuciones del nivel de expresión de MAD2 (Doak et al., 2004). Consideramos importante en un futuro

realizar evaluaciones más precisas sobre la evidencia obtenida por IHC, evaluando como componentes principales la intensidad, el puntaje indicado, la asociación con el grado de tumor, el porcentaje de expresión, localización entre otros más con la finalidad de realizar un análisis más completo.

Un área de constante crecimiento en investigación en cáncer es la identificación de blancos terapéuticos y con ello, la búsqueda de moléculas inhibitoras (Goel, DeCristo, McAllister, & Zhao, 2018); (Otto & Sicinski, 2017); (Schwartz & Shah, 2005); (Bates et al., 2020a) y las proteínas participantes en mitosis no son la excepción para la terapia contra el cáncer. Los inhibidores que participan en procesos mitóticos tienen gran importancia. Se ha observado que es el proceso que presenta múltiples alteraciones, por ejemplo, las familias de proteínas Auroras y PLKs, estudiadas por el equipo de trabajo de Qi, et al., han propuesto 36 inhibidores duales, los cuales fueron diseñados, sintetizados y validados *in silico* y posteriormente se seleccionaron mediante ensayos *in vitro*, de esos un posible candidato: AAPK-25. Sus resultados mostraron que inhibió significativamente el desarrollo del crecimiento del cáncer de colon, al final de la administración en un modelo murino (Qi et al., 2019).

Es importante continuar con el diseño, selección y combinaciones, de inhibidores basadas en mecanismos que aprovechan la interrelación de señales activadas por la detención del ciclo celular, así como el desarrollo de fármacos centrados en la pediatría, para las enfermedades poco frecuentes de la infancia, como el cáncer (Mills, Kolb, & Sampson, 2017). Sería muy interesante seguir realizando estos

ensayos de manera *in vitro* e *in vivo* y posteriormente a pruebas clínicas en las diferentes fases.

En el trabajo de Henriques et al., es otro ejemplo, que propone un inhibidor para la proteína MAD2, denominado M2I-1, el cual se dirige a la unión de MAD2 y CDC20, y debilita la respuesta SAC en las células cancerosas tratadas con Paclitaxel, sin embargo, aún no se ha descrito su potencial terapéutico. Esto puede deberse a la inactivación completa de SAC es difícil de lograr *in vivo*, lo que podría favorecer la inestabilidad cromosómica y la resistencia a los agentes actuales dirigidos a los microtúbulos (MTAs) en las células (Henriques et al., 2019).

La búsqueda de biomarcadores ha implementado varios métodos moleculares básicos, actualmente con la genómica y la proteómica, tecnologías de alto rendimiento, existe la capacidad de examinar las enfermedades a nivel molecular, con más y mejores posibilidades, como por ejemplo los microarreglos, han revelado firmas de expresión génica del cáncer de mama, ya con uso potencial en la clínica y sería de gran utilidad apoyarse en estas tecnologías en algún futuro (Catherine & Jiri, 2011).

En esta revisión sistemática, se ha evidenciado, que a través de los años se ha realizado la investigación en el estudio de la proteína MAD2, la cual es detectada por varias metodologías, como son: IHQ, microarreglos, western blot, PCR en tiempo real, entre otras; especialmente en cáncer gástrico, (Tanaka et al., 2001); (L. Wang et al., 2009); (Enjoji, Iida, et al., 2009) y (Kim et al., 2019); en cáncer de pulmón (Kato et al., 2011); (Kato et al., 2012a); (Y. Wu et al., 2018) o

hepatocarcinoma celular (Y. Li et al., 2017), teniendo así datos importantes para poder demostrar que esta proteína puede ser un posible biomarcador de diagnóstico, y que valdría el esfuerzo en un futuro en revisar también a la proteína MAD2 como posible factor pronóstico o blanco terapéutico. Nosotros encontramos un estudio realizado por Byrne et al, trabajo importante de resaltar, que realizaron la asociación de MAD2 y su valor pronóstico en diferentes tipos de cáncer, reportando un metaanálisis, la expresión medida por IHC y enfocándolo fuertemente con las sobrevida y sobrevida libre de enfermedad en cáncer de ovario y compartiendo solo 13 artículos en común, con nuestro estudio (Byrne et al., 2017). En nuestros resultados de la revisión sistemática de los 26 incluidos en el análisis, la mayoría de los estudios (15), proponen a la proteína MAD2 como biomarcador pronóstico y en 6 estudios como biomarcador de terapia, mientras que en los últimos 5, propiamente no fue reportado si lo proponen o puede servir como algún tipo de biomarcador.

Existen estudios que generan controversia, respecto a esta proteína MAD2, en cáncer de ovario y síndrome mielodisplásico hay una baja expresión de esta proteína, y se asocia a que favorece la malignidad en esas patologías (Furlong et al., 2012); (Borges et al., 2018), incluso también en el cáncer de esófago, los resultados de expresión de la proteína en los tejidos eran variables no encontrando una asociación directa (Doak et al., 2004) y otro estudio realizado en muestras de colitis ulcerativa, una enfermedad crónica que se asocia con el incremento de riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, los autores demostraron que la expresión de MAD2 no presentó cambio (Burum-Auensen et al., 2007).

Nosotros consideramos que sería importante realizar más estudios, en un mayor número de muestras, para conocer más del papel que tiene MAD2, en estos tipos de cáncer, porque inclusive los reportes en el mismo tipo de cáncer, ovario como ejemplo los estudios en diferentes grupos, unos indicarían una función de oncogén y otros como los mencionados previamente aun con baja expresión favorecen al desarrollo de esas patologías (Furlong et al., 2012).

Como se mencionó previamente, en la actualidad existen en el mercado firmas de expresión genética, las cuales han demostrado tener valor pronóstico y ayudan al diagnóstico de algunos tipos de cáncer como por ejemplo Oncotype, MammaPrint® (Colomer et al., 2018), EndoPredict, pacientes con cáncer de mama (Filipits et al., 2011). ColoPrint®, un ejemplo para cáncer de colon, (Kopetz et al., 2015). En cáncer de tiroides firmas moleculares bien caracterizadas ThyroSeq, ThyraMIR, ThyraGenX (Glass et al., 2021), sin embargo, estas firmas moleculares no están disponibles para los sistemas de salud públicos, algunas de ellas se encuentran en sistemas de salud privados y en México y las compañías de seguros no cubren los costos de estos estudios.

Los tratamientos para el cáncer más utilizados funcionan eliminando o deteniendo la rápida división de las células cancerosas y evitando que se propaguen a otras partes del cuerpo (Pathania et al., 2021). Se necesita seguir investigando acerca de esta enfermedad, quizá no se pueda curar, sin embargo, podemos hacer de ella una condición crónica, en la cual los pacientes puedan tener una mejor calidad de vida. Según la organización panamericana de la salud (PAHO), está en enfermedad seguirá siendo un problema de salud pública y si las tendencias actuales persisten,

en 2030 la incidencia del cáncer aumentará en un 81% en los países poco desarrollados y en los países en vías de desarrollo aún más (PAHO, 2021).

Finalmente, los datos mostrados en esta revisión muestran que la expresión de MAD2 fue predominantemente alta y es posible proponerlo como marcador diagnóstico en varios tipos de cáncer. Esto comprueba que la expresión MAD2 sigue estando alterada y dan certeza a los resultados mostrados. Son necesarios más estudios de su participación puntual en el proceso de carcinogénesis.

En efecto si bien los reportes son la mayoría de ellos en cánceres que actualmente son los más frecuentes, como pulmón, hígado, ovario, gástrico, etc., es necesario la investigación en cánceres que no han sido reportados, para conocer su expresión y su posible función oncogénica, en los cánceres que son poco frecuentes o incluso en relación con la frecuencia poblacional de estudio. También, en las diferentes estrategias aplicadas, no aparece ningún reporte de MAD2. En cáncer de mama, existen al menos dos reportes que indican que la sobreexpresión simultánea de la proteína del punto de control mitótico MAD2 con Kras o Her2 en las glándulas mamarias de ratones adultos da como resultado una sobre activación del punto de control mitótico y un retraso en la aparición del tumor (Rowald et al., 2016). En otro estudio, en el cual seleccionaron a los genes MAD2L1 y BUB1, se realizaron experimentos en dos líneas celulares de cáncer de mama, MDA-MB-231 y MDA-MB-468, para evaluar la proliferación, migración e invasión celular y después de anular la expresión de estos genes, se encontró que la alta expresión de estos genes estaba asociada con tumores agresivos y una baja supervivencia libre de enfermedad (Z. Wang et al., 2015).

CONCLUSIÓN

Este trabajo sugiere que MAD2 es importante en la progresión de la mayoría de cánceres, aquí reportados y puede servir principalmente como blanco diagnóstico. Sin embargo, es necesario realizar más ensayos in vivo para verificar su participación como biomarcador y posteriormente realizar experimentos de fase clínica, para su posible aprobación y uso terapéutico.

PERSPECTIVAS

- Se hace necesario realizar experimentos *in vitro* e *in vivo* para demostrar que esta proteína puede servir como biomarcador en cáncer.
- Se propone realizar experimentos de esta proteína puede servir como biomarcador en cánceres ginecológicos.
- Se considera realizar un metaanálisis para tener resultados más sólidos en nuestra investigación acerca de la proteína MAD2.
- Realizar análisis de sobrevida mediante plataformas bioinformáticas disponibles en línea.

REFERENCIAS

Food and Drugs Administration (FDA). FDA Clears Breast Cancer Specific Molecular Prognostic Test [internet]. Silver Spring: FDA, 2007.

URL:<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/>

PressAnnouncements/2007/ucm108836.htm. Accessed: 2021-11-09. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/5tn0VebtB>)

Ferrer incode. Mammaprint [internet]. Barcelona: Ferrer incode, 2008.

URL:http://www.ferrerincode.com/es_ES/01Oncologia/

Oncologia_

Productos.asp?tipo=profesionales. Accessed: 2020-11-09. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/5tn1GLHnA>)

Pan American Health Organization (PAHO). Cancer [internet]. 2020. URL:

<https://www.paho.org/es/temas/cancer>. Accessed: 15-06-2021

Alfarouk, K. O., Stock, C.-M., Taylor, S., Walsh, M., Muddathir, A. K., Verduzco, D., . . . Rauch, C. (2015). Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp. *Cancer Cell International*, 15, 71-71. doi:10.1186/s12935-015-0221-1

Asghar, U., Witkiewicz, A. K., Turner, N. C., & Knudsen, E. S. (2015). The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(2), 130-146. doi:10.1038/nrd4504

Bargiela-Iparraguirre, J., Prado-Marchal, L., Pajuelo-Lozano, N., Jiménez, B., Perona, R., & Sánchez-Pérez, I. (2014). Mad2 and BubR1 modulates

tumourigenesis and paclitaxel response in MKN45 gastric cancer cells. *Cell Cycle*, 13(22), 3590-3601. doi:10.4161/15384101.2014.962952

Bates, M., Furlong, F., Gallagher, M. F., Spillane, C. D., McCann, A., O'Toole, S., & O'Leary, J. J. (2020a). Too MAD or not MAD enough: The duplicitous role of the spindle assembly checkpoint protein MAD2 in cancer. *Cancer Letters*, 469, 11-21. doi:10.1016/j.canlet.2019.10.005

Borah, N. A., & Reddy, M. M. (2021). Aurora Kinase B Inhibition: A Potential Therapeutic Strategy for Cancer. *Molecules*, 26(7). doi:10.3390/molecules26071981

Borges, D. D., dos Santos, A. W. A., Paier, C. R. K., Ribeiro, H. L., Costa, M. B., Farias, I. R., . . . Pinheiro, R. F. (2018). Prognostic importance of Aurora Kinases and mitotic spindle genes transcript levels in Myelodysplastic syndrome. *Leukemia Research*, 64, 61-70. doi:10.1016/j.leukres.2017.11.013

Burds, A. A., Lutum, A. S., & Sorger, P. K. (2005). Generating chromosome instability through the simultaneous deletion of *Mad2* and *p53*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(32), 11296-11301. doi:10.1073/pnas.0505053102

Burum-Auensen, E., Deangelis, P. M., Schjølberg, A. R., Røislien, J., Andersen, S. N., & Clausen, O. P. (2007). Spindle proteins Aurora A and BUB1B, but not Mad2, are aberrantly expressed in dysplastic mucosa of patients with longstanding ulcerative colitis. *J Clin Pathol*, 60(12), 1403-1408. doi:10.1136/jcp.2006.044305

Busacca, S., O'Regan, L., Singh, A., Sharkey, A. J., Dawson, A. G., Dzialo, J., . . . Fennell, D. A. (2021). BRCA1/MAD2L1 Deficiency Disrupts the Spindle Assembly Checkpoint to Confer Vinorelbine Resistance in Mesothelioma. *Molecular Cancer Therapeutics*, 20(2), 379-388. doi:10.1158/1535-7163.Mct-20-0363

Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, d'Assignies MS, Bergh J, Lidereau R, Ellis P, Harris A, Bogaerts J, Therasse P, Floore A, Amakrane M, Piette F, Rutgers E, Sotiriou C, Cardoso F, Piccart MJ; TRANSBIG Consortium. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2006 Sep 6;98(17):1183-92. doi: 10.1093/jnci/djj329. PMID: 16954471.

Byrne, T., Coleman, H. G., Cooper, J. A., McCluggage, W. G., McCann, A., & Furlong, F. (2017). The association between MAD2 and prognosis in cancer: a systematic review and meta-analyses. *Oncotarget*, 8(60), 102223-102234. doi:10.18632/oncotarget.18414

Byrne, T., Nelson, L., Beirne, J. P., Sharpe, D., Quinn, J. E., McCluggage, W. G., . . . Furlong, F. (2018). BRCA1 and MAD2 Are Coexpressed and Are Prognostic Indicators in Tubo-ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*, 28(3), 472-478. doi:10.1097/igc.0000000000001214

Catherine, P. R., & Jiri, A. (2011). Discovery of New Biomarkers of Cancer Using Proteomics Technology. *Current Cancer Therapy Reviews*, 7(2), 91-103. doi:http://dx.doi.org/10.2174/1573394711107020091

Chen, F., Liu, S., Zhou, Y., Shen, H., & Zuo, X. (2016). Mad2 overexpression is associated with high cell proliferation and reduced disease-free survival in primary gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology*, 21(7), 399-403. doi:10.1080/10245332.2015.1101970

Choi, J. W., Kim, Y., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2013). High expression of spindle assembly checkpoint proteins CDC20 and MAD2 is associated with poor prognosis in urothelial bladder cancer. *Virchows Archiv*, 463(5), 681-687. doi:10.1007/s00428-013-1473-6

Colomer, R., Aranda-López, I., Albanell, J., García-Caballero, T., Ciruelos, E., López-García, M., . . . Palacios-Calvo, J. (2018). Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clin Transl Oncol*, 20(7), 815-826. doi:10.1007/s12094-017-1800-5

Dixon, M. R., Haukoos, J. S., Udani, S. M., Naghi, J. J., Arnell, T. D., Kumar, R. R., & Stamos, M. J. (2003). Carcinoembryonic antigen and albumin predict survival in patients with advanced colon and rectal cancer. *Arch Surg*, 138(9), 962-966. doi:10.1001/archsurg.138.9.962

Doak, S. H., Jenkins, G. J., Parry, E. M., Griffiths, A. P., Baxter, J. N., & Parry, J. M. (2004). Differential expression of the MAD2, BUB1 and HSP27 genes in Barrett's oesophagus-their association with aneuploidy and neoplastic progression. *Mutat Res*, 547(1-2), 133-144. doi:10.1016/j.mrfmmm.2003.12.009

Dominguez-Brauer, C., Thu, K. L., Mason, J. M., Blaser, H., Bray, M. R., & Mak, T. W. (2015). Targeting Mitosis in Cancer: Emerging Strategies. *Mol Cell*, 60(4), 524-536. doi:10.1016/j.molcel.2015.11.006

Enjoji, M., Iida, S., Sugita, H., Ishikawa, T., Uetake, H., Inokuchi, M., . . . Sugihara, K. (2009). BubR1 and AURKB overexpression are associated with a favorable prognosis in gastric cancer. *Molecular Medicine Reports*, 2(4), 589-596. doi:10.3892/mmr-00000142

Felder, M., Kapur, A., Gonzalez-Bosquet, J., Horibata, S., Heintz, J., Albrecht, R., . . . Patankar, M. S. (2014). MUC16 (CA125): tumor biomarker to cancer therapy, a work in progress. *Mol Cancer*, 13, 129. doi:10.1186/1476-4598-13-129

Filipits, M., Rudas, M., Jakesz, R., Dubsky, P., Fitzal, F., Singer, C. F., . . . Gnant, M. (2011). A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res*, 17(18), 6012-6020. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-11-0926

Finn, R. S., Aleshin, A., & Slamon, D. J. (2016). Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers. *Breast Cancer Res*, 18(1), 17. doi:10.1186/s13058-015-0661-5

Forment, J. V., & O'Connor, M. J. (2018). Targeting the replication stress response in cancer. *Pharmacol Ther*, 188, 155-167. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.03.005

Fry, D. W., Harvey, P. J., Keller, P. R., Elliott, W. L., Meade, M., Trachet, E., . . . Toogood, P. L. (2004). Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 4/6 by PD

0332991 and associated antitumor activity in human tumor xenografts. *Mol Cancer Ther*, 3(11), 1427-1438.

Furlong, F., Fitzpatrick, P., O'Toole, S., Phelan, S., McGrogan, B., Maguire, A., . . . McCann, A. (2012). Low MAD2 expression levels associate with reduced progression-free survival in patients with high-grade serous epithelial ovarian cancer. *The Journal of pathology*, 226(5), 746-755. doi:10.1002/path.3035

Genga, K. R., Filho, F. D., Ferreira, F. V., de Sousa, J. C., Studart, F. S., Magalhães, S. M., . . . Pinheiro, R. F. (2015). Proteins of the mitotic checkpoint and spindle are related to chromosomal instability and unfavourable prognosis in patients with myelodysplastic syndrome. *J Clin Pathol*, 68(5), 381-387. doi:10.1136/jclinpath-2014-202728

Ghelli Luserna di Rorà, A., Cerchione, C., Martinelli, G., & Simonetti, G. (2020). A WEE1 family business: regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 126. doi:10.1186/s13045-020-00959-2

Glass, R. E., Marotti, J. D., Kerr, D. A., Levy, J. J., Vaickus, L. J., Gutmann, E. J., . . . Liu, X. (2021). Using molecular testing to improve the management of thyroid nodules with indeterminate cytology: an institutional experience with review of molecular alterations. *J Am Soc Cytopathol*. doi:10.1016/j.jasc.2021.08.004

Goel, S., DeCristo, M. J., McAllister, S. S., & Zhao, J. J. (2018). CDK4/6 Inhibition in Cancer: Beyond Cell Cycle Arrest. *Trends in Cell Biology*, 28(11), 911-925. doi:10.1016/j.tcb.2018.07.002

Henriques, A. C., Ribeiro, D., Pedrosa, J., Sarmiento, B., Silva, P. M. A., & Bousbaa, H. (2019). Mitosis inhibitors in anticancer therapy: When blocking the exit becomes a solution. *Cancer Letters*, 440-441, 64-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.10.005>

Henry, N. L., & Hayes, D. F. (2012). Cancer biomarkers. *Molecular Oncology*, 6(2), 140-146. doi:[10.1016/j.molonc.2012.01.010](https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.01.010)

Heredia, F. F., De Sousa, J. C., Junior, H. L. R., Carvalho, A. F., Magalhaes, S. M. M., & Pinheiro, R. F. (2014). Proteins related to the spindle and checkpoint mitotic emphasize the different pathogenesis of hypoplastic MDS. *Leukemia Research*, 38(2), 218-224. doi:[10.1016/j.leukres.2013.11.003](https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.11.003)

Hortobagyi, G. N., Stemmer, S. M., Burris, H. A., Yap, Y.-S., Sonke, G. S., Paluch-Shimon, S., . . . O'Shaughnessy, J. (2016). Ribociclib as First-Line Therapy for HR-Positive, Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(18), 1738-1748. doi:[10.1056/NEJMoa1609709](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609709)

Ji, W., Luo, Y., Ahmad, E., & Liu, S. T. (2018). Direct interactions of mitotic arrest deficient 1 (MAD1) domains with each other and MAD2 conformers are required for mitotic checkpoint signaling. *J Biol Chem*, 293(2), 484-496. doi:[10.1074/jbc.RA117.000555](https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000555)

Kato, T., Daigo, Y., Aragaki, M., Ishikawa, K., Sato, M., & Kaji, M. (2012a). Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients. *J Surg Oncol*, 106(4), 423-430. doi:[10.1002/jso.23109](https://doi.org/10.1002/jso.23109)

Kato, T., Daigo, Y., Aragaki, M., Ishikawa, K., Sato, M., Kondo, S., & Kaji, M. (2011). Overexpression of MAD2 predicts clinical outcome in primary lung cancer patients. *Lung Cancer*, 74(1), 124-131. doi:10.1016/j.lungcan.2011.01.025

Kim, Y., Choi, J. W., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2014a). MAD2 and CDC20 are Upregulated in High-grade Squamous Intraepithelial Lesions and Squamous Cell Carcinomas of the Uterine Cervix. *International Journal of Gynecological Pathology*, 33(5), 517-523. doi:10.1097/pgp.0000000000000082

Kim, Y., Choi, J. W., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2019). Spindle assembly checkpoint MAD2 and CDC20 overexpressions and cell-in-cell formation in gastric cancer and its precursor lesions. *Human Pathology*, 85, 174-183. doi:10.1016/j.humpath.2018.10.029

Kirwan, A., Utratna, M., O'Dwyer, M. E., Joshi, L., & Kilcoyne, M. (2015). Glycosylation-Based Serum Biomarkers for Cancer Diagnostics and Prognostics. *Biomed Res Int*, 2015, 490531. doi:10.1155/2015/490531

Kopetz, S., Tabernero, J., Rosenberg, R., Jiang, Z. Q., Moreno, V., Bachleitner-Hofmann, T., . . . Salazar, R. (2015). Genomic classifier ColoPrint predicts recurrence in stage II colorectal cancer patients more accurately than clinical factors. *Oncologist*, 20(2), 127-133. doi:10.1634/theoncologist.2014-0325

Lapenna, S., & Giordano, A. (2009). Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 8(7), 547-566. doi:10.1038/nrd2907

- Leal-Esteban, L. C., & Fajas, L. (2020). Cell cycle regulators in cancer cell metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1866(5), 165715. doi:10.1016/j.bbadis.2020.165715
- Li, G. Q., Li, H., & Zhang, H. F. (2003). Mad2 and p53 expression profiles in colorectal cancer and its clinical significance. *World journal of gastroenterology*, 9(9), 1972-1975. doi:10.3748/wjg.v9.i9.1972
- Li, L., Xu, D. B., Zhao, X. L., & Hao, T. Y. (2013a). Combination analysis of Bub1 and Mad2 expression in endometrial cancer: act as a prognostic factor in endometrial cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 288(1), 155-165. doi:10.1007/s00404-012-2706-7
- Li, Y., Bai, W., & Zhang, J. (2017). MiR-200c-5p suppresses proliferation and metastasis of human hepatocellular carcinoma (HCC) via suppressing MAD2L1. *Biomed Pharmacother*, 92, 1038-1044. doi:10.1016/j.biopha.2017.05.092
- Lin, J., Ma, L., Zhang, D., Gao, J., Jin, Y., Han, Z., & Lin, D. (2019). Tumour biomarkers-Tracing the molecular function and clinical implication. *Cell Prolif*, 52(3), e12589. doi:10.1111/cpr.12589
- Liu, K., Zheng, M., Lu, R., Du, J., Zhao, Q., Li, Z., . . . Zhang, S. (2020). The role of CDC25C in cell cycle regulation and clinical cancer therapy: a systematic review. *Cancer Cell Int*, 20, 213. doi:10.1186/s12935-020-01304-w
- Liu, X. (2015). Targeting Polo-Like Kinases: A Promising Therapeutic Approach for Cancer Treatment. *Transl Oncol*, 8(3), 185-195. doi:10.1016/j.tranon.2015.03.010

Lossos, I. S., Czerwinski, D. K., Wechser, M. A., & Levy, R. (2003). Optimization of quantitative real-time RT-PCR parameters for the study of lymphoid malignancies. *Leukemia*, 17(4), 789-795. doi:10.1038/sj.leu.2402880

Louie, A. D., Huntington, K., Carlsen, L., Zhou, L., & El-Deiry, W. S. (2021). Integrating Molecular Biomarker Inputs Into Development and Use of Clinical Cancer Therapeutics. *Frontiers in Pharmacology*, 12(2850). doi:10.3389/fphar.2021.747194

Luo, X., & Yu, H. (2008). Protein metamorphosis: the two-state behavior of Mad2. *Structure*, 16(11), 1616-1625. doi:10.1016/j.str.2008.10.002

Maia, A. R. R., Linder, S., Song, J.-Y., Vaarting, C., Boon, U., Pritchard, C. E. J., . . . Medema, R. H. (2018). Mps1 inhibitors synergise with low doses of taxanes in promoting tumour cell death by enhancement of errors in cell division. *British Journal of Cancer*, 118(12), 1586-1595. doi:10.1038/s41416-018-0081-2

Malumbres, M. (2011). Oncogene-Induced Mitotic Stress: p53 and pRb Get Mad Too. *Cancer Cell*, 19(6), 691-692. doi:10.1016/j.ccr.2011.05.023

Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2021). Cell cycle control in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. doi:10.1038/s41580-021-00404-3

McGrogan, B., Phelan, S., Fitzpatrick, P., Maguire, A., Prencipe, M., Brennan, D., . . . McCann, A. (2014). Spindle assembly checkpoint protein expression correlates with cellular proliferation and shorter time to recurrence in ovarian cancer. *Human Pathology*, 45(7), 1509-1519. doi:10.1016/j.humpath.2014.03.004

Mills, C. C., Kolb, E., & Sampson, V. B. (2017). Recent Advances of Cell-Cycle Inhibitor Therapies for Pediatric Cancer. *Cancer Research*, 77(23), 6489-6498. doi:10.1158/0008-5472.can-17-2066

Morishita, M., Sumi, T., Nakano, Y., Teramae, M., Fukuda, T., Nobeyama, H., . . . Ishiko, O. (2012). Expression of mitotic-arrest deficiency 2 predicts the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for locally advanced uterine cervical cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3(2), 341-346. doi:10.3892/etm.2011.407

Mullan, P. B., Gorski, J. J., & Harkin, D. P. (2006). BRCA1—A good predictive marker of drug sensitivity in breast cancer treatment? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1766(2), 205-216. doi:https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.07.001

Nakano, Y., Sumi, T., Morishita, M., Fukuda, T., Nobeyama, H., Yoshida, H., . . . Ishiko, O. (2012). Mitotic arrest deficiency 2 induces carcinogenesis in mucinous ovarian tumors. *Oncol Lett*, 3(2), 281-286. doi:10.3892/ol.2011.483

Nakano, Y., Sumi, T., Teramae, M., Morishita, M., Fukuda, T., Terada, H., . . . Ishiko, O. (2012). Expression of the mitotic-arrest deficiency 2 is associated with chemotherapy resistance in ovarian serous adenocarcinoma. *Oncol Rep*, 28(4), 1200-1204. doi:10.3892/or.2012.1907

Narkar, A., Johnson, B. A., Bharné, P., Zhu, J., Padmanaban, V., Biswas, D., . . . Li, R. (2021). On the role of p53 in the cellular response to aneuploidy. *Cell Reports*, 34(12), 108892. doi:https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108892

Nedeljković, M., & Damjanović, A. (2019). Mechanisms of Chemotherapy Resistance in Triple-Negative Breast Cancer-How We Can Rise to the Challenge. *Cells*, 8(9), 957. doi:10.3390/cells8090957

Nilsson, R., Björkegren, J., & Tegnér, J. (2009). On reliable discovery of molecular signatures. *BMC Bioinformatics*, 10(1), 38. doi:10.1186/1471-2105-10-38

Otake, K., Uchida, K., Tanaka, K., Koike, Y., Inoue, M., Matsushita, K., . . . Kusunoki, M. (2011). HsMAD2 mRNA expression may be a predictor of sensitivity to paclitaxel and survival in neuroblastoma. *Pediatric Surgery International*, 27(2), 217-223. doi:10.1007/s00383-010-2780-5

Otto, T., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93-115. doi:10.1038/nrc.2016.138

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., . . . Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Bmj*, 372, n71. doi:10.1136/bmj.n71

Park, P. E., Jeong, J. Y., Kim, S. Z., & Park, J. Y. (2013). MAD2 Expression in Ovarian Carcinoma: Different Expression Patterns and Levels among Various Types of Ovarian Carcinoma and Its Prognostic Significance in High-Grade Serous Carcinoma. *Korean journal of pathology*, 47(5), 418-425. doi:10.4132/KoreanJPathol.2013.47.5.418

Pathania, A. S., Prathipati, P., Abdul, B. A., Chava, S., Katta, S. S., Gupta, S. C., . . . Challagundla, K. B. (2021). COVID-19 and Cancer Comorbidity: Therapeutic

Opportunities and Challenges. *Theranostics*, 11(2), 731-753.

doi:10.7150/thno.51471

Penna, L. S., Henriques, J. A. P., & Bonatto, D. (2017). Anti-mitotic agents: Are they emerging molecules for cancer treatment? *Pharmacol Ther*, 173, 67-82.

doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.007

Poruk, K. E., Gay, D. Z., Brown, K., Mulvihill, J. D., Boucher, K. M., Scaife, C. L., . . . Mulvihill, S. J. (2013). The clinical utility of CA 19-9 in pancreatic adenocarcinoma: diagnostic and prognostic updates. *Curr Mol Med*, 13(3), 340-351.

doi:10.2174/1566524011313030003

Qi, B., Zhong, L., He, J., Zhang, H., Li, F., Wang, T., . . . Shi, J. (2019). Discovery of

Inhibitors of Aurora/PLK Targets as Anticancer Agents. *J Med Chem*, 62(17), 7697-7707. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b00353

Rader, J., Russell, M. R., Hart, L. S., Nakazawa, M. S., Belcastro, L. T., Martinez, D., . . . Maris, J. M. (2013). Dual CDK4/CDK6 inhibition induces cell-cycle arrest and senescence in neuroblastoma. *Clin Cancer Res*, 19(22), 6173-6182.

doi:10.1158/1078-0432.Ccr-13-1675

Rizzardi, C., Torelli, L., Schneider, M., Giudici, F., Zandona, L., Biasotto, M., . . . Melato, M. (2014). MAD2 expression in oral squamous cell carcinoma and its relationship to tumor grade and proliferation. *Anticancer Research*, 34(12), 7021-7027. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84918537019&partnerID=40&md5=7e70b03c39c0b51ab07d4ff351da950e>

80

Rowald, K., Mantovan, M., Passos, J., Buccitelli, C., Mardin, B. R., Korbel, J. O., . . . Sotillo, R. (2016). Negative Selection and Chromosome Instability Induced by Mad2 Overexpression Delay Breast Cancer but Facilitate Oncogene-Independent Outgrowth. *Cell Reports*, 15(12), 2679-2691. doi:10.1016/j.celrep.2016.05.048

Ryan, C. J., Kennedy, S., Bajrami, I., Matallanas, D., & Lord, C. J. (2017). A Compendium of Co-regulated Protein Complexes in Breast Cancer Reveals Collateral Loss Events. *Cell systems*, 5(4), 399-409.e395. doi:10.1016/j.cels.2017.09.011

Schulze, V. K., Klar, U., Kosemund, D., Wengner, A. M., Siemeister, G., Stöckigt, D., . . . Koppitz, M. (2020). Treating Cancer by Spindle Assembly Checkpoint Abrogation: Discovery of Two Clinical Candidates, BAY 1161909 and BAY 1217389, Targeting MPS1 Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(15), 8025-8042. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b02035

Schvartzman, J.-M., Duijf, P. H. G., Sotillo, R., Coker, C., & Benezra, R. (2011). Mad2 is a critical mediator of the chromosome instability observed upon Rb and p53 pathway inhibition. *Cancer Cell*, 19(6), 701-714. doi:10.1016/j.ccr.2011.04.017

Schwartz, G. K., & Shah, M. A. (2005). Targeting the Cell Cycle: A New Approach to Cancer Therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 23(36), 9408-9421. doi:10.1200/JCO.2005.01.5594

Stefan, E., Troppmair, J., & Bister, K. (2018). Chapter Three - Targeting the Architecture of Deregulated Protein Complexes in Cancer. In R. Donev (Ed.),

Advances in Protein Chemistry and Structural Biology (Vol. 111, pp. 101-132): Academic Press.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Suski, J. M., Braun, M., Strmiska, V., & Sicinski, P. (2021). Targeting cell-cycle machinery in cancer. *Cancer Cell*, 39(6), 759-778. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.03.010>

Tanaka, K., Mohri, Y., Ohi, M., Yokoe, T., Koike, Y., Morimoto, Y., . . . Kusunoki, M. (2008). Mitotic checkpoint genes, hsMAD2 and BubR1, in oesophageal squamous cancer cells and their association with 5-fluorouracil and cisplatin-based radiochemotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 20(8), 639-646. doi: [10.1016/j.clon.2008.06.010](https://doi.org/10.1016/j.clon.2008.06.010)

Tanaka, K., Nishioka, J., Kato, K., Nakamura, A., Mouri, T., Miki, C., . . . Nobori, T. (2001). Mitotic checkpoint protein hsMAD2 as a marker predicting liver metastasis of human gastric cancers. *Japanese Journal of Cancer Research*, 92(9), 952-958. doi:[10.1111/j.1349-7006.2001.tb01186.x](https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2001.tb01186.x)

Teixeira, J. H., Silva, P., Faria, J., Ferreira, I., Duarte, P., Delgado, M. L., . . . Bousbaa, H. (2015). Clinicopathologic significance of BubR1 and Mad2 overexpression in oral cancer. *Oral Dis*, 21(6), 713-720. doi:[10.1111/odi.12335](https://doi.org/10.1111/odi.12335)

Tischer, J., & Gergely, F. (2019). Anti-mitotic therapies in cancer. *J Cell Biol*, 218(1), 10-11. doi:10.1083/jcb.201808077

Tripathy, D., Im, S. A., Colleoni, M., Franke, F., Bardia, A., Harbeck, N., . . . Lu, Y. S. (2018). Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 19(7), 904-915. doi:10.1016/s1470-2045(18)30292-4

Tung, N. M., & Garber, J. E. (2018). BRCA1/2 testing: therapeutic implications for breast cancer management. *British Journal of Cancer*, 119(2), 141-152. doi:10.1038/s41416-018-0127-5

Walsh, M. F., Nathanson, K. L., Couch, F. J., & Offit, K. (2016). Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk. *Advances in experimental medicine and biology*, 882, 1-32. doi:10.1007/978-3-319-22909-6_1

Wang, L., Wang, J., Jin, Y., Zheng, J., Yang, Y., & Xi, X. (2019). Downregulation of Mad2 and BubR1 increase the malignant potential and nocodazole resistance by compromising spindle assembly checkpoint signaling pathway in cervical carcinogenesis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 45(12), 2407-2418. doi:https://doi.org/10.1111/jog.14120

Wang, L., Yin, F., Du, Y., Du, W., Chen, B., Zhang, Y., . . . Fan, D. (2009). MAD2 as a key component of mitotic checkpoint: A probable prognostic factor for gastric cancer. *Am J Clin Pathol*, 131(6), 793-801. doi:10.1309/ajcpbmhhd0hfcy8w

Wang, R.-H., Yu, H., & Deng, C.-X. (2004a). A requirement for breast-cancer-associated gene 1 (BRCA1) in the spindle checkpoint. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(49), 17108-17113. doi:10.1073/pnas.0407585101

Wang, Z., Katsaros, D., Shen, Y., Fu, Y., Canuto, E. M., Benedetto, C., . . . Yu, H. (2015). Biological and Clinical Significance of MAD2L1 and BUB1, Genes Frequently Appearing in Expression Signatures for Breast Cancer Prognosis. *PLOS ONE*, 10(8), e0136246. doi:10.1371/journal.pone.0136246

Weaver, B. A. (2014). How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Molecular biology of the cell*, 25(18), 2677-2681. doi:10.1091/mbc.E14-04-0916

Welch, H. G., & Albertsen, P. C. (2009). Prostate Cancer Diagnosis and Treatment After the Introduction of Prostate-Specific Antigen Screening: 1986–2005. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 101(19), 1325-1329. doi:10.1093/jnci/djp278

Whittaker, S. R., Mallinger, A., Workman, P., & Clarke, P. A. (2017). Inhibitors of cyclin-dependent kinases as cancer therapeutics. *Pharmacol Ther*, 173, 83-105. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.008

Williams, G. H., & Stoeber, K. (2012). The cell cycle and cancer. *The Journal of pathology*, 226(2), 352-364. doi:https://doi.org/10.1002/path.3022

Wu, C. W., Chi, C. W., & Huang, T. S. (2004). Elevated level of spindle checkpoint protein MAD2 correlates with cellular mitotic arrest, but not with aneuploidy and

clinicopathological characteristics in gastric cancer. *World journal of gastroenterology*, 10(22), 3240-3244. doi:10.3748/wjg.v10.i22.3240

Wu, L., & Qu, X. (2015). Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chem Soc Rev*, 44(10), 2963-2997. doi:10.1039/c4cs00370e

Wu, Y., Tan, L., Chen, J., Li, H., Ying, H., Jiang, Y., . . . Liu, C. (2018). MAD2 combined with mitotic spindle apparatus (MSA) and antacentromere antibody (ACA) for diagnosis of small cell lung cancer (SCLC). *Medical Science Monitor*, 24, 7541-7547. doi:10.12659/MSM.909772

Yang, W. X., Pan, Y. Y., & You, C. G. (2019). CDK1, CCNB1, CDC20, BUB1, MAD2L1, MCM3, BUB1B, MCM2, and RFC4 May Be Potential Therapeutic Targets for Hepatocellular Carcinoma Using Integrated Bioinformatic Analysis. *Biomed Research International*, 2019. doi:10.1155/2019/1245072

Zasadil, L. M., Andersen, K. A., Yeum, D., Rocque, G. B., Wilke, L. G., Tevaarwerk, A. J., . . . Weaver, B. A. (2014). Cytotoxicity of paclitaxel in breast cancer is due to chromosome missegregation on multipolar spindles. *Sci Transl Med*, 6(229), 229ra243. doi:10.1126/scitranslmed.3007965

Zhang, M., Zhang, L., Hei, R., Li, X., Cai, H., Wu, X., . . . Cai, C. (2021). CDK inhibitors in cancer therapy, an overview of recent development. *American journal of cancer research*, 11(5), 1913-1935. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34094661>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8167670/>

ANEXOS

I. INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (VPH) es uno de los factores de riesgo más comunes para el cáncer de cuello uterino (Ca-Cu), es un importante problema de salud de la mujer en todo el mundo. Los genes tempranos E6 y E7 participan en la interrupción del ciclo celular y su expresión constitutiva en tejidos premalignos y malignos. Existen proteínas relacionadas con el proceso mitótico, que se expresan diferencialmente durante el proceso y podrían ser biomarcadores en el diagnóstico precoz. La proteína MAD2 es necesaria para la transición de la metafase a la anafase, evitando que la célula progrese a la anafase del ciclo celular. En este análisis bioinformático de la expresión de MAD2, se observó una sobreexpresión que puede servir como factor de inestabilidad cromosómica en muchos cánceres asociados al VPH.

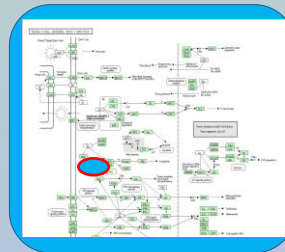
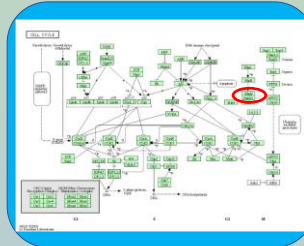
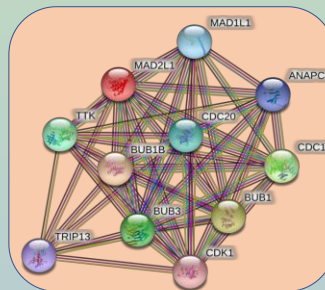
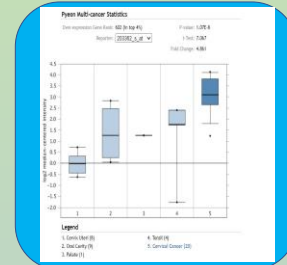
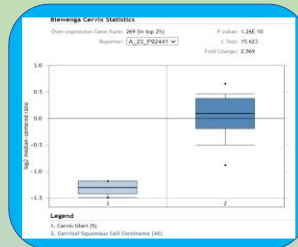
II. OBJETIVO

- Realizar un análisis bioinformático acerca de la expresión del gen y proteína MAD2 y ver si posiblemente puede servir como un posible biomarcador en el diagnóstico de cáncer cervical.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

- La expresión de MAD2 se evaluó inicialmente utilizando la base de datos de Oncomine.
- Se analizó el nivel de expresión proteica, también en otros tipos de cáncer asociados al VPH.
- Ubicación celular, función molecular, así como análisis de enriquecimiento de vías, interacción proteína-proteína y análisis de supervivencia utilizando herramientas como las bases de datos cBioportal, DAVID y Expression Omnibus (GEO).

IV. RESULTADOS



- Anotación funcional**
- ✓ proceso metabólico
 - ✓ proceso celular
 - ✓ proceso de un solo organismo
 - ✓ regulación del proceso biológico
 - ✓ regulación biológica organización o biogénesis de los componentes celulares

CONCLUSIÓN

El análisis bioinformático sugiere que MAD2 es importante en la progresión de Ca-Cu y puede servir como una posible diana terapéutica para este tipo de cáncer. Sin embargo, se necesitan ensayos y experimentos clínicos para verificar la participación como objetivos farmacológicos en el uso médico clínico.

REFERENCIAS

- Bates, M., F. Furlong, M. F. Gallagher, C. D. Spillane, A. McCann, S. O'Toole and J. J. O'Leary (2020). "Too MAD or not MAD enough: The duplicitous role of the spindle assembly checkpoint protein MAD2 in cancer." *Cancer Letters* 469: 11-21.
- Kahn, J. A. (2009). "HPV vaccination for the prevention of cervical intraepithelial neoplasia." *N Engl J Med* 361(3): 271-278.
- Wiltling, S. M. and R. D. M. Steenbergen (2016). "Molecular events leading to HPV - induced high grade neoplasia." *Papillomavirus Res*, 2: 85-88.
- Balasubramaniam, S. D., V. Balakrishnan, C. E. Oon and G. Kaur (2019). "Key Molecular Events in Cervical Cancer Development." *Medicina (Kaunas)* 55(7).

The Korean Cancer Association - Manuscript Submission

- **Manuscript ID:** 211940
- **Title:** MAD2 cell cycle protein as a diagnostic biomarker in cancer: A systematic review.
- **Running Title:** MAD2 cell cycle protein as a diagnostic biomarker
- **Article Type:** Review Article
- **KeyWords:** MAD2, Diagnostics, Biomarkers, Cancer, Translational Medicine
- **Authors:** ANA MARIA ESPINOSA
- **Institute:** Hospital General de México

FOR REVIEW

Thank you for your submission to "Cancer Research and Treatment"

The Korean Cancer Association <journal@cancer.or.kr>

Vie 03/12/2021 12:00 PM

Para: anaesga@hotmail.com <anaesga@hotmail.com>

Dear ANA MARIA ESPINOSA,

Thank you for submitting your manuscript to Cancer Research and Treatment.

Submitted manuscript will undergo pre-review on the adherence to the journal submission guideline.

Submission status will be notified to the correspondence following the provided information as soon as the preview process is completed.

If there be any changes in the contact information, please have it updated at the submission system.

Thank you for your cooperation.

Best regards,

Editorial Office

Cancer Research and Treatment

Korean Cancer Association

Tel: +82-2-3276-2410 / Fax: +82-2-792-1410

E-mail: journal@cancer.or.kr

Submission: <https://journal.cancer.or.kr>

E-journal: www.e-crt.org

2010 © Copyright The Korean Cancer Association.

REFERENCIAS

- Alfarouk, K. O., Stock, C.-M., Taylor, S., Walsh, M., Muddathir, A. K., Verduzco, D., . . . Rauch, C. (2015). Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp. *Cancer Cell International*, *15*, 71-71. doi:10.1186/s12935-015-0221-1
- Asghar, U., Witkiewicz, A. K., Turner, N. C., & Knudsen, E. S. (2015). The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *14*(2), 130-146. doi:10.1038/nrd4504
- Bargiela-Iparraguirre, J., Prado-Marchal, L., Pajuelo-Lozano, N., Jiménez, B., Perona, R., & Sánchez-Pérez, I. (2014). Mad2 and BubR1 modulates tumorigenesis and paclitaxel response in MKN45 gastric cancer cells. *Cell Cycle*, *13*(22), 3590-3601. doi:10.4161/15384101.2014.962952
- Bates, M., Furlong, F., Gallagher, M. F., Spillane, C. D., McCann, A., O'Toole, S., & O'Leary, J. J. (2020a). Too MAD or not MAD enough: The duplicitous role of the spindle assembly checkpoint protein MAD2 in cancer. *Cancer Letters*, *469*, 11-21. doi:10.1016/j.canlet.2019.10.005
- Bates, M., Furlong, F., Gallagher, M. F., Spillane, C. D., McCann, A., O'Toole, S., & O'Leary, J. J. (2020b). Too MAD or not MAD enough: The duplicitous role of the spindle assembly checkpoint protein MAD2 in cancer. *Cancer Lett*, *469*, 11-21. doi:10.1016/j.canlet.2019.10.005
- Borah, N. A., & Reddy, M. M. (2021). Aurora Kinase B Inhibition: A Potential Therapeutic Strategy for Cancer. *Molecules*, *26*(7). doi:10.3390/molecules26071981
- Borges, D. D. P., dos Santos, A. W. A., Paier, C. R. K., Ribeiro, H. L. J., Costa, M. B., Farias, I. R., . . . Pinheiro, R. F. (2018). Prognostic importance of Aurora Kinases and mitotic spindle genes transcript levels in Myelodysplastic syndrome. *Leukemia Research*, *64*, 61-70. doi:10.1016/j.leukres.2017.11.013
- Burds, A. A., Lutum, A. S., & Sorger, P. K. (2005). Generating chromosome instability through the simultaneous deletion of *Mad2* and *p53*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(32), 11296-11301. doi:10.1073/pnas.0505053102
- Burum-Auensen, E., Deangelis, P. M., Schjøberg, A. R., Røislien, J., Andersen, S. N., & Clausen, O. P. (2007). Spindle proteins Aurora A and BUB1B, but not Mad2, are aberrantly expressed in dysplastic mucosa of patients with longstanding ulcerative colitis. *J Clin Pathol*, *60*(12), 1403-1408. doi:10.1136/jcp.2006.044305
- Busacca, S., O'Regan, L., Singh, A., Sharkey, A. J., Dawson, A. G., Dzialo, J., . . . Fennell, D. A. (2021). BRCA1/MAD2L1 Deficiency Disrupts the Spindle Assembly Checkpoint to Confer Vinorelbine Resistance in Mesothelioma. *Molecular Cancer Therapeutics*, *20*(2), 379-388. doi:10.1158/1535-7163.Mct-20-0363
- Byrne, T., Coleman, H. G., Cooper, J. A., McCluggage, W. G., McCann, A., & Furlong, F. (2017). The association between MAD2 and prognosis in cancer: a systematic review and meta-analyses. *Oncotarget*, *8*(60), 102223-102234. doi:10.18632/oncotarget.18414
- Byrne, T., Nelson, L., Beirne, J. P., Sharpe, D., Quinn, J. E., McCluggage, W. G., . . . Furlong, F. (2018). BRCA1 and MAD2 Are Coexpressed and Are Prognostic Indicators in Tubo-ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*, *28*(3), 472-478. doi:10.1097/igc.0000000000001214

- Catherine, P. R., & Jiri, A. (2011). Discovery of New Biomarkers of Cancer Using Proteomics Technology. *Current Cancer Therapy Reviews*, 7(2), 91-103. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/1573394711107020091>
- Chen, F., Liu, S., Zhou, Y., Shen, H., & Zuo, X. (2016). Mad2 overexpression is associated with high cell proliferation and reduced disease-free survival in primary gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology*, 21(7), 399-403. doi:10.1080/10245332.2015.1101970
- Choi, J. W., Kim, Y., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2013). High expression of spindle assembly checkpoint proteins CDC20 and MAD2 is associated with poor prognosis in urothelial bladder cancer. *Virchows Archiv*, 463(5), 681-687. doi:10.1007/s00428-013-1473-6
- Colomer, R., Aranda-López, I., Albanell, J., García-Caballero, T., Ciruelos, E., López-García, M., . . . Palacios-Calvo, J. (2018). Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clin Transl Oncol*, 20(7), 815-826. doi:10.1007/s12094-017-1800-5
- Dixon, M. R., Haukoos, J. S., Udani, S. M., Naghi, J. J., Arnell, T. D., Kumar, R. R., & Stamos, M. J. (2003). Carcinoembryonic antigen and albumin predict survival in patients with advanced colon and rectal cancer. *Arch Surg*, 138(9), 962-966. doi:10.1001/archsurg.138.9.962
- Doak, S. H., Jenkins, G. J., Parry, E. M., Griffiths, A. P., Baxter, J. N., & Parry, J. M. (2004). Differential expression of the MAD2, BUB1 and HSP27 genes in Barrett's oesophagus-their association with aneuploidy and neoplastic progression. *Mutat Res*, 547(1-2), 133-144. doi:10.1016/j.mrfmmm.2003.12.009
- Enjoji, M., Iida, S., Sugita, H., Ishikawa, T., Uetake, H., Inokuchi, M., . . . Sugihara, K. (2009). BubR1 and AURKB overexpression are associated with a favorable prognosis in gastric cancer. *Molecular Medicine Reports*, 2(4), 589-596. doi:10.3892/mmr-00000142
- Enjoji, M., Iida, S., Sugita, H., Ishikawa, T., Uetake, H., Inokuchi, M., . . . Sugihara, K. (2009). BubR1 and AURKB overexpression are associated with a favorable prognosis in gastric cancer. *Molecular Medicine Reports*, 2(4), 589-596. doi:10.3892/mmr_00000142
- Felder, M., Kapur, A., Gonzalez-Bosquet, J., Horibata, S., Heintz, J., Albrecht, R., . . . Patankar, M. S. (2014). MUC16 (CA125): tumor biomarker to cancer therapy, a work in progress. *Mol Cancer*, 13, 129. doi:10.1186/1476-4598-13-129
- Filipits, M., Rudas, M., Jakesz, R., Dubsy, P., Fitzal, F., Singer, C. F., . . . Gnant, M. (2011). A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res*, 17(18), 6012-6020. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-11-0926
- Finn, R. S., Aleshin, A., & Slamon, D. J. (2016). Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers. *Breast Cancer Res*, 18(1), 17. doi:10.1186/s13058-015-0661-5
- Forment, J. V., & O'Connor, M. J. (2018). Targeting the replication stress response in cancer. *Pharmacol Ther*, 188, 155-167. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.03.005
- Fry, D. W., Harvey, P. J., Keller, P. R., Elliott, W. L., Meade, M., Trachet, E., . . . Toogood, P. L. (2004). Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 4/6 by PD 0332991 and associated antitumor activity in human tumor xenografts. *Mol Cancer Ther*, 3(11), 1427-1438.
- Furlong, F., Fitzpatrick, P., O'Toole, S., Phelan, S., McGrogan, B., Maguire, A., . . . McCann, A. (2012). Low MAD2 expression levels associate with reduced progression-free survival in patients with high-grade serous epithelial ovarian cancer. *The Journal of pathology*, 226(5), 746-755. doi:10.1002/path.3035
- Genga, K. R., Filho, F. D., Ferreira, F. V., de Sousa, J. C., Studart, F. S., Magalhães, S. M., . . . Pinheiro, R. F. (2015). Proteins of the mitotic checkpoint and spindle are related to

- chromosomal instability and unfavourable prognosis in patients with myelodysplastic syndrome. *J Clin Pathol*, 68(5), 381-387. doi:10.1136/jclinpath-2014-202728
- Ghelli Luserna di Rorà, A., Cerchione, C., Martinelli, G., & Simonetti, G. (2020). A WEE1 family business: regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 126. doi:10.1186/s13045-020-00959-2
- Glass, R. E., Marotti, J. D., Kerr, D. A., Levy, J. J., Vaickus, L. J., Gutmann, E. J., . . . Liu, X. (2021). Using molecular testing to improve the management of thyroid nodules with indeterminate cytology: an institutional experience with review of molecular alterations. *J Am Soc Cytopathol*. doi:10.1016/j.jasc.2021.08.004
- Goel, S., DeCristo, M. J., McAllister, S. S., & Zhao, J. J. (2018). CDK4/6 Inhibition in Cancer: Beyond Cell Cycle Arrest. *Trends in Cell Biology*, 28(11), 911-925. doi:10.1016/j.tcb.2018.07.002
- Henriques, A. C., Ribeiro, D., Pedrosa, J., Sarmiento, B., Silva, P. M. A., & Bousbaa, H. (2019). Mitosis inhibitors in anticancer therapy: When blocking the exit becomes a solution. *Cancer Letters*, 440-441, 64-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.10.005>
- Henry, N. L., & Hayes, D. F. (2012). Cancer biomarkers. *Molecular Oncology*, 6(2), 140-146. doi:10.1016/j.molonc.2012.01.010
- Heredia, F. F., De Sousa, J. C., Junior, H. L. R., Carvalho, A. F., Magalhaes, S. M. M., & Pinheiro, R. F. (2014). Proteins related to the spindle and checkpoint mitotic emphasize the different pathogenesis of hypoplastic MDS. *Leukemia Research*, 38(2), 218-224. doi:10.1016/j.leukres.2013.11.003
- Hortobagyi, G. N., Stemmer, S. M., Burris, H. A., Yap, Y.-S., Sonke, G. S., Paluch-Shimon, S., . . . O'Shaughnessy, J. (2016). Ribociclib as First-Line Therapy for HR-Positive, Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(18), 1738-1748. doi:10.1056/NEJMoa1609709
- Ji, W., Luo, Y., Ahmad, E., & Liu, S. T. (2018). Direct interactions of mitotic arrest deficient 1 (MAD1) domains with each other and MAD2 conformers are required for mitotic checkpoint signaling. *J Biol Chem*, 293(2), 484-496. doi:10.1074/jbc.RA117.000555
- Kato, T., Daigo, Y., Aragaki, M., Ishikawa, K., Sato, M., & Kaji, M. (2012a). Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients. *J Surg Oncol*, 106(4), 423-430. doi:10.1002/jso.23109
- Kato, T., Daigo, Y., Aragaki, M., Ishikawa, K., Sato, M., & Kaji, M. (2012b). Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients. *Journal of Surgical Oncology*, 106(4), 423-430. doi:10.1002/jso.23109
- Kato, T., Daigo, Y., Aragaki, M., Ishikawa, K., Sato, M., Kondo, S., & Kaji, M. (2011). Overexpression of MAD2 predicts clinical outcome in primary lung cancer patients. *Lung Cancer*, 74(1), 124-131. doi:10.1016/j.lungcan.2011.01.025
- Kim, Y., Choi, J. W., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2014a). MAD2 and CDC20 are upregulated in high-grade squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol*, 33(5), 517-523. doi:10.1097/pgp.0000000000000082
- Kim, Y., Choi, J. W., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2014b). MAD2 and CDC20 are Upregulated in High-grade Squamous Intraepithelial Lesions and Squamous Cell Carcinomas of the Uterine Cervix. *International Journal of Gynecological Pathology*, 33(5), 517-523. doi:10.1097/pgp.0000000000000082
- Kim, Y., Choi, J. W., Lee, J. H., & Kim, Y. S. (2019). Spindle assembly checkpoint MAD2 and CDC20 overexpressions and cell-in-cell formation in gastric cancer and its precursor lesions. *Human Pathology*, 85, 174-183. doi:10.1016/j.humpath.2018.10.029

- Kopetz, S., Tabernero, J., Rosenberg, R., Jiang, Z. Q., Moreno, V., Bachleitner-Hofmann, T., . . . Salazar, R. (2015). Genomic classifier ColoPrint predicts recurrence in stage II colorectal cancer patients more accurately than clinical factors. *Oncologist*, *20*(2), 127-133. doi:10.1634/theoncologist.2014-0325
- Li, G. Q., Li, H., & Zhang, H. F. (2003). Mad2 and p53 expression profiles in colorectal cancer and its clinical significance. *World journal of gastroenterology*, *9*(9), 1972-1975. doi:10.3748/wjg.v9.i9.1972
- Li, L., Xu, D. B., Zhao, X. L., & Hao, T. Y. (2013a). Combination analysis of Bub1 and Mad2 expression in endometrial cancer: act as a prognostic factor in endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet*, *288*(1), 155-165. doi:10.1007/s00404-012-2706-7
- Li, L., Xu, D. B., Zhao, X. L., & Hao, T. Y. (2013b). Combination analysis of Bub1 and Mad2 expression in endometrial cancer: act as a prognostic factor in endometrial cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, *288*(1), 155-165. doi:10.1007/s00404-012-2706-7
- Li, Y., Bai, W., & Zhang, J. (2017). MiR-200c-5p suppresses proliferation and metastasis of human hepatocellular carcinoma (HCC) via suppressing MAD2L1. *Biomed Pharmacother*, *92*, 1038-1044. doi:10.1016/j.biopha.2017.05.092
- Lin, J., Ma, L., Zhang, D., Gao, J., Jin, Y., Han, Z., & Lin, D. (2019). Tumour biomarkers-Tracing the molecular function and clinical implication. *Cell Prolif*, *52*(3), e12589. doi:10.1111/cpr.12589
- Liu, K., Zheng, M., Lu, R., Du, J., Zhao, Q., Li, Z., . . . Zhang, S. (2020). The role of CDC25C in cell cycle regulation and clinical cancer therapy: a systematic review. *Cancer Cell International*, *20*, 213-213. doi:10.1186/s12935-020-01304-w
- Liu, X. (2015). Targeting Polo-Like Kinases: A Promising Therapeutic Approach for Cancer Treatment. *Transl Oncol*, *8*(3), 185-195. doi:10.1016/j.tranon.2015.03.010
- Lossos, I. S., Czerwinski, D. K., Wechser, M. A., & Levy, R. (2003). Optimization of quantitative real-time RT-PCR parameters for the study of lymphoid malignancies. *Leukemia*, *17*(4), 789-795. doi:10.1038/sj.leu.2402880
- Louie, A. D., Huntington, K., Carlsen, L., Zhou, L., & El-Deiry, W. S. (2021). Integrating Molecular Biomarker Inputs Into Development and Use of Clinical Cancer Therapeutics. *Frontiers in Pharmacology*, *12*(2850). doi:10.3389/fphar.2021.747194
- Luo, X., & Yu, H. (2008). Protein metamorphosis: the two-state behavior of Mad2. *Structure*, *16*(11), 1616-1625. doi:10.1016/j.str.2008.10.002
- Maia, A. R. R., Linder, S., Song, J.-Y., Vaarting, C., Boon, U., Pritchard, C. E. J., . . . Medema, R. H. (2018). Mps1 inhibitors synergise with low doses of taxanes in promoting tumour cell death by enhancement of errors in cell division. *British Journal of Cancer*, *118*(12), 1586-1595. doi:10.1038/s41416-018-0081-2
- Malumbres, M. (2011). Oncogene-Induced Mitotic Stress: p53 and pRb Get Mad Too. *Cancer Cell*, *19*(6), 691-692. doi:10.1016/j.ccr.2011.05.023
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2021). Cell cycle control in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. doi:10.1038/s41580-021-00404-3
- McGrogan, B., Phelan, S., Fitzpatrick, P., Maguire, A., Prencipe, M., Brennan, D., . . . McCann, A. (2014). Spindle assembly checkpoint protein expression correlates with cellular proliferation and shorter time to recurrence in ovarian cancer. *Human Pathology*, *45*(7), 1509-1519. doi:10.1016/j.humpath.2014.03.004
- Mills, C. C., Kolb, E., & Sampson, V. B. (2017). Recent Advances of Cell-Cycle Inhibitor Therapies for Pediatric Cancer. *Cancer Research*, *77*(23), 6489-6498. doi:10.1158/0008-5472.can-17-2066

- Morishita, M., Sumi, T., Nakano, Y., Teramae, M., Fukuda, T., Nobeyama, H., . . . Ishiko, O. (2012). Expression of mitotic-arrest deficiency 2 predicts the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for locally advanced uterine cervical cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3(2), 341-346. doi:10.3892/etm.2011.407
- Mullan, P. B., Gorski, J. J., & Harkin, D. P. (2006). BRCA1—A good predictive marker of drug sensitivity in breast cancer treatment? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1766(2), 205-216. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.07.001>
- Nakano, Y., Sumi, T., Morishita, M., Fukuda, T., Nobeyama, H., Yoshida, H., . . . Ishiko, O. (2012). Mitotic arrest deficiency 2 induces carcinogenesis in mucinous ovarian tumors. *Oncol Lett*, 3(2), 281-286. doi:10.3892/ol.2011.483
- Nakano, Y., Sumi, T., Teramae, M., Morishita, M., Fukuda, T., Terada, H., . . . Ishiko, O. (2012). Expression of the mitotic-arrest deficiency 2 is associated with chemotherapy resistance in ovarian serous adenocarcinoma. *Oncol Rep*, 28(4), 1200-1204. doi:10.3892/or.2012.1907
- Narkar, A., Johnson, B. A., Bharne, P., Zhu, J., Padmanaban, V., Biswas, D., . . . Li, R. (2021). On the role of p53 in the cellular response to aneuploidy. *Cell Reports*, 34(12), 108892. doi:<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108892>
- Nedeljković, M., & Damjanović, A. (2019). Mechanisms of Chemotherapy Resistance in Triple-Negative Breast Cancer-How We Can Rise to the Challenge. *Cells*, 8(9), 957. doi:10.3390/cells8090957
- Nilsson, R., Björkegren, J., & Tegnér, J. (2009). On reliable discovery of molecular signatures. *BMC Bioinformatics*, 10(1), 38. doi:10.1186/1471-2105-10-38
- Otake, K., Uchida, K., Tanaka, K., Koike, Y., Inoue, M., Matsushita, K., . . . Kusunoki, M. (2011). HsMAD2 mRNA expression may be a predictor of sensitivity to paclitaxel and survival in neuroblastoma. *Pediatric Surgery International*, 27(2), 217-223. doi:10.1007/s00383-010-2780-5
- Otto, T., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93-115. doi:10.1038/nrc.2016.138
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., . . . Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Bmj*, 372, n71. doi:10.1136/bmj.n71
- Park, P. E., Jeong, J. Y., Kim, S. Z., & Park, J. Y. (2013). MAD2 Expression in Ovarian Carcinoma: Different Expression Patterns and Levels among Various Types of Ovarian Carcinoma and Its Prognostic Significance in High-Grade Serous Carcinoma. *Korean journal of pathology*, 47(5), 418-425. doi:10.4132/KoreanJPathol.2013.47.5.418
- Pathania, A. S., Prathipati, P., Abdul, B. A., Chava, S., Katta, S. S., Gupta, S. C., . . . Challagundla, K. B. (2021). COVID-19 and Cancer Comorbidity: Therapeutic Opportunities and Challenges. *Theranostics*, 11(2), 731-753. doi:10.7150/thno.51471
- Penna, L. S., Henriques, J. A. P., & Bonatto, D. (2017). Anti-mitotic agents: Are they emerging molecules for cancer treatment? *Pharmacol Ther*, 173, 67-82. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.007
- Poruk, K. E., Gay, D. Z., Brown, K., Mulvihill, J. D., Boucher, K. M., Scaife, C. L., . . . Mulvihill, S. J. (2013). The clinical utility of CA 19-9 in pancreatic adenocarcinoma: diagnostic and prognostic updates. *Curr Mol Med*, 13(3), 340-351. doi:10.2174/1566524011313030003
- Qi, B., Zhong, L., He, J., Zhang, H., Li, F., Wang, T., . . . Shi, J. (2019). Discovery of Inhibitors of Aurora/PLK Targets as Anticancer Agents. *J Med Chem*, 62(17), 7697-7707. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b00353

- Rader, J., Russell, M. R., Hart, L. S., Nakazawa, M. S., Belcastro, L. T., Martinez, D., . . . Maris, J. M. (2013). Dual CDK4/CDK6 inhibition induces cell-cycle arrest and senescence in neuroblastoma. *Clin Cancer Res*, *19*(22), 6173-6182. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-13-1675
- Rizzardi, C., Torelli, L., Schneider, M., Giudici, F., Zandona, L., Biasotto, M., . . . Melato, M. (2014). MAD2 expression in oral squamous cell carcinoma and its relationship to tumor grade and proliferation. *Anticancer Research*, *34*(12), 7021-7027. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84918537019&partnerID=40&md5=7e70b03c39c0b51ab07d4ff351da950e>
- Rowald, K., Mantovan, M., Passos, J., Buccitelli, C., Mardin, B. R., Korbel, J. O., . . . Sotillo, R. (2016). Negative Selection and Chromosome Instability Induced by Mad2 Overexpression Delay Breast Cancer but Facilitate Oncogene-Independent Outgrowth. *Cell Reports*, *15*(12), 2679-2691. doi:10.1016/j.celrep.2016.05.048
- Ryan, C. J., Kennedy, S., Bajrami, I., Matallanas, D., & Lord, C. J. (2017). A Compendium of Co-regulated Protein Complexes in Breast Cancer Reveals Collateral Loss Events. *Cell systems*, *5*(4), 399-409.e395. doi:10.1016/j.cels.2017.09.011
- Schulze, V. K., Klar, U., Kosemund, D., Wengner, A. M., Siemeister, G., Stöckigt, D., . . . Koppitz, M. (2020). Treating Cancer by Spindle Assembly Checkpoint Abrogation: Discovery of Two Clinical Candidates, BAY 1161909 and BAY 1217389, Targeting MPS1 Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry*, *63*(15), 8025-8042. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b02035
- Schwartzman, J.-M., Duijf, P. H. G., Sotillo, R., Coker, C., & Benezra, R. (2011). Mad2 is a critical mediator of the chromosome instability observed upon Rb and p53 pathway inhibition. *Cancer Cell*, *19*(6), 701-714. doi:10.1016/j.ccr.2011.04.017
- Schwartz, G. K., & Shah, M. A. (2005). Targeting the Cell Cycle: A New Approach to Cancer Therapy. *Journal of Clinical Oncology*, *23*(36), 9408-9421. doi:10.1200/JCO.2005.01.5594
- Stefan, E., Troppmair, J., & Bister, K. (2018). Chapter Three - Targeting the Architecture of Deregulated Protein Complexes in Cancer. In R. Donev (Ed.), *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (Vol. 111, pp. 101-132): Academic Press.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209-249. doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Suski, J. M., Braun, M., Strmiska, V., & Sicinski, P. (2021). Targeting cell-cycle machinery in cancer. *Cancer Cell*, *39*(6), 759-778. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.03.010>
- Tanaka, K., Mohri, Y., Ohi, M., Yokoe, T., Koike, Y., Morimoto, Y., . . . Kusunoki, M. (2008). Mitotic checkpoint genes, hsMAD2 and BubR1, in oesophageal squamous cancer cells and their association with 5-fluorouracil and cisplatin-based radiochemotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, *20*(8), 639-646. doi:10.1016/j.clon.2008.06.010
- Tanaka, K., Nishioka, J., Kato, K., Nakamura, A., Mouri, T., Miki, C., . . . Nobori, T. (2001). Mitotic checkpoint protein hsMAD2 as a marker predicting liver metastasis of human gastric cancers. *Japanese Journal of Cancer Research*, *92*(9), 952-958. doi:10.1111/j.1349-7006.2001.tb01186.x
- Teixeira, J. H., Silva, P., Faria, J., Ferreira, I., Duarte, P., Delgado, M. L., . . . Bousbaa, H. (2015). Clinicopathologic significance of BubR1 and Mad2 overexpression in oral cancer. *Oral Dis*, *21*(6), 713-720. doi:10.1111/odi.12335
- Tischer, J., & Gergely, F. (2019). Anti-mitotic therapies in cancer. *J Cell Biol*, *218*(1), 10-11. doi:10.1083/jcb.201808077

- Tripathy, D., Im, S. A., Colleoni, M., Franke, F., Bardia, A., Harbeck, N., . . . Lu, Y. S. (2018). Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, *19*(7), 904-915. doi:10.1016/s1470-2045(18)30292-4
- Tung, N. M., & Garber, J. E. (2018). BRCA1/2 testing: therapeutic implications for breast cancer management. *British Journal of Cancer*, *119*(2), 141-152. doi:10.1038/s41416-018-0127-5
- Walsh, M. F., Nathanson, K. L., Couch, F. J., & Offit, K. (2016). Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk. *Advances in experimental medicine and biology*, *882*, 1-32. doi:10.1007/978-3-319-22909-6_1
- Wang, L., Wang, J., Jin, Y., Zheng, J., Yang, Y., & Xi, X. (2019). Downregulation of Mad2 and BubR1 increase the malignant potential and nocodazole resistance by compromising spindle assembly checkpoint signaling pathway in cervical carcinogenesis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, *45*(12), 2407-2418. doi:<https://doi.org/10.1111/jog.14120>
- Wang, L., Yin, F., Du, Y., Du, W., Chen, B., Zhang, Y., . . . Fan, D. (2009). MAD2 as a key component of mitotic checkpoint: A probable prognostic factor for gastric cancer. *Am J Clin Pathol*, *131*(6), 793-801. doi:10.1309/ajcpbmhhd0hfcy8w
- Wang, R.-H., Yu, H., & Deng, C.-X. (2004a). A requirement for breast-cancer-associated gene 1 (BRCA1) in the spindle checkpoint. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(49), 17108. doi:10.1073/pnas.0407585101
- Wang, R.-H., Yu, H., & Deng, C.-X. (2004b). A requirement for breast-cancer-associated gene 1 (BRCA1) in the spindle checkpoint. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(49), 17108-17113. doi:10.1073/pnas.0407585101
- Wang, Z., Katsaros, D., Shen, Y., Fu, Y., Canuto, E. M., Benedetto, C., . . . Yu, H. (2015). Biological and Clinical Significance of MAD2L1 and BUB1, Genes Frequently Appearing in Expression Signatures for Breast Cancer Prognosis. *PLOS ONE*, *10*(8), e0136246. doi:10.1371/journal.pone.0136246
- Weaver, B. A. (2014). How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Molecular biology of the cell*, *25*(18), 2677-2681. doi:10.1091/mbc.E14-04-0916
- Welch, H. G., & Albertsen, P. C. (2009). Prostate Cancer Diagnosis and Treatment After the Introduction of Prostate-Specific Antigen Screening: 1986–2005. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, *101*(19), 1325-1329. doi:10.1093/jnci/djp278
- Whittaker, S. R., Mallinger, A., Workman, P., & Clarke, P. A. (2017). Inhibitors of cyclin-dependent kinases as cancer therapeutics. *Pharmacol Ther*, *173*, 83-105. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.008
- Williams, G. H., & Stoeber, K. (2012). The cell cycle and cancer. *The Journal of pathology*, *226*(2), 352-364. doi:<https://doi.org/10.1002/path.3022>
- Wu, C. W., Chi, C. W., & Huang, T. S. (2004). Elevated level of spindle checkprotein MAD2 correlates with cellular mitotic arrest, but not with aneuploidy and clinicopathological characteristics in gastric cancer. *World journal of gastroenterology*, *10*(22), 3240-3244. doi:10.3748/wjg.v10.i22.3240
- Wu, L., & Qu, X. (2015). Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chem Soc Rev*, *44*(10), 2963-2997. doi:10.1039/c4cs00370e
- Wu, Y., Tan, L., Chen, J., Li, H., Ying, H., Jiang, Y., . . . Liu, C. (2018). MAD2 combined with mitotic spindle apparatus (MSA) and anticentromere antibody (ACA) for diagnosis of small cell lung cancer (SCLC). *Medical Science Monitor*, *24*, 7541-7547. doi:10.12659/MSM.909772
- Yang, W. X., Pan, Y. Y., & You, C. G. (2019). CDK1, CCNB1, CDC20, BUB1, MAD2L1, MCM3, BUB1B, MCM2, and RFC4 May Be Potential Therapeutic Targets for Hepatocellular Carcinoma

Using Integrated Bioinformatic Analysis. *Biomed Research International*, 2019.
doi:10.1155/2019/1245072

Zasadil, L. M., Andersen, K. A., Yeum, D., Rocque, G. B., Wilke, L. G., Tevaarwerk, A. J., . . . Weaver, B. A. (2014). Cytotoxicity of paclitaxel in breast cancer is due to chromosome missegregation on multipolar spindles. *Sci Transl Med*, 6(229), 229ra243.
doi:10.1126/scitranslmed.3007965

Zhang, M., Zhang, L., Hei, R., Li, X., Cai, H., Wu, X., . . . Cai, C. (2021). CDK inhibitors in cancer therapy, an overview of recent development. *American journal of cancer research*, 11(5), 1913-1935. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34094661>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8167670/>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00239

Matrícula: 21938 1680

La proteína MAD2 como posible biomarcador diagnóstico en cáncer

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 10:00 horas del día 15 del mes de diciembre del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

- DR. HECTOR FERNANDO SERRANO
- DRA. ELSA CERVANTES RIOS
- DRA. ROXANA URI MIRANDA LABRA
- DRA. ARIANNA RODRIGUEZ CAL Y MAYOR



DANIELA GALINDO ALCAZAR
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

DE: DANIELA GALINDO ALCAZAR

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTE

DR. HECTOR FERNANDO SERRANO

VOCAL

DRA. ELSA CERVANTES RIOS

VOCAL

DRA. ROXANA URI MIRANDA LABRA

SECRETARIA

DRA. ARIANNA RODRIGUEZ CAL Y MAYOR