

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Cancro do Pâncreas. Eventos Glicómicos**

**Margarida Tomé Santos**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Cristina  
Ferreira da Conceição Ribeiro, Professora auxiliar FFUL

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2022**



**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Cancro do Pâncreas. Eventos Glicómicos**

**Margarida Tomé Santos**

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de  
Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Cristina Ferreira da  
Conceição Ribeiro, Professora auxiliar FFUL

**2022**





# Agradecimentos

A realização desta tese, bem como de todo o mestrado integrado, conclui uma etapa importante na minha vida e não teria sido possível sem o apoio incondicional da minha família, orientadora e amigos.

À professora Doutora Ana Cristina Ribeiro, agradeço por toda a sua dedicação, disponibilidade e por tudo o que me ensinou. Obrigada por todo o seu apoio e orientação durante estes meses. Não teria sido possível sem a professora.

À minha família, que sempre acreditou em mim e sempre me motivou nos momentos mais difíceis, obrigada pela paciência, compreensão, apoio e por saber que posso sempre contar convosco.

Aos meus amigos, por todas as palavras amigas nos momentos certos e nunca me deixarem desistir.

# Resumo

O cancro do pâncreas, devido à incidência e mortalidade crescentes, bem como à dificuldade tanto no diagnóstico precoce como na terapêutica eficaz, natureza refratária da doença avançada e pior prognóstico entre todos os tipos de cancro, tem-se revelado como uma doença extremamente desafiante, mas também a mais temível, nos dias de hoje.

O estudo da estrutura, biossíntese e biologia dos glicanos, abriu uma nova fronteira da biologia molecular - a Glicobiologia, que, atualmente, desempenha um papel fulcral na investigação do cancro. A aberração glicómica constitui uma característica universal de todas as células cancerígenas, participando nos mais diversos mecanismos como mediadora de todas as etapas da progressão tumoral. No entanto, a vasta complexidade associada aos eventos de glicosilação impulsiona a escassez de tais pesquisas nesta área. Apesar de muitas mutações-chave, vias de sinalização e interações tumor-microambiente ainda não terem sido bem esclarecidas, a compreensão e investigação com resultados alcançados das mesmas tem desvendado o acesso a uma ampla gama de alvos de elevado interesse diagnóstico e terapêutico.

A presente monografia descreve o significado biológico dos glicanos no cancro do pâncreas e apresenta a mais recente evidência científica relativa ao valor e relevância de explorar os eventos glicómicos nesta doença mortal.

**Palavras-chave:** Cancro Pancreático; Glicanos; Glicosilação; Aberração Glicómica.

# Abstract

Pancreatic cancer, due to the increasing incidence and mortality, as well as the difficulty in both early diagnosis and effective therapy, refractory nature of advanced disease and the worst prognosis among all types of cancer, has proved to be an extremely challenging disease, but also the most fearsome today.

The study of the structure, biosynthesis and biology of glycans has opened a new frontier in molecular biology - Glycobiology, which currently plays a key role in cancer research. Glycomic aberration is a universal feature of all cancer cells, participating in a wide variety of mechanisms as a mediator of all stages of tumor progression. However, the vast complexity associated with glycomic events causes the scarcity of this field of research. Despite many key mutations, signaling pathways and tumor-microenvironment interactions have not yet been clarified, their understanding, research and its results have unlocked access to a wide range of targets of high diagnostic and therapeutic interest.

This monograph describes the biological significance of glycans in pancreatic cancer and presents the latest scientific evidence regarding the value and relevance of exploring glycomic events in this deadly disease.

**Keywords:** Pancreatic Cancer; Glycans; Glycosilation; Glycomic Aberration.

# Índice

Agradecimentos.....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Índice de Figuras.....	9
Abreviaturas.....	11
<b>1 Introdução .....</b>	<b>13</b>
1.1 Cancro – Contextualização .....	13
1.2 Cancro do Pâncreas .....	16
1.2.1 Pâncreas – Anatomia e Funções .....	16
1.2.2 Tipos de Cancro do Pâncreas.....	17
1.2.3 Epidemiologia .....	18
1.2.4 Métodos de Diagnóstico.....	22
1.2.4.1 Sinais e Sintomas .....	23
1.2.4.2 Imagiologia.....	23
1.2.4.3 Biópsia.....	24
1.2.4.4 Biomarcadores.....	25
<b>2 Glicoma Celular e Glicosilação .....</b>	<b>26</b>
2.1 Glicoma .....	26
2.2 Glicosilação.....	26
2.2.1 Glicoconjugados.....	28
2.2.2 Principais Tipos de Glicosilação em Humanos .....	30
2.2.2.1 N-glicosilação .....	31
2.2.2.2 O-glicosilação .....	33
2.2.2.2.1 O-glicosilação do Tipo Mucina (O-GalNAcilação) .....	33
2.2.2.2.2 O-glicosilação do Tipo O-GlcNAc (O-GlcNAcilação).....	35
<b>3 Aberração Glicómica no Cancro .....</b>	<b>36</b>
<b>4 Alterações à Glicosilação Descritas no Cancro do Pâncreas .....</b>	<b>39</b>
4.1 Antígenos Sialyl Lewis (SLe <sup>a</sup> e SLe <sup>x</sup> ) .....	39
4.2 O-glicanos Truncados .....	41
4.3 N-glicanos .....	42
4.4 Via HBP.....	42
4.5 Proteoglicanos.....	43

<b>5</b>	<b>Impacto da Aberração Glicómica nas Diferentes Fases de Manifestação e Progressão do Cancro Pancreático.....</b>	<b>44</b>
5.1	Contribuição para a Sinalização Proliferativa e Pró-tumorigénica.....	44
5.1.1	Eventos de Sinalização Intracelular Regulados por Glicosilação.....	44
5.1.2	Sinalização do Receptor de Superfície Celular Mediada por Glicosilação .....	46
5.2	Papel da Glicosilação na Invasão e Metástase .....	48
5.2.1	Sialilação e Fucosilação da Superfície Celular .....	48
5.2.2	Glicosilação Alterada no Meio Extracelular como Influenciadora da Adesão Celular e Metastização .....	50
5.3	Glicoconjugados no Microambiente Imune .....	52
5.3.1	Glicosilação Aberrante como Facilitadora da “Fuga” do Tumor ao Sistema Imunitário .....	52
	<b>Conclusão.....</b>	<b>54</b>
	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>55</b>

# Índice de Figuras

Figura 1. Modificações fenotípicas a nível celular, essenciais na caracterização do cancro.....	14
Figura 2. Características emergentes e possibilitadoras do desenvolvimento tumoral .....	15
Figura 3. Anatomia do pâncreas.....	16
Figura 4. Casos de cancro de diferentes etiologias e casos de morte estimados em 2020.....	19
Figura 5. Distribuição geográfica da ASR da incidência e ASR da mortalidade para o cancro do pâncreas.....	20
Figura 6. Distribuição geográfica para as taxas de incidência e mortalidade nos vários países do mundo.....	21
Figura 7. Estudo epidemiológico comparativo entre 2020 e 2040, para a taxa de incidência e mortalidade.....	22
Figura 8. Representação de múltiplos mecanismos que alteram a expressão, estrutura e atividade de glicosiltransferases ou glicosidases celulares, podendo assim regular a formação de glicanos .....	27
Figura 9. Glicoma celular.....	28
Figura 10. Segmentos esquemáticos glicosaminoglicano (GAGs), provenientes dos proteoglicanos: ácido hialurónico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatina, sulfato de heparina e sulfato de queratina.....	29
Figura 11. Principais estruturas de N-glicanos e O-glicanos.....	30
Figura 12. Biossíntese de N-glicano na via secretora .....	32
Figura 13. Biossíntese de O-glicanos do tipo GalNac: O-GalNAcilação .....	35
Figura 14. Representação esquemática da superfície de uma célula cancerígena com níveis aumentados de glicanos sialilados: Sialil Lewis A (SLea), Sialil-Lewis X (SLe <sub>x</sub> ), sialil-Tn (STn), Sialil-T (ST), ácido polissialílico e gangliosídeos, como GM3 e GD2.....	37
Figura 15. Estruturas exemplificativas de glicanos com resíduos terminais de GlcNAc.....	39
Figura 16. Modificações do terminal GlcNAc com formação das cadeias tipos 1 e 2.....	40
Figura 17. Síntese dos Antígenos de Lewis derivados das cadeias de tipo 1.....	41
Figura 18. Responsabilização da via biossintética da hexosamina (HBP) na produção do substrato para a glicosilação de proteínas, UDP-GlcNAc.....	43
Figura 19. Impacto da glicosilação aberrante na sinalização celular no cancro pancreático.....	45

Figura 20. Impacto da glicosilação aberrante na sinalização celular no cancro pancreático.....	50
Figura 21. Representação esquemática do Glicocálice.....	51
Figura 22. Impacto da glicosilação no microambiente imune do cancro do pâncreas.....	53

# Abreviaturas

Asn - Asparagina

ASR - Taxa média padronizada por idade

CA 19-9 - Antígeno carboidrato 19-9

CG - Complexo de Golgi

C1GalT1 - Gal-transferase

COSMC - Chaperona molecular específica do core 1  $\beta$ 3GalT

Di-ST - Di-sialil-T

FDA – Food and Drug Administration

Fuc – Fucose

Fuc-T - Fucosiltransferase

GAG -Glicosaminoglicano

Gal – Galactose

Gal-T - Galactosiltransferase

GlcA - Ácido glucurónico

Glc - Glicose

GalNAc - N-acetilgalactosamina

GlcNAc - N-acetilglicosamina

GPI - Glicosilfosfatidilinositol

GT – Glicosiltransferase

HA – Ácido hialurónico

HBP – Via biossintética da hexosamina

HPA - Heparanase

HSP - Proteína de choque térmico

IdoA - Ácido idurónico

IPMN - Neoplasia mucinosa papilar intraductal

LacNAc - N-acetil-lactosamina

Man - Manose

MCN - Neoplasia cística mucinosa

MEC - Matriz extracelular

MUC - Mucina

Neu5Ac - Ácido siálico

OGA - O-GlcNAcase

O-GalNAcilação – O-glicosilação com N-acetilgalactosamina

O-GalNAc - N-acetilgalactosamina ligada a O

OGT - O-GlcNAc transferase  
OST - Oligossacariltransferase  
PanIN - Neoplasia intraepitelial pancreática  
PDAC - Adenocarcinoma ductal pancreático  
PET - Tomografia por emissão de positrões  
PNET - Tumor neuroendócrino pancreático  
ppGalNAcT - N-acetilgalactosaminiltransferase  
RE - Retículo Endoplasmático  
RM - Ressonância magnética  
RTL - Receptor Toll-Like  
RTK - Receptor de Tirosina Quinase  
SDC1 - Sindecano-1  
Ser - Serina  
SLea - Sialyl Lewis a  
SLex - Sialyl Lewis x  
ST - Sialil-T  
STn - Sialil-Tn  
TC - Tomografia computadorizada  
TF - Fatores de transcrição  
Thr – Treonina  
UDP-GlcNAc – Difosfato de uridina-N-acetilglicosamina  
USE - Ultrassonografia endoscópica  
Xil - Xilose

# 1 Introdução

## 1.1 Cancro – Contextualização

Nas últimas décadas, o **cancro** tem vindo a ganhar uma dimensão cada vez maior, sendo, nos dias de hoje, **um dos maiores problemas de saúde pública, a nível mundial** (1). Constitui a segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por cerca de 10 milhões de mortes por ano. Globalmente, cerca de 1 em cada 6 mortes é devida ao cancro (2). Apesar de ser uma **doença de crescimento inevitável, não significa que represente uma “sentença de morte”**. Na verdade, lidar e viver com esta doença faz parte do futuro, sendo que uma das principais chaves para as doenças oncológicas encontra-se na **personalização da medicina**. Há cerca de 15 ou 20 anos, os tratamentos anti-cancerígenos não se adaptavam às características de cada tumor. Atualmente, são avaliadas não só as características do tumor, mas também as do doente, procurando-se uma “simbiose perfeita” para o tratamento mais adequado e eficaz (1).

O **cancro** ou **tumor maligno** é definido como um conjunto de doenças caracterizadas por um crescimento anormal e descontrolado das células, que pode surgir em qualquer parte do corpo humano e que, ao aglomerarem-se, formam uma massa designada de tumor. O tumor maligno é aquele que tem a capacidade de se metastizar, processo através do qual há a disseminação do mesmo, invadindo outras partes do corpo, através dos sistemas circulatório ou linfático, e interferindo com o funcionamento dos tecidos e órgãos normais (3). O processo de desenvolvimento do cancro é chamado de **carcinogénese** ou **oncogénese** e tem origem na unidade básica da vida, a célula.

A carcinogénese envolve uma série de **modificações no fenótipo celular**, baseadas em mutações nos genes que controlam a proliferação e a regulação celular, traduzindo-se numa transformação lenta, gradual e cumulativa de células normais em células cancerígenas (4,5). Hanahan e Weinberg propuseram seis modificações fenotípicas a nível celular como **características essenciais do cancro** (figura 1). Estas conferem capacidades específicas às células cancerígenas, que as caracterizam durante o desenvolvimento tumoral e lhes permitem escapar aos mecanismos reguladores responsáveis pela manutenção da homeostase celular.

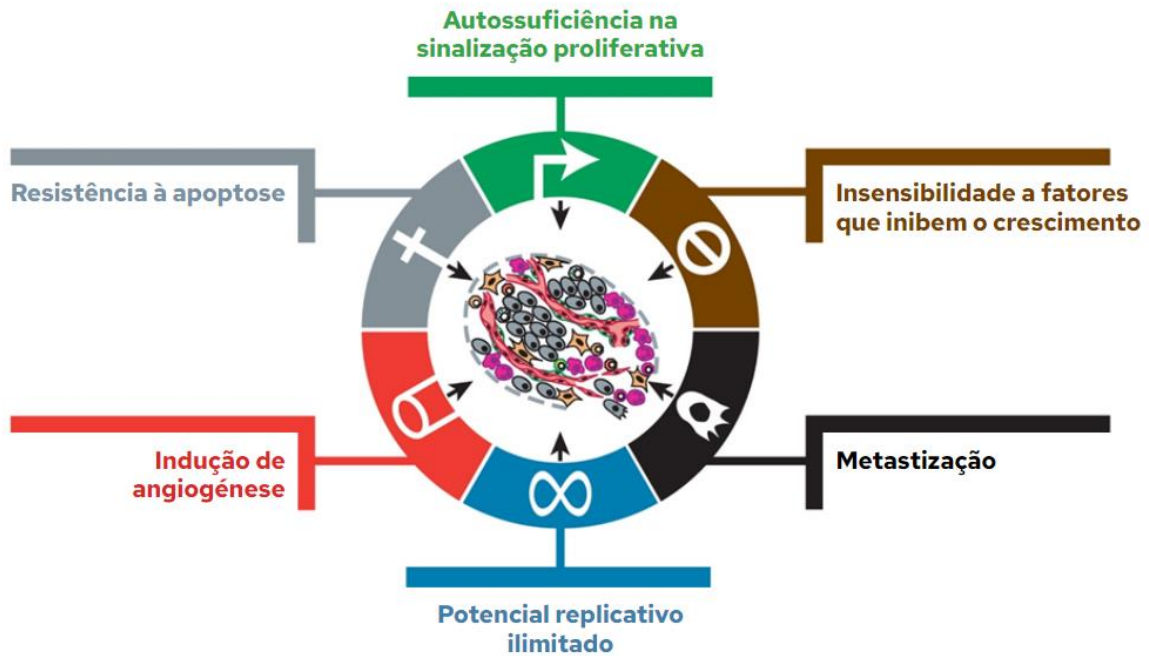


Figura 1- **Modificações fenotípicas a nível celular, essenciais na caracterização do câncer.**

(Adaptado de (6)).

A aquisição destas capacidades funcionais e vantajosas pelas células cancerígenas é possibilitada por dois fatores: a instabilidade genética, que explica a alta incidência de mutações nas células cancerígenas, e a resposta inflamatória associada ao tumor maligno, em que o microambiente inflamatório acaba por estimular a sobrevivência das células tumorais (efeito paradoxal da resposta inflamatória) (figura 2). Recentemente, têm-se vindo a considerar mais duas características críticas para o desenvolvimento tumoral, designadas de emergentes: a reprogramação celular do metabolismo energético e a “fuga” à destruição pelo sistema imunológico (figura 2) (6).

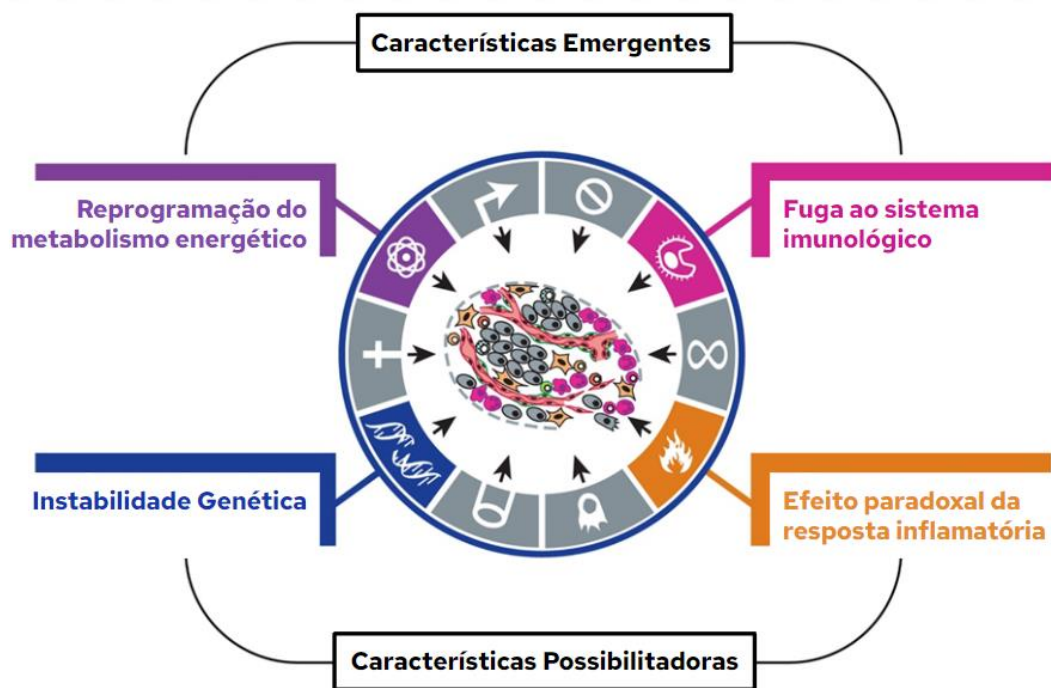


Figura 2- **Características emergentes e possibilitadoras do desenvolvimento tumoral.**

(Adaptado de (6)).

O microambiente tumoral é também uma entidade que nos dá uma nova dimensão e complexidade ao processo de carcinogênese, no qual tanto as células imunes como as não imunes do hospedeiro estabelecem um crosstalk dinâmico com as células cancerígenas. Assim, não se traduz apenas num observador silencioso, mas sim num promotor ativo da progressão do cancro (7).

A **glicosilação aberrante** é frequentemente citada como uma característica essencial do cancro. No entanto, evidências crescentes destacam-na como um **conceito mecanístico intrínseco a todas as características reconhecidas como essenciais do cancro**, assumindo um papel causal para a aquisição de cada uma delas (8).

Para além do espectro de características essenciais do cancro, também o **tipo de cancro** assume um papel decisivo quanto a cada uma das etapas da progressão tumoral e capacidade de resposta à terapia (9).

Existem mais de 100 tipos de cancro. Geralmente, o tipo de cancro é classificado de acordo com o órgão ou tecido no qual tem origem e com o tipo de células em que são formados, sendo que a maioria se insere numa das seguintes categorias: **carcinomas** (formados por células epiteliais) **leucemias** e **linfomas** (as células tumorais são, respetivamente, as células sanguíneas imaturas na medula óssea e as células do sistema imunológico - linfócitos - no sistema linfático), **sarcomas** (com origem em células mesenquimais a partir do osso ou dos

tecidos moles), **mieloma** (com origem em células produtoras de imunoglobulinas - plasmócitos) e **melanoma** (formado a partir de células da pele, produtoras de melanina - melanócitos) (4,10).

## 1.2 Cancro do Pâncreas

### 1.2.1 Pâncreas – Anatomia e Funções

O pâncreas é um órgão alongado, com cerca de quinze centímetros de comprimento, localizado transversalmente na parte superior da **cavidade abdominal atrás do estômago, entre o duodeno e o baço**. Anatomicamente, o pâncreas é composto por três partes: cabeça, corpo e cauda. A **cabeça** do pâncreas é a porção mais larga e encontra-se no lado direito do abdómen, em contacto direto com o duodeno, o qual forma um C em torno da cabeça do pâncreas. O **corpo** corresponde à porção central e mais extensa, a qual cruza a cavidade abdominal, estando situado atrás do estômago e à frente da coluna vertebral. A extremidade fina que se encontra no lado esquerdo do abdómen e próxima ao baço, é a **cauda** (11,12) (figura 3).

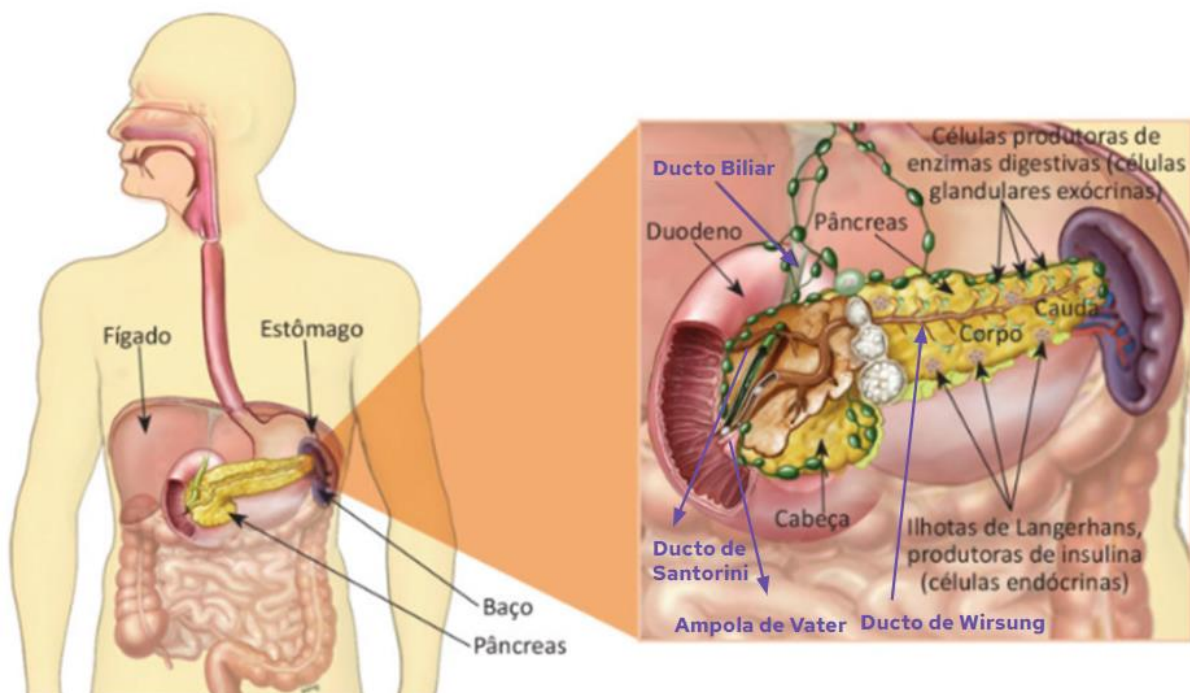


Figura 3 - Anatomia do pâncreas. (Adaptado de (13)).

O pâncreas contém internamente um sistema de ductos. Atravessando todo o parênquima pancreático, desde a cauda até à cabeça, encontra-se o **ducto pancreático principal (de**

**Wirsung**). Este une-se com o **ducto biliar** na cabeça do pâncreas para formar o ducto hepatopancreático, também designado **ampola de Vater**, e desemboca na parte descendente do duodeno. Para além do ducto principal, o pâncreas também contém um **ducto acessório (de Santorini)** que comunica com o ducto pancreático principal (figura 3) (14).

O pâncreas é uma das principais glândulas do corpo humano. Funciona tanto como uma **glândula exócrina** como **endócrina**, secretando substâncias que fluem ou para o duodeno, através dos ductos, ou para a corrente sanguínea, respetivamente (figura 3) (11).

A maior parte do pâncreas é composta por **células exócrinas**, que formam as glândulas e ductos exócrinos. As glândulas exócrinas **produzem enzimas digestivas** pancreáticas inativas, que são libertadas nos **sistemas ductais glandulares e pancreáticos**. Ao atingirem o duodeno, são ativadas por enzimas proteolíticas, tornando-se peptidases, amilases, lipases e nucleases ativas que atuam para ajudar a digerir os alimentos que entram no intestino delgado provenientes do estômago (12,14). Uma solução aquosa alcalina, rica em bicarbonato, também é produzida pelo tecido exócrino, que neutraliza o ácido clorídrico que entra no intestino delgado proveniente do estômago, para que este não inative as enzimas pancreáticas no intestino delgado (11).

A menor percentagem do pâncreas consiste em **células endócrinas**, que se agrupam e formam os ilhéus de Langerhans. Estas glândulas endócrinas **secretam hormonas** diretamente para a **corrente sanguínea**. Entre elas a insulina, glucose e somatostatina, responsáveis pela regulação do metabolismo da glucose, lípidos e proteínas (14).

## 1.2.2 Tipos de Cancro do Pâncreas

O cancro do pâncreas abrange um grande número de neoplasias distintas, com características clínicas e patológicas únicas. Pode ser dividido em dois grandes grupos, dependendo do tipo de célula em que tem origem, exócrinas ou endócrinas.

Mais de **95% dos cancros pancreáticos** são classificados como **exócrinos** e o **adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC)** é o tipo de neoplasia mais comum, representando **mais de 90%** dos diagnósticos de cancro do pâncreas (9,15).

PDAC inicia-se nas células epiteliais dos ductos (16) e pode surgir em qualquer parte do pâncreas, mas mais comumente na cabeça (60% a 70%), seguida do corpo (10%) e cauda (10-15%). A minoria remanescente corresponde a neoplasias difusas (17).

Os localizados na cabeça podem motivar o desenvolvimento de sintomas relacionados à obstrução do ducto biliar comum e/ou do ducto pancreático, pelo que tendem a ser

diagnosticados em estágios mais precoces, comparativamente aos localizados no corpo e na cauda, apresentando estes últimos, geralmente, um pior prognóstico (18).

A maioria dos PDACs originam-se a partir da neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN), enquanto, apenas uma minoria, tem como precursoras, as lesões císticas pancreáticas (neoplasias mucinosas papilares intraductais (IPMNs) e neoplasias císticas mucinosas (MCNs)) (17). Apesar de menos frequente, é possível que o adenocarcinoma em vez de células ductais, se desenvolva, a partir das células que produzem as enzimas pancreáticas, designando-se de **carcinoma de células acinares**. Outros tipos, também classificados como exócrinos e muito menos comuns que o PDAC, incluem os carcinomas adenoescamosos, carcinomas colóides, carcinomas hepatóides, carcinomas de células em anel de sinete, carcinomas indiferenciados e carcinomas indiferenciados com células gigantes semelhantes a osteoclastos (12,19).

Uma minoria dos cancros pancreáticos desenvolve-se a partir das células endócrinas e tendem a ser menos agressivos que os exócrinos. São os **tumores neuroendócrinos pancreáticos (PNETs)** e correspondem a **1–2%** de todos os cancros pancreáticos (9).

Estes podem ser agrupados em tumores funcionais ou não funcionais, dependendo se produzem ou não hormonas numa quantidade capaz de provocar um síndrome clínico, respetivamente. O nome dado a cada **PNET funcional** varia consoante a hormona que produzem. O mais comum é o insulinooma, que advém de células cancerígenas pancreáticas produtoras de insulina (20,21).

Devido ao aumento da produção hormonal destes tumores, despertam sintomas clínicos específicos, facilitando o diagnóstico da doença. Em contrapartida, os **PNETs não funcionais**, geralmente, são diagnosticados num estágio mais tardio, estando associados a um pior prognóstico (22).

### 1.2.3 Epidemiologia

O cancro do pâncreas representa um problema importante no universo da oncologia, sendo a **neoplasia mais temível nos dias de hoje**. Não só a sua incidência, mas também a sua mortalidade tem vindo a aumentar, contrariamente ao que se tem verificado com os restantes tipos de cancro (23).

Para além disso, o número de novos casos estimado e publicado pelo Globocan, em 2020, foi de 495.773 com 466.003 mortes (figura 4), correspondendo a 94% de mortes relativamente aos novos casos (24).

O cancro do pâncreas ocupa consistentemente a última posição, entre todos os tipos de cancros, em termos de resultados prognósticos (25).

Apesar dos avanços na compreensão da biologia do cancro do pâncreas, a deteção precoce e as opções de tratamento continuam a ser um desafio.

Nos 15% dos pacientes que possuem tumores ressecáveis, a taxa de sobrevivência, no período de 5 anos, é de 30%, permanecendo muito inferior quando comparado a muitos outros tipos de cancro (26).

Contudo, na grande maioria dos casos, o diagnóstico só é realizado numa fase mais tardia, em parte, devido à rara manifestação de sintomas até então. Nesta fase, muito frequentemente, o tumor já se encontra metastizado e apenas 5% sobrevivem mais 5 anos (9).

Embora seja um dos mais mortais, constituindo a **7.ª causa de morte por cancro no mundo, não se encontra entre os tipos mais comuns** (figura 4) (24).

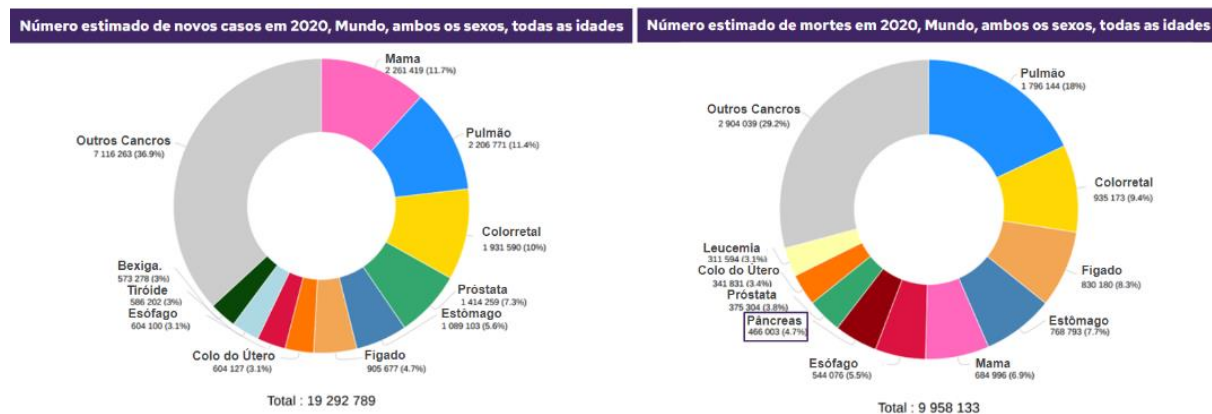


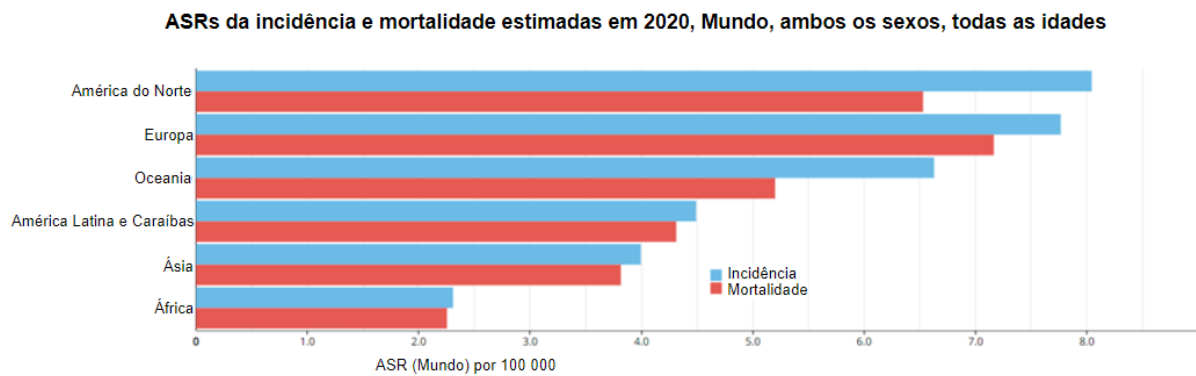
Figura 4 - **Casos de cancro de diferentes etiologias e casos de morte estimados em 2020.**

(Adaptado de (27)).

**A incidência e a mortalidade são discrepantes entre as várias regiões do mundo** (25).

Esta variabilidade geográfica reflete não só o envelhecimento e o crescimento da população, mas também as mudanças na prevalência e distribuição dos principais fatores de risco para o cancro, muitos dos quais estão associados ao desenvolvimento socioeconómico (24).

A taxa média padronizada por idade (ASR) da incidência foi mais alta na América do Norte (8,0), com 8 por 100.000, seguida pela Europa (7,8) e mais baixa em África (2,3). Segundo a ASR da mortalidade a Europa (7,2), com 7,2 por 100.000, apresenta o maior valor e África o menor (2,3) (figura 5) (27).



**Figura 5 - Distribuição geográfica da ASR da incidência e ASR da mortalidade para o cancro do pâncreas, em 2020.**

(Adaptado de (27)).

A distribuição geográfica para as taxas de incidência e mortalidade, nos vários países do mundo, posiciona Portugal com uma ASR de incidência (6,0) e mortalidade (5,9) das mais baixas da Europa. A sua ASR de incidência é apenas superior à da BieloRússia e Albânia e a ASR de mortalidade superior à Irlanda, Islândia e Albânia. O País com maior ASR de incidência (11,2) e mortalidade (10,2) da Europa é a Hungria (figura 6) (27).

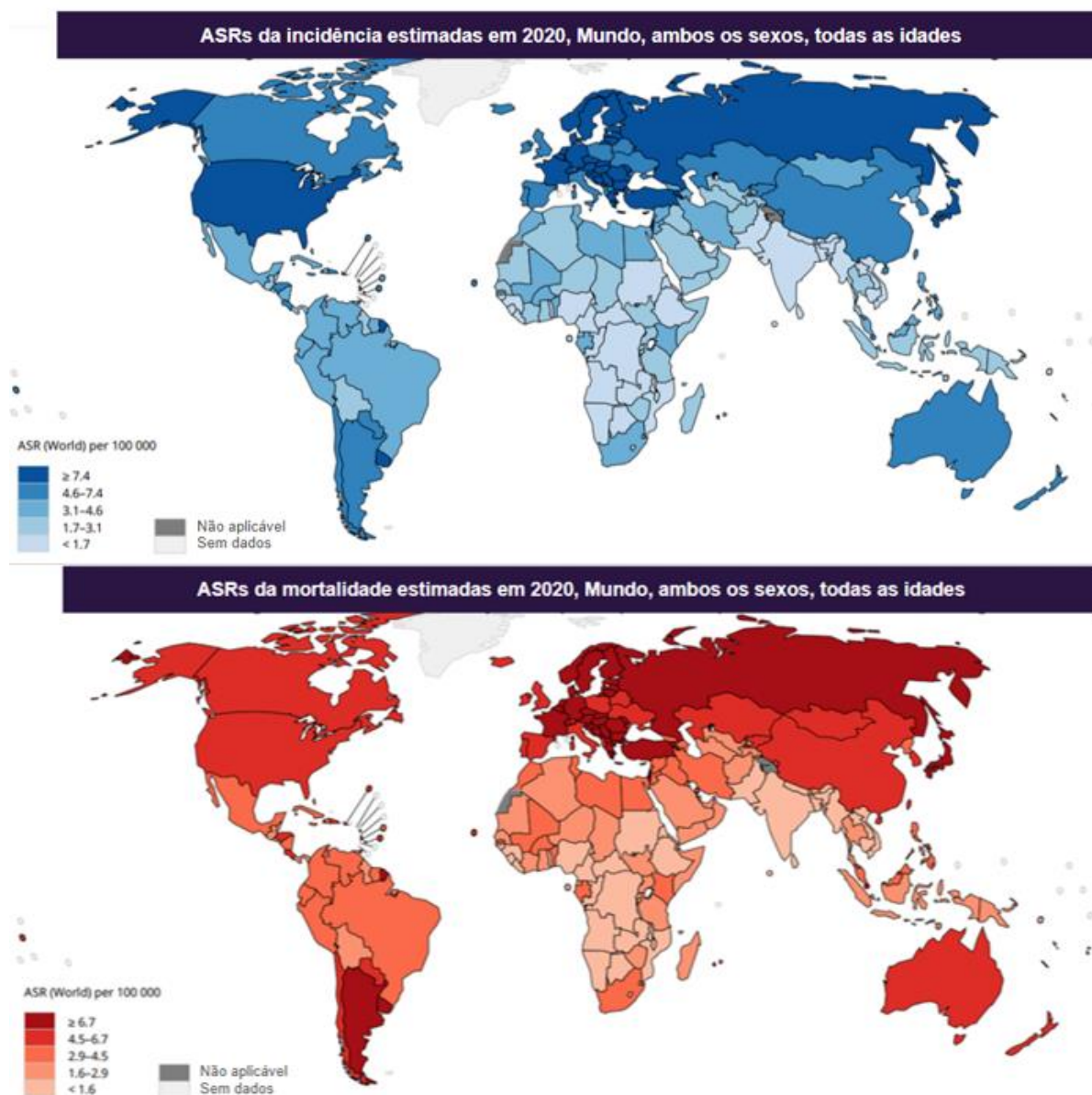


Figura 6 - **Distribuição geográfica para as taxas de incidência e mortalidade nos vários países do mundo.** (Adaptado de (27)).

Globalmente, as taxas de incidência de cancro de pâncreas tendem a ser um pouco mais altas em homens do que em mulheres (28).

Relativamente a tendências futuras, uma vez que as taxas desta doença são bastante estáveis em relação às taxas de declínio do cancro da mama, foi projetado que o cancro do pâncreas irá superá-lo como a **terceira principal causa de morte por cancro, até 2025** (24).

Em 2040, em vez de 495.773 casos de incidência e 466.003 de mortalidade, estimam-se 843.772 e 801.333, respetivamente (figura 7) (29) .



Figura 7 - Estudo epidemiológico comparativo entre 2020 e 2040, para a taxa de incidência e mortalidade.

(Adaptado de (29)).

#### 1.2.4 Métodos de Diagnóstico

As estatísticas analisadas revelam o quão desafiador é o cancro do pâncreas. As décadas de pesquisa não conseguiram melhorar a taxa desanimadora de sobrevivência, que permanece inalterada, e as taxas de incidência e mortalidade revelam-se chocantes. Um dos desafios relaciona-se com a **inexistência de métodos de diagnóstico eficazes para a sua deteção precoce**.

O diagnóstico precoce do cancro do pâncreas depende do desenvolvimento de metodologias de triagem com **técnicas de imagiologia** e **biomarcadores** altamente sensíveis e específicos (30).

Para além das lesões pré-malignas e o estágio inicial persistirem indetetáveis clinicamente, devido à indisponibilidade de procedimentos de triagem eficientes, a não manifestação de **sinais e sintomas**, também contribui para a deteção tardia (80% dos casos) (31).

#### 1.2.4.1 Sinais e Sintomas

Os **sinais e sintomas** apresentados, caracterizam-se por serem inespecíficos e por, geralmente, serem apenas detetados numa fase avançada de progressão do tumor.

A localização do tumor no pâncreas afeta o tipo de sintomas que aparecem e a rapidez com que são notados (32). Num doente com cancro pancreático, os principais sintomas manifestados são a icterícia, dor abdominal ou lombar e perda de peso inesperada.

A **icterícia** pode resultar da obstrução do ducto biliar, e, neste caso, o tumor localiza-se, muito provavelmente, na cabeça do pâncreas. Consequentemente, também provoca a acumulação de bÍlis na **vesícula biliar**, podendo esta encontrar-se **aumentada**. Para além disso, as **fezes** podem-se apresentar **esbranquiçadas** pelo não alcance da bilirrubina ao intestino e os níveis aumentados da mesma no sangue também podem originar uma **urina mais escura** que o habitual.

A **dor abdominal ou lombar** pode ser provocada pela pressão exercida pelo tumor nas estruturas adjacentes, incluindo os nervos. Perante esta situação, é comum a localização do tumor ser no corpo ou cauda do pâncreas.

A **perda de peso inesperada** e falta de apetite são também sintomas comuns a esta patologia.

Os **problemas digestivos** podem aparecer, quando o ducto pancreático principal é bloqueado pelo tumor, resultando na falta de enzimas para a digestão e provocando **náuseas, vômitos e inchaço no abdómen**.

O cancro do pâncreas também deve ser tido ainda em conta, perante uma **pancreatite aguda** ou **diabetes recém-diagnosticadas** (32–34).

#### 1.2.4.2 Imagiologia

Atualmente, a única maneira de diagnosticar o cancro do pâncreas assintomático é usando **a imagiologia de alta qualidade**, que tem assumido um papel crucial no diagnóstico desta doença e contribuído em grande parte para o aumento do número de casos diagnosticados. Uma variedade de técnicas existentes pode ser usada com propósitos distintos, nomeadamente, para conhecimento da área afetada pela massa tumoral,

determinação do estágio da doença, avaliação da terapêutica adotada ou para averiguar uma possível recessão (35).

A prática atual utiliza, particularmente, a **tomografia computadorizada (TC)**, **ressonância magnética (RM)**, **tomografia por emissão de positrões (PET)** e **ultrassonografia endoscópica (USE)** (36).

A **TC**, normalmente, é o primeiro método de diagnóstico a ser solicitado perante uma suspeita de cancro pancreático. Além disso, se essa suspeita se confirmar, esta técnica é relevante para a orientação da seleção do tratamento. Permite, ainda, a visualização da vascularização próxima do tumor, uma condicionante na avaliação da possibilidade de remoção cirúrgica do mesmo. Também através da TC, pode ser examinada a possibilidade de disseminação do tumor (35,37).

A partir da **RM** consegue-se obter uma imagem pormenorizada dos sistemas de ductos pancreático e biliar. Existem várias situações específicas em que a RM parece ter vantagem sobre a TC, uma delas é a capacidade de diferenciar o tumor pancreático da massa com origem em pancreatite. Esta técnica é frequentemente usada como exame de segunda linha, quando há alta suspeita clínica de tumor pancreático, apesar de não ter sido visível na TC (36,37).

A **USE** permite a identificação de pequenas anormalidades (<2 centímetros) no pâncreas, que na TC e na RM não são captadas. Contudo, exige uma grande técnica do operador. Por ser uma endoscopia associada a uma ecografia, que visa obter imagens dos órgãos internos, a USE tem o benefício de permitir a colheita de amostra para biópsia, com auxílio de uma agulha, que é inserida através do próprio endoscópio (36,38,39).

Na **PET**, glicose marcada radioativamente (ex. 18F-fluorodesoxiglicose) é injetada no doente e, posteriormente, irá concentrar-se nas zonas de intensa metabolização de glicose (tumores). Assim, o PET, comparativamente à TC, exhibe melhores resultados e com maior sensibilidade para monitorizar a resposta ao tratamento adotado e detetar episódios de recorrência. Por exemplo, no caso de um doente ter sido tratado e a TC revelar que permanece uma lesão no local onde se encontrava o tumor, a PET tem capacidade para determinar se essa lesão corresponde ao tecido cicatrizado ou a um possível novo tumor em desenvolvimento. No primeiro caso, o resultado do PET seria negativo, enquanto no caso do tumor ativo, seria positivo (37,40).

#### **1.2.4.3 Biópsia**

O histórico médico, o exame clínico e os resultados dos exames de imagem podem sugerir fortemente o diagnóstico de cancro pancreático, no entanto, é necessária a realização de

uma **biópsia** para a sua confirmação definitiva. A remoção de uma pequena amostra de tecido a ser examinada pode ser realizada por diferentes métodos. A **biópsia com punção aspirativa por agulha fina** é um procedimento no qual o operador introduz uma agulha fina, quer através da **pele**, utilizando a TC como guia, ou diretamente no pâncreas através de um **endoscópio**, utilizando a USE.

Apesar de menos frequente, para além de percutânea ou endoscópica, a biópsia pode ainda ser **cirúrgica**, sendo a laporoscopia o procedimento mais comum (33).

#### 1.2.4.4 Biomarcadores

A triagem eficiente de **biomarcadores** em fluidos biológicos é o método de diagnóstico precoce mais promissor, devido ao seu baixo custo, conveniência, rapidez e invasividade mínima (41).

Das inúmeras proteínas que podem ser diferencialmente expressas em cancros humanos, apenas nove foram aprovadas pela FDA, como antigénios associados a tumores. Todos esses biomarcadores tumorais são **proteínas glicosiladas**. Apesar da sua utilidade clínica, apresentam **limitações em termos de sensibilidade e especificidade**. Este facto reflete-se sobre o único marcador sérico aprovado, até então, para o diagnóstico de cancro pancreático, o **antigénio carbohidrato 19-9 (CA 19-9)**, também denominado **Sialil Lewis a (SLe<sup>a</sup>)**. Assim, **não é adequado para ser utilizado como teste de triagem** (36,41).

De facto, o CA 19-9 não é expresso por 5-10% da população, devido a uma deficiência genética na atividade de uma fucosiltransferase (42). Assim, pode conduzir a falsos-negativos em doentes com fenótipo de tipo sanguíneo Lewis negativo (43) ou a falsos-positivos, uma vez que os seus valores podem estar aumentados noutras situações benignas e noutros tipos de cancro (36,44).

Tendo isso em conta, a sua utilidade clínica reflete-se como marcador para monitorizar tanto a resposta ao tratamento, como a recorrência após a recessão cirúrgica, e ainda como marcador de prognóstico (45,46). Deste modo, a descoberta de novos biomarcadores para diagnosticar o cancro do pâncreas, principalmente em estágios iniciais, é urgentemente necessária.

## **2 Glicoma Celular e Glicosilação**

### **2.1 Glicoma**

O glicoma traduz-se no conjunto de todos os glicanos que podem ser sintetizados por um organismo (47), podendo variar de monossacáridos a polissacáridos, livres ou presentes em ligações a estruturas de aglicona, como proteínas ou lípidos (48).

Os glicanos são construídos, principalmente, a partir de dez monossacáridos: glicose (Glc), galactose (Gal), N-acetilgalactosamina (GalNAc), N-acetilglicosamina (GlcNAc), fucose (Fuc), ácido siálico (Neu5Ac), manose (Man), xilose (Xil), ácido glucurónico (GlcA) e ácido idurónico (IdoA) (49). Estão amplamente distribuídos pela natureza (50) e são componentes chave dos sistemas biológicos, apresentando funções estruturais e funcionais, essenciais a todas as células dos organismos vivos (51).

Cada organismo (humanos, animais, plantas, bactérias, vírus) contém uma extensa diversidade de glicanos (52) e o glicoma de cada célula reflete o seu padrão único de expressão genética (50), tendo uma identidade própria, no que concerne aos glicanos que são sintetizados. De facto, as estruturas de glicanos não são codificadas diretamente no genoma. São produtos genéticos secundários, sendo a sua biossíntese dependente da expressão de múltiplos genes, genes estes que codificam a “maquinaria de glicosilação celular”, onde se incluem as enzimas de glicosilação (53).

### **2.2 Glicosilação**

A glicosilação é uma reação que permite a transferência de unidades glicosídicas para outras moléculas orgânicas (54), onde estão envolvidas enzimas, como as glicosiltransferases (GTs) e as glicosidasas. As GTs são as enzimas chave na biossíntese dos glicanos, catalisam a formação das ligações glicosídicas. São específicas do dador de glicosil, mas podem reconhecer diferentes aceitadores, sendo classificadas de acordo com o sacárido que transferem (55). Já as glicosidasas atuam ao nível da degradação das estruturas de glicanos (49).

A glicosilação é um processo dinâmico e dá-se, essencialmente, no Retículo Endoplasmático (RE) e no complexo de Golgi (CG), com múltiplos mecanismos que alteram a expressão, estrutura e atividade das glicosiltransferases e glicosidasas, bem como a sua acessibilidade aos substratos (56) (figura 8), embora também possa ocorrer no citoplasma, na membrana celular e na matriz extracelular (55).

Assim, é produzido um repertório abundante, diversificado e altamente regulado de glicanos celulares (56).

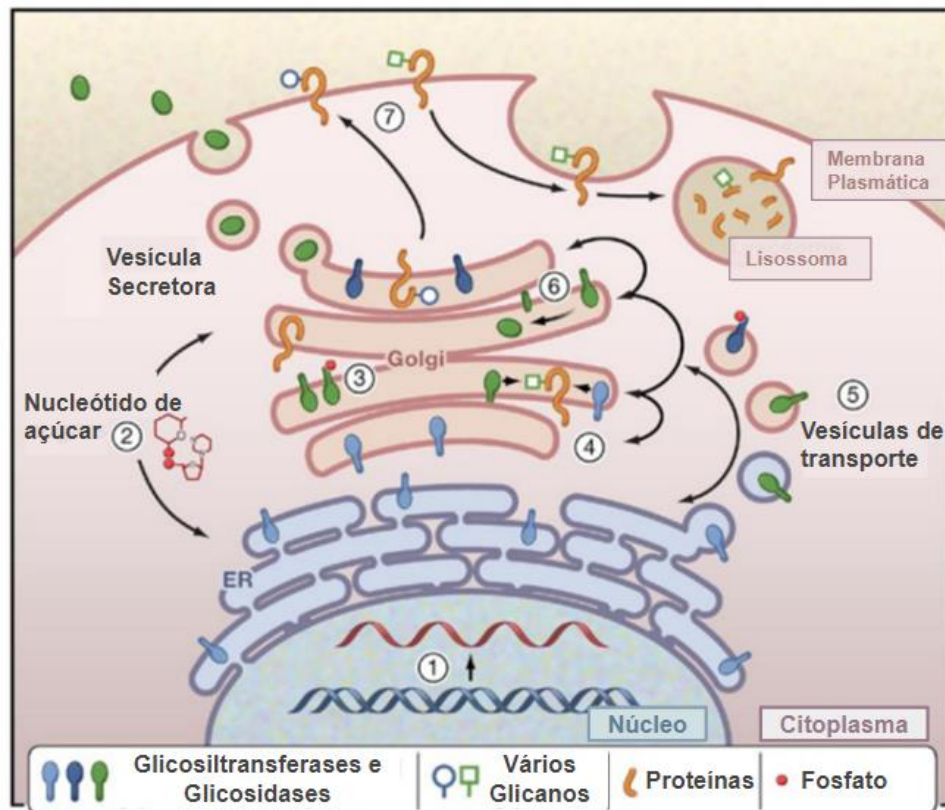


Figura 8 - **Representação de múltiplos mecanismos que alteram a expressão, estrutura e atividade de glicosiltransferases ou glicosidases celulares, podendo assim regular a formação de glicanos:** (1) Controle da transcrição do gene da glicosiltransferase e glicosidase, (2) Síntese e transporte de nucleótidos doadores de açúcar para o RE e Golgi, (3) Modulação da estrutura enzimática através da fosforilação, (4) Competição entre enzimas por substratos, (5) Tráfego intracelular de enzimas, (6) Proteólise dentro do lúmen do Golgi e (7) Renovação do glicano na superfície celular.

(Adaptado de (56)).

A grande diversidade de glicanos advém de diferenças na composição dos monossacáridos, nas substituições, na presença ou ausência de estruturas ramificadas, e nas diferentes ligações glicosídicas, incluindo as ligações à parte aglicona (não glicosil) (48,57), das quais surgem os glicoconjugados - glicoproteínas, glicolípidos e proteoglicanos (figura 9) (49).

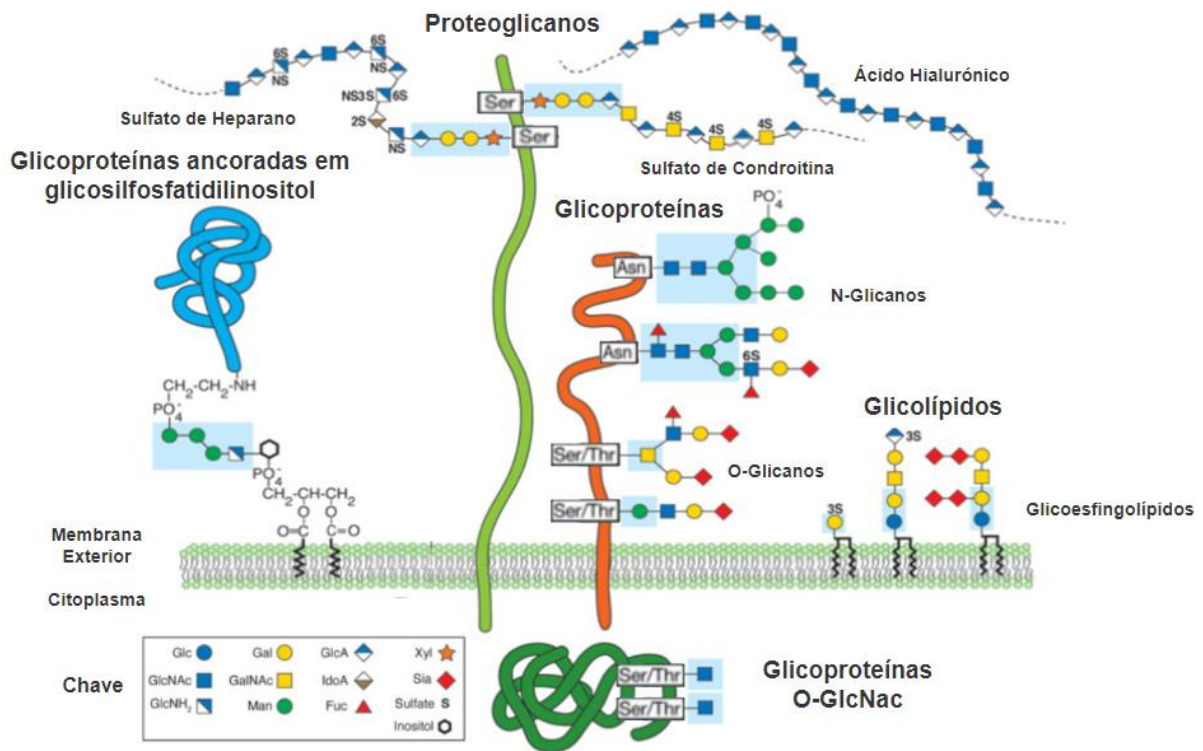


Figura 9- **Glicoma celular.**  
(Adaptado de (49)).

## 2.2.1 Glicoconjugados

As **glicoproteínas** consistem numa proteína que transporta um ou mais glicanos ligados covalentemente a um esqueleto polipeptídico. Essa ligação, geralmente, ocorre por meio de ligações de nitrogénio ou oxigénio, razão pela qual são denominadas N-glicanos ou O-glicanos, respetivamente.

Algumas glicoproteínas podem ser encontradas na membrana exterior da membrana plasmática ligadas a um fosfatidilinositol, as chamadas proteínas ancoradas em glicosilfosfatidilinositol (GPI) (57).

Os **glicolípidos** são glicanos ligados a lípidos e a sua principal subclasse são os glicosíngolipídios. Nestes, a parte lipídica equivale a uma ceramida (esfingosina ligada a um ácido gordo). As classificações estruturais e funcionais dos glicosíngolipídios têm sido baseadas na sua parte glicana. Normalmente, os primeiros monossacáridos ligados à ceramida são a Gal (galactosilceramida) ou a Glc (glicosilceramida). Nos glicosíngolipídios de vertebrados, a Glc é tipicamente substituída por uma Gal, originando uma lactosilceramida (D-galactosil-1,4-βDglicosilceramida). Os glicosíngolipídios são os principais componentes

da membrana exterior da membrana plasmática da célula e são constituídos por uma série variável de estruturas, que podem ser posteriormente, modificadas com ácidos siálicos terminais (49,57).

Os **proteoglicanos** são glicoconjugados que são caracterizados pela presença de uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanos (GAGs) ligadas covalentemente a uma proteína, através de uma região central típica, GlcA–Gal–Gal–Xil, cujo resíduo de Xil se liga a um resíduo de serina (Ser) (50). Os GAGs são longas cadeias de copolímeros lineares de unidades dissacáridas repetidas. Cada GAG contém um amino açúcar – glicosamina, N-acetilada (GlcNAc) ou N-sulfatada (GlcNS), ou GalNAc – alternado com um ácido urónico – GlcA ou IdoA – ou uma Gal (49). São definidos pelo tipo de unidade dissacárida, tipo de ligação, número e localização dos grupos sulfato, existindo cinco grupos de GAGs: ácido hialurônico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatina, sulfato de heparina e sulfato de queratina (58). A figura 10 mostra os segmentos esquemáticos de cada um. O ácido hialurônico é o único GAG que não possui grupos sulfato e que, excepcionalmente, é encontrado livre na matriz extracelular (MEC) (49).

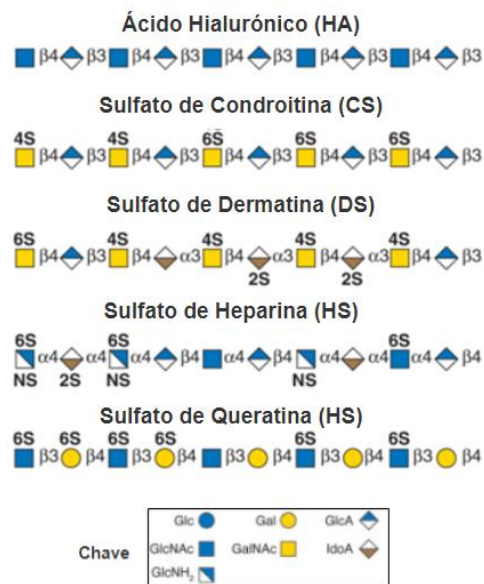


Figura 10 – Segmentos esquemáticos glicosaminoglicano (GAGs), provenientes dos proteoglicanos: ácido hialurônico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatina, sulfato de heparina e sulfato de queratina.

(Adaptado de (49)).

A maioria dos proteoglicanos também contém N- e O-glicanos, tal como as glicoproteínas, mas diferenciam-se destas pelas suas cadeias de GAGs, que contribuem para uma proporção muito mais substancial da massa molecular do proteoglicano. Enquanto, os N-glicanos,

normalmente, incluem 5-12 monossacáridos, um GAG pode facilmente conter mais de 80 (50). Os proteoglicanos e os GAGs estão presentes na superfície celular, no interior da célula e na matriz extracelular (MEC) (49).

## 2.2.2 Principais Tipos de Glicosilação em Humanos

A glicosilação é uma das principais modificações pós-traducional que as proteínas podem sofrer e das mais elaboradas e complexas, que lhes proporciona forma e função (49).

Existem vários tipos de glicosilação, sendo que nas proteínas os fundamentais são a N- e a O-glicosilação. Estes dois processos diferem, essencialmente, no local de ligação à proteína, isto é, no aminoácido ao qual irá ficar ancorado o glicano, e no processamento das estruturas ramificadas. Na N-glicosilação, são produzidos glicanos ligados ao grupo amida do resíduo Asparagina (Asn) nas cadeias laterais das proteínas, enquanto que na O-glicosilação, os glicanos são ligados ao grupo hidroxilo dos resíduos de treonina (Thr) ou Ser. Geralmente, e ao contrário dos O-glicanos, os N-glicanos são estruturas maiores e processadas (figura 11) (55).

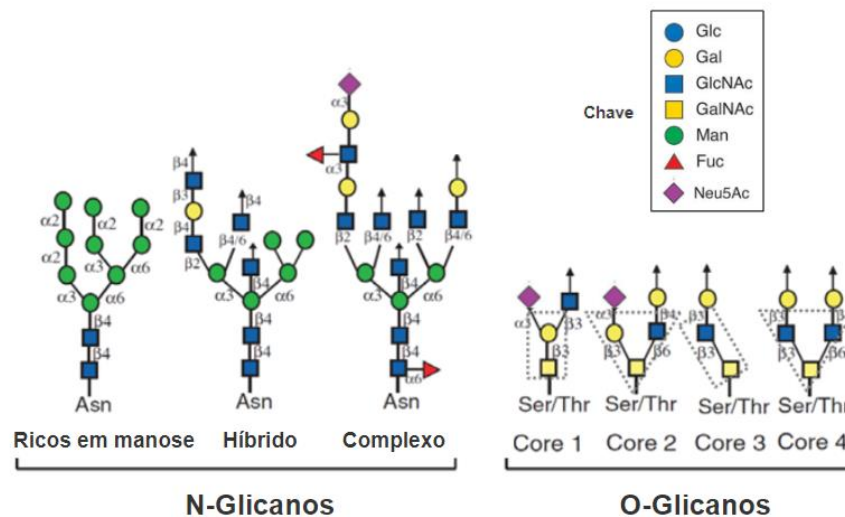


Figura 11 - **Principais estruturas de N-glicanos e O-glicanos:** Exibição de diferentes tipos de ligações ao nível dos N-glicanos (ligados à Asn) e O-glicanos (ligados a Ser/Thr). Os N-glicanos são estruturas maiores e mais processadas. As setas são indicativas de extensão. As ligações entre os monossacáridos estão assinaladas com a configuração anomérica do monossacárido ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) e o número do carbono do monossacárido que contém o grupo hidroxilo ao qual está ligado. Nos O-glicanos, as estruturas centrais mais comuns (core 1, 2, 3 e 4) estão delineadas por caixas pontilhadas. (Adaptado de (59)).

A glicosilação de proteínas ocorre, principalmente, na via secretora da célula - RE e CG. Alguns tipos de glicosilação de proteínas têm lugar em ambos os organelos, outros em apenas um (60). Independentemente de serem tipos de glicosilação diferentes, podem coexistir na mesma célula e na mesma proteína (61).

### 2.2.2.1 N-glicosilação

No que se refere à N-glicosilação, a biossíntese dos N-glicanos ocorre em dois compartimentos celulares distintos: inicia-se no RE (figura 12 a) e termina no CG (figura 12 b, c e d).

O início do processo caracteriza-se pela formação de um oligossacárido composto por 14 resíduos, associado a um grupo fosfato de dolicol, dando origem a um transportador glicolípídico (figura 12 a-1) na membrana do RE, no lado citoplasmático. Aqui, são adicionados ao transportador, dois resíduos de N-acetilglicosamina (GlcNAc) e cinco de Manose (Man). De seguida, o glicano ligado ao lípido é translocado através da membrana para o lúmen, local onde ocorre a fase seguinte. Esta, corresponde à adição sequencial de quatro Man e três Glc, estando finalizada a síntese do oligossacárido Glc<sub>3</sub>Man<sub>9</sub>GlcNAc<sub>2</sub> (62).

O oligossacárido recém-sintetizado é transferido para o aminoácido Asn do polipéptido nascente, pela enzima oligossacariltransferase (OST). Este passo traduz-se na ligação covalente de GlcNAc, presente no oligossacárido, ao nitrogénio dos grupos amida das cadeias laterais presentes no aminoácido Asn. (figura 12 a-2) Além de que, requer uma sequência receptora de N-glicosilação específica - Asn-X-Ser/Thr, ou, em raras instâncias, Asn-X-Cisteína, onde X pode ser qualquer aminoácido, exceto Prolina (Pro) (61,62). Ainda neste local, os resíduos de Glc são removidos por ação de duas  $\alpha$ -glicosidases ( $\alpha$ -Glc I-II) (figura 12 a-3) e um resíduo de Man inicial é removido pela  $\alpha$ -manosidase (ER  $\alpha$ -Man) (figura 12 a-4).

Após o processo de verificação de controlo de qualidade, a glicoproteína é levada para o CG. O seu percurso dá-se na direção cis - médio - trans Golgi, onde vai sofrendo modificações por diversas enzimas, nomeadamente  $\alpha$ -manosidase I e II ( $\alpha$ -Man I-II), GlcNAc-transferase I-IV (GnT-I-IV),  $\beta$ 1,4 galactosiltransferases (Gal-T),  $\alpha$ 2,3 sialiltransferase ( $\alpha$ 2,3, Sialyl-T) e  $\alpha$ 2,6 sialiltransferase ( $\alpha$ 2,6 Sialyl-T) (figura 12 b, c, e d) (50).

Durante o processo de maturação no CG, mediado por estas GTs e glicosidases, são gerados três tipos de N-glicanos: os ricos em Man (cis Golgi) (figura 12 b-1), os híbridos e os complexos (trans Golgi) (figura 12 d-1 e d-2). Os do primeiro tipo, também designados oligomanoses, caracterizam-se pela adição entre cinco e nove resíduos de Man, sendo que

as suas ramificações terminais são compostas apenas por este monossacárido. Os híbridos apresentam características estruturais, tanto do tipo ricos em Man, quanto do tipo complexo. Os complexos são gerados a partir da ação de  $\alpha$ -Man, nos quais a adição de GlcNAc permite o alongamento das cadeias, que podem ser decoradas pela ação de transferases com Gal, GlcNAc, Fuc e Neu5Ac.

Apesar dos N-glicanos exibirem uma ampla variedade de estruturas, que são cruciais para desempenhar os mais diversos papéis funcionais nas células (63), todos eles contêm uma região central pentassacarídica comum, três resíduos de Man e dois de GlcNAc (64).

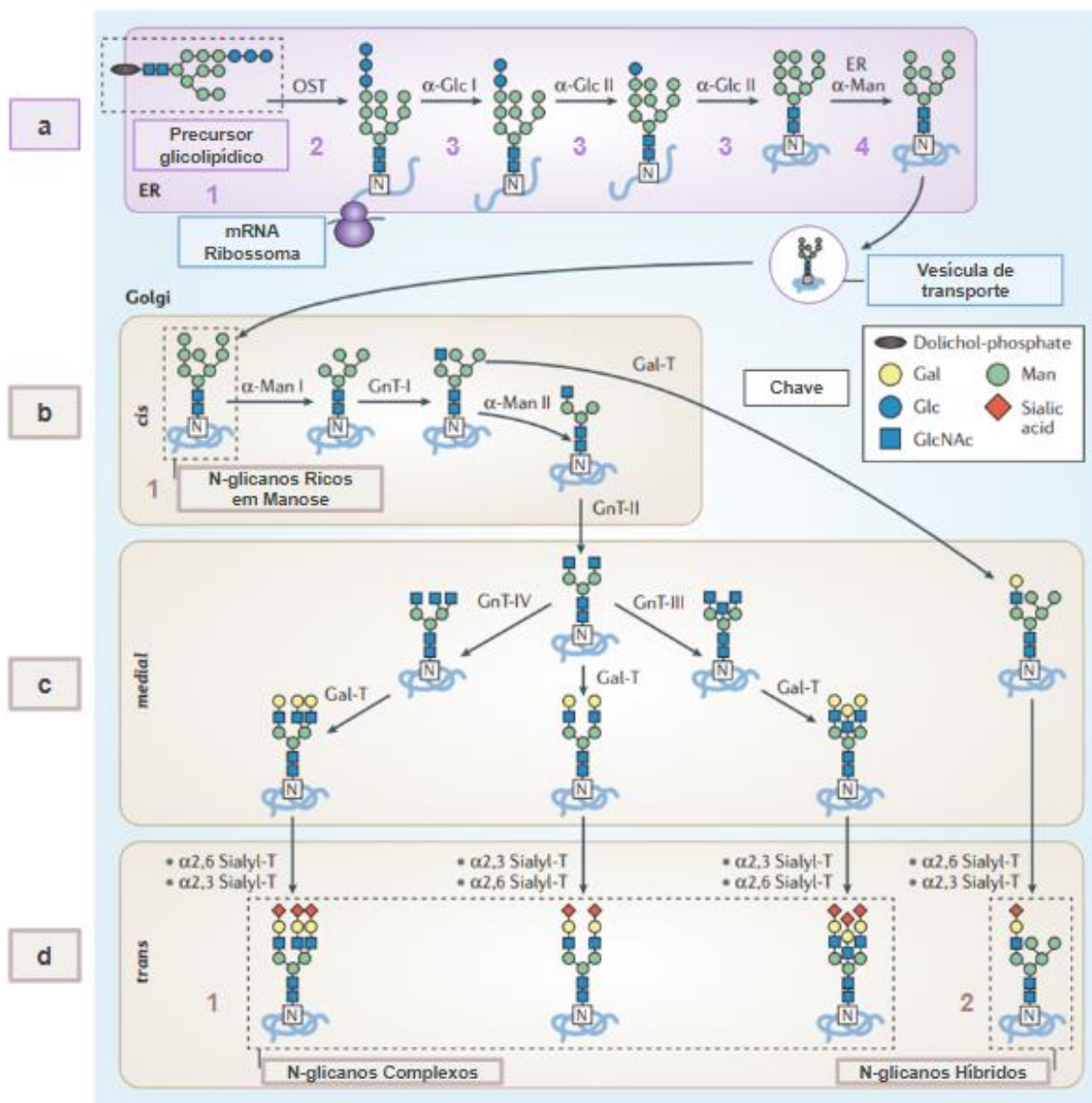


Figura 12 - **Biossíntese de N-glicano na via secretora.** Síntese de N-glicano iniciada no retículo endoplasmático (ER) (a), pela transferência do oligossacarídeo Glc3Man9GlcNAc2 do precursor glicolípido (a-1) para o aminoácido Asn pela OST (a-2). Os resíduos de glicose são removidos

sequencialmente por duas  $\alpha$ -Glc I-II (a-3) e um resíduo de Man inicial é removido pela ER  $\alpha$ -Man (a-4). Após verificação de controlo de qualidade, a glicoproteína vai para o CG (b, c e d), onde ocorrem modificações no glicano, com um deslocamento de cis -médio - trans Golgi, criando-se uma infinidade de N-glicofomas, existindo três principais tipos: os ricos em manose (b-1), os híbridos e os complexos (d-1 e d-2). (Adaptado de (50)).

### **2.2.2.2 O-glicosilação**

O processo de O-glicosilação corresponde à adição de glicanos, numa série de reações divididas por etapas, que se iniciam com a ligação covalente de um monossacárido ao átomo de oxigénio presente no grupo hidroxilo, mais comumente, dos aminoácidos Thr ou Ser (62).

Neste processo, a associação dos glicanos às proteínas acontece de uma forma muito mais ambígua (65). Comparativamente com a N-glicosilação, não existem sequências alvo específicas como Asn-X-Ser/Thr, ou seja, o local para a O-glicosilação é simplesmente o aminoácido com o grupo hidroxilo funcional (50,65). Além de que, não carece de uma estrutura glicana inicial típica. Em vez disso, a O-glicosilação pode ocorrer através da ligação monossacarídica inicial de Man, Gal, Glc, Fuc, Xil, GlcNAc ou GalNAc (65).

Os O-glicanos podem ser classificados, precisamente, com base neste monossacárido inicial ligado à proteína e nas estruturas de açúcar adicionais, acrescentadas ao glicano inicial. Por exemplo, a O-glicosilação do tipo mucina denota que o glicano inicial é a GalNAc. Por sua vez, os glicanos do tipo mucina podem, ainda, ser subclassificados com base nos glicanos ligados ao GalNAc inicial (50).

As duas principais vias de O-glicosilação, em humanos, são constituídas pelo monossacárido inicial de ligação GalNAc ou GlcNAc, sendo o primeiro caso, o mais comum (50,65).

#### **2.2.2.2.1 O-glicosilação do Tipo Mucina (O-GalNAcilação)**

Em células saudáveis, a via de biossíntese de O-GalNAc é restrita ao CG (66).

A O-glicosilação do tipo GalNAc é, muitas vezes, denominada O-glicosilação do tipo mucina, devido à sua abundante ocorrência em mucinas (60). De fato, as mucinas (MUCs) são glicoproteínas de grande massa molecular, da qual 50-80% corresponde à sua parte glicana, constituída por centenas de glicanos O-GalNAc (49). Este facto justifica-se por possuírem bastantes domínios repetitivos, ricos em Ser e Thr, que são alvos da O-glicosilação (60).

A O-glicosilação do tipo mucina é iniciada por uma enzima da família de polipéptidos N-acetilgalactosaminiltransferases (ppGalNAcTs) residentes no Golgi, responsáveis por

modificar os resíduos Ser e Thr de proteínas recém-sintetizadas, pela adição de um resíduo de GalNAc (67). A adição subsequente de outros resíduos à GalNAc, que ocorre à medida que a proteína se movimenta através dos compartimentos cis-, medial- e trans-Golgi, determinará o tipo de estrutura central (66). Contrariamente aos N-glicanos, não ocorre processamento. Em vez disso, as cadeias do O-glicano são modificadas por GTs distintas, que podem expandir a estrutura já existente (50) (figura 13).

Embora tenham sido identificados oito tipos de estruturas centrais de glicanos O-GalNAc, as estruturas dos cores 1 a 4 são os tipos mais comuns (figura 13). As restantes são altamente restritas e, portanto, muito menos abundantes, entre as quais a estrutura do core 7 nem foi encontrada em humanos (68).

Ora, a estrutura mais simples GalNAc-O-Ser/Thr (antigénio Tn) pode ser modificada por uma Gal-transferase (C1GalT1), que catalisa a adição de um resíduo de Gal, levando à biossíntese do core 1 (antigénio T). Esta atividade enzimática é dependente da ação da COSMC (chaperona molecular específica do core 1  $\beta$ 3GalT). Outra estrutura core comum é a que contém uma ramificação de GlcNAc, ligada ao core tipo 1, designada core tipo 2. Esta etapa enzimática é realizada pela família de enzimas C2GnT. Alternativamente ao resíduo de Gal e dependendo do tecido e do contexto celular, também um resíduo GlcNAc pode ser adicionado cataliticamente ao antigénio Tn, desta vez por um GlcNAc-T da família C3GnT, formando a estrutura do core 3. Por sua vez, esta pode ser ainda decorada com um segundo resíduo GlcNAc, pela enzima C4GnT, constituindo a estrutura do core 4.

Estas estruturas centrais são, geralmente, estendidas e terminadas com ácido siálico e resíduos de Fuc (60).

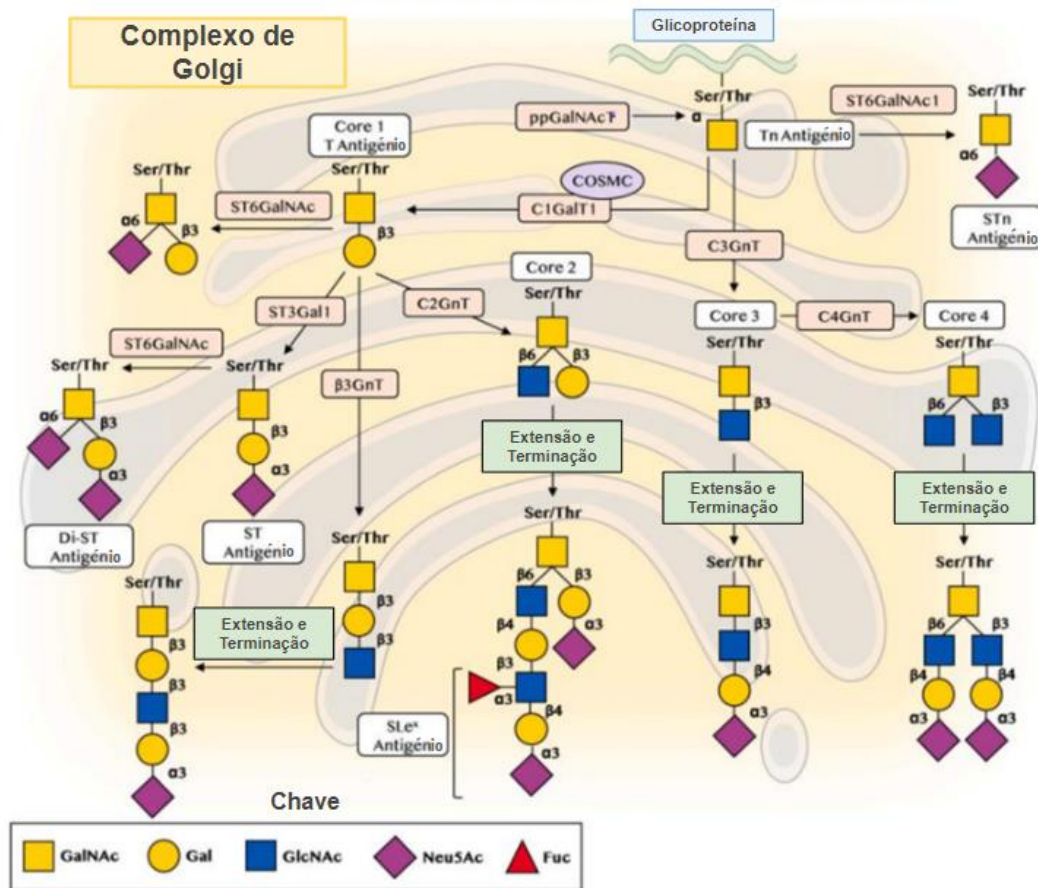


Figura 13 - Biossíntese de O-glicanos do tipo GalNAc: O-GalNAcilação.

(Adaptado de (60)).

#### 2.2.2.2.2 O-glicosilação do Tipo O-GlcNAc (O-GlcNAcilação)

O-GlcNAcilação é diferente de outras formas comuns de glicosilação de proteínas em vários aspectos (49).

Primeiro, a ligação de GlcNAc a Ser ou Thr ocorre, principalmente, em glicoproteínas intracelulares, presentes nos compartimentos nuclear, mitocondrial e citoplasmático (figura 9). Segundo, ao contrário do que acontece na O-glicosilação do tipo mucina, a adição de GlcNAc, normalmente, não ocorre no CG (50) e não é alongada ou modificada para formar estruturas mais complexas. E, por fim, contrastando com a natureza relativamente estática dos N- e O-glicanos maduros nas glicoproteínas, GlcNAc é adicionada e removida várias vezes no ciclo de vida de uma proteína (49).

Este processo altamente dinâmico, que parece ser exclusivo deste tipo de glicosilação, é regulado por O-GlcNAc transferases (OGTs) e O-GlcNAcases (OGAs), cujo substrato doador é UDP-N-acetilglicosamina (UDP-GlcNAc). Embora existam diferentes formas dessas

enzimas, dependendo do compartimento celular, todas elas realizam o mesmo ciclo rápido e reversível de adição e remoção de GlcNAc de substratos proteicos (50).

Esta O-glicosilação intracelular parece ser significativamente impulsionada pela concentração disponível de UDP-GlcNAc, produzido pela via biossintética da hexosamina (HBP) (69).

### 3 Aberração Glicómica no Cancro

A aberração glicómica traduz-se na alteração dos padrões de glicosilação (54).

A glicosilação tem a capacidade de controlar processos fisiológicos, mediar várias interações que ocorrem na célula, exercer papel, quer nas interações célula-célula e célula-matriz, quer na sinalização celular e na imunidade. Este facto faz com que alterações nos padrões de glicosilação comprometam o correto funcionamento destas funções a nível celular e, conseqüentemente, estejam associados a inúmeras patologias, entre as quais se inclui o cancro (62).

Padrões aberrantes de glicosilação associados ao cancro foram descritos, pela primeira vez, na **década de 1970** (70). Desde então, evidências crescentes levam a querer que os glicanos assumem um papel crucial durante todas as etapas da progressão tumoral, uma vez que estão capacitados para regular a proliferação tumoral, invasão, angiogénese e metástase - pontos críticos da patologia. Posto isto, a glicosilação aberrante tem sido proposta como uma característica universal de todos os cancros (64).

As células tumorais exibem uma ampla gama de alterações de glicosilação em comparação com os seus homólogos de células saudáveis. Mecanicamente, as alterações nos padrões de glicosilação seguem um de dois processos, chamados de processo de síntese incompleta e o processo de neo-síntese.

O **processo de síntese incompleta** é mais comum nos estadios mais precoces do cancro e caracteriza-se como consequência do impedimento da normal síntese de glicanos em células saudáveis, levando à biossíntese de estruturas truncadas, como é o caso da expressão do antígeno STn. O **processo de neo-síntese** é encontrado nos estadios mais avançados e está relacionado com a indução de certos genes, por ação do tumor, envolvidos na expressão de epítopos glicosídicos, como é o exemplo da expressão de certos antígenos como o Sialyl Lewis a (SLe<sup>a</sup>) e Sialyl Lewis x (SLe<sup>x</sup>) (57).

A expressão alterada de glicanos pode ser atribuída a uma variedade de fatores. Estes podem incluir a disponibilidade das moléculas precursoras da reação de glicosilação, alterações na conformação terciária do esqueleto peptídico e na cadeia de glicano nascente e ainda a **sub** ou **sobreexpressão das GTs** e **alteração da sua localização na via secretora** (63).

As alterações mais comuns do glicoma associadas ao cancro são a sialilação, fucosilação, O-glicanos truncados e ramificações de N- e O-glicanos (57).

O processo de sialilação corresponde à adição terminal de ácidos siálicos (o ácido N-acetilneuramínico - Neu5Ac - é o mais comum em humanos) por enzimas específicas designadas sialiltransferases, que se localizam no CG (62). Estas enzimas distinguem-se com base na estrutura aceitadora na qual atuam e no tipo de ligação que formam, havendo 3 subtipos - ST3, ST6 e ST8- , tendo em conta se a ligação glicosídica entre C2 do ácido siálico é com a hidroxilo C3, C6 ou C8 do glicano, respetivamente. Assim, os ácidos siálicos podem ser adicionados por uma ligação  $\alpha$ -2,3 à galactose (ST3Gal), por uma ligação  $\alpha$ -2,6 à Gal (ST6Gal) ou GalNAc (ST6GalNAc) e por uma ligação  $\alpha$ -2,8 (ST8SIA) a outras unidades de ácido siálico, formando estruturas denominadas de ácido polissialílico (71,72).

A expressão aberrante destas sialiltransferases é observada no cancro, sendo uma característica comum das células cancerígenas o aumento de 40-60% da sialilação da superfície celular - apresenta uma densa camada de sialoglicanos, como STn, ST, antígenos de Sialil Lewis, ácidos polissialílicos e gangliosídeos (figura 14) (71,72)

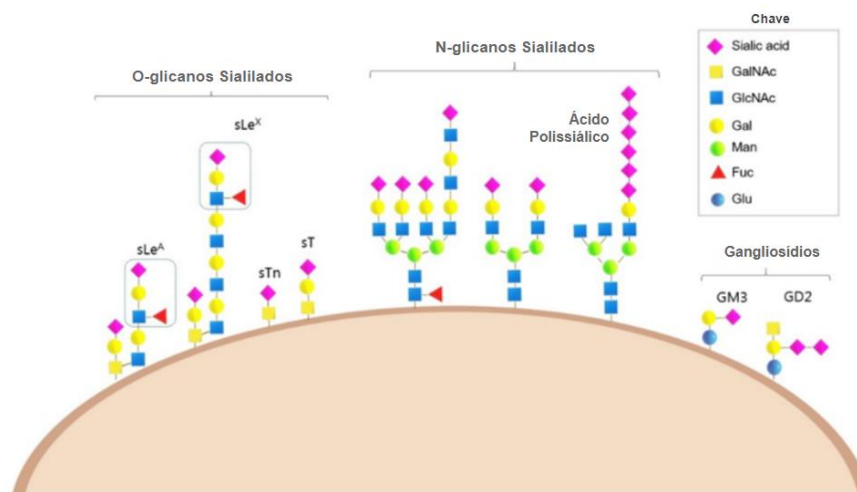


Figura 14- Representação esquemática da superfície de uma célula cancerígena com níveis aumentados de glicanos sialilados. Sialil Lewis A (SLe<sup>a</sup>), Sialil-Lewis X (SLe<sup>x</sup>), sialil-Tn (STn), Sialil-T (ST), ácido polissialílico e gangliosídeos, como GM3 e GD2. (Adaptado de (71)).

As sialidases, por sua vez, são as enzimas responsáveis pela clivagem dos ácidos siálicos, havendo 4 tipos (Neu-1, Neu-2, Neu-3 e Neu-4) cada uma com diferente localização celular, especificidade de substrato e impacto/mecanismo na malignidade cancerígena distinta (71). Os ácidos siálicos são monossacáridos de 9 carbonos, carregados negativamente, e são frequentemente encontrados nas posições terminais de glicanos, estando na vanguarda de vários processos biológicos cruciais, como fornecer estabilidade à membrana e modular interações entre moléculas/ células/ microambiente. Tal como acontece com o glicoma, cada tipo de célula de cada organismo expressa o seu próprio sialoma (49).

No que diz respeito à fucosilação, é catalisada por inúmeras fucosiltransferases (Fuc-Ts), que são as enzimas responsáveis pela síntese de glicanos fucosilados, transferindo a fucose do dador GDP-fucose para diferentes recetores. Existem diferentes Fuc-Ts e os genes do genoma humano que as codificam são divididos em  $\alpha$ 1,2-FUT (FUT1 e FUT2),  $\alpha$ 1,3-FUT (FUT3 a FUT7 e FUT9 a FUT11),  $\alpha$ 1,3/4-FUT (FUT 3 e FUT5),  $\alpha$ 1,6-FUT (FUT-8) Pofut1 e Pofut2. É uma modificação não extensível e pode ser classificada em fucosilação central e terminal. A fucosilação terminal origina antígenos específicos como os de Lewis, enquanto a central consiste na adição  $\alpha$ 1,6-fucose para o resíduo GlcNAc mais interno de N-glicanos, por ação da Fuc-TVIII (codificada por FUT8). A expressão aberrante destas enzimas também se verifica no cancro, estando o processo de fucosilação aumentado (73).

O estudo de padrões de glicosilação aberrante é fundamental, já que estão associados a uma maior malignidade, um mau prognóstico e, por conseguinte, a uma menor sobrevivência ao cancro (55).

Para além disso, dado o diagnóstico geralmente tardio do cancro do pâncreas, biomarcadores circulantes altamente específicos para deteção e rastreamento de cancro são urgentemente necessários e seriam uma grande inovação para permitir a deteção precoce e o tratamento de mais doentes. Ora, as alterações da glicosilação de proteínas que são expressas na superfície celular, ou secretadas por células cancerígenas, são fontes promissoras de potenciais biomarcadores e contribuem para um conjunto de alvos específicos para intervenção terapêutica (64).

De seguida, serão abordadas as diferentes glicosilações aberrantes envolvidas no cancro do pâncreas e, posteriormente, será clarificado o seu papel na manifestação e progressão da doença, referenciando o enorme potencial de explorar glicanos para melhorar o diagnóstico e o tratamento.

## 4 Alterações à Glicosilação Descritas no Cancro do Pâncreas

No pâncreas normal, as proteínas glicosiladas têm funções importantes, incluindo proteção, lubrificação e hidratação dos ductos pancreáticos.

O aumento de antígenos Sialil Lewis (SLe<sup>a</sup> e SLe<sup>x</sup>), O-glicanos truncados (Tn e sTn), N-glicanos ramificados e fucosilados, O-GlcNAcilação, a regulação positiva de proteoglicanos e a sobreexpressão das respetivas enzimas envolvidas, constituem as alterações mais prevalentes no glicoma, descritas no cancro do pâncreas (64).

### 4.1 Antígenos Sialyl Lewis (SLe<sup>a</sup> e SLe<sup>x</sup>)

Os antígenos de Lewis são uma série de epítomos de hidratos de carbono com fucosilação terminal. De acordo com as diferentes ligações glicosídicas, são classificados como tipo 1 - antígeno H1, Lewis a (Le<sup>a</sup>), Lewis b (Le<sup>b</sup>) e Sialyl Lewis a (SLe<sup>a</sup>) - e tipo 2 - antígeno H2, Lewis x (Le<sup>x</sup>), Lewis y (Le<sup>y</sup>) e Sialyl Lewis x (SLe<sup>x</sup>) (74).

Daqui em diante, devido ao conteúdo a analisar, destacamos os antígenos SLe<sup>a</sup> e SLe<sup>x</sup>.

Resíduos terminais de GlcNAc em N-glicanos, O-glicanos e glicolípidos, com algumas estruturas exemplo representadas na figura 15, sofrem geralmente galactosilação (49).

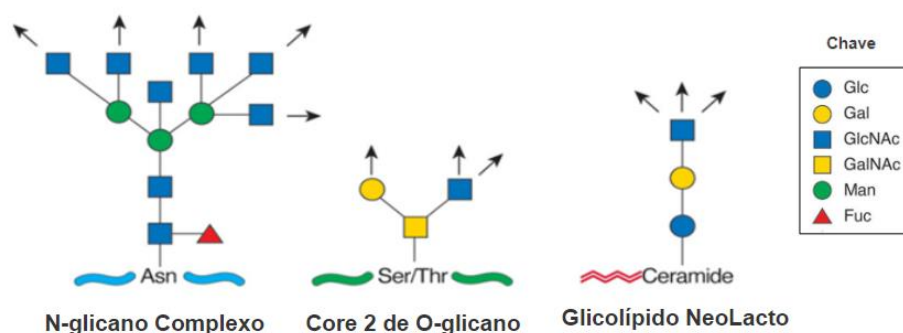


Figura 15 - Estruturas exemplificativas de glicanos com resíduos terminais de GlcNAc.

Aumento das ramificações (setas) por galactosilação.

(Adaptado de (49)).

Considerando a figura 16, o GlcNAc terminal pode ser modificado por  $\beta$ 1-3GalT, para gerar uma unidade Tipo-1 (Gal $\beta$ 1-3GlcNAc), ou por  $\beta$ 1-4GalT, formando a unidade Tipo-2 (Gal $\beta$ 1-4GlcNAc), também designada de N-acetil-lactosamina (LacNAc) (49).

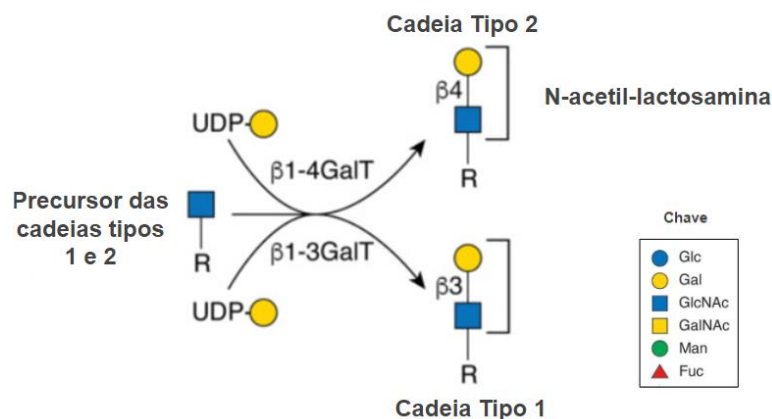


Figura 16 - **Modificações do terminal GlcNAc com formação das cadeias tipos 1 e 2.**

(Adaptado de (49)).

Ora, as unidades do tipo 1 e tipo 2 podem ser ainda modificadas por reações de glicosilação subsequentes (figura 17) (49). A modificação dos esqueletos das cadeias tipo 1 e tipo 2 por  $\alpha$ 1,3/4-Fuc-Ts conduz à biossíntese dos epítomos mono-fucosilados  $Le^a$  e  $Le^x$ , respectivamente.

Particularmente em contextos inflamatórios e de infecção, o resíduo Gal terminal das cadeias tipo 1 e tipo 2 é, comumente, modificado com um resíduo de ácido siálico ligado a  $\alpha$ 2,3. Essa etapa enzimática é mediada pelas  $\alpha$ 2,3-sialiltransferases ST3Gal3, ST3Gal4 e ST3Gal6. Enquanto ST3Gal3 atua preferencialmente nas cadeias do tipo 1, o ST3Gal4 e ST3Gal6 atuam preferencialmente nas sequências do tipo 2.

A sialilação pode ser seguida por fucosilação do GlcNAc em ligação  $\alpha$ 1,4- ou  $\alpha$ 1,3-, originando os antígenos SLe<sup>a</sup> ou SLe<sup>x</sup>, respectivamente (figura 17).

A atividade enzimática da Fuc-T, que define a biossíntese dos antígenos de Lewis, é também dependente da cadeia aceptora: FUT3 e FUT5 atuam em cadeias de tipo 1, contribuindo para a biossíntese de SLe<sup>a</sup>, enquanto a modificação de cadeias de tipo 2 é mediada por FUT3, FUT4, FUT7 e FUT9 (60).

**No pâncreas saudável, o SLe<sup>a</sup> (CA19-9) é encontrado nas superfícies epiteliais dos ductos, enquanto no cancro do pâncreas pode ser fortemente secretado no lúmen dos ductos proliferativos e passar para a corrente sanguínea (64).**

Tal como o SLe<sup>a</sup>, SLe<sup>x</sup> é expresso em mais de 80% dos câncros pancreáticos, mas, diferentemente do seu isómero, não foi detetado no pâncreas saudável (75,76).

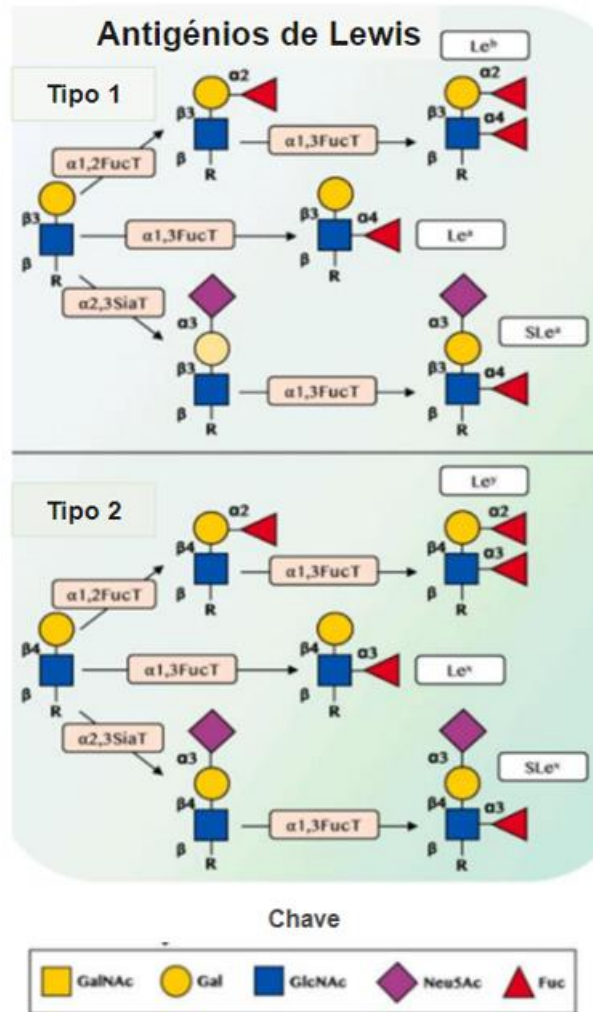


Figura 17 - Síntese dos Antígenos de Lewis derivados das cadeias de tipo 1: Lewis a (Le<sup>a</sup>), Lewis b (Le<sup>b</sup>) e Sialyl Lewis a (SLe<sup>a</sup>), e tipo 2, Lewis x (Le<sup>x</sup>), Lewis y (Le<sup>y</sup>) e Sialyl Lewis x (SLe<sup>x</sup>). (Adaptado de (60)).

#### 4.2 O-glicanos Truncados

Em células normais, no processo de O-glicosilação, a adição sequencial de diversos monossacáridos por GTs produz O-glicanos alongados e ramificados, como já referido, anteriormente. Em oposição, em células tumorais, ocorre aumento de sialilação do antígeno Tn, que bloqueia a normal extensão da cadeia de O-glicanos, levando à expressão de glicanos imaturos como o Sialil-Tn (STn), por ação da ST6GalNAc1. Uma vez que esta

estrutura não pode ser mais alongada, é bloqueada a síntese de outras estruturas glicosídicas. Desta forma, o STn não é considerado um precursor biossintético normal (62). Para além do antigénio Tn, também o antigénio T sofre aumento de sialilação, formando, os antigénios sialil-T (ST) e di-sialil-T (Di-ST), etapas estas catalizadas por ST3Gal1 e ST6GalNAc, respetivamente (figura 13) (60).

Os O-glicanos imaturos e truncados são característicos de praticamente todas as células epiteliais cancerígenas. **O pâncreas normal não expressa Tn ou STn**, mas os **níveis** dos mesmos encontram-se **elevados no cancro pancreático**.

### 4.3 N-glicanos

A glicosilação aberrante ligada a N é comum no cancro do pâncreas. Em particular, as células cancerígenas pancreáticas, exibem, frequentemente, **níveis aumentados de N-glicanos altamente ramificados** e ainda alterações na sialilação ou fucosilação neste tipo de glicanos (64).

### 4.4 Via HBP

A via HBP é uma via metabólica da Glc, que geralmente representa apenas 2-5% do metabolismo total da Glc (69).

É considerada um sensor metabólico unificador que integra hidratos de carbono, ácidos gordos, aminoácidos, nucleótidos e metabolismo energético para produzir UDP-GlcNAc (68), (figura 18), que é posteriormente usado no processo de glicosilação, incluindo a modificação pós-traducional (O-GlcNAcilação) de proteínas intracelulares (77).

A O-GlcNAcilação depende, assim, da concentração de Glc (68). Ora, uma das duas características emergentes do cancro é a reprogramação celular do metabolismo energético (77), pelo que, **quando o cancro pancreático se desenvolve**, verifica-se uma atividade aumentada da via HBP, e, conseqüentemente, um **aumento da O-GlcNAcilação** (78).

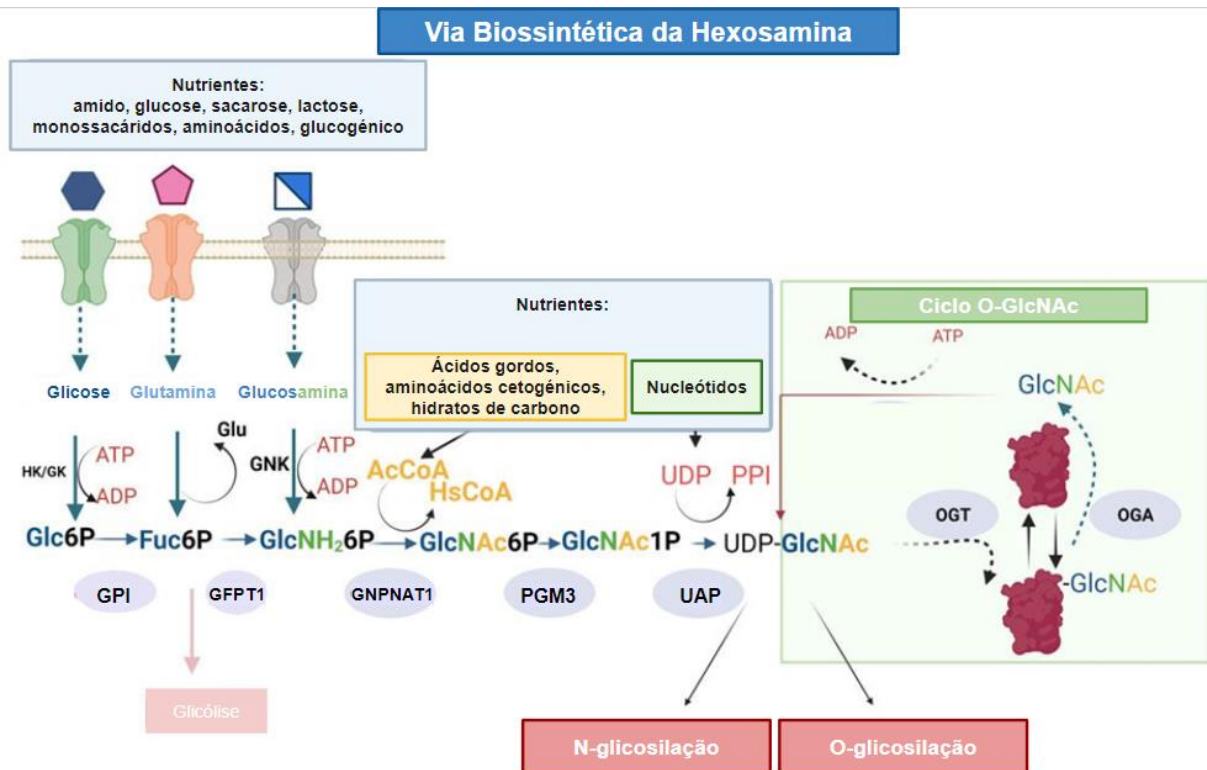


Figura 18 - Responsabilização da via biossintética da hexosamina (HBP) na produção do substrato para a glicosilação de proteínas, UDP-GlcNAc. Fosforilação da glicose pela hexoquinase (HK), com produção de glicose-6-fosfato (Glc6P), que é convertida em frutose-6-fosfato (Fuc6P) pela fosfoglicose isomerase (GPI). Neste ponto, a (Fuc6P) pode seguir na via HBP ou continuar através da glicólise para produzir piruvato. Na etapa limitante da HBP, a glutamina-frutose-6-fosfato transaminase 1 (GFPT1) catalisa a conversão de Fuc6P e do doador do grupo amina, a glutamina, em glucosamina-6-fosfato (GlcN-6P) e glutamato (Glu). As reações subsequentes da glucosamina-6-fosfato N-acetiltransferase (GNPNAT1), fosfoglucomutase 3 (PGM3) e N-acetilglucosamina pirofosforilase 1 (UAP1) contribuem para a síntese de UDP-GlcNAc, que pode ser usado na N- e O-glicosilação. A O-GlcNAcilação é um processo dinâmico regulado por OGT e OGA, enzimas estas que utilizam UDP-GlcNAc como substrato, adicionando e removendo, respetivamente, GlcNAc da proteína, num ciclo rápido e reversível.

(Adaptado de (68)).

#### 4.5 Proteoglicanos

As células cancerígenas também podem apresentar alterações nos proteoglicanos. Vários podem encontrar-se **sobreexpressos no cancro do pâncreas**, nomeadamente sindecano, glipicano, versicano, decorina, lumicano e biglicano (64).

## 5 Impacto da Aberração Glicómica nas Diferentes Fases de Manifestação e Progressão do Cancro Pancreático

### 5.1 Contribuição para a Sinalização Proliferativa e Pró-tumorigénica

#### 5.1.1 Eventos de Sinalização Intracelular Regulados por Glicosilação

A sinalização intracelular mediada por glicosilação é principalmente mediada pela **O-GlcNAcilação**, que altera a localização e a atividade de enzimas metabólicas, histonas e reguladores transcricionais (79).

A título de exemplo, Sp1 é um fator de transcrição, cuja atividade transcricional é regulada por uma série de modificações, incluindo a O-GlcNAcilação, catalisada pela OGT. Esta enzima facilita a sua translocação para o núcleo e controla a sua atividade. Ora, o aumento da ativação da via HBP no cancro do pâncreas, por sua vez, resulta no aumento da OGT, havendo, assim, a sobreexpressão de Sp1 e, conseqüentemente, de uma classe de proteínas, que assumem um papel crucial na sobrevivência das células tumorais pancreáticas - as proteínas de choque térmico (HSPs) (80).

Tal como Sp1, também outros fatores de transcrição, incluindo  $\beta$ -catenina (81), SOX2 (82), FOXO3 (83) e YAP (84), sofrem modificação com O-GlcNAc (figura 19), que assume um papel na sua estabilização intracelular - regula a sua translocação nuclear e atividade transcricional - promovendo, subseqüentemente, determinadas expressões genéticas que conferem fenótipos de células cancerígenas proliferativas e antiapoptóticas.

A inibição da O-GlcNAcilação pode reduzir o crescimento e a progressão do tumor pancreático, sugerindo que a via HBP é um potencial alvo terapêutico (64).

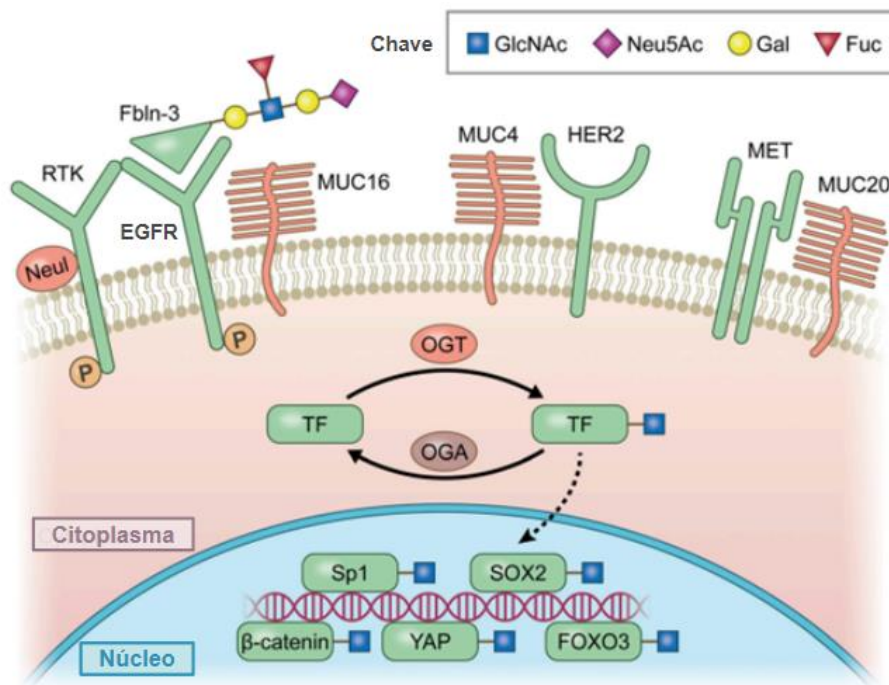


Figura 19 - **Impacto da glicosilação aberrante na sinalização celular no cancro pancreático.** A O-GlcNAcilação de fatores de transcrição (TF) catalisados pela OGT, tais como Sp1, SOX2, β-catenina, YAP e FOXO3, demonstra regular a sua localização e atividade nuclear. Na membrana celular, associações de mucinas tais como MUC16, MUC4, e MUC20 com RTKs tais como EGFR, HER2, e MET têm revelado modular a sinalização subsequente. A atividade enzimática da Neu1 nos recetores da superfície celular demonstra o seu impacto na dimerização do recetor. A modificação dos ligandos do receptor, como a Fibulina-3 (Fbln3), aumenta a afinidade com o EGFR. (Adaptado de (78)).

Em tumores de rápido crescimento, é comum a disponibilidade de oxigénio ficar comprometida, devido à vascularização insuficiente. Por consequência, o tecido evolui para uma condição de hipoxia (85), sendo que o cancro do pâncreas é caracterizado por um dos níveis mais reduzidos de oxigénio dentro da massa tumoral (86).

Perante esta condição a que as células cancerígenas são sujeitas, uma variedade de vias de sinalização celular são ativadas (87). Conjuntamente a uma angiogénese aprimorada, desenvolvem uma resposta adaptativa eficiente, que se traduz na reprogramação das vias metabólicas para minimizar o consumo de oxigénio e garantir a sua sobrevivência e proliferação (86). Assim, uma mudança metabólica importante é a da fosforilação oxidativa para a glicólise, envolvendo um aumento da captação da Glc. Além disso, também há um aumento da utilização da glutamina (Gln), que é aproveitado como fonte de combustível de carbono para a sobrevivência neste ambiente (88). Tanto a Glc, como a Gln, contribuem para a via HBP (figura 18) (89).

Assim, pode depreender-se que **hipóxia, via HBP e O-GlcNAcilação** convergem no cancro do pâncreas. A hipóxia conduz ao aumento da utilização de Gl e Gln, aumenta a expressão de GFPT1, que catalisa a primeira e a etapa limitante da via HBP (figura 18) e, por consequente, à elevação dos níveis de OGT, OGA e O-GlcNAc, essenciais à O-GlcNAcilação. Assim, evidencia-se o papel proeminente que o microambiente tumoral desempenha na regulação da sinalização intracelular das células tumorais, mediada pela glicosilação. No entanto, a etapa limitante da via HBP, centralizada em alimentar a glicosilação aberrante de proteínas no cancro, apresenta uma vulnerabilidade terapêutica, uma vez que, ao usar antagonistas de GFPT, a modificação da proteína O-GlcNAc é interrompida, diminuindo a proliferação, sobrevivência e invasão celular e aumentando a apoptose induzida pela privação de nutrientes (90).

Além da O-GlcNAcilação, também a modificação e estabilização de outras proteínas intracelulares por **sialilação** foram descritas. É o caso do HIF-1 $\alpha$ , que induz a expressão de genes impulsionadores dos processos de angiogénese e metabolismo anaeróbico. Verificou-se que a atividade de **ST6Gal-I**, enzima com elevados níveis no cancro do pâncreas, potencializa a sinalização de HIF-1 $\alpha$ . Mais investigações serão necessárias para entender completamente o mecanismo, mas de facto, clarificou-se a capacidade de facilitação da adaptação de hipóxia por uma sialiltransferase, que assume um papel mediador na sinalização intracelular (87).

### 5.1.2 Sinalização do Receptor de Superfície Celular Mediada por Glicosilação

Tal como as proteínas intracelulares, também a atividade do recetor da membrana celular é alterada por meio de modificações de glicosilação.

Deste modo, os arranjos conformacionais dos recetores podem ser afetados, causando ativação e sinalização aberrantes (51).

Nesta vertente, a enzima **ST6Gal-I** contribui para a sobrevivência celular, desta vez de células cancerígenas pancreáticas com microambientes tumorais ricos em TNF. TNF é uma citocina altamente pleiotrópica, que se liga ao receptor do fator de necrose tumoral 1 (TNFR1), mediando múltiplos processos celulares, incluindo sobrevivência e apoptose. Enquanto a sinalização associada à sobrevivência é iniciada por TNFR, na membrana plasmática, e mediada pelo NF- $\kappa$ B, a sinalização associada à apoptose implica a internalização de TNFR1. No entanto, o efeito da  $\alpha$ -2,6-sialilação do TNFR1 traduz-se na inibição da sua internalização, conferindo resistência à apoptose induzida por TNF (91).

Paralelamente, ST6Gal-I está também envolvida num mecanismo de quimiorresistência, pois a não internalização do TNFR1 potencializa a sinalização associada à sobrevivência, juntamente com uma superativação de NF- $\kappa$ B, que oferece resistência à gemcitabina (92).

A **Neuraminidase 1 (Neu-1)** desempenha um papel fundamental na tumorigénese no cancro pancreático. Esta glicosidase regula muitos receptores de membrana, incluindo receptores de Tirosina Quinase (RTKs) e receptores Toll-Like (RTLs), clivando os seus resíduos de ácido siálico terminais ( $\alpha$ -2,3-sialil), que resulta na ativação destes receptores.

Essencialmente, a ligação do ligando induz uma mudança conformacional do receptor para iniciar a ativação de Neu1, que, após realizar a disialilação, remove o impedimento estérico do mesmo e permite a sua dimerização (figura 19) (93,94). Um exemplo é a ativação do receptor de tirosina quinase EGFR, induzida pelo fator de crescimento epidérmico (EGF) (95), necessária para a tumorigénese pancreática induzida por KRAS (96).

Evidencia-se assim, um papel crítico para a glicosilação na regulação da transformação epitelial, uma vez que a ativação de RTK, dependente de Neu1, representa uma vulnerabilidade perante aspirina e inibidores de neuraminidase, como Tamiflu, capazes de inibir a atividade de Neu1 e prevenir a fosforilação de EGFR. Consequentemente, suprimem a sinalização que pressupõe progressão e metástase pancreática (93).

A estabilização dos recetores da membrana celular também é crucial para a sua atividade e é influenciada por glicoproteínas de alto peso molecular chamadas **mucinas**, que contribuem na lubrificação da mesma, formação de uma barreira de proteção e sinalização celular (97). As mucinas assumem papéis importantes em diferentes estágios do CP. A sua expressão e glicosilação mostra-se aberrante durante a transição de tecido pancreático normal para neoplásico (98). De facto, estas proteínas fortemente O-glicosiladas potenciam a sinalização pró-tumorigénica, através de uma variedade de mecanismos (figura 19). Por exemplo, o **MUC16** interage com os recetores de EGF (99), **MUC4** com HER2 (100), **MUC20** com MET, interações estas que originam sinalizações celulares, que desencadeiam alterações pró-tumorigénicas no comportamento celular, incluindo aumento na viabilidade celular, migração e invasão (101).

Outro mecanismo, pelo qual a sinalização da superfície celular é alterada na doença pancreática caracteriza-se pela modificação dos ligandos, que podem ser decorados com glicanos. **SLe<sup>a</sup>** insere-se neste contexto, pois aumenta a glicosilação de fibulina-3 (Fbln3), ligando do EGFR, promovendo, assim, uma maior interação ligando/recetor (figura 19). Desta

forma, a expressão deste antígeno potencia a sinalização subsequente da ativação, ou neste caso, hiperativação, do EGFR (102,103).

Apesar de todos os estudos já realizados, desde a área de investigação mecanística à de desenvolvimento terapêutico, ainda muitos aspetos precisam de ser clarificados quanto ao modo como os eventos glicómicos influenciam as alterações nas vias de sinalização do cancro a níveis genómico, proteómico e metabolómico, para facilitar a progressão do mesmo. (104).

## 5.2 Papel da Glicosilação na Invasão e Metástase

### 5.2.1 Sialilação e Fucosilação da Superfície Celular

A **sialilação** aberrante não é apenas um resultado do cancro, mas também um condutor do fenótipo maligno (figura 20), influenciando diretamente vários processos-chave, entre eles a transição epitelial-mesenquimal (EMT) - processo fundamental para a aquisição do potencial metastático do tumor, que permite que uma célula epitelial, ao sofrer alterações, adquira um fenótipo de célula mesenquimal, cuja capacidade de migração, invasão e resistência à apoptose aumenta (105). Da mesma forma, a **fucosilação** aberrante revelou-se influenciadora na aquisição destas capacidades (figura 20), tendo-se verificado a sobreexpressão das fucosiltransferases codificadas pelos genes FUT3, FUT5 e FUT6 nas células cancerígenas pancreáticas (106). A título de exemplo, também podemos referir a sobreexpressão de algumas sialiltransferases no cancro do pâncreas, com papel causal na EMT, como a ST6Gal-I, cujo mecanismo não está ainda esclarecido (107), e as ST3Gal III e IV, que estão implicadas na sobreexpressão dos antígenos Lewis (108,109).

Também a expressão aberrante dos **antígenos Lewis sialilados e fucosilados, SLe<sup>a</sup> e SLe<sup>x</sup>**, nas células cancerígenas pancreáticas, está fortemente associada ao processo de metastase. Estes isómeros têm a capacidade de reconhecimento e ligação à E-selectina, uma molécula de adesão celular que, sob condições de inflamação, é expressa na superfície de células endoteliais. Durante a inflamação, a adesão de leucócitos ao endotélio, com subsequente passagem da corrente sanguínea para o tecido circundante, é possibilitada pela interação de SLe<sup>x</sup>, expresso na superfície celular de leucócitos, com a E-selectina. Da mesma forma, as células cancerígenas, ao expressarem os antígenos SLe<sup>a</sup> e SLe<sup>x</sup>, conseguem mimetizar este mecanismo de adesão e migração, iniciando a invasão dos tecidos (figura 20).

Assim, torna-se visível o papel determinante destes glicanos no potencial metastático do cancro do pâncreas (110,111).

Além disso, também o aumento verificado de cadeias truncadas de O-glicanos, como **Tn** e **STn**, contribui para maior invasão celular, migração e metástase (figura 20).

Os mecanismos que conduzem a esta O-glicosilação aberrante relacionam-se com alterações nas enzimas envolvidas na extensão destes glicanos, como a C1GalT1. A C1GalT1 (T-sintase) requer a COSMC, para a extensão do antigénio Tn. No entanto, no cancro pancreático, verifica-se o silenciamento epigenético (por metilação) do gene que codifica a COSMC, com consequente inativação da C1GalT1 e aumento de Tn e STn (112).

O cancro do pâncreas é caracterizado por aberrações tanto na extensão da glicosilação de **mucinas**, bem como nos seus padrões de expressão. Ambos flutuam durante o desenvolvimento tumoral. Por exemplo, a MUC1 é expressa no pâncreas saudável, contendo o antigénio T. No entanto, nos tumores pancreáticos, para além de haver sobreexpressão de MUC1, são produzidas diferentes glicofomas desta mucina que, em vez do antigénio T, possui os antigénios Tn e STn. Esta glicosilação diferencial acentua-se mais ainda no tecido de metástase (113).

Outras alterações de glicosilação em mucinas, nomeadamente a expressão de antigénios de Lewis sialilados e fucosilados, permite-lhes a interação com selectinas, facilitando a deslocação do tumor primário para a respetiva invasão e metástase (figura 20). Estudos relataram esta alteração glicómica no tecido de cancro do pâncreas em MUC1, MUC5AC e MUC16 (114,115).

Assim, conclui-se que a sialilação, a fucosilação, os antigénios de Lewis, Tn/ STn e mucinas assumem um papel causal no aumento da capacidade metastática, onde é de realçar a complexidade dos mecanismos subentendidos de cada um dos eventos glicómicos considerados. A sua melhor compreensão será importante para conseguir combater a disseminação maligna.

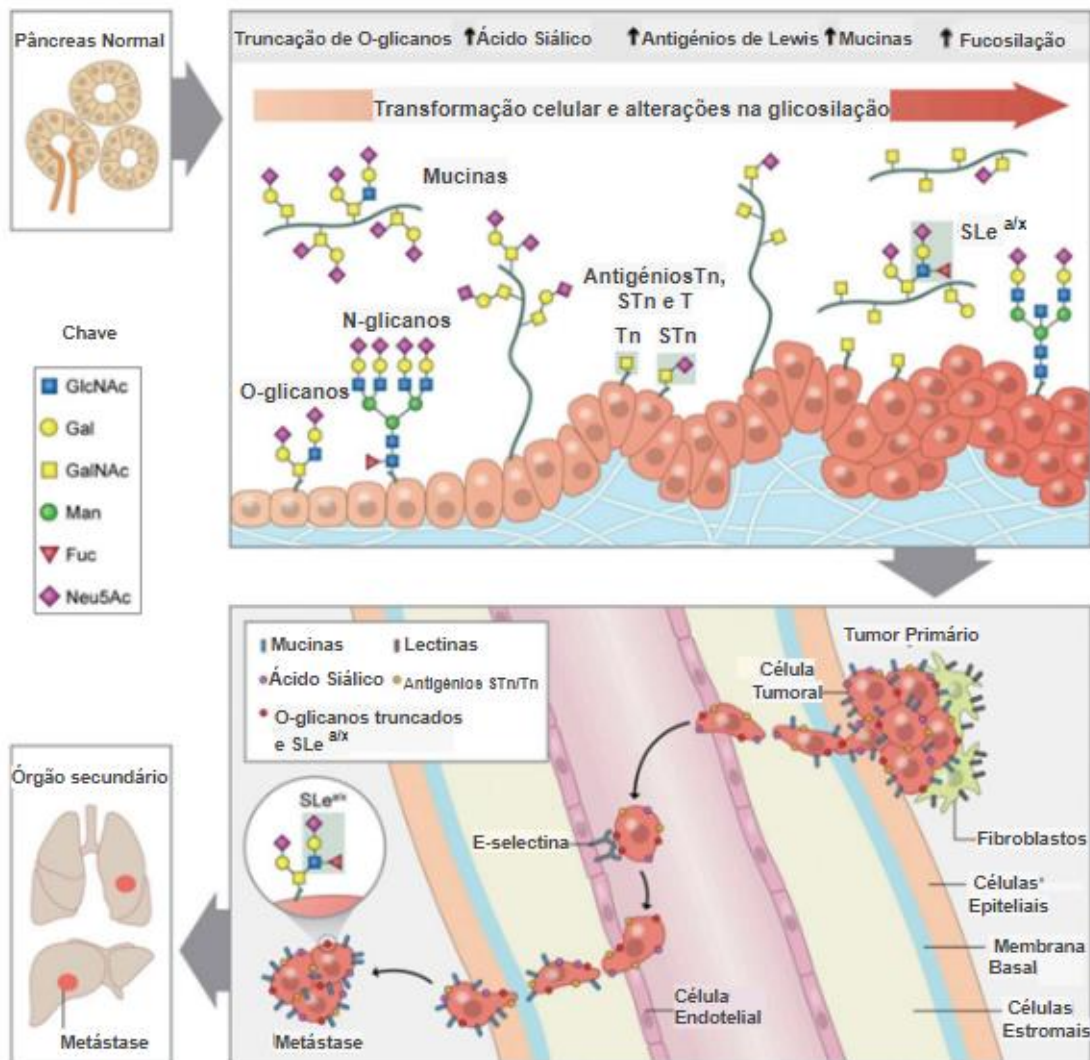


Figura 20 - Impacto das alterações aberrantes na glicosilação durante a progressão do cancro, a adesão celular e a metástase. Aumento da sialilação, antígenos Sialil Lewis, O-glicanos truncados e mucinas podem alterar a adesão celular e metástase, com consequente colonização mais eficiente de órgãos distantes, tais como o pulmão e o fígado. Os sítios metastáticos secundários, muitas das vezes, recapitulam os padrões de glicosilação aberrante do tumor primário. (Adaptado de (78)).

## 5.2.2 Glicosilação Alterada no Meio Extracelular como Influenciadora da Adesão Celular e Metastização

A superfície das células eucarióticas é coberta externamente por uma densa matriz de estruturas glicosídicas, o **glicocálce**. Numa célula saudável, é uma estrutura estável, mantida por um bom equilíbrio entre a degradação normal e a nova biossíntese dos seus

constituintes. Fazem parte da sua composição, proteoglicanos, glicolípidos e proteínas glicosiladas livres e ligados à membrana (figura 21) (116).

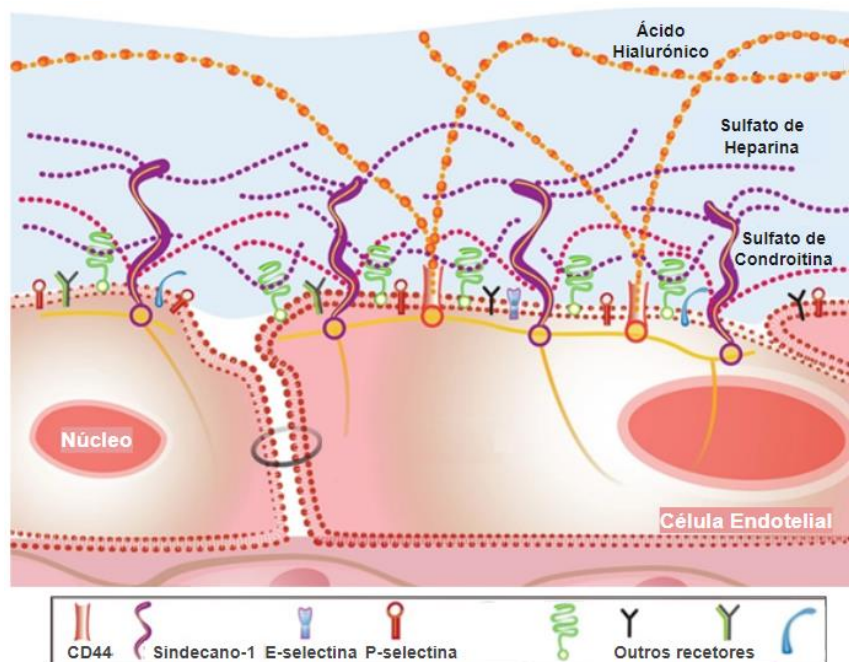


Figura 21 - **Representação esquemática do Glicocálice**. Representação de alguns dos seus GAGs, Sindecano-1 e AH, e receptores, tais como, CD44, E-selectina e P-selectina. (Adaptado de (116)).

O glicocálice desempenha um papel crítico na mediação das interações entre o tumor e o seu meio extracelular. Na célula cancerígena, ocorrem alterações na sua composição e estrutura, com base nas vantagens microevolutivas que proporcionam ao tumor, tendo influência sobre a função e expressão de receptores transmembranares, tensão celular, sinalização mediada por integrinas, interações célula-célula e célula-ECM e até reconhecimento imunológico. Para além disso, ainda se verifica um aumento significativo no tamanho do glicocálice como um todo (117).

Assim, os **glicoconjugados** podem afetar a motilidade celular, adesão e capacidade invasiva pela sua ação no meio extracelular. Na sequência do exposto, um exemplo demonstrativo, que se verifica no cancro do pâncreas, abrange os **GAGs**, que contribuem com alguns mecanismos. É o caso, por exemplo, do **sindecano-1 (SDC1)**, um GAG de HS, e do GAG secretado, que não está ligado à superfície da célula, o **ácido hialurônico (HA)** (figura 21).

A **Heparanase (HPA)** é uma endoglicosidase, altamente expressa nas células cancerígenas do pâncreas, capaz de clivar a cadeia de sulfato de heparina. Os produtos da heparanase são mais bioativos em comparação com o HS intacto. Assim, a interação **HPA-SDC1** desempenha um papel importante na regulação do fator de crescimento do fibroblasto 2 (FGF2), aumentando a sua expressão. FGF2, por sua vez, ativa o processo EMT e promove a invasão e migração das células cancerígenas do pâncreas (118).

Comparando com o pâncreas normal, verificam-se níveis aumentados de **HA** nos tecidos pancreáticos malignos, onde é secretado na matriz extracelular por células tumorais e estromais. A interação com os seus recetores específicos da superfície celular, CD44 e o recetor de motilidade mediada por HA (RHAMM), desencadeia uma variedade de vias de sinalização intracelular relacionadas com uma maior sobrevivência celular, proliferação, migração e invasão. Nomeadamente, ao ligar-se a CD44 pode ativar a via de sinalização Rac, PI3K e MAPK, enquanto ao ligar-se a RHAMM, ativa a FAK.

Para além disso, o HA abundante provoca um aumento da pressão do fluído intersticial, que colapsa a vasculatura, criando uma barreira ao acesso de agentes quimioterapêuticos (119).

### 5.3 Glicoconjugados no Microambiente Imune

#### 5.3.1 Glicosilação Aberrante como Facilitadora da “Fuga” do Tumor ao Sistema Imunitário

Eventos glicómicos aberrantes, que se sucedem no cancro, também podem estar fortemente associados à modulação imunológica. Ao alterar o “código” de glicano da superfície celular, as células transformadas podem suprimir as respostas imunes anti-tumorais e, assim, evitar a deteção imunológica.

A glicosilação aberrante pode resultar em **cadeias de glicano mais longas**, dificultando fisicamente, por **impedimento estérico**, a interação imunológica com células cancerígenas e apoiando a progressão do tumor e a imunossupressão. Os epítomos associados ao cancro são, desta maneira, protegidos do reconhecimento imunológico (figura 22 (1)) (120).

O aumento da **sialilação** da superfície celular de células cancerígenas pancreáticas, especificamente pelo aumento da expressão de **ST3Gal1** e **ST3Gal4**, leva à síntese de estruturas sialiladas capazes de serem reconhecidas pela Siglec-7 e Siglec-9. Estes receptores são lectinas expressas, exclusivamente, em células mielóides no cancro pancreático. O ácido siálico dessas estruturas recorre à sua propriedade imunomodulatória,

ativando a sinalização de diferenciação de monócito em macrófago imunossupressor, através da sua ligação com a respetiva Siglec (figura 22 (2)) (121).

Um mecanismo que desafia a vigilância imunológica mediado pela indução de proliferação de células imunossupressoras, envolve a **MUC1**.

A expressão de MUC1 resulta na expressão elevada de múltiplas citocinas pró-inflamatórias e aumentos concomitantes de células T reguladoras e de células mielóides supressoras em tumores pancreáticos (figura 22 (3)) (122).

Compreender como a glicosilação aberrante contribui para o microambiente imunossupressor do cancro pancreático será fundamental no desenho de estratégias terapêuticas direcionadas a essas alterações.

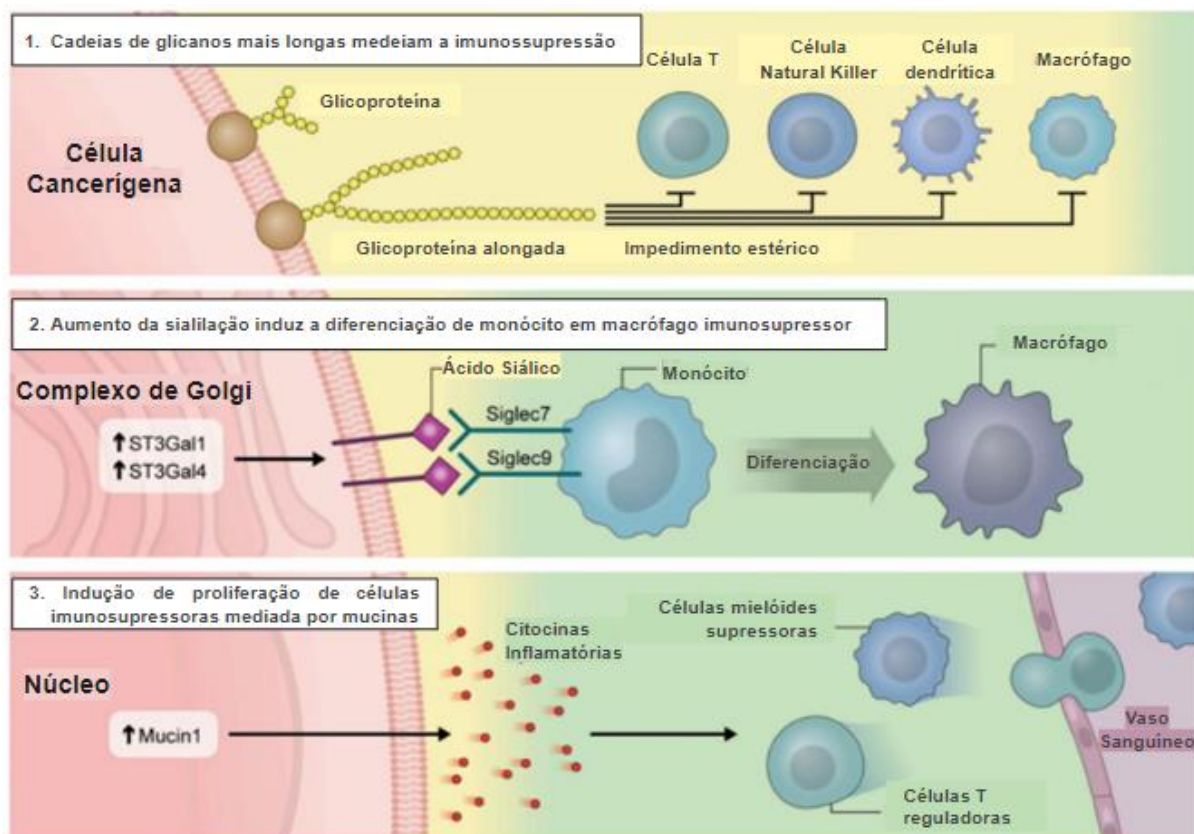


Figura 22- **Impacto da glicosilação no microambiente imune do cancro do pâncreas.**

(1) Impedimento estérico do alongamento aberrante dos glicanos na superfície celular (2) Sobreexpressão de sialiltransferases como ST3Gal1/4, com aumento de ácido siálico na superfície celular (3) Libertação de citocinas inflamatórias mediadas por MUC1, com papel na quimiotaxia. (Adaptado de (78)).

# Conclusão

Estudos recentes proporcionaram grandes avanços no domínio da glicobiologia e expandiram a nossa compreensão dos mecanismos inerentes aos eventos de glicosilação, cimentando a glicosilação aberrante como uma característica chave no início e progressão do tumor pancreático.

Tendo em conta o mosaico dinâmico e complexo de glicanos e glicoconjugados, bem como a sua regulação multifacetada, é necessária uma pesquisa contínua para melhor entender a sua impactante envolvência funcional e causal no aparecimento e desenvolvimento da doença. Esse entendimento revelará vulnerabilidades na sinalização proliferativa, capacidades metastáticas e escape imunológico, que podem servir como alvos terapêuticos combinatórios promissores.

Torna-se cada vez mais evidente que a glicosilação gera uma camada adicional de complexidade a ser incorporada ao cenário clínico da oncologia. Assim, o desafio atual é aplicar o conhecimento gerado recentemente sobre glicosilação celular e molecular no desenho de estratégias diagnósticas e terapêuticas aprimoradas para benefício dos doentes.

## Referências Bibliográficas

1. Carrapatoso C, Sampaio G. Cancro: Uma doença de crescimento inevitável, mas não uma “sentença de morte” - JPN [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.jpn.up.pt/2022/03/17/cancro-uma-doenca-de-crescimento-inevitavel-mas-nao-uma-sentenca-de-morte/>
2. Cancer | WHO [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/cancer>
3. Cancro | SNS24 [Internet]. 2021 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/cancro/#sec-1>
4. What Is Cancer? - NCI [Internet]. 2021 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
5. Cree I. Cancer biology. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2011 [cited 2022 Nov 14]; 731:1–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21516393/>
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* [Internet]. 2011 Mar 4 [cited 2022 Nov 14];144(5):646–74. Available from: <http://www.cell.com/article/S0092867411001279/fulltext>
7. González Michelle. A Importância do Microambiente Tumoral na Carcinogénese. 2021;
8. Munkley J, Elliott DJ. Hallmarks of glycosylation in cancer. *Oncotarget* [Internet]. 2016 Jun 6 [cited 2022 Nov 14];7(23):35478. Available from: [/pmc/articles/PMC5085245/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27085245/)
9. Stewart BW, Wild CP. World Cancer Report 2014. *World Cancer Report 2014*. 2014. 16–53 p.
10. Tipos de cancro | SNS24 [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/tipos-de-cancro/>
11. Descubra para que serve o pâncreas - Diabetes 365º [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.diabetes365.pt/saber/para-que-serve-o-pancreas/#>
12. What Is Pancreatic Cancer? [Internet]. 2019 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-cancer/about/what-is-pancreatic-cancer.html>
13. Câncer de pâncreas | O que é? | Vencer o Câncer - Vencer o Câncer [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://vencerocancer.org.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pancreas-tipos-de-cancer/cancer-de-pancreas-o-que-e-2/>
14. Sieroslawska A. Pâncreas - Anatomia, função, irrigação e inervação | Kenhub [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.kenhub.com/pt/library/anatomia/pancreas>

15. Tipos de cancro do pâncreas | Medicina Johns Hopkins [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/pancreatic-cancer/pancreatic-cancer-types>
16. Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci* [Internet]. 2016 [cited 2022 Nov 14];144:241. Available from: </pmc/articles/PMC6260831/>
17. Pompella L, Tirino G, Pappalardo A, Caterino M, Ventriglia A, Nacca V, et al. Pancreatic Cancer Molecular Classifications: From Bulk Genomics to Single Cell Analysis. 2020 [cited 2022 Nov 14]; Available from: [www.mdpi.com/journal/ijms](http://www.mdpi.com/journal/ijms)
18. Ducreux M, Cuhna AS, Caramella C, Hollebecque A, Burtin P, Goéré D, et al. Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2022 Nov 14]; 26:v56–68. Available from: <http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753419471780/fulltext>
19. Tipos de Tumores - Cancro do Pâncreas | Patologia Johns Hopkins [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://pathology.jhu.edu/pancreas/types-of-tumors>
20. What Is a Pancreatic Neuroendocrine Tumor? [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-neuroendocrine-tumor/about/what-is-pnet.html>
21. Tumores neuroendócrinos síndrómicos vs não síndrómicos - cancro do pâncreas | Patologia Johns Hopkins [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://pathology.jhu.edu/pancreas/neuroendocrine/syndromic-vs-non-syndromic>
22. Maharjan CK, Ear PH, Tran CG, Howe JR, Chandrasekharan C, Quelle DE. Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2022 Nov 14];13(20). Available from: </pmc/articles/PMC8533967/>
23. Mansinho H. Cancro do Pâncreas. *Revista Portuguesa de Cirurgia* [Internet]. 2021 Jan 20 [cited 2022 Nov 14];0(49):114–8. Available from: <https://revista.spcir.com/index.php/spcir/article/view/874>
24. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2022 Nov 14];71(3):209–49. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21660>
25. Hu JX, Lin YY, Zhao CF, Chen WB, Liu QC, Li QW, et al. Pancreatic cancer: A review of epidemiology, trend, and risk factors. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2021 Jul 7 [cited 2022 Nov 14];27(27):4298. Available from: </pmc/articles/PMC8316912/>

26. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW. Cancer research for cancer prevention World Cancer Report. 2020 [cited 2022 Nov 14]; Available from: <http://publications.iarc.fr/586>.
27. Cancer Today | Globocan 2020 [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 15]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/home>
28. Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Nov 14];18(7):493. Available from: </pmc/articles/PMC9265847/>
29. Cancer Tomorrow | Globocan [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 15]. Available from: <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en>
30. Poruk KE, Firpo MA, Adler DG, Mulvihill SJ. Screening for Pancreatic Cancer: Why, How, and Who? *Ann Surg* [Internet]. 2013 Jan [cited 2022 Nov 14];257(1):17. Available from: </pmc/articles/PMC4113008/>
31. Rashid MU, Hussain I, Jehanzeb S, Ullah W, Ali S, Jain AG, et al. Pancreatic Cancer and Possible Therapeutic Options. In: *Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy*. Elsevier; 2019. p. 57–85.
32. Sintomas de cancro do pâncreas | Medicina Johns Hopkins [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/pancreatic-cancer/pancreatic-cancer-symptoms>
33. Ugarte A. Cancro do Pâncreas. 2013 [cited 2022 Nov 14]; Available from: <https://www.esmo.org/content/download/101559/1796949/file/ESMO-ACF-Cancro-do-Pa%CC%82ncreas-Um-Guia-para-o-Doente.pdf>
34. Brant JM, Haas-Haseman ML, Wei SH, Wickham R, Brana Reynolds R, Folloder J. Clinical Management of Pancreatic Cancer. *J Adv Pract Oncol* [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2022 Nov 14];5(5):356. Available from: </pmc/articles/PMC4457174/>
35. Tests for Pancreatic Cancer [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-cancer/detection-diagnosis-staging/how-diagnosed.html>
36. Zhang L, Sanagapalli S, Stoita A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2018 May 5 [cited 2022 Nov 14];24(19):2047. Available from: </pmc/articles/PMC5960811/>
37. Diagnóstico - Cancro do Pâncreas | Patologia Johns Hopkins [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 14]. Available from: <https://pathology.jhu.edu/pancreas/diagnosis>
38. Chen J, Yang R, Lu Y, Xia Y, Zhou H. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for solid pancreatic lesion: A systematic review. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2012 Sep 30 [cited 2022 Nov 14];138(9):1433–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00432-012-1268-1>

39. Hewitt MJ, McPhail MJW, Possamai L, Dhar A, Vlavianos P, Monahan KJ. EUS-guided FNA for diagnosis of solid pancreatic neoplasms: A meta-analysis. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2022 Nov 14];75(2):319–31. Available from: <http://www.giejournal.org/article/S0016510711021663/fulltext>
40. Sperti C, Pasquali C, Bissoli S, Chierichetti F, Liessi G, Pedrazzoli S. Tumor relapse after pancreatic cancer resection is detected earlier by 18-FDG PET than by CT. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2022 Nov 14];14(1):131–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19777315/>
41. Llop E, Guerrero PE, Duran A, Barrabés S, Massaguer A, Ferri MJ, et al. Glycoprotein biomarkers for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2018 Jun 6 [cited 2022 Nov 14];24(24):2537. Available from: </pmc/articles/PMC6021768/>
42. Root A, Allen P, Tempst P, Yu K. Protein Biomarkers for Early Detection of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Progress and Challenges. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2018 Mar 7 [cited 2022 Nov 14];10(3). Available from: </pmc/articles/PMC5876642/>
43. Yang J, Xu R, Wang C, Qiu J, Ren B, You L. Early screening and diagnosis strategies of pancreatic cancer: a comprehensive review. *Cancer Commun* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Nov 14];41(12):1257. Available from: </pmc/articles/PMC8696234/>
44. Yang M, Zhang CY. Diagnostic biomarkers for pancreatic cancer: An update. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2021 Dec 12 [cited 2022 Nov 14];27(45):7862. Available from: </pmc/articles/PMC8661384/>
45. Azizian A, Rühlmann F, Krause T, Bernhardt M, Jo P, König A, et al. CA19-9 for detecting recurrence of pancreatic cancer. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Nov 14];10(1). Available from: </pmc/articles/PMC6987233/>
46. Chan A, Prassas I, Dimitromanolakis A, Brand RE, Serra S, Diamandis EP, et al. Validation of biomarkers that complement CA19.9 in detecting early pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2014 Nov 15 [cited 2022 Nov 14];20(22):5787–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25239611/>
47. Lauc G, Pezer M, Rudan I, Campbell H. Mechanisms of disease: The human N-glycome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2016 Aug 1;1860(8):1574–82.
48. Cummings RD. The repertoire of glycan determinants in the human glycome. *Mol Biosyst*. 2009;5(10):1087–104.
49. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW, Aebi M, et al. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022 [cited 2022 Oct 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579918/>

50. Reily C, Stewart TJ, Renfrow MB, Novak J. Glycosylation in health and disease. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2022 Oct 28];15(6):346. Available from: [/pmc/articles/PMC6590709/](#)
51. Mereiter S, Balmañ M, Campos D, Gomes J, Reis CA. Cancer Cell Review Glycosylation in the Era of Cancer-Targeted Therapy: Where Are We Heading? This review provides insights on the impact of glycosylation in cancer biology and its influence in the current approaches of targeted cancer therapies in the. 2019 [cited 2022 Oct 28]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.06.006>
52. Es Sabar Karimah. Glycomics: The New Frontier in Bioinnovation Achieving Sustainable Development Goals with Our One Health Solutions. 2022 Feb;
53. Nairn A, York WS, Harris K, Hall EM, Pierce JM, Moremen KW. Regulation of Glycan Structures in Animal Tissues: Transcript Profiling of Glycan-related Genes. *J Biol Chem* [Internet]. 2008 Jun 6 [cited 2022 Oct 30];283(25):17298. Available from: [/pmc/articles/PMC2427342/](#)
54. Martins V. Desenvolvimento de Novos Potenciais Inibidores de Glicosiltransferases como uma Estratégia Terapêutica Promissora para o Câncer. 2018.
55. Mineiro A. Identification of novel glycosylation patterns in cancer and their role in cancer progression and metastasis. 2018;
56. Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell* [Internet]. 2006 Sep 8 [cited 2022 Oct 30];126(5):855–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16959566/>
57. Pinho SS, Reis CA. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Cancer* 2015 15:9 [Internet]. 2015 Aug 20 [cited 2022 Oct 28];15(9):540–55. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc3982>
58. Pereira JO, Withers P, Pereira JO, Gabriela De Aguiar M, Garbelini M, Palazzo VC. Mucopolissacaridose tipo VI. *Revista Neurociências* [Internet]. 2011 Jun 30 [cited 2022 Oct 28];19(2):329–38. Available from: <https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/8380>
59. Esteban M. Pancreatic Cancer Markers Based on Aberrant Glycosylation of Serum Proteins [Internet]. 2016. Available from: <http://hdl.handle.net/10803/392636>
60. Magalhães A, Duarte HO, Reis CA. The role of O-glycosylation in human disease. *Mol Aspects Med*. 2021 Jun 1;79:100964.
61. Moura R. Avaliação da Expressão e Atividade de GNT-V Durante a Evolução de Lesões em Tecidos Uterinos Humanos. 2015;
62. Marques A. Identificação de Glicanos no Estudo do Microambiente Tumoral. 2018 Sep;
63. Pérez A. A N-glicosilação do EGFR afeta a sinalização intracelular e a estabilidade das Junções Tight em células de câncer colorretal. 2017;

64. Munkley J. The glycosylation landscape of pancreatic cancer. *Oncol Lett* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Oct 28];17(3):2569. Available from: [/pmc/articles/PMC6388511/](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435)
65. Saldova R, Wilkinson H. Current methods for the characterization of o-glycans. *J Proteome Res* [Internet]. 2020 Oct 2 [cited 2022 Oct 28];19(10):3890–905. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435>
66. Bagdonaite I, Pallesen EMH, Nielsen MI, Bennett EP, Wandall HH. Erratum: Correction to: Mucin-Type O-GalNAc Glycosylation in Health and Disease (*Advances in experimental medicine and biology* (2021) 1325 (25-60)). In: *Advances in experimental medicine and biology* [Internet]. NLM (Medline); 2021 [cited 2022 Oct 28]. p. C1–2. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-70115-4\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-70115-4_18)
67. Rivas M, Lira-Navarrete E, Gerken T, Hurtado-Guerrero R. Polypeptide GalNAc-Ts: from redundancy to specificity. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2022 Oct 29];56:87. Available from: [/pmc/articles/PMC6656595/](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435)
68. Loaeza-Reyes KJ, Zenteno E, Moreno-Rodríguez A, Torres-Rosas R, Argueta-Figueroa L, Salinas-Marín R, et al. An Overview of Glycosylation and its Impact on Cardiovascular Health and Disease. *Front Mol Biosci*. 2021 Nov 16;8:1103.
69. Fantus IG, Goldberg HJ, Whiteside CI, Topic D. The Hexosamine Biosynthesis Pathway. In: *The Diabetic Kidney* [Internet]. Humana Press; 2006 [cited 2022 Oct 29]. p. 117–33. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59745-153-6\\_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59745-153-6_7)
70. Buck CA, Glick MC, Warren L. Glycopeptides from the Surface of Control and Virus-Transformed Cells. *Science* (1979) [Internet]. 1971 Apr 9 [cited 2022 Nov 6];172(3979):169–71. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.172.3979.169>
71. Munkley J. Aberrant Sialylation in Cancer: Therapeutic Opportunities. *Cancers* (Basel) [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2022 Oct 29];14(17). Available from: [/pmc/articles/PMC9454432/](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435)
72. Dobie C, Skropeta D. Insights into the role of sialylation in cancer progression and metastasis. *Br J Cancer* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Oct 29];124(1):76. Available from: [/pmc/articles/PMC7782833/](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435)
73. Shan M, Yang D, Dou H, Zhang L. Fucosylation in cancer biology and its clinical applications. In: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Academic Press; 2019. p. 93–119.
74. Ma Z, Yang H, Peng L, Kuhn C, Chelariu-Raicu A, Mahner S, et al. Expression of the Carbohydrate Lewis Antigen, Sialyl Lewis A, Sialyl Lewis X, Lewis X, and Lewis Y in the Placental Villi of Patients With Unexplained Miscarriages. *Front Immunol* [Internet]. 2021 May 31 [cited 2022 Oct 29];12. Available from: [/pmc/articles/PMC8202085/](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jproteome.0c00435)

75. Satomura Y, Sawabu N, Takemori Y, Ohta H, Watanabe H, Okai T, et al. Expression of various sialylated carbohydrate antigens in malignant and nonmalignant pancreatic tissues. *Pancreas* [Internet]. 1991 [cited 2022 Oct 30];6(4):448–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1678888/>
76. Sinn HP, Brown SA, Oherle E, Thompson JS. Analysis of the Lewisx epitope in human pancreas and pancreatic adenocarcinomas. *Int J Pancreatol* [Internet]. 1992 Apr [cited 2022 Oct 30];11(2):125–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1376758/>
77. Lam C, Low JY, Tran PT, Wang H. The hexosamine biosynthetic pathway and cancer: Current knowledge and future therapeutic strategies. *Cancer Lett*. 2021 Apr 10;503:11–8.
78. Lumibao JC, Tremblay JR, Hsu J, Engle DD. Altered glycosylation in pancreatic cancer and beyond. Vol. 219, *Journal of Experimental Medicine*. Rockefeller University Press; 2022.
79. Nagel AK, Ball LE. Intracellular Protein O-GlcNAc Modification Integrates Nutrient Status with Transcriptional and Metabolic Regulation. *Adv Cancer Res*. 2015 Jan 1;126:137–66.
80. Banerjee S, Sangwan V, McGinn O, Chugh R, Dudeja V, Vickers SM, et al. Triptolide-induced cell death in Pancreatic cancer is mediated by O-GlcNAc modification of transcription factor Sp1. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2013 Nov 22 [cited 2022 Oct 29];288(47):33927–38. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925819543733/fulltext>
81. Li YJ, Wei ZM, Meng YXYX, Ji XR.  $\beta$ -catenin up-regulates the expression of cyclinD1, c-myc and MMP-7 in human pancreatic cancer: Relationships with carcinogenesis and metastasis. *World Journal of Gastroenterology : WJG* [Internet]. 2005 Apr 4 [cited 2022 Oct 29];11(14):2117. Available from: </pmc/articles/PMC4305780/>
82. Sharma NS, Gupta VK, Dauer P, Kesh K, Hadad R, Giri B, et al. O-GlcNAc modification of Sox2 regulates self-renewal in pancreatic cancer by promoting its stability. *Theranostics* [Internet]. 2019 [cited 2022 Oct 29];9(12):3410–24. Available from: <http://www.thno.org>
83. Shin H, Cha HJ, Na K, Lee MJ, Cho JY, Kim CY, et al. O-GlcNAcylation of the tumor suppressor FOXO3 triggers aberrant cancer cell growth. *Cancer Res* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2022 Oct 29];78(5):1214–24. Available from: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/78/5/1214/544282/O-GlcNAcylation-of-the-Tumor-Suppressor-FOXO3>
84. Ortega Á, Vera I, Diaz MP, Navarro C, Rojas M, Torres W, et al. The YAP/TAZ Signaling Pathway in the Tumor Microenvironment and Carcinogenesis: Current Knowledge and

- Therapeutic Promises. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2022 Oct 29];23(1). Available from: [/pmc/articles/PMC8745604/](#)
85. Estaras M, Gonzalez A. Modulation of cell physiology under hypoxia in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2021 Jul 7 [cited 2022 Oct 29];27(28):4582. Available from: [/pmc/articles/PMC8326256/](#)
  86. Geismann C, Arlt A. Coming in the Air: Hypoxia Meets Epigenetics in Pancreatic Cancer. *Cells* [Internet]. 2020 Oct 25 [cited 2022 Oct 29];9(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33113836/>
  87. Jones RB, Dorsett KA, Hjelmeland AB, Bellis SL. The ST6Gal-I sialyltransferase protects tumor cells against hypoxia by enhancing HIF-1 $\alpha$  signaling. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2018 Apr 13 [cited 2022 Oct 29];293(15):5659–67. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925820418605/fulltext>
  88. Tao J, Yang G, Zhou W, Qiu J, Chen G, Luo W, et al. Targeting hypoxic tumor microenvironment in pancreatic cancer. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Oct 29];14(1):14. Available from: [/pmc/articles/PMC7805044/](#)
  89. Hao X, Ren Y, Feng M, Wang Q, Wang Y. Metabolic reprogramming due to hypoxia in pancreatic cancer: Implications for tumor formation, immunity, and more. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2022 Oct 29];141. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34120068/>
  90. Jia C, Li H, Fu D, Lan Y. GFAT1/HBP/O-GlcNAcylation Axis Regulates  $\beta$ -Catenin Activity to Promote Pancreatic Cancer Aggressiveness. *Biomed Res Int*. 2020;2020.
  91. Holdbrooks AT, Britain CM, Bellis SL. ST6Gal-I sialyltransferase promotes tumor necrosis factor (TNF)-mediated cancer cell survival via sialylation of the TNF receptor 1 (TNFR1) death receptor. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2018 Feb 2 [cited 2022 Oct 29];293(5):1610–22. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925820389419/fulltext>
  92. Chakraborty A, Dorsett KA, Trummell HQ, Yang ES, Oliver PG, Bonner JA, et al. ST6Gal-I sialyltransferase promotes chemoresistance in pancreatic ductal adenocarcinoma by abrogating gemcitabine-mediated DNA damage. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2018 Jan 19 [cited 2022 Oct 29];293(3):984–94. Available from: <http://www.jbc.org/article/S0021925820396708/fulltext>
  93. Toussaint K, Appert-Collin A, Morjani H, Albrecht C, Sartelet H, Romier-Crouzet B, et al. Neuraminidase-1: A Sialidase Involved in the Development of Cancers and Metabolic Diseases. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2022 Oct 29];14(19). Available from: [/pmc/articles/PMC9563477/](#)
  94. Abdulkhalek S, Amith SR, Franchuk SL, Jayanth P, Guo M, Finlay T, et al. Neu1 Sialidase and Matrix Metalloproteinase-9 Cross-talk Is Essential for Toll-like Receptor

- Activation and Cellular Signaling. *J Biol Chem* [Internet]. 2011 Oct 10 [cited 2022 Oct 29];286(42):36532. Available from: [/pmc/articles/PMC3196117/](#)
95. Gilmour AM, Abdulkhalek S, Cheng TSW, Alghamdi F, Jayanth P, O'Shea LK, et al. A novel epidermal growth factor receptor-signaling platform and its targeted translation in pancreatic cancer. *Cell Signal* [Internet]. 2013 [cited 2022 Oct 29];25(12):2587–603. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23993964/>
  96. Ardito CM, Grüner BM, Takeuchi KK, Lubeseder-Martellato C, Teichmann N, Mazur PK, et al. EGF Receptor Is Required for KRAS-Induced Pancreatic Tumorigenesis. *Cancer Cell* [Internet]. 2012 Sep 11 [cited 2022 Oct 29];22(3):304–17. Available from: <http://www.cell.com/article/S1535610812003376/fulltext>
  97. Carraway KL, Funes M, Workman HC, Sweeney C. Contribution of Membrane Mucins to Tumor Progression Through Modulation of Cellular Growth Signaling Pathways. *Curr Top Dev Biol*. 2007 Jan 1;78:1–22.
  98. Wang S, You L, Dai M, Zhao Y. Mucins in pancreatic cancer: A well-established but promising family for diagnosis, prognosis and therapy. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2022 Oct 29];24(18):10279–89. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.15684>
  99. Thomas D, Sagar S, Liu X, Lee HR, Grunkemeyer JA, Grandgenett PM, et al. Isoforms of MUC16 activate oncogenic signaling through EGF receptors to enhance the progression of pancreatic cancer. *Molecular Therapy* [Internet]. 2021 Apr 4 [cited 2022 Oct 29];29(4):1557. Available from: [/pmc/articles/PMC8058431/](#)
  100. Chaturvedi P, Singh AP, Chakraborty S, Chauhan SC, Bafna S, Meza JL, et al. MUC4 Mucin Interacts with and Stabilizes the HER2 Oncoprotein in Human Pancreatic Cancer Cells. *Cancer Res* [Internet]. 2008 Apr 4 [cited 2022 Oct 29];68(7):2065. Available from: [/pmc/articles/PMC2835497/](#)
  101. Chen ST, Kuo TC, Liao YY, Lin MC, Tien YW, Huang MC. Silencing of MUC20 suppresses the malignant character of pancreatic ductal adenocarcinoma cells through inhibition of the HGF/MET pathway. *Oncogene* [Internet]. 2018 Nov 15 [cited 2022 Oct 29];37(46):6041–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29993037/>
  102. CA19 Contributes to Pancreatic Pathogenesis. *Cancer Discov* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Nov 5];9(8):996. Available from: <https://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article/9/8/996/42231/CA19-Contributes-to-Pancreatic-PathogenesisCA19>
  103. Engle DD, Tiriach H, Rivera KD, Pommier A, Whalen S, Oni TE, et al. The Glycan CA19-9 Promotes Pancreatitis and Pancreatic Cancer in Mice. *Science* [Internet]. 2019 Jun 6 [cited 2022 Nov 5];364(6446):1156. Available from: [/pmc/articles/PMC6705393/](#)

104. Pan S, Brentnall TA, Chen R. Glycoproteins and glycoproteomics in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2016 Nov 11 [cited 2022 Nov 5];22(42):9288. Available from: [/pmc/articles/PMC5107693/](#)
105. Pietrobono S, Stecca B. Aberrant Sialylation in Cancer: Biomarker and Potential Target for Therapeutic Intervention? *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2022 Nov 5];13(9). Available from: [/pmc/articles/PMC8122436/](#)
106. Gao HF, Wang Q, Zhang K, Chen LY, Cheng CS, Chen H, et al. Overexpressed N-fucosylation on the cell surface driven by FUT3, 5, and 6 promotes cell motilities in metastatic pancreatic cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Apr 2;511(2):482–9.
107. Britain CM, Bhalerao N, Silva AD, Chakraborty A, Buchsbaum DJ, Crowley MR, et al. Glycosyltransferase ST6Gal-I promotes the epithelial to mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Nov 5];296:100034. Available from: [/pmc/articles/PMC7949065/](#)
108. Pérez-Garay M, Arteta B, Llop E, Cobler L, Pagès L, Ortiz R, et al.  $\alpha$ 2,3-Sialyltransferase ST3Gal IV promotes migration and metastasis in pancreatic adenocarcinoma cells and tends to be highly expressed in pancreatic adenocarcinoma tissues. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 Aug 1;45(8):1748–57.
109. Pérez-Garay M, Arteta B, Pagés L, de Llorens R, de Bolós C, Vidal-Vanaclocha F, et al.  $\alpha$ 2,3-Sialyltransferase ST3Gal III Modulates Pancreatic Cancer Cell Motility and Adhesion In Vitro and Enhances Its Metastatic Potential In Vivo. *PLoS One* [Internet]. 2010 [cited 2022 Nov 5];5(9):1–11. Available from: [/pmc/articles/PMC2931708/](#)
110. Trinchera M, Aronica A, Dall'Olio F. Selectin Ligands Sialyl-Lewis a and Sialyl-Lewis x in Gastrointestinal Cancers. *Biology (Basel)* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2022 Nov 5];6(1). Available from: [/pmc/articles/PMC5372009/](#)
111. Kedmi R, Peer D. Zooming in on selectins in cancer. *Sci Transl Med* [Internet]. 2016 Jun 29 [cited 2022 Nov 5];8(345). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27358495/>
112. Hofmann BT, Schlüter L, Lange P, Mercanoglu B, Ewald F, Fölster A, et al. COSMC knockdown mediated aberrant O-glycosylation promotes oncogenic properties in pancreatic cancer. *Mol Cancer* [Internet]. 2015 May 29 [cited 2022 Nov 5];14(1). Available from: [/pmc/articles/PMC4447007/](#)
113. Remmers N, Anderson JM, Linde EM, DiMaio DJ, Lazenby AJ, Wandall HH, et al. Aberrant expression of mucin core proteins and O-linked glycans associated with progression of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 Apr 4 [cited 2022 Nov 5];19(8):1981–93. Available from: [/pmc/articles/PMC3873635/](#)

114. Kaur S, Kumar S, Momi N, Sasson AR, Batra SK. Mucins in pancreatic cancer and its microenvironment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Oct [cited 2022 Nov 5];10(10):607. Available from: [/pmc/articles/PMC3934431/](#)
115. Balmaña M, Duran A, Gomes C, Llop E, López-Martos R, Ortiz MR, et al. Analysis of sialyl-Lewis x on MUC5AC and MUC1 mucins in pancreatic cancer tissues. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Nov 5]; 112:33–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29408556/>
116. Gaudette S, Hughes D, Boller M. The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2022 Nov 5];30(2):117–34. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vec.12925>
117. Buffone A, Weaver VM. Don't sugarcoat it: How glycocalyx composition influences cancer progression. *J Cell Biol* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Nov 5];219(1). Available from: [/pmc/articles/PMC7039198/](#)
118. Chen X, Zhao H, Chen C, Li J, He J, Fu X, et al. The HPA/SDC1 axis promotes invasion and metastasis of pancreatic cancer cells by activating EMT via FGF2 upregulation. *Oncol Lett* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Nov 5];19(1):211–20. Available from: <http://www.spandidospublications.com/10.3892/ol.2019.11121/abstract>
119. Sato N, Kohi S, Hirata K, Goggins M. Role of hyaluronan in pancreatic cancer biology and therapy: Once again in the spotlight. *Cancer Sci* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2022 Nov 5];107(5):569–75. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cas.12913>
120. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nature Reviews Cancer* 2004 4:1 [Internet]. 2004 [cited 2022 Nov 7];4(1):45–60. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc1251>
121. Rodriguez E, Boelaars K, Brown K, Eveline Li RJ, Kruijssen L, Bruijns SCM, et al. Sialic acids in pancreatic cancer cells drive tumour-associated macrophage differentiation via the Siglec receptors Siglec-7 and Siglec-9. *Nature Communications* 2021 12:1 [Internet]. 2021 Feb 24 [cited 2022 Nov 5];12(1):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-21550-4>
122. Tinder TL, Subramani DB, Basu GD, Bradley JM, Schettini J, Million A, et al. MUC1 Enhances Tumor Progression and Contributes Toward Immunosuppression in a Mouse Model of Spontaneous Pancreatic Adenocarcinoma. *The Journal of Immunology* [Internet]. 2008 Sep 1 [cited 2022 Nov 5];181(5):3116–25. Available from: <https://www.jimmunol.org/content/181/5/3116>