

mgr Karolina Grzesik,

dr hab. Dorota Hoja-Łukowicz, prof. UJ[✉]

Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński

https://doi.org/10.18388/pb.2021_385

✉ autor korespondujący: dorota.hoja-lukowicz@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: glikozylacja, nowotwory, angiogeneza, metastaza, immunosupresja, biomarkery

Wykaz stosowanych skrótów: DC-SIGN – nie-integryna swoista dla komórek dendrytycznych (DC) chwytająca ICAM; Dol-P – fosfolichol; ECM – macierz zewnątrzkomórkowa; EMT – przejście epithelialno-mezenchymalne; EV – mikropęcherzyki błonowe; ICAM – białko adhezji międzykomórkowej; LacdiNAc – ugrupowanie GalNAc β 1-4GlcNAc; MGL – lektyna makrofagów wiążąca galaktozę/N-acetylogalaktozaminę; poliLacNAc – poli-N-acetylolaktozamina (Gal β 1-3/4GlcNAc); TACAs – antygeny cukrowe związane z nowotworem

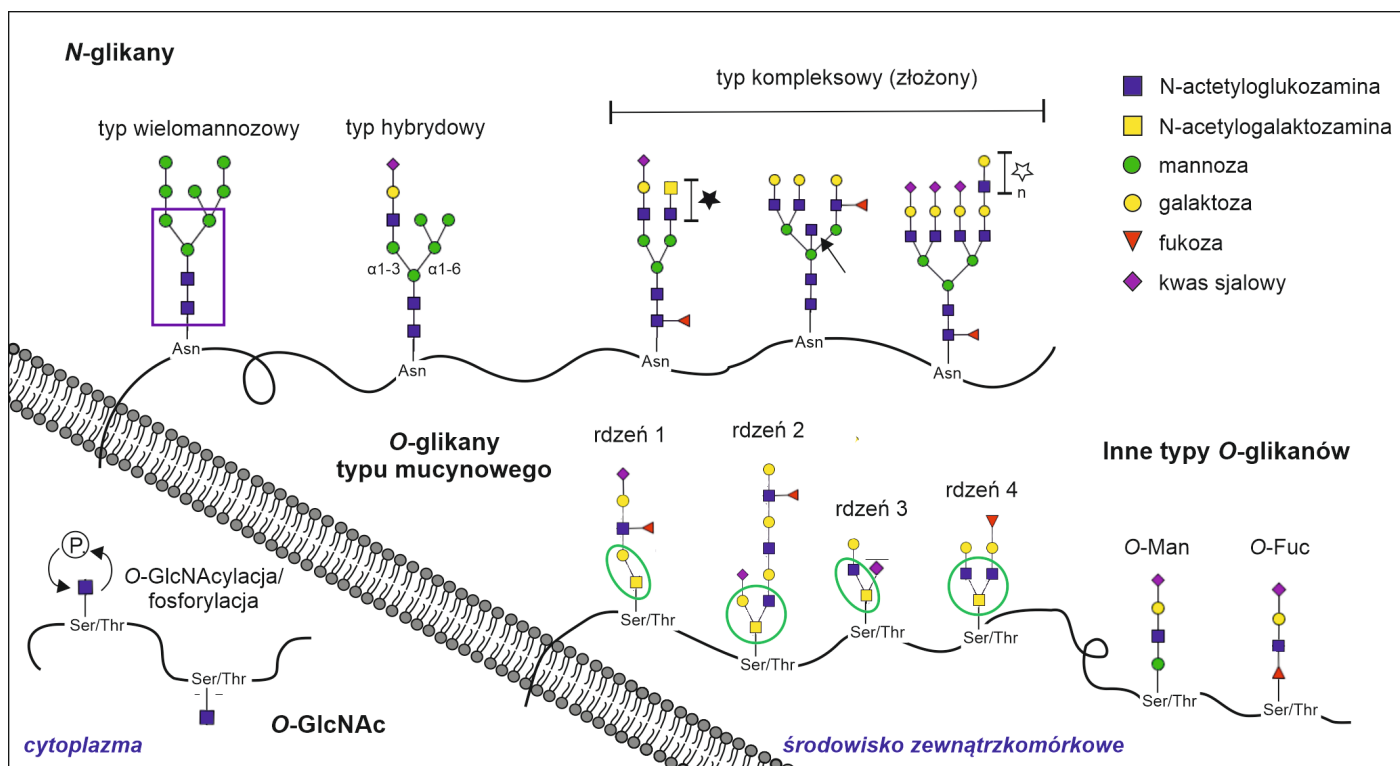
Finansowanie: Praca finansowana ze środków Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego (N18/DBS/000007).

STRESZCZENIE

Charakterystyczną cechą złośliwienia komórek guza jest zmiana wzoru glikozylacji glikokaliksu powierzchni komórkowych, glikokoniugatów wydzielanych do płynów ustrojowych oraz glikokoniugatów macierzy zewnątrzkomórkowej. Zmiany glikozylacji są wynikiem mutacji genetycznych związanych z procesem nowotworzenia jak i zmian epigenetycznych zachodzących w środowisku guza, w tym zmian związanych z napływem składników odżywczych, ciśnieniem parcjalnemu tlenu, ekspresją cytokin i stymulacją długotrwałych stanów zapalnych. Unikalny zestaw powierzchniowych antygenów cukrowych na komórkach nowotworowych rozpoznawany jest przez endogenne lektyny zlokalizowane w macierzy zewnątrzkomórkowej, śródbłonku naczyniowym, na leukocytach czy płytkach krwi i ma wpływ na zaburzenie podstawowych procesów związanych z zachowaniem się komórki, takich jak rozpoznawanie i adhezja międzykomórkowa czy oddziaływanie komórka-składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Zmiany te mają krytyczny wpływ na potencjał migracyjny, inwazyjny i przerzutowy komórek nowotworowych oraz modulują odpowiedź immunologiczną. Ten unikalny wzór antygenów cukrowych powierzchni komórek nowotworowych odróżnia je od komórek prawidłowych i może być wykorzystany do ich identyfikacji, określenia zaawansowania choroby jak również stanowić cel terapii antynowotworowej.

WPROWADZENIE

Glikozylacja jest procesem enzymatycznym, w wyniku którego tworzone są wiązania glikozydowe pomiędzy sacharydami, a innymi sacharydami, białkami lub lipidami. Białka, do których w procesie glikozylacji zostały dołączone łańcuchy cukrowe (glikany) określa się mianem glikoprotein [1]. Glikany odpowiadają za właściwości fizykochemiczne białek umożliwiając m.in. ich prawidłowe zwinięcie i stabilność strukturalną; wpływają na wewnątrzkomórkową migrację białek, biorą udział w procesie wbudowywania białek do błon komórkowych oraz w wydzielaniu ich poza obręb komórki, jak również mają wpływ na ich aktywność biologiczną [2]. Glikany pełnią także kluczową rolę w interakcji gospodarz-patogen oraz w odpowiedzi immunologicznej [3]. Różnorodność strukturalna oligosacharydów moduluje funkcjonalność białka, dzięki czemu glikoproteiny biorą udział w proliferacji, różnicowaniu i migracji komórek, a także w oddziaływaniach typu komórka-komórka, czy też interakcji pomiędzy komórkami a środowiskiem zewnątrzkomórkowym [4]. W odróżnieniu od syntezy białek i kwasów nukleinowych, glikozylacja jest procesem niezależnym od matrycy (informacja o budowie glikanów nie jest zapisana w materiale genetycznym), a glikany są produktem złożonych szlaków biosyntezy, w które zaangażowane są liczne geny oraz czynniki środowiskowe. Z tego względu glikozylacja jest gatunkowo-, tkankowo- i komórkowo-specyficzna jak również zależy od stanu fizjologicznego komórki [5,6]. W różnorodnych stanach patologicznych, w tym w nowotworach, obserwuje się zmiany profilu glikozylacji białek [4,6-8]. Konsekwencją zaburzonej glikozylacji białek w komórkach nowotworowych jest pojawianie się antygenów cukrowych związanych z nowotworem (ang. *tumor-associated carbohydrate antigens*, TACAs). Antygeny te wpływają na wzrost i przeżycie komórek nowotworowych, a także przyczyniają się do nabycia przez komórki nowotworowe zdolności do migracji, inwazji i przerzutowania oraz ułatwiają zasiedlanie odległych tkanek i narządów. Nowotworowe antygeny cukrowe wywołują zmiany w antygenowości i immunogenności komórek nowotworowych, a oddziałując z naturalnymi przeciwciałami indukują chroniczny stan zapalny sprzyjający procesowi nowotworzenia. Nowotworowe antygeny cukrowe stanowią obiecujące markery diagnostyczne i prognostyczne oraz mogą być wykorzystane jako cele terapeutyczne [6,7].



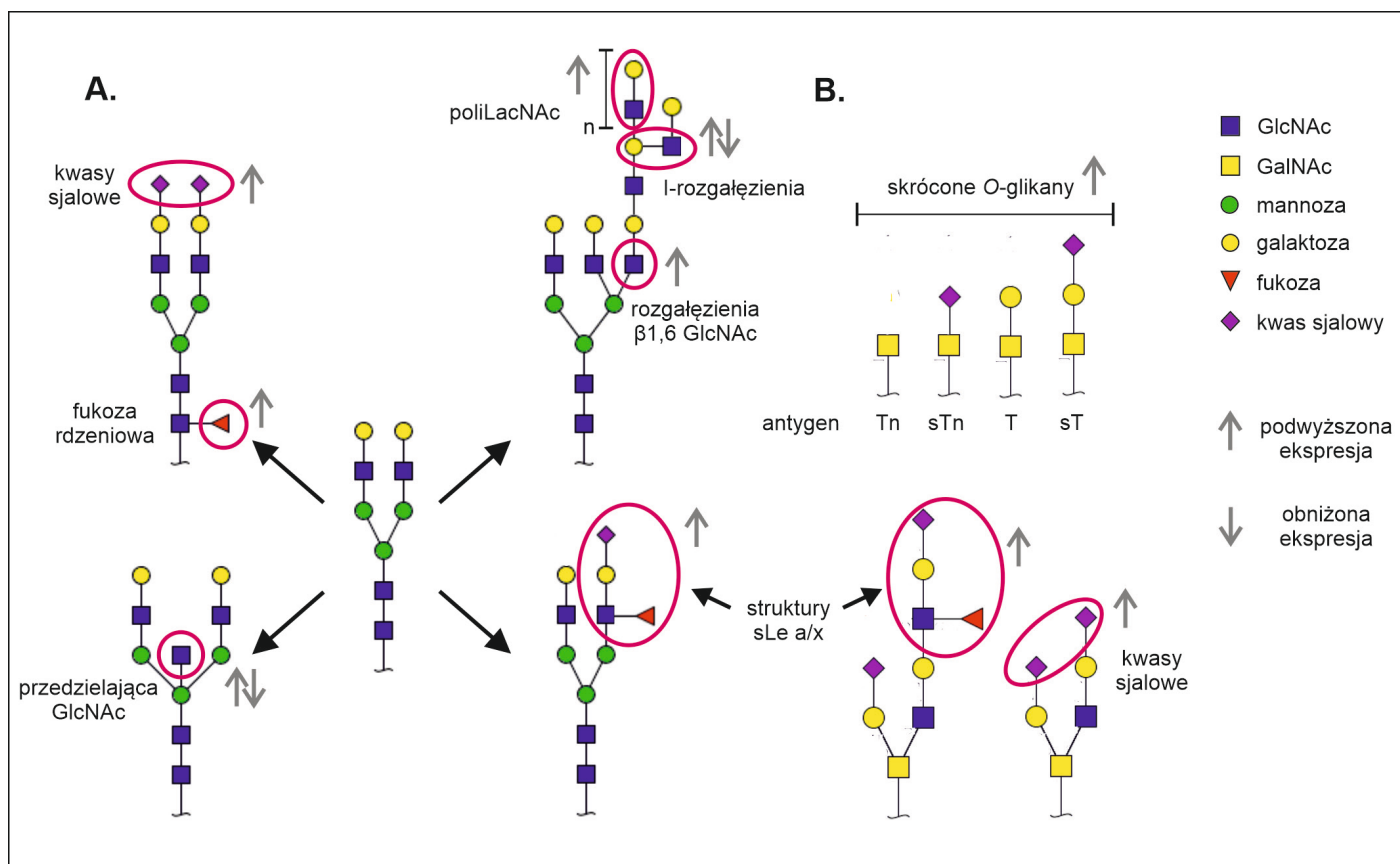
Rycina 1. Budowa strukturalna części cukrowych glikoprotein. Trzy typy *N*-glikanów (wielomannozowy, hybrydowy oraz kompleksowy) różnią się strukturą anten dołączonych do, wspólnego dla wszystkich typów *N*-glikanów, pentasacharydowego rdzenia $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ (fioletowa ramka). *N*-glikany typu kompleksowego różnią się między sobą liczbą anten (od 2 do 4 na glikoproteinach ssaków), obecnością reszty GlcNAc przedzielającej (czarna strzałka), liczbą reszt galaktozy oraz rodzajem wiązania, którym Gal jest przyłączona do GlcNAc (β 1-4 lub β 1-3) tworząc z nią jednostki laktozaminowe $\text{Gal}\beta$ 1-4/ β 3 GlcNAc lub ich wielokrotne powtórzenia – poliLacNAc (biała gwiazdka), brakiem bądź obecnością *N*-acetylogalaktozaminy – ugrupowanie $\text{GalNAc}\beta$ 1-4 GlcNAc (LacdiNAc; czarna gwiazdka), liczbą reszt kwasu sjałowego oraz rodzajem wiązania glikozydowego, którym kwas sjałowy jest dołączony do reszty Gal (α 2-3 lub α 2-6) lub do reszty GlcNAc (α 2-6), a także liczbą reszt fukozy, miejscem jej przyłączenia oraz rodzajem wiązania (do pierwszej reszty GlcNAc w rdzeniu wiązaniem α 1-6 lub do reszty Gal oraz GlcNAc w antenach wiązaniem α 1-2 oraz α 1-3/4). *O*-glikany typu mucynowego różnią się między sobą strukturą rdzenia (cztery podstawowe struktury rdzeniowe zaznaczono zielonymi okręgami), liczbą reszt Gal, GlcNAc oraz GlcNAc oraz rodzajem wiązania jakimi te cukry są dołączane do łańcucha węglowodanowego (α lub β), brakiem bądź obecnością powtórzeń $\text{Gal}\beta$ 1-4/ β 3 GlcNAc (poliLacNAc), liczbą reszt kwasu sjałowego oraz rodzajem wiązania glikozydowego, którym kwas sjałowy jest dołączony do reszty Gal (α 2-3 lub α 2-6) lub GlcNAc (α 2-6), a także liczbą reszt fukozy, miejscem jej przyłączenia oraz rodzajem wiązania (do reszty Gal wiązaniem α 1-2 oraz do reszty GlcNAc wiązaniem α 1-3 lub α 1-4). Inne typy *O*-glikanów mogą być inicjowane przez mannozę (*O*-Man), fukozę (*O*-Fuc), galaktozę (*O*-Gal, nie pokazano), glukozę (*O*-Glc, nie pokazano), ksylozę (*O*-Xyl, nie pokazano) oraz *N*-acetyloglukozaminę (*O*- GlcNAc). *O*- GlcNAc ylacja i fosforylacja mogą konkurować o te same reszty Ser/Thr łańcucha polipeptydowego lub modyfikować sąsiadujące z nimi reszty Ser i Thr.

CHARAKTERYSTYKA I ETAPY BIOSYNTETYZ *N*-GLIKANÓW ORAZ *O*-GLIKANÓW

Synteza oligosacharydów związanych z białkiem za pomocą wiązań *N*-glikozydowych (*N*-glikanów) przebiega w dwóch fazach i dwóch przedziałach komórkowych – siateczce śródplazmatycznej (ER) i aparacie Golgiego. Faza pierwsza zachodzi na błonie ER – początkowo po jej stronie cytoplazmatycznej, a następnie kontynuowana jest wewnątrz ER na nośniku lipidowym, którym jest fosfodolichol (Dol-P). Na fosfodolicholu składany jest dojrzały prekursor *N*-glikanów $\text{Glc}_3\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2\text{-PP-Dol}$, który następnie jest przenoszony *en bloc* na asparaginę (Asn) występującą w sekwencji Asn-X-Ser/Thr (gdzie X jest dowolnym aminokwasem z wyjątkiem proliny) nowo syntetyzowanego łańcucha polipeptydowego. Faza druga polega na obróbce oraz elongacji prekursora *N*-glikanów przez glikozydazy i glikozylotransferazy; rozpoczyna się ona w świetle ER i kontynuowana jest w cysternach aparatu Golgiego. W aparacie Golgiego formowane są ostatecznie trzy klasy *N*-glikanów. Każda z tych klas posiada identyczny pentasacharydowy rdzeń $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$, który w (i) oligosacharydach typu mannozowego podstawiony jest resztami mannozy w

liczbie od dwóch do sześciu, (ii) w oligosacharydach typu kompleksowego rozbudowywany jest przez dodawanie reszt *N*-acetyloglukozaminy (GlcNAc), z których każda inicjuje nową antenę wydłużaną następnie przez dodawanie kolejnych reszt cukrowych, a w (iii) oligosacharydach typu hybrydowego ramię α 1-6 rdzenia pozostaje podstawione mannozami, natomiast ramię α 1-3 rdzenia wydłużane jest jak w strukturach typu kompleksowego (Ryc. 1) [3,9,10].

Synteza *O*-związanych z białkiem oligosacharydów przebiega głównie w aparacie Golgiego. *O*-glikany są klasyfikowane ze względu na inicjującą je resztę cukrową, która jest dołączana do grupy hydroksylowej seryny (Ser) lub treoniny (Thr) łańcucha polipeptydowego glikoprotein. Najpowszechniejszymi *O*-glikanami białek błonowych oraz wydzielniczych są *O*-glikany typu mucynowego, dołączane do łańcucha polipeptydowego za pośrednictwem *N*-acetylogalaktozaminy (GalNAc). W przypadku tych glikanów wyróżnia się cztery podstawowe typy struktur rdzeniowych, które są następnie przedłużane poprzez stopniowe dodawanie kolejnych reszt monocukrowych (Ryc. 1) [11]. W innych typach *O*-glikanów pierwszym przyłączonym do łańcucha polipeptydowego cukrem może być mannoza,



Rycina 2. Charakterystyczne dla nowotworów zmiany w N-glikozylacji (A) oraz O-glikozylacji (B) białek.

fukoza, glukoza, galaktoza lub ksyloza [12]. Glikoproteiny mogą też posiadać resztę N-acetyloglukozaminy dołączonej do Ser lub Thr łańcucha polipeptydowego, która nie jest przedłużana kolejnymi monocukrami. Ten typ O-glikozylacji nosi nazwę O-GlcNAcytacji, a glikany oznaczają się w skrócie O-GlcNAc. W odróżnieniu od innych typów O-glikozylacji, O-GlcNAcytacji jest procesem dynamicznym i podobnie jak fosforylacja zmienia lokalizację i funkcje białek docelowych. O-GlcNAcytacji może konkurować z fosforylacją o reszty Ser/Thr w łańcuchu polipeptydowym. Proces dodawania i usuwania N-acetyloglukozaminy reguluje aktywność białek jądrowych, cytoplazmatycznych i mitochondrialnych w odpowiedzi na stres oraz stan odżywienia komórki. O-GlcNAcytacji reguluje wiele ważnych procesów komórkowych w tym transkrypcję, proliferację, apoptozę, przebudowę histonów, czy też kierowanie białek do degradacji w proteasomach [13,14]. Degradacja białek jest kontrolowana przez ubikwitynację, z kolei ubikwitynacja może być regulowana przez O-GlcNAcytacji za pośrednictwem fosforylacji [15].

GLIKOZYLACJA BIAŁEK W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH

Komórki nowotworowe charakteryzują się posiadaniem białek o zmienionej glikozylacji. Zaburzenia w ekspresji glikanów są spowodowane akumulacją genetycznych oraz epigenetycznych zmian, prowadzących do rozregulowania transkrypcji, co pociąga za sobą zmiany w ekspresji,

aktywności i/lub lokalizacji enzymów zaangażowanych w glikozylację [6].

Jedną z najczęściej obserwowanych zmian glikozylacji w komórkach nowotworowych jest podwyższona ekspresja N-glikanów typu kompleksowego z rozgałęzieniami β 1,6-GlcNAc (Ryc. 2A). Przyłączenie reszty GlcNAc wiązaniem β 1-6 prowadzi do wytworzenia trzy- oraz czteroantennowych struktur N-glikanowych. Reakcja ta jest katalizowana przez β 1-6-N-acetyloglukozaminotransferazę V (GnT-V) kodowaną przez gen *MGAT5* [16]. Podwyższona ekspresja tego genu w komórkach nowotworowych przyczynia się do wzbogacenia glikoproteomu w rozgałęzienia β 1-6, co obserwuje się m.in. w czerniaku oraz raku piersi (Tab. 1) [4]. W przypadku raka prostaty, silnie rozgałęzione N-glikany pozytywnie korelują ze zdolnością komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów i mają ujemny wpływ na przeżycie wolne od nawrotu choroby [17]. Z kolei w glejaku nadekspresja enzymu GnT-V związana jest ze wzrostem inwazyjności komórek nowotworowych [18]. Fenotypowy efekt podwyższonej ekspresji GnT-V skutkuje zmniejszeniem adhezji komórka-komórka oraz komórka-macierz zewnątrzkomórkowa (ECM), a także promuje ruchliwość i inwazyjność komórek nowotworowych (Tab. 1) [19].

Rozgałęzienia β 1,6-GlcNAc obecne na N-glikanach są preferowanym substratem do dodawania kolejno reszt GlcNAc i Gal i tworzenia łańcuchów poli-N-acetylolaktosaminowych (poliLacNAc: [Gal β 1-3/4GlcNAc]_n), które z

kolei są ligandami dla galektyn. W ten sposób obecne na komórkach nowotworowych struktury poliLacNAc pośredniczą w tkankowo-specyficznym przyleganiu i metastazie [6]. Komórki metastatycznego czerniaka (linia komórkowa WM266-4) zawierają większą liczbę *N*-glikanów posiadających powtórzenia poliLacNAc w porównaniu do komórek pierwotnego czerniaka (linia komórkowa WM115) pozyskanych od tego samego pacjenta [20]. Komórki nowotworowe mogą wykazywać zmienioną ekspresję genu *GCNT2* kodującego β 1-6-*N*-acetyloglukozaminotransferazę, która katalizuje reakcję przyłączenia reszty GlcNAc wiązaniem β 1-6 do Gal obecnej w powtórzeniach poliLacNAc w *N*- oraz *O*-glikanach, co prowadzi do powstania tzw. I-rozgałęzionych glikanów (Ryc. 2A). Zmieniona ekspresja *GCNT2* może zarówno aktywować jak i hamować postęp nowotworzenia (Tab. 1). W przypadku nabłonkowego raka przełyku, raka prostaty, piersi oraz okrężnicy nadekspresja *GCNT2* sprzyja progresji guza poprzez zwiększoną ruchliwość, migrację, proliferację oraz inwazję komórek nowotworowych. Z kolei obniżona ekspresja *GCNT2* została stwierdzona w chłoniaku, raku żołądka oraz czerniaku. Wykazano, że utrata ekspresji *GCNT2*, a tym samym I-rozgałęzionych glikanów towarzyszy rozrostowi guza, tworzeniu kolonii oraz wspomaga przeżycie komórek czerniaka [21].

W komórkach zmienionych nowotworowo w porównaniu do komórek prawidłowych obserwuje się także różnice w ekspresji genu *MGAT3*, kodującego β 1-4-*N*-acetyloglukozaminotransferazę III (GnT-III), która katalizuje przyłączanie tzw. przedzielającej reszty GlcNAc do *N*-glikanów. Podwyższona ekspresja enzymu GnT-III odpowiada jednak za zróżnicowane efekty; w zależności od typu nowotworu *N*-glikany z przedzielającą resztą GlcNAc mogą promować powstawanie nowotworu i zwiększać potencjał przerzutowy lub też mogą zapobiegać metastazie [6]. U myszy zainfekowanych komórkami czerniaka B16 z wprowadzonym genem *Mgat3* i nadekspresją enzymu GnT-III, obserwowano zmniejszoną liczbę *N*-glikanów z rozgałęzieniami β 1,6 oraz zmniejszenie zdolności do inwazji i tworzenia przerzutów w płucach. W badaniu tym dowiedziono, że przyłączenie do łańcucha cukrowego przedzielającej reszty GlcNAc uniemożliwia tworzenie wieloantenowych struktur z rozgałęzieniem β 1,6-GlcNAc, ponieważ enzymy GnT-III oraz GnT-V współzawodniczą o ten sam substrat [22]. W innej pracy doniesiono jednak, że nadekspresja GnT-III w ludzkich komórkach czerniaka linii WM266-4 nie musi prowadzić do całkowitego zniesienia powstawania silnie rozgałęzionych *N*-glikanów [23].

W wielu nowotworach obserwuje się podwyższoną fukozylację rdzenia *N*-glikanów. Dołączenie fukozy rdzeniowej katalizowane jest przez α 1-6 fukozylotransferazę, kodowaną przez gen *FUT8*. Podwyższoną fukozylację rdzenia *N*-glikanów wykazano m.in. w raku jajnika oraz piersi [4], a także na glikoproteinach surowicy pacjentów z rakiem prostaty (Tab. 1) [17]. Ostatnio doniesiono, że wzrost fukozylacji rdzenia jest charakterystyczny dla czerniaka przerzutowego. Badania prowadzone na metastatycznych liniach komórkowych czerniaka (113/6-4L oraz SkMel147) udowodniły, że wyciszenie genu *FUT8* zmniejsza o około 60% zdolność komórek czerniaka do inwazji ECM. Dodatkowo w modelu mysim zaprezentowano, że wyciszenie

genu *Fut8* hamuje potencjał przerzutowy komórek czerniaka [24].

Wiele komórek nowotworowych charakteryzuje się podwyższoną ekspresją sjalowanych glikanów. Termin „kwas sjalowy” odnosi się do grupy ok. 50 pochodnych kwasu neuraminowego, z których najpowszechniejszy jest kwas *N*-acetyloneuraminowy (Neu5Ac). Kwasy sjalowe zajmują pozycje końcowe w *N*- i *O*-glikanach. Przeniesienie kwasów sjalowych na akceptory węglowodanowe katalizowane jest przez rodzinę sjalotransferaz, które dołączają kwasy sjalowe wiązaniem α 2-3, α 2-6 lub α 2-8. W komórkach nowotworowych często obserwuje się wzrost α 2-6-sjalowanych reszt Gal w *N*-glikanach lub reszt *N*-acetylogalaktozaminy w *O*-glikanach, co związane jest odpowiednio z nadekspresją enzymu ST6Gal-I lub nadekspresją enzymów z rodziny ST6GalNAc. Badania sugerują, że wzrost sjalilacji α 2-6 na białkach powierzchniowych blokuje wiązanie ich do proapoptotycznych galektyn, w związku z czym promowane jest przeżycie komórek nowotworowych [25]. Nadekspresję ST6Gal-I stwierdzono w wielu typach raka w tym w raku okrężnicy, piersi i jajnika; korelowała ona ze zwiększonym potencjałem przerzutowym oraz złym rokowaniem dla pacjentów (Tab. 1) [26]. W przypadku raka piersi wykazano również podwyższoną aktywność enzymu ST3Gal-I, który odpowiada za przyłączanie kwasu sjalowego wiązaniem α 2-3 do rdzenia 1 *O*-glikanów tworząc sjalowany antygen Tn (sTn). Wzrost ekspresji α 2-3 związanego kwasu sjalowego dodatnio korelował z wysokim potencjałem przerzutowym raka piersi [27]. Z kolei w raku jelita grubego podwyższona ekspresja α 2-3 związanego kwasu sjalowego była charakterystyczna dla złośliwienia nowotworu i jego rozprzestrzeniania się do węzłów chłonnych [28]. Podwyższony poziom α 2-3 związanego kwasu sjalowego wykryto również na glikoproteinach surowicy pacjentów cierpiących na raka prostaty w porównaniu do chorych na łagodny rozrost gruczołu krokowego [17]. Wykazano, że obecność α 2-3 związanego kwasu sjalowego ułatwia zachowanie migracyjne i zwiększa inwazyjność pierwotnych komórek czerniaka oraz zwiększa ruchliwość komórek przerzutowych. Z kolei, obecność α 2-6 związanego kwasu sjalowego zwiększa potencjał inwazyjny zarówno pierwotnych, jak i przerzutowych komórek czerniaka [29].

Glikoproteiny komórek nowotworowych charakteryzują się nadekspresją niekompletnych *O*-glikanów takich jak antygen T (rdzeń 1 *O*-glikanów: Gal β 1-3GalNAc), antygen Tn (GalNAc) oraz ich sjalowanych form (odpowiednio sT oraz sTn) (Ryc. 2B) [1,30]. Antygen sTn określany jest jako antygen onkopłodowy – jego naturalnie wysoka ekspresja ograniczona jest do tkanek embrionalnych, ale również ulega on nadekspresji w komórkach zmienionych nowotworowo w porównaniu do ich zdrowych odpowiedników. Neoekspresję lub nadekspresję antygenu sTn odnotowano w wielu nowotworach w tym w raku trzustki, jajnika oraz okrężnicy (Tab. 1) [31]. Nadekspresja antygenu sTn koreluje ze zmniejszeniem adhezji komórek rakowych, zwiększonym wzrostem guza, zwiększoną migracją i inwazją komórek nowotworowych oraz słabym rokowaniem [1].

Transformacji nowotworowej towarzyszą także zmiany ekspresji glikoepitopów układu grupowego Lewis. Cechą

Tabela 1. Zmiany glikozylacji białek w komórkach nowotworowych oraz ich rola w rozwoju guza

Zmiana glikozylacji związana z nowotworem	Gen	Enzym	Typ nowotworu ¹	Funkcje	Literatura
podwyższona ekspresja N-glikanów typu kompleksowego z rozgałęzieniami β 1,6-GlcNAc	MGAT5	GnT-V	czerniak, glejak, rak piersi, okrężnicy, przełyku, żołądka, wątroby, prostaty	zmniejszona adhezja typu komórka-komórka oraz komórka-ECM, zwiększona ruchliwość, inwazyjność i potencjał do przerzutowania, wzrost guza, indukcja angiogenezy	[4,17-19,36-39]
rozregulowana ekspresja I-rozgałęzionych glikanów	GCNT2	I-rozgałęziająca GnT	↑ rak przełyku, piersi, prostaty, okrężnicy ↓ czerniak, chłoniak, rak żołądka	zwiększona ruchliwość, inwazyjność i potencjał do przerzutowania w przypadku czerniaka: wzrost guza, wzrost potencjału do tworzenia kolonii, zwiększone przeżycie	[21,40-42]
rozregulowana ekspresja N-glikanów z przedzielającą resztą GlcNAc	MGAT3	GnT-III	↑ białaczka, rak jajnika ↓ rak piersi, okrężnicy	inhibicja migracji, proliferacji i przerzutowania, zmniejszenie wzrostu guza, supresja EMT	[38,39,43-46]
podwyższona fukozylicacja rdzenia N-glikanów	FUT8	α 1,6-FucT	czerniak, rak prostaty, piersi, jajnika, płuc, wątroby, okrężnicy, trzustki	zwiększona inwazyjność i potencjał do przerzutowania, wzrost guza	[19,24,39]
podwyższona ekspresja α 2-6-sjalowanych N-glikanów	ST6GAL1	ST6Gal-I	białaczka, ostra białaczka szpikowa, rak szyjki macicy, piersi, żołądka, okrężnicy, wątroby, mózgu	unikanie apoptozy i przeżycie komórek nowotworowych, zmniejszona adhezja typu komórka-komórka, zwiększona ruchliwość, inwazyjność i potencjał do przerzutowania, złe rokowanie u pacjentów	[25,47]
podwyższona ekspresja antygeny sTn	ST6GALNAC1	ST6GalNAc-I	gruczolakorak, rak okrężnicy, piersi, żołądka, trzustki, prostaty, jajnika	zmniejszona adhezja typu komórka-komórka, zwiększona ruchliwość, inwazyjność i potencjał do przerzutowania, wzrost guza, złe rokowanie u pacjentów	[25,31,47]
podwyższona ekspresja antygeny sT	ST3GAL1	ST3Gal-I	rak piersi, pęcherza, okrężnicy	maskowanie guza przed komórkami układu immunologicznego, zwiększony potencjał do przerzutowania	[47]
podwyższona ekspresja antygeny sLe ^x	ST3GAL3 ST3GAL4 ST3GAL6 FUT3 FUT4 FUT5 FUT6 FUT7	ST3Gal-III ST3Gal-IV ST3Gal-VI FucT-III FucT-IV FucT-V FucT-VI FucT-VII	białaczka, niedrobnokomórkowy rak płuc, rak wątroby, piersi, jajnika, prostaty, nerki, pęcherza, jelita grubego	oddziaływanie z komórkami śródbłonki naczyniowego, ekstrawazacja i zwiększony potencjał do przerzutowania, obniżona przeżywalność pacjentów	[34,48,49]
podwyższona ekspresja antygeny sLe ^a	ST3GAL3 FUT3	ST3Gal-III FucT-III	niedrobnokomórkowy rak płuc, rak piersi, jajnika, okrężnicy, żołądka, trzustki	oddziaływanie z komórkami śródbłonki naczyniowego, ekstrawazacja i zwiększony potencjał do przerzutowania, obniżona przeżywalność pacjentów	[34,48-51]
podwyższona ekspresja antygeny Le ^y	FUT1 FUT2 FUT3 FUT4	FucT-I FucT-II FucT-III FucT-IV	niedrobnokomórkowy rak płuc, rak piersi, jajnika, prostaty, jelita grubego, żołądka, rak wątrobowokomórkowy	zwiększony potencjał do przerzutowania, obniżona przeżywalność pacjentów, korelacja ze stopniem zaawansowania i zróżnicowania nowotworu	[34,38]
zwiększona O-GlcNAcylicacja białek	OGT	OGT	przewlekła białaczka limfocytowa, rak piersi, prostaty, okrężnicy, pęcherza, płuc, trzustki, rak wątrobowokomórkowy	przeżycie komórek nowotworowych, wzrost guza, promowanie EMT, zwiększona inwazyjność i potencjał do przerzutowania, indukcja angiogenezy	[35]

¹Strzałka oznacza wzrost lub spadek ekspresji enzymu i kodującego go genu

charakterystyczną tych glikoepitopów jest posiadanie rdzenia laktozaminowego typu I (Gal β 1-3GlcNAc) lub typu II (Gal β 1-4GlcNAc), w których reszta GlcNAc podstawiona

jest odpowiednio α 1-4- lub α 1-3-związaną fukozą tworząc strukturę Lewis^a lub Lewis^x (Le^a lub Le^x). Reszta Gal w tych strukturach może podlegać α 2-3-sjalilacji z utworzeniem

odpowiednio struktur sLe^a lub sLe^x [32,33]. Komórki nowotworowe często wykazują nadekspresję antygenów sLe^{a/x} na terminalnych końcach N- oraz O-glikanów. Wzrost ekspresji tych glikoepitopów koreluje z zaawansowaniem procesu nowotworowego, a także ze złym rokowaniem [6,32]. Podwyższoną ekspresję antygenów sLe^{a/x} obserwuje się w raku piersi dającym przerzuty do węzłów chłonnych. Ekspresja antygenów sLe^x związana jest także z potencjałem przerzutowym raka jelita grubego, jajnika oraz wątroby [4]. U pacjentów z rakiem prostaty podwyższony poziom antygenów sLe^x na glikoproteinach (m.in. PSA, MUC1, PAP) związany był ze złym rokowaniem. Stwierdzono, że antygen sLe^x ułatwia rozprzestrzenianie się komórkom nowotworowym prostaty poprzez wiązanie z E-selektyną, unikanie rozpoznawania przez komórki NK, a także promowanie przerzutów do kości [17]. W nowotworach wywodzących się z komórek nabłonkowych, m. in. w raku piersi, jajnika, prostaty i płuc, obserwuje się zwiększoną ekspresję antygenów Lewis^y (Le^y). Glikoepitop ten charakteryzuje się posiadaniem rdzenia laktozaminowego typu II oraz obecnością dwóch reszt fukozy, z których jedna przyłączona jest do reszty GlcNAc wiązaniem α 1-3, a druga do reszty Gal wiązaniem α 1-2 [33]. Nadekspresja antygenów Le^y wiąże się ze słabym rokowaniem i zmniejszonym przeżyciem pacjentów z rakiem piersi niedającym przerzutów do węzłów chłonnych. Z kolei u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc nadekspresja antygenów Le^y, może służyć jako marker stopnia zróżnicowania komórek nowotworowych. Glikoepitop Le^y wykrywany jest także u 40-50% pacjentów z rakiem jelita grubego i żołądka, a jego nadekspresja koreluje ze stopniem zaawansowania guza [34].

W wielu nowotworach obserwuje się zwiększoną O-GlcNAcylation wynikającą ze zwiększonej ekspresji O-GlcNAc transferazy (OGT) – enzymu, który przyłącza resztę N-acetyloglukozaminy, oraz z obniżonej ekspresji β -N-acetyloglukozaminidazy (OGA) – enzymu, który usuwa resztę GlcNAc z białek. Wzrost poziomu OGT oraz O-GlcNAcylation zaobserwowano w białkach oraz podczas progresji raka piersi, prostaty, okrężnicy, pęcherza, płuc, trzustki i raka wątrobowokomórkowego (Tab. 1) [35]. Wykazano również, że O-GlcNAcylation reguluje aktywność czynników transkrypcyjnych, takich jak białko FoxM1, cyklina D1 oraz białko MYC, które są zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego. Zwiększona O-GlcNAcylation białka MYC może konkurować z fosforylacją, stabilizując białko MYC i przyczyniając się do onkogenezy [1]. Z kolei O-GlcNAcylation białka Snail1 obniża jego fosforylację i zwiększa okres półtrwania poprzez inhibicję ubikwitynacji. W odpowiedzi na hiperglikemię, O-GlcNAcylation białka Snail1 zmniejsza transkrypcję E-kadheryny – białka adhezyjnego odpowiadającego za przyleganie komórek, promując tym samym migracyjne i inwazyjne zachowanie komórek nowotworowych [15].

GLIKOZYLACJA W ADHEZJI KOMÓRKA-KOMÓRKA

Rozwój nowotworu złośliwego jest skorelowany z utratą wzajemnego przylegania komórek nowotworowych i rozwinięcia zdolności do inwazji otaczających tkanek. Istotną rolę w regulacji adhezji komórkowej odgrywa sjalilacja. Silnie sjalowane glikany powierzchni komórek nowotworowych

mogą zwiększać gęstość lokalnych ładunków ujemnych, które na zasadzie odpychania elektrostatycznego ułatwiają odrywanie się komórek nowotworowych od masy guza pierwotnego (Ryc. 3A). Z tego względu nadekspresja genu *ST6GAL1* i podwyższona aktywność enzymu ST6Gal-I w komórkach raka piersi prowadzi do rozluźnienia adhezji pomiędzy komórkami i zwiększonej zdolności komórek nowotworowych do inwazji. Podobnie zwiększona gęstość występowania sjalowanego antygenów Tn prowadzi do zmniejszonej adhezji komórek w raku prostaty oraz zwiększonej inwazji i migracji komórek raka piersi i żołądka [52,53]. Glikozylacja może również wpływać na aktywność oraz lokalizację białek zaangażowanych w adhezję komórkową. Białkami, które odpowiadają za adhezję międzykomórkową są kadheryny. E-kadheryna oraz N-kadheryna pełnią ważną rolę we wczesnym stadium karcynogenezy. Utrata ekspresji i/lub funkcji E-kadheryny stowarzyszona z nadekspresją N-kadheryny (tzw. „przełączenie kadheryn”) prowadzi do przejścia komórek z niemigracyjnego fenotypu epitelialnego do migracyjnego i inwazyjnego fenotypu mezenchymalnego (ang. *epithelial-to-mesenchymal transition*, EMT) [6]. Przełączenie kadheryn może być spowodowane nadekspresją GnT-V. Badania przeprowadzone na nabłonkowych komórkach raka sutka myszy wykazały, że komórki nowotworowe z niedoborem *Mgat5* zachowywały ekspresję E-kadheryny i N-kadheryny oraz epitelialny fenotyp, podczas gdy komórki z nadekspresją *Mgat5* wykazywały tylko ekspresję N-kadheryny i fenotyp mezenchymalny [54]. Obecność N-glikanów z rozgałęzieniami β 1,6-GlcNAc na E-kadherynie może odpowiadać za relokację E-kadheryny z błony komórkowej do cytoplazmy, pociągając za sobą utratę jej biologicznej funkcji oraz sprzycając bardziej inwazyjnemu i przerzutowemu fenotypowi. Modyfikacja E-kadheryny N-glikanami zawierającymi przedzielającą resztę GlcNAc wykazuje natomiast przeciwny efekt i jest związana ze stabilnością połączeń przylegających oraz supresją guza [53]. W lokalizację i funkcjonalność E-kadheryny zaangażowana jest również O-GlcNAcylation. Wykazano, że indukowana stresem O-GlcNAcylation cytoplazmatycznej domeny E-kadheryny prowadzi do zatrzymania tej molekuly adhezyjnej w siateczce śródplazmatycznej. W konsekwencji dochodzi do zmniejszenia ilości E-kadheryny na błonie komórkowej, zahamowania tworzenia połączeń przylegających i nasilonej swoistej apoptozy zwanej anoikis [55]. Do zmniejszenia ilości błonowej E-kadheryny przyczynia się także O-GlcNAcylation β -kateniny, z którą E-kadheryna tworzy kompleks adhezyjny zapewniający utrzymanie integralności nabłonka. Zaburzenia w tworzeniu kompleksu wpływają na właściwości adhezyjne komórki, ale także na rozregulowanie szlaku sygnałowego Wnt, ponieważ O-GlcNAcylovana β -katenina przechodzi do jądra komórkowego, gdzie działa jako czynnik kotranskrypcyjny w stymulowaniu transkrypcji genów zaangażowanych w proliferację, inwazję i przerzuty komórek. Brak stabilności kompleksu adhezyjnego kadheryna- β -katenina obserwowano w wielu typach nowotworów złośliwych u ludzi [56].

GLIKOZYLACJA W ADHEZJI KOMÓRKA-MACIERZ ZEWNĄTRZKOMÓRKOWA

Interakcje pomiędzy komórką nowotworową a otoczeniem mogą wyzwalać sygnały, które warunkują los komórki

i wpływają na rozwój agresywnego fenotypu. W sygnalizacji pomiędzy wnętrzem komórki a jej środowiskiem zewnętrznym pośredniczą integryny – rodzina heterodimerycznych receptorów, których ligandami są składniki ECM, takie jak kolagen, laminina czy też fibronektyna. Każda integryna składa się z podjednostki α i β . Osiemnaście różnych podjednostek α łączy się w parę z jedną z 8 podjednostek β dając co najmniej 24 funkcjonalnie różne receptory. Receptory te odgrywają kluczową rolę w procesie EMT i umożliwiają komórce nowotworowej inwazję ECM, wejście do naczynia krwionośnego i tworzenie przerzutu w miejscu odległym od guza pierwotnego. Integryny kontrolują także tworzenie się niszy premetastatycznej [57]. Podczas transformacji nowotworowej zaburzona zostaje nie tylko ekspresja integryn, ale także wzór ich glikozylacji. Podobnie jak w przypadku E-kadheryny, rozgałęzienia $\beta 1,6$ oraz przedzielające reszty GlcNAc w N-glikanach mają przeciwny wpływ na funkcje integryn. Wykazano, że nadekspresja *MGAT5* w raku żołądka, prowadziła do wzrostu N-glikanów z rozgałęzieniami $\beta 1,6$ na integrynie $\alpha_3\beta_1$, skutkując zwiększoną migracją komórek nowotworowych; z kolei nadekspresja *GnT-III* prowadziła do przeciwnego efektu [53]. Zwiększenie ilości rozgałęziającej $\beta 1,6$ -N-acetyloglukozaminy na N-glikanach integryny $\alpha_3\beta_1$, skorelowana była z przerzutami do płuc w mysim czerniaku B16 [58]. Również zwiększona $\alpha 2$ -6-sialilacja N-glikanów obecnych na integrinach może zakłócać wiązanie ligandów przez integryny i w ten sposób kontrolować migracyjne zachowanie komórek nowotworowych i ich potencjał przerzutowy (Ryc. 3B). W badaniach prowadzonych na liniach komórkowych raka okrężnicy i piersi wykazano, że nadekspresja *ST6Gal-I* skutkuje zmienioną adhezją komórek do substratów ECM takich jak kolagen, fibronektyna i laminina [1]. Stwierdzono również, że sjalowane N-glikany typu kompleksowego z rozgałęzieniami $\beta 1,6$ oraz zmieniona glikozylacja obu podjednostek integryny $\alpha_3\beta_3$ są zaangażowane w migrację metastatycznego czerniaka [59].

GLIKOZYLACJA W NADZORZE IMMUNOLOGICZNYM NOWOTWORÓW

Układ odpornościowy odpowiada za eliminację większości powstających komórek nowotworowych. Jednak, w procesie rozwoju nowotworu, guzy lite przystosowały się do presji selekcyjnej wywieranej przez układ odpornościowy i rozwinęły zdolność do indukowania immunosupresyjnego środowiska w obrębie guza [60]. Glikany regulują różne aspekty odpowiedzi immunologicznej i mogą zakłócać mechanizmy stymulacji układu immunologicznego do obrony przeciwnowotworowej. W procesie tym uczestniczą lektyny, które rozpoznają i wiążą epitopy glikanowe obecne na powierzchni komórek nowotworowych [52]. Makrofagi oraz komórki dendrytyczne wykazują ekspresję lektyny DC-SIGN (ang. *dendritic cell-specific ICAM-grabbing nonintegrin*) i za jej pośrednictwem wiążą glikany zawierające fukozę – antygeny Lewis, co prowadzi do uwalniania cytokin przeciwzapalnych. Zwiększona obecność antygenów Lewis na komórkach nowotworowych może zatem przyczynić się do tworzenia immunosupresyjnego mikrośrodowiska guza. Podobnie lektyna MGL (ang. *macrophage galactose-type lectin*) obecna na makrofagach wiążąc się z N-acetylogalaktozaminą (glikoepitop Tn) jest zdolna do wy-

wołania immunosupresji. Skrócone O-glikany typu mucynowego Tn mogą więc działać jako ligandy MGL modulując mikrośrodowisko guza [60]. W kształtowaniu odpowiedzi immunologicznej duże znaczenie ma zmieniona sialilacja glikanów. Sjalowane epitopy obecne na glikoproteinach są rozpoznawane przez lektyny immunoregulacyjne – Siglec, obecne na powierzchni komórek odpornościowych [60]. Ludzkie komórki NK wykazują wysoką ekspresję Siglec-7. Zaproponowano więc, że glikany zawierające kwasy sjalowe, obecne w nadmiarze na powierzchni komórek nowotworowych, wchodzą w oddziaływanie z lektynami Siglec blokując zabijanie komórek nowotworowych przez komórki NK [47]. Zaobserwowano, że wiązanie Siglec-7 obecnej na komórkach NK z niektórymi komórkami nowotworowymi zależy od obecności O-glikanów typu mucynowego (Ryc. 3D). W tym roku ukazała się praca, w której autorzy dowiedli, że leukosjalina – białko błonowe typu mucynowego, bogate w sjalowane antygeny T oraz Tn – jest głównym ligandem dla Siglec-7 w komórkach ludzkiej erytroleukemii K562 [61]. Wykazano również, że nieprawidłowa ekspresja sjalowanych antygenów Tn oraz T jest związana z tolerancją immunologiczną, upośledzeniem dojrzewania i aktywacji komórek dendrytycznych oraz makrofagów [60].

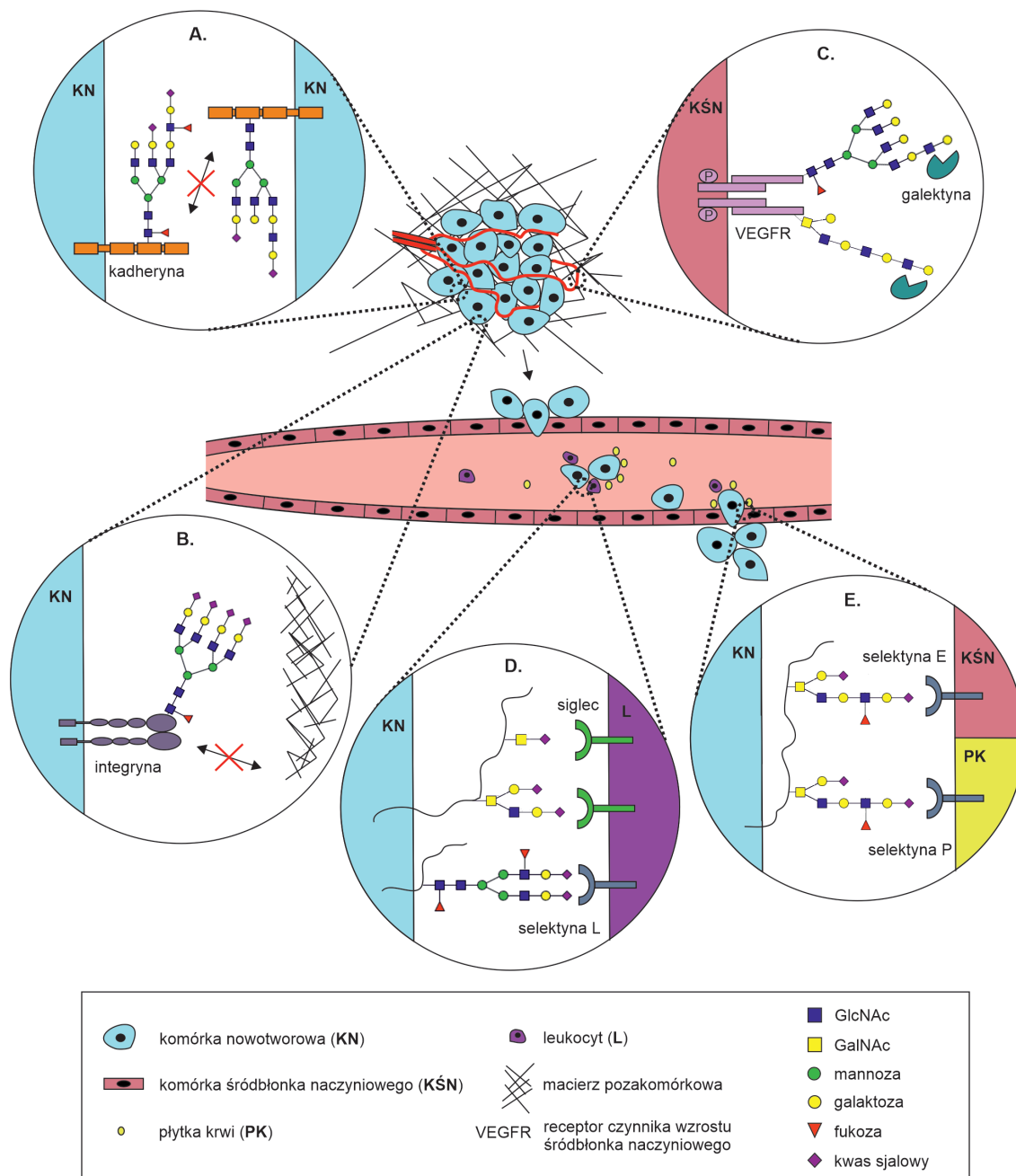
Również inna rodzina lektyn wiążących glikany – galektyny – może modulować odpowiedź immunologiczną oraz zapalną. Uważa się, że galektyny odgrywają rolę w pomaganiu komórkom nowotworowym w uwalnianiu się spod nadzoru immunologicznego [52,60]. Wiele galektyn wykazuje niskie powinowactwo do β -galaktozy maskowanej $\alpha 2$ -6 związanym kwasem sjalowym, zatem obserwowana zwiększona ekspresja *ST6GAL1* podczas karcynogenezy, może chronić komórki nowotworowe przed apoptozą indukowaną galektynami oraz promować przeżycie komórek nowotworowych [53]. Ostatnie doniesienia sugerują, że glikozylacja ligandu programowanej śmierci typu I (PD-L1), którego silną ekspresję obserwowano w czerniaku, nowotworach piersi, płuc i jelita grubego, stabilizuje białko PD-L1 i jego interakcję ze swoistym receptorem PD-1 na limfocytach T. W glikozylację PD-L1 zaangażowana jest $\beta 1,3$ -N-acetyloglukozaminotransferaza kodowana przez gen *B3GNT3*. Przedłużone oddziaływanie PD-L1/PD-1, będące wynikiem glikozylacji PD-L1, tłumi przeciwnowotworową odpowiedź limfocytów T uniemożliwiając efektywną eliminację komórek nowotworowych w mikrośrodowisku guza. Uśpienie limfocytów T zachodzi poprzez hamowanie ich wzrostu, proliferacji oraz dojrzewania [62].

Antygeny cukrowe związane z nowotworem, zmieniając immunogenność komórek nowotworowych, mogą wchodzić w interakcję z naturalnymi przeciwciałami krążącymi wraz z krwią, i ułatwiać rozwój guza poprzez indukowanie chronicznego stanu zapalnego [6]. Przykładem kseno-antygeny w ludzkich tkankach jest kwas N-glikoliloneuraminowy (Neu5Gc). Ludzkie komórki nie są zdolne do syntezy Neu5Gc, a mimo to stwierdza się jego obecność w ludzkich tkankach. Źródłem tego kwasu sjalowego jest dieta, a w szczególności spożywanie czerwonego mięsa obfitego w Neu5Gc. Kwas N-glikoliloneuraminowy oddziałuje z przeciwciałami anti-Neu5Gc. Interakcja ta prowadzi do rozwoju chronicznego zapalenia, co może przyczynić się do karcynogenezy [63].

GLIKOZYLACJA W TWORZENIU PRZERZUTÓW NOWOTWOROWYCH

Przerzuty nowotworowe są wynikiem wieloetapowego procesu, który obejmuje oderwanie komórek nowotworowych od guza pierwotnego, ich przeżycie w krwioobiegu oraz kolonizację odległych miejsc [57]. Metastatyczny potencjał komórek nowotworowych jest wzmacniany poprzez interakcję komórek nowotworowych z selektynami. Selektyny są adhezyjnymi glikoproteinami, które wiążą węglowodany w obecności jonów wapnia. Do rodziny selektyn należą: selektyna E występująca na aktywowanych

komórkach śródbłonna naczyniowego, selektyna L konстыtutywnie obecna na leukocytach oraz selektyna P obecna na aktywowanych płytkach krwi oraz komórkach śródbłonna naczyniowego. Antygeny sLe^{x/a} obecne na powierzchni komórek nowotworowych oddziałują z selektynami płytek krwi i leukocytów tworząc zlepy heterotypowe, w których komórki nowotworowe są chronione przed atakiem ze strony układu immunologicznego [53]. Cyrkulujące komórki nowotworowe unoszone prądem krwi ulegają marginacji i związaniu do śródbłonna naczyniowego, co określa się mianem toczenia. Toczenie komórek nowotworowych po



Rycina 3. Wpływ zmian wzoru glikozylacji białek na zachowanie komórek nowotworowych. Modyfikacja kadheryn oraz integryn N-glikanami z rozgałęzieniami β 1,6 zakończonymi α 2-6 związanym kwasem sjałowym osłabia adhezję komórka–komórka (A) oraz komórka–macierz zewnątrzkomórkowa (B) ułatwiając przejście epithelialno-mezenchymalne (EMT) i prowadząc do migracyjnego i inwazyjnego fenotypu komórek nowotworowych. Nieprawidłowa glikozylacja receptora czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGFR) moduluje jego interakcję z galektynami stymulując angiogenezę guza (C). Sjałowane glikany wiążą białka siglec zlokalizowane na powierzchni komórek odpornościowych regulując odpowiedź immunologiczną i umożliwiając komórkom nowotworowym ucieczkę spod nadzoru immunologicznego (D). Oddziaływania antygenów sLe^x oraz sLe^a z selektynami zlokalizowanymi na aktywowanych komórkach śródbłonna naczyniowego (selektyna E), leukocytach (selektyna L) i płytkach krwi (selektyna P) promują ekstrawazację komórek nowotworowych i przerzutowanie do określonych nisz metastatycznych (E).

Tabela 2. Przykłady wykorzystywanych klinicznie oraz potencjalnych glikomarkerów nowotworowych.

Marker	Zmiana glikozylacji	Nowotwór	Rola
AFP-L3 (w użyciu klinicznym)	fukozyllacja rdzenia	rak wątrobowokomórkowy (HCC)	diagnoza i rokowanie pacjenta
CA19-9 (w użyciu klinicznym)	struktura sLe ^a	rak trzustki	diagnoza i rokowanie pacjenta
CEA	podwyższony poziom struktur Le ^x , Le ^y , antygeny T oraz struktur wielomannozowych	rak jelita grubego	diagnoza
PSA	struktury dwuantenowe kompleksowe z α2-3 związanym kwasem sjałowym, ugrupowanie LacdiNAc	rak prostaty	diagnoza
Hp	podwyższona bifukozyllacja	rak wątrobowokomórkowy (HCC)	diagnoza
	podwyższona fukozyllacja	rak jajnika	diagnoza
A1AT	podwyższona galaktozyllacja, fukozyllacja i struktury poli-LacNAc	rak płuc	diagnoza
CP	podwyższony poziom struktury sLe ^x	rak trzustki	diagnoza
	podwyższona fukozyllacja rdzenia	rak wątrobowokomórkowy (HCC)	diagnoza

AFP- alfa-fetoproteina; CA - antygen rakowy; CEA - antygen onkopłodowy; PSA - swoisty antygen sterczowy; Hp - haptoglobina; A1AT - alfa-1 antytrypsyna; CP - ceruloplazmina. Tabelę opracowano na podstawie [17,76-78].

śródbłonu i ich zatrzymanie jest wynikiem oddziaływań między selektynami na aktywowanych komórkach śródbłonna a ligandami sLe^{x/a} na komórkach nowotworowych (Ryc. 3E). Skutkiem toczenia dochodzi do spowolnienia przemieszczania się komórek. Minimalna prędkość toczących się komórek sprzyja ich oddziaływaniu z galektyną-3 na powierzchni śródbłonna za pośrednictwem antygeny T na powierzchni komórek nowotworowych. Wykazano, że antygeny sLe^{x/a} obecne na komórkach nowotworowych w tym komórkach raka okrężnicy, żołądka, piersi, trzustki i pęcherza oddziałując z selektynami regulują tworzenie odległych przerzutów. Co więcej, wysoka ekspresja sjałowanych antygenów Lewis w tych nowotworach jest silnie skorelowana ze złym rokowaniem pooperacyjnym pacjentów [64].

GLIKOZYLLACJA W ANGIOGENEZIE

Wzrost nowotworu zależy od dostępu składników odżywczych oraz tlenu dostarczanych za pośrednictwem naczyń krwionośnych. Komórki nowotworowe są zdolne do wytwarzania własnej sieci naczyń krwionośnych w procesie angiogenezy. Kluczowym czynnikiem stymulującym angiogenezę jest czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*), który wywołuje efekty biologiczne łącząc się ze swoimi receptorami – głównie VEGFR-1 oraz VEGFR-2. Czynnik VEGF oddziałuje również z innym receptorem zlokalizowanym w śródbłonu naczyniowym – neuropiliną-1 (NRP-1) [65]. W angiogenezę zaangażowane są glikany oddziałujące z galektynami. Galektyna-1 indukuje proliferację i migrację komórek śródbłonkowych, tworzenie naczyń krwionośnych *in vitro* oraz promuje angiogenezę *in vivo*. Lektyna ta wiąże się z NRP-1 oraz VEGFR-2 ułatwiając fosforyllację receptorów i uruchomienie ścieżek sygnalizacyjnych; zdarzenia te są wyzwalane przez VEGF. Galektyna-1 rozpoznaje kompleksowe N-glikany obecne na immunoglobulinopodobnych domenach

VEGFR-2, prowadząc do zależnej od glikozylacji segregacji i zatrzymania tego receptora na powierzchni komórek śródbłonkowych. Wykazano, że pod wpływem hipoksji w glikomie komórek śródbłonkowych spada zawartość α2-6 związanego kwasu sjałowego oraz rośnie zawartość N-glikanów z ugrupowaniem poliLacNAc na rozgałęzieniach β1,6 – ligandy dla galektyny-1. Oddziaływanie między galektyną-1 a jej ligandami stymuluje angiogenezę. Galektyna-3 wykazuje z kolei aktywność proangiogeną poprzez łączenie się z rozgałęzionymi β1,6 N-glikanami obecnymi na integrynie α_vβ₃, co także wpływa na zatrzymanie VEGFR-2 na powierzchni komórek śródbłonkowych [66] (Ryc. 3C).

GLIKOZYLLACJA A EV I PRZYGOTOWANIE NISZY PREMETASTATYCZNEJ

Mikropęcherzyki błonowe (ang. EV, extracellular vesicles) są nanopęcherzykami o podwójnej błonie lipidowej zdolnymi do pakowania i transportu wielu cząsteczek biologicznych, takich jak białka, enzymy oraz kwasy nukleinowe (mRNA, miRNA, tRNA, rRNA, DNA). Do mikropęcherzyków błonowych zalicza się egzosomy, ektozomy oraz ciała apoptotyczne. Mikropęcherzyki błonowe wydzielane są przez wszystkie typy komórek i uczestniczą w przekazywaniu cząsteczek biologicznych (ang. cargo) pomiędzy komórkami, mają wpływ na środowisko zewnątrzkomórkowe i układ odpornościowy [67]. Wychwytywanie EV przez komórki docelowe towarzyszy wielu ważnym procesom biologicznym, takim jak angiogeneza, rozwój kości, komunikacja międzyneuronalna, migracja komórek oraz regulacja stanu zapalnego [68]. Mikropęcherzyki błonowe wydzielane przez komórki nowotworowe pośredniczą w komunikacji komórek guza z komórkami lokalnymi oraz komórkami zlokalizowanymi w odległych miejscach [67]. W ostatnim czasie doniesiono, że dalekodystansowe przekazywanie egzosomów prowadzi do przygotowania niszy pre-metastatycznych poprzez rekrutację i upośledzenie funkcji komó-

rek układu odpornościowego, co skutkuje przebudową lokalnej sieci naczyń krwionośnych oraz macierzy zewnątrzkomórkowej [69]. Co więcej, tworzenie niszy metastatycznej jest tkankowo specyficzne, a metastatyczny organotropizm jest kierowany przez integryny obecne na powierzchni egzozomów [68]. Przyszłościowe wydają się zatem badania w kierunku szczegółowego poznania glikozylacji integryn transportowanych w błonie EV [70]. Do tej pory niewiele wiadomo na temat roli glikozylacji mikropęcherzyków błonowych w nowotworach. Niemniej jednak, udowodniono już, że glikozylacja EV wpływa na biodystrybucję, wychwytywanie i sortowanie transportowanych molekuł białkowych. Wykazano, że ekzosomy wydzielane przez czerniaka zawierają unikalną kompozycję glikanów, która może służyć jako specyficzny sygnał sortowania. Postawiono hipotezę, że sortowanie białek na bazie glikanów jest głównym mechanizmem włączania białek do ekzosomów [71]. W modelu mysim zaprezentowano, że mikropęcherzyki błonowe wyizolowane z komórek progenitorowych mysiej wątroby, traktowane neuraminidazą usuwającą kwasy sjałowe, preferencyjnie akumulowały się w płucach oraz pachowych węzłach chłonnych. Ze względu na to, że zwiększona sjałilacja jest powszechną cechą komórek nowotworowych, zrozumienie roli kwasów sjałowych w zaleźnym od mikropęcherzyków błonowych organotropizmie, może otworzyć nowe ścieżki działania w blokowaniu przerzutów nowotworowych [67].

GLIKOZYLACJA A OPORNOŚĆ NA LEKI/CHEMIOTERAPIĘ

Na przestrzeni ostatnich lat prowadzone są badania nad rolą zmienionej glikozylacji w oporności wielolekowej komórek nowotworowych. Wyniki badań wskazują, że nieprawidłowa glikozylacja może wpływać na różne mechanizmy oporności na terapię przeciwnowotworową, uczestnicząc w blokowaniu apoptozy komórek nowotworowych, zakłócając aktywację szlaków sygnalizacyjnych, zmieniając wchłanianie i metabolizm leków lub też „przechwytywać” komórki macierzyste [72]. Uważa się, że oporność na chemioterapię może być wynikiem hipersjałilacji komórek nowotworowych. Silnie podwyższona ekspresja kwasów sjałowych na powierzchni komórek nowotworowych może stanowić fizyczną barierę, blokując dyfuzję leku do wnętrza komórki [73]. Wykazano, że nadekspresja ST6Gal-I osłabia apoptozę komórek raka jajnika indukowaną paklitaksemem oraz adriamycyną [74].

GLIKOZYLACJA JAKO MARKER KARCINOGENEZY

W surowicy pacjentów dotkniętych chorobą nowotworową obecne są glikany i glikoproteiny związane z guzem. Ich obecność w surowicy wynika z aktywnego wydzielania lub też wycieku z komórek nowotworowych podczas ich nekrozy lub apoptozy. Cząsteczki pochodzące z guza są przydatne jako biomarkery do diagnostyki, monitorowania i oceny progresji guza. Wiele glikoprotein związanych z nowotworem jest selektywnie ekspresjonowanych podczas rozwoju płodowego. Ich ponowna lub zwiększona produkcja, która ma miejsce podczas transformacji nowotworowej, wskazuje na tworzenie się, wzrost lub ekspansję guza [75]. Alfa-fetoproteina (AFP) jest *N*-glikoproteina obecna w surowicy

w płodu, a jej stężenie po narodzinach szybko się zmniejsza. U dorosłych stężenie AFP wynosi zwykle 0,5–15 µg/l. AFP jest glikomarkerem służącym do diagnostyki raka wątrobowokomórkowego (HCC); jednak jego stężenie w surowicy nie pozwala na rozróżnienie pomiędzy HCC, a łagodnymi zmianami w obrębie wątroby. Zaproponowano więc dodatkowy marker oparty na glikozylowanej formie AFP (frakcja AFP-L3 z fukozą rdzeniową na *N*-glikanie dołączonym do asparaginy w pozycji 251), który wykazuje wyższy poziom fukozylacji u pacjentów z HCC w porównaniu do pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby. Fukozylowana frakcja AFP-L3 została zatwierdzona przez FDA jako marker do wczesnego wykrywania HCC, ponieważ pojawia się on w surowicy pacjentów na etapie marskości wątroby, przed wystąpieniem HCC [1,75]. CA19-9 jest istotnym biomarkerem raka trzustki zatwierdzonym przez FDA do monitorowania choroby. CA19-9 odpowiada antygenowi sLe^a obecnemu na różnych glikoproteinach, m.in. mucynach. Antygen CA19-9 jest wykrywany głównie w raku trzustki, dróg żółciowych, jelita grubego i żołądka, ale może też występować u pacjentów z rakiem piersi, płuc, a także w innych niezłośliwych chorobach. Po operacji guza stężenie CA19-9 w surowicy spada, natomiast w przypadku nawrotu choroby wzrasta [53]. Antygen onkopłodowy CEA jest glikoproteina charakterystyczna dla rozwoju płodu. Stężenie CEA dramatycznie spada przed urodzeniem, a u dorosłych jego prawidłowe stężenie w surowicy wynosi < 2,5 ng/ml. CEA jest dobrze znanym markerem do oceny stopnia zaawansowania i monitorowania nawrotów raka jelita grubego. Wykazuje jednak niską specyficzność, ponieważ jego stężenie rośnie również w innych nowotworach, w tym w raku trzustki i żołądka [75]. Pomocnym narzędziem w diagnozie i ocenie stopnia zaawansowania raka jelita grubego może być zmieniony wzór glikozylacji CEA. Wykazano podwyższoną ekspresję antygenów Le^x, Le^y, antygeny T oraz struktur wielomannozowych na glikoproteinie CEA pacjentów z rakiem jelita grubego w porównaniu do osób zdrowych [76]. Swoisty antygen sterczowy (PSA) jest *N*-glikoproteina wydzielaną przez nabłonek prostaty i gruczolę okołocewkowe. PSA można wykryć w surowicy zdrowych mężczyzn w stężeniu <2,5 ng/ml do 40 roku życia, które stopniowo wzrasta (6,5 ng/ml) wraz z wiekiem (do 70 lat). Stężenie PSA w stanach patologicznych prostaty jest zwiększone i glikoproteina ta wykorzystywana jest jako marker w badaniach przesiewowych raka prostaty (stężenie powyżej 4 ng/ml) [75]. Ograniczeniem tego markera jest jednak niska specyficzność oraz brak wartości prognostycznej. Co więcej badania przesiewowe PSA w kierunku raka prostaty mogą prowadzić do nadrozpoznowalności i wdrażania niepotrzebnego leczenia. Wzrosło zatem zainteresowanie badaniami mającymi na celu określenie unikalnego dla raka prostaty wzoru glikozylacji PSA, który mógłby poprawić użyteczność kliniczną tego markera. Opisano około 50 glikoform PSA, z których tylko niektóre występowały w agresywnym raku prostaty. Liczne badania wykazały, że kompleksowe, dwuantenowe glikoformy z α2-3 związanym kwasem sjałowym są ściśle powiązane z agresywną chorobą [17]. Użytecznym markerem diagnostycznym pozwalającym odróżnić raka prostaty od łagodnego rozrostu gruczolu krokowego może być także glikoforma PSA zawierająca ugrupowanie LacdiNac [77]. Więcej potencjal-

nych glikomarkerów związanych z nowotworami opartych na specyficznych zmianach glikozylacji przedstawiono w Tabeli 2.

PIŚMIENNICTWO

1. Pinho SS, Reis CA (2015) Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Cancer* 15: 540-555
2. Murray RK (2015) Glikoproteiny, W: Kokot F, Koj A, Kozik A, Wilczok T (red) *Biochemia Harpera*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, str. 630-655
3. Moremen KW, Tiemeyer M, Nairn AV (2012) Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13: 448-462
4. Christiansen MN, Chik J, Lee L, Anugraham M, Abrahams JL, Packer NH (2014) Cell surface protein glycosylation in cancer. *Proteomics* 14: 525-546
5. Lauc G, Krištić J, Zoldoš V (2014) Glycans—the third revolution in evolution. *Front Genet* 5: 145
6. Hoja-Łukowicz D, Przybyło M, Duda M, Pocheć E, Bubka M (2017) On the trail of the glycan codes stored in cancer-related cell adhesion proteins. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1861: 3237-3257
7. Stowell SR, Ju T, Cummings RD (2015) Protein Glycosylation in Cancer. *Annu Rev Pathol* 10: 473-510
8. Schjoldager KT, Narimatsu Y, Joshi HJ, Clausen H (2020) Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 21: 729-749
9. Stanley P, Taniguchi N, Aebi M (2017) N-Glycans, W: Varki A (red) *Essentials of Glycobiology*. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press [online]
10. Kozłowska K, Rydlewska N, Ząbczyńska M, Pocheć E (2018) Glikozylacja IgG w chorobach autoimmunizacyjnych. *Post Hig Med Dosw* 72: 975-990
11. Brockhausen I, Stanley P (2017) O-GalNAc Glycans, W: Varki A (red) *Essentials of Glycobiology*. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press [online]
12. Peter-Katalinić J (2005) Methods in enzymology: O-glycosylation of proteins. *Methods Enzymol* 405: 139-171
13. Love DC, Hanover JA (2005) The hexosamine signaling pathway: Deciphering the "O-GlcNAc code". *Sci STKE* 2005: re13
14. Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G, Lagerlof O (2011) Cross talk between O-GlcNAcylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem* 80: 825-858
15. Ruan H-B, Nie Y, Yang X (2013) Regulation of protein degradation by O-GlcNAcylation: crosstalk with ubiquitination. *Mol Cell Proteomics* 12: 3489-3497
16. Przybyło M, Martuszewska D, Pocheć E, Hoja-Łukowicz D, Lityńska A (2007) Identification of proteins bearing β 1-6 branched N-glycans in human melanoma cell lines from different progression stages by tandem mass spectrometry analysis. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1770: 1427-1435
17. Scott E, Munkley J (2019) Glycans as Biomarkers in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 20: 1389
18. Veillon L, Fakih C, Abou-El-Hassan H, Kobeissy F, Mechref Y (2017) Glycosylation Changes in Brain Cancer. *ACS Chem Neurosci* 9: 51-72
19. Taniguchi N, Kizuka Y (2015) Glycans and cancer: role of N-glycans in cancer biomarker, progression and metastasis, and therapeutics. *Adv Cancer Res* 126: 11-51
20. Kinoshita M, Mitsui Y, Kakoi N, Yamada K, Hayakawa T, Takeki K (2014) Common Glycoproteins Expressing Poly-lactosamine-Type Glycans on Matched Patient Primary and Metastatic Melanoma Cells Show Different Glycan Profiles. *J Proteome Res* 13: 1021-1033
21. Perez M, Chakraborty A, Lau LS, Mohammed NBB, Dimitroff CJ (2021) Melanoma-associated glycosyltransferase GCNT2 as an emerging biomarker and therapeutic target. *Br J Dermatol*, doi: 10.1111/BJD.19891
22. Yoshimura M, Nishikawa A, Ihara Y, Taniguchi S, Taniguchi N (1995) Suppression of lung metastasis of B16 mouse melanoma by N-acetylglucosaminyltransferase III gene transfection. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 8754-8758
23. Link-Lenczowski P, Bubka M, Balog CIA, Koeleman CAM, Butters TD, Wuhrer M, Lityńska A (2018) The glycomic effect of N-acetylglucosaminyltransferase III overexpression in metastatic melanoma cells. GnT-III modifies highly branched N-glycans. *Glycoconj J* 35: 217-231
24. Agrawal P, Fontanals-Cirera B, Sokolova E, Jacob S, Vaiana CA, Argibay D, Davalos V, McDermott M, Nayak S, Darvishian F, Castillo M, Ueberheide B, Osman I, Fenyö D, Mahal LK, Hernando E (2017) A systems biology approach identifies FUT8 as a driver of melanoma metastasis. *Cancer Cell* 31: 804-819
25. Schultz MJ, Swindall AF, Bellis SL (2012) Regulation of the metastatic cell phenotype by sialylated glycans. *Cancer Metastasis Rev* 31: 501-518
26. Swindall AF, Londoño-Joshi AI, Schultz MJ, Fineberg N, Buchsbaum DJ, Bellis SL (2013) ST6Gal-I protein expression is upregulated in human epithelial tumors and correlates with stem cell markers in normal tissues and colon cancer cell lines. *Cancer Res* 73: 2368-2378
27. Scott DA, Drake RR (2019) Glycosylation and its implications in breast cancer. *Expert Rev Proteomics* 16: 665-680
28. Fukasawa T, Asao T, Yamauchi H, Ide M, Tabe Y, Fujii T, Yamaguchi S, Tsutsumi S, Yazawa S, Kuwano H (2013) Associated expression of alpha2,3sialylated type 2 chain structures with lymph node metastasis in distal colorectal cancer. *Surg Today* 43: 155-162
29. Hoja-Łukowicz D, Link-Lenczowski P, Carpentieri A, Amoresano A, Pocheć E, Artemenko KA, Bergquist J, Lityńska A (2013) L1CAM from human melanoma carries a novel type of N-glycan with Gal β 1-4Gal β 1-motif. Involvement of N-linked glycans in migratory and invasive behaviour of melanoma cells. *Glycoconj J* 30: 205-225
30. Hoja-Łukowicz D, Szwed S, Laidler P, Lityńska A (2018) Proteomic analysis of Tn-bearing glycoproteins from different stages of melanoma cells reveals new biomarkers. *Biochimie* 151: 14-26
31. Julien S, Videira PA, Delannoy P (2012) Sialyl-Tn in Cancer: (How) Did We Miss the Target? *Biomolecules* 2: 435-466
32. Orczyk-Pawilowicz M (2007) Znaczenie fukozylacji glikokonjugatów w zdrowiu i chorobie. *Post Hig Med Dosw* 61: 240-252
33. Kaczmarek R (2010) Zmiany ekspresji antygenów grupowych układu Lewis w komórkach nowotworowych. *Post Hig Med Dosw* 64: 87-99
34. Blanas A, Sahasrabudhe NM, Rodríguez E, van Kooyk Y, van Vliet SJ (2018) Fucosylated Antigens in Cancer: An Alliance toward Tumor Progression, Metastasis, and Resistance to Chemotherapy. *Front Oncol* 8: 39
35. Ferrer CM, Sodi VL, Reginato MJ (2016) O-GlcNAcylation in Cancer Biology: Linking Metabolism and Signaling. *J Mol Biol* 428: 3282-3294
36. Przybyło M, Lityńska A (2011) Glycans in melanoma screening. Part 1. The role of β 1,6-branched N-linked oligosaccharides in melanoma. *Biochem Soc Trans* 39: 370-373
37. Ishibashi Y, Dosaka-Akita H, Miyoshi E, Shindoh M, Miyamoto M, Kinoshita I, Miyazaki H, Itoh T, Kondo S, Nishimura M, Taniguchi N (2005) Expression of N-Acetylglucosaminyltransferase V in the Development of Human Esophageal Cancers: Immunohistochemical Data from Carcinomas and Nearby Noncancerous Lesions. *Oncology* 69: 301-310
38. Thomas D, Rathinavel AK, Radhakrishnan P (2021) Altered glycosylation in cancer: A promising target for biomarkers and therapeutics. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1875: 188464
39. Kizuka Y, Taniguchi N (2016) Enzymes for N-Glycan Branching and Their Genetic and Nongenetic Regulation in Cancer. *Biomolecules* 6: 25
40. Peng F, He Q, Cheng C, Pan J (2019) GCNT2 induces epithelial-mesenchymal transition and promotes migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Cell Biochem Funct* 37: 42-51
41. Sweeney JG, Liang J, Antonopoulos A, Giovannone N, Kang S, Mondala TS, Head SR, King SL, Tani Y, Brackett D, Dell A, Murphy GF, Haslam SM, Widlund HR, Dimitroff CJ (2018) Loss of GCNT2/I-

- branched glycans enhances melanoma growth and survival. *Nat Commun* 9: 3368
42. Dimitroff CJ (2019) I-branched carbohydrates as emerging effectors of malignant progression. *PNAS* 116: 13729–13737
 43. Cheng L, Cao L, Wu Y, Xie W, Li J, Guan F, Tan Z (2020) Bisecting N-Acetylglucosamine on EGFR Inhibits Malignant Phenotype of Breast Cancer via Down-Regulation of EGFR/Erk Signaling. *Front Oncol* 10: 929
 44. Yoshimura M, Nishikawa A, Ihara Y, Nishiura T, Nakao H, Kanayama Y, Matuzawa Y, Taniguchi N (1995) High expression of UDP-N-acetylglucosamine: beta-D mannoside beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) in chronic myelogenous leukemia in blast crisis. *Int J Cancer* 60: 443–449
 45. Balog CIA, Stavenhagen K, Fung WLJ, Koeleman CA, McDonnell LA, Verhoeven A, Mesker WE, Tollenaar RAEM, Deelder AM, Wührer M (2012) N-glycosylation of colorectal cancer tissues: a liquid chromatography and mass spectrometry-based investigation. *Mol Cell Proteomics* 11: 571–585
 46. Allam H, Johnson BP, Zhang M, Lu Z, Cannon MJ, Abbott KL (2017) The glycosyltransferase GnT-III activates Notch signaling and drives stem cell expansion to promote the growth and invasion of ovarian cancer. *J Biol Chem* 292: 16351–16359
 47. Rodrigues E, Macauley MS (2018) Hypersialylation in Cancer: Modulation of Inflammation and Therapeutic Opportunities. *Cancers (Basel)* 10: 207
 48. Ferreira IG, Carrascal M, Mineiro AG, Bugalho A, Borralho P, Silva Z, Dall'olio F, Videira PA (2019) Carcinoembryonic antigen is a sialyl Lewis x/a carrier and an E-selectin ligand in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol* 55: 1033–1048
 49. Jeschke U, Mylonas I, Shabani N, Kunert-Keil C, Schindlbeck C, Gerber B, Friese K (2005) Expression of sialyl lewis X, sialyl Lewis A, E-cadherin and cathepsin-D in human breast cancer: immunohistochemical analysis in mammary carcinoma in situ, invasive carcinomas and their lymph node metastasis. *Anticancer Res* 25: 1615–1622
 50. Weitzenfeld P, Bournazos S, Ravetch JV (2019) Antibodies targeting sialyl Lewis A mediate tumor clearance through distinct effector pathways. *J Clin Invest* 129: 3952–3962
 51. Kannagi R (2007) Carbohydrate antigen sialyl Lewis a - Its pathophysiological significance and induction mechanism in cancer progression. *Chang Gung Med J* 30: 189–209
 52. Munkley J, Elliott DJ (2016) Hallmarks of glycosylation in cancer. *Oncotarget* 7: 35478–35489
 53. Rodrigues JG, Balmaña M, A Macedo JA, Poças J, Fernandes Â, de-Freitas-Junior JCM, Pinho SS, Gomes J, Magalhães A, Gomes C, Mereiter S, Reis CA (2018) Glycosylation in cancer: Selected roles in tumour progression, immune modulation and metastasis. *Cell Immunol* 333: 46–57
 54. Boscher C, Zheng YZ, Lakshminarayan R, Johannes L, Dennis JW, Foster LJ, Nabi IR (2012) Galectin-3 protein regulates mobility of N-cadherin and GM1 ganglioside at cell-cell junctions of mammary carcinoma cells. *J Biol Chem* 287: 32940–32952
 55. Geng F, Zhu W, Anderson RA, Leber B, Andrews DW (2012) Multiple post-translational modifications regulate E-cadherin transport during apoptosis. *J Cell Sci* 125: 2615–2625
 56. Harosh-Davidovich SB, Khalaila I (2018) O-GlcNAcylation affects β -catenin and E-cadherin expression, cell motility and tumorigenicity of colorectal cancer. *Exp Cell Res* 364: 42–49
 57. Seguin L, Desrosellier JS, Weis SM, Cheresch DA (2015) Integrins and cancer: regulators of cancer stemness, metastasis, and drug resistance. *Trends Cell Biol* 25: 234–240
 58. Läubli H, Borsig L (2019) Altered Cell Adhesion and Glycosylation Promote Cancer Immune Suppression and Metastasis. *Front Immunol* 10: 2120
 59. Pocheč E, Bubka M, Rydlewska M, Janik M, Pokrywka M, Lityńska A (2015) Aberrant glycosylation of $\alpha\beta$ 3 integrin is associated with melanoma progression. *Anticancer Res* 35: 2093–2103
 60. Mereiter S, Balmaña M, Campos D, Gomes J, Reis CA (2019) Glycosylation in the Era of Cancer-Targeted Therapy: Where Are We Heading? *Cancer Cell* 36: 6–16
 61. Yoshimura A, Asahina Y, Chang L-Y, Angata T, Tanaka H, Kitajima K, Sato C (2021) Identification and functional characterization of a Siglec-7 counter-receptor on K562 cells. *J Biol Chem* 296: 100477
 62. Wang Y-N, Lee H-H, Hsu JL, Yu D, Hung M-C (2020) The impact of PD-L1 N-linked glycosylation on cancer therapy and clinical diagnosis. *J Biomed Sci* 27: 77
 63. Samraj AN, Pearce OMT, Läubli H, Crittenden AN, Bergfeld AK, Banda K, Gregg CJ, Bingman AE, Secrest P, Diaz SL, Varki NM, Varki A (2015) A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression. *PNAS* 112: 542–547
 64. Hill CAS (2011) Interactions between endothelial selectins and cancer cells regulate metastasis. *Front Biosci* 16: 3233–3251
 65. Jarosz P, Woźniak B (2012) Angiogeneza w chorobach nowotworowych. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie*. 4: 498–507
 66. Cerliani JP, Blidner AG, Toscano MA, Croci DO, Rabinovich GA (2017) Translating the 'Sugar Code' into Immune and Vascular Signaling Programs. *Trends Biochem Sci* 42: 255–273
 67. Martins ÁM, Ramos CC, Freitas D, Reis CA (2021) Glycosylation of Cancer Extracellular Vesicles: Capture Strategies, Functional Roles and Potential Clinical Applications. *Cells* 10: 109
 68. Williams C, Royo F, Aizpurua-Olaizola O, Pazos R, Boons GJ, Reichardt NC, Falcon-Perez JM (2018) Glycosylation of extracellular vesicles: current knowledge, tools and clinical perspectives. *J Extracell Vesicles* 7: 1442985
 69. Surman M, Stępień E, Hoja-Lukowicz D, Przybyło M (2017) Deciphering the role of ectosomes in cancer development and progression: focus on the proteome. *Clin Exp Metastasis* 34: 273–289
 70. Costa J (2017) Glycoconjugates from extracellular vesicles: Structures, functions and emerging potential as cancer biomarkers. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 1868: 157–166
 71. Surman M, Hoja-Lukowicz D, Szwed S, Drożdż A, Stępień E, Przybyło M (2018) Human melanoma-derived ectosomes are enriched with specific glycan epitopes. *Life Sci* 207: 395–411
 72. Very N, Lefebvre T, Yazidi-Belkoura IE (2018) Drug resistance related to aberrant glycosylation in colorectal cancer. *Oncotarget* 9: 1380–1402
 73. Dobie C, Skropeta D (2021) Insights into the role of sialylation in cancer progression and metastasis. *Br J Cancer* 124: 76–90
 74. Ou L, He X, Liu N, Song Y, Li J, Gao L, Huang X, Deng Z, Wang X, Lin S (2020) Sialylation of FGFR1 by ST6GalI overexpression contributes to ovarian cancer cell migration and chemoresistance. *Mol Med Rep* 21: 1449–1460
 75. Silsirivanit A (2019) Glycosylation markers in cancer. *Adv Clin Chem* 89: 189–213
 76. Zhao Q, Zhan T, Deng Z, Li Q, Liu Y, Yang S, Ji D, Li Y (2018) Glycan analysis of colorectal cancer samples reveals stage-dependent changes in CEA glycosylation patterns. *Clin Proteom* 15: 9
 77. Hagiwara K, Tobisawa Y, Kaya T, Kaneko T, Hatakeyama S, Mori K, Hashimoto Y, Koie T, Suda Y, Ohyama C, Yoneyama T (2017) Wisteria floribunda Agglutinin and Its Reactive-Glycan-Carrying Prostate-Specific Antigen as a Novel Diagnostic and Prognostic Marker of Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 18: 261
 78. Wang M, Zhu J, Lubman DM, Gao C (2019) Aberrant glycosylation and cancer biomarker discovery: a promising and thorny journey. *Clin Chem Lab Med* 57: 407–416

The role of glycans in cancer development and progression. Clinical applications

Karolina Grzesik, Dorota Hoja-Łukowicz✉

Department of Glycoconjugate Biochemistry, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, Krakow, Poland

✉corresponding author: dorota.hoja-lukowicz@uj.edu.pl

Keywords: glycosylation, cancer, angiogenesis, metastasis, immunosuppression, biomarkers

ABSTRACT

Changes in glycosylation pattern of cell surface, body fluids and extracellular matrix glycoconjugates are a characteristic feature of tumor cell malignancy. These changes are the result of mutations of tumor-associated genes as well as epigenetic changes in the tumor environment, including nutrient influx, hypoxia, cytokine expression and stimulation of chronic inflammation. The unique set of cell surface glycoantigens on neoplastic cells is recognized by endogenous lectins located in the extracellular matrix, vascular endothelium, on leukocytes or platelets, and has an impact on disrupting basic cellular processes, such as intercellular recognition, cell-cell adhesion or cell-ECM interaction. These changes have a critical impact on the migration, on invasive and metastatic potential of neoplastic cells and they modulate the immune response. This unique pattern of sugar antigens on the cancer cells can be a valuable marker to identify them, determine the stage of the disease as well as be a target of anti-cancer therapy.

