

# **Adenocarcinoma do Pâncreas e Diabetes *Mellitus*: Uma relação de dois sentidos**

**Maria Luís Moreira Azevedo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Medicina**  
(Mestrado Integrado)

Orientadora: Prof. Doutora Maria Elisa Cairrão Rodrigues Oliveira  
Coorientadora: Dra. Mariana Moreira Azevedo

**março de 2024**



## Declaração de Integridade

Eu, Maria Luís Moreira Azevedo, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 41799, do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 22 / 03 / 2024

Maria Luís Moreira Azevedo



## **Dedicatória**

Ao meu avô Moreira, que partiu demasiado cedo, mas que continua na primeira fila, a aplaudir as nossas conquistas.

Com muita saudade, a tua Luisinha.



## Agradecimentos

À minha orientadora, Prof. Doutora Elisa Cairrão, pelo apoio e disponibilidade incondicionais e por toda a amabilidade no decorrer deste projeto.

À minha irmã, por ser a minha confidente neste percurso, a minha companheira na jornada da vida e o meu grande exemplo a seguir. Ao Tozé, por estar sempre presente, pronto a ajudar, quer com uma palavra, quer com um delicioso queijo de alecrim.

Aos meus pais, por serem os pilares de todo o meu crescimento, quer pessoal, quer profissional, e por estarem sempre preparados, com um abraço, um ombro de desabafo ou um simples carinho. Um “obrigada” nunca vai parecer suficiente!

À Perneta, à Freitas e à Inês, por aquecerem as divisões da nossa casa, por proporcionarem, dentro de quatro paredes, os melhores momentos de boémia e partilha e, acima de tudo, por serem uma segunda família.

À Inês, por ser fonte de alegria, companheirismo e apoio. Por celebrar comigo todas as vitórias, como se fossem dela, e por tornar todos os desafios do caminho sempre um bocadinho mais fáceis.

À restante família e amigos, pelos momentos de convívio e apoio, por estarem sempre presentes em todas as etapas e por serem um pilar fundamental.

À Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, pela excecional formação ao longo destes seis anos.

À C'a Tuna aos Saltos, por proporcionar os melhores momentos de vida académica e por todas as experiências e pessoas que levo comigo para a vida. É um orgulho pertencer a esta grande família!

À Covilhã, por fornecer as belas paisagens serranas durante todos os momentos, ao longo destes seis anos, e por me ter acolhido de braços abertos.



## Resumo

**Introdução:** A diabetes *mellitus* e o adenocarcinoma ductal do pâncreas são duas patologias que, além de partilharem o seu órgão de ação, o pâncreas, e de serem associadas a uma elevada morbimortalidade mundial, possuem, presumivelmente, uma íntima relação, causal e bidirecional, entre elas. Contudo, os mecanismos responsáveis por esta interação de dois sentidos continuam escassamente elucidados e, conseqüentemente, as oportunidades de prevenção, que esta associação pode permitir, continuam por explorar.

**Objetivos:** Esta dissertação visou analisar a relação causal bidirecional da diabetes *mellitus* com o adenocarcinoma ductal do pâncreas e, com base nos dados obtidos, averiguar a existência de possíveis oportunidades diagnósticas, de prevenção e de detecção precoce, subjacentes a esta correspondência.

**Métodos:** Para a realização desta dissertação, procedeu-se a duas pesquisas bibliográficas de artigos científicos, ambas nas plataformas PubMed, Scopus e Nature. Para a primeira pesquisa utilizaram-se as seguintes palavras-chave: pancreatic adenocarcinoma AND (diabetes OR hyperglycemia) AND risk factor. Já para a segunda pesquisa bibliográfica utilizaram-se as palavras-chave: pancreatic adenocarcinoma AND (diabetes OR hyperglycemia) AND (screening OR prevention).

**Resultados:** Foram analisados 17 artigos que abordaram a relação entre a diabetes *mellitus* e o adenocarcinoma do pâncreas e os possíveis mecanismos fisiopatológicos responsáveis. Verificou-se um risco quase duas vezes superior de adenocarcinoma do pâncreas nos diabéticos, por processos inflamatórios, metabólicos e mutacionais, e uma prevalência de diabetes de quase 70% no adenocarcinoma do pâncreas, sugerindo um fenómeno paraneoplásico. Posteriormente, foram analisados 14 artigos que exploraram o leque de oportunidades de prevenção e diagnóstico precoce que a relação dissecada nesta dissertação possibilita, como biomarcadores sanguíneos, ferramentas de apoio à decisão clínica, modelos de predição de risco, testes poligénicos preditivos e nanotecnologia.

**Conclusão:** Constatou-se, efetivamente, uma dualidade de sentidos da relação entre a diabetes *mellitus* e o adenocarcinoma do pâncreas, por mecanismos metabólicos, inflamatórios, proteómicos e de sinalização. Deste modo, é imperativo estudar e usufruir das oportunidades de prevenção que esta associação fornece e preencher as lacunas na investigação deste tema, com um maior acompanhamento longitudinal e maiores amostras.

## **Palavras-chave**

Adenocarcinoma do pâncreas; Cancro do pâncreas; Diabetes *mellitus*; Hiperglicemia;  
Fator de risco; Prevenção

## Abstract

**Introduction:** Diabetes mellitus and pancreatic ductal adenocarcinoma are two pathologies that, in addition to sharing their organ of action, the pancreas, and being associated with a high worldwide morbidity and mortality, may have a causal and bidirectional relationship between them. However, the mechanisms responsible for this two-way interaction remain poorly elucidated and, consequently, the prevention opportunities that this association may allow remain unexplored.

**Objectives:** This dissertation aims to analyze the bidirectional causal relationship between diabetes mellitus and pancreatic ductal adenocarcinoma and, based on the data found, to investigate the existence of possible diagnostic, preventive and early detection opportunities underlying this correspondence.

**Methods:** This dissertation was based on two bibliographical searches of scientific articles, both on the PubMed, Scopus and Nature platforms. For the first search the following keywords were used: pancreatic adenocarcinoma AND (diabetes OR hyperglycemia) AND risk factor. For the second bibliographical search, the keywords used were: pancreatic adenocarcinoma AND (diabetes OR hyperglycemia) AND (screening OR prevention).

**Results:** 17 articles were analyzed that addressed the two-way relationship between diabetes mellitus and pancreatic ductal adenocarcinoma and the possible pathophysiological mechanisms responsible. There was an almost twice as high risk of pancreatic adenocarcinoma in diabetics, due to inflammatory, metabolic and mutational processes, and a prevalence of diabetes of almost 70% in pancreatic adenocarcinoma, suggesting a paraneoplastic phenomenon. Subsequently, 14 articles were analyzed that explored the range of opportunities for prevention and early diagnosis that the relationship dissected in this dissertation allows, such as blood biomarkers, clinical decision support tools, risk prediction models, predictive polygenic tests and nanotechnology.

**Conclusion:** A duality of meanings was effectively found in the relationship between diabetes mellitus and pancreatic adenocarcinoma, through metabolic, inflammatory, proteomic and signaling mechanisms. Therefore, it is imperative to study and take advantage of the prevention opportunities that this association offers and fill the gaps in research on this topic, with greater longitudinal monitoring and larger samples.

## **Keywords**

Pancreatic adenocarcinoma; Pancreatic cancer; Diabetes *mellitus*; Hyperglycemia; Risk factor; Prevention

# Índice

1.	Introdução.....	1
1.1	Adenocarcinoma do Pâncreas .....	1
1.2	Diabetes <i>mellitus</i> .....	5
1.2.1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1 .....	6
1.2.2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 .....	7
1.3	Relação bidirecional entre o adenocarcinoma do pâncreas e a diabetes <i>mellitus</i> ....	8
2.	Objetivos .....	11
3.	Métodos.....	13
4.	Resultados e Discussão .....	15
4.1	Diabetes <i>mellitus</i> como fator de risco para adenocarcinoma ductal do pâncreas ...	15
4.1.1	Estudos epidemiológicos .....	15
4.1.2	Estudos laboratoriais .....	21
4.1.3	Discussão .....	28
4.2	Adenocarcinoma ductal do pâncreas como fator de risco para diabetes <i>mellitus</i> ...	41
4.2.1	Estudos epidemiológicos .....	41
4.2.2	Estudos laboratoriais .....	43
4.2.3	Discussão .....	46
5.	Oportunidades de diagnóstico precoce .....	55
6.	Conclusão e perspectivas futuras .....	59
7.	Referências bibliográficas.....	61



## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Fisiopatologia do PDAC.....	3
<b>Figura 2</b> - Fluxograma da recolha de artigos.....	13
<b>Figura 3</b> - O stress oxidativo na promoção de PDAC induzido por DM e o mecanismo de proteção mediado por FL-926-16.....	26
<b>Figura 4</b> - Diagrama esquemático dos principais mecanismos envolvidos no desenvolvimento de PDAC a partir de DM. ....	32
<b>Figura 5</b> - Diagrama esquemático dos principais mecanismos envolvidos no desenvolvimento de DM a partir de PDAC.....	48



## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características dos estudos epidemiológicos incluídos da relação da DM como causa de PDAC.....	33
Tabela 2 - Características dos estudos laboratoriais incluídos da relação da DM como causa de PDAC.....	36
Tabela 3 - Características dos estudos epidemiológicos incluídos da relação do PDAC como causa de DM.....	49
Tabela 4 - Características dos estudos laboratoriais incluídos da relação do PDAC como causa de DM .....	51



## Lista de Siglas e Acrónimos

AGA	Associação Americana de Gastroenterologia
ALDH2	Acetaldeído desidrogenase 2
Angio-TC	Angiotomografia
ATM	Ataxia-telangiectasia mutada
BRCA	<i>Breast cancer gene</i>
CDKN2A/p16	Inibidor de quinase dependente da ciclina 2A e codificador da proteína 16
CDST	Ferramenta de apoio à decisão clínica
CEDP	Células epiteliais ductais pancreáticas
CET	Célula estaminal tumoral
CPF	Cancro do pâncreas familiar
CSC	Células estaminais do cancro
CTGF	Fator de crescimento do tecido conjuntivo
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
EGFR	Recetor do fator de crescimento epidérmico
END-PAC	<i>Enriching New-Onset Diabetes for Pancreatic Cancer</i>
ERO	Espécies reativas de oxigénio
EUA	Estados Unidos da América
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>
GO	Glioxal
HbA <sub>1c</sub>	Hemoglobina glicada
HR	<i>Hazard ratio</i>
HUVEC	Células endoteliais da veia umbilical humana
IAPP	Polipéptido amiloide dos ilhéus
IC	Intervalo de confiança
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IPMN	Neoplasia mucinosa papilar intraductal
MGO	Metilglioxal
MMIF	Fator inibitório de migração dos macrófagos

MODY	<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
mTOR	Alvo da rapamicina em mamíferos
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NFκB	Fator nuclear kappa B
NICE	<i>The National Institute for Health and Care Excellence</i>
OR	<i>Odds ratio</i>
PALB2	Parceiro e localizador de BRCA2
PanIN	Neoplasia intraepitelial pancreática
PDAC	Adenocarcinoma ductal do pâncreas
PET-TC	Tomografia por emissão de positrões com tomografia computadorizada
PGA	Produtos finais de glicosilação avançada
PO	Proteína oxidada
PTGO	Prova de tolerância à glicose oral
RE	Retículo endoplasmático
RPGA	Recetor dos produtos finais de glicosilação avançada
SII	Índice de inflamação imune sistêmica
SNP	<i>Single-nucleotide polymorphism</i>
SREBP-1	<i>Sterol regulatory element-binding protein 1</i>
STAT3	Transdutor de sinal e ativador da transcrição 3
STZ	Estreptozotocina
TEM	Transição epitelial-mesenquimal
TGF-β	Fator de transformação do crescimento β
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
UPR	Resposta a proteínas não dobradas
VHB	Vírus da Hepatite B
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
VPP	Valor preditivo positivo
YAP	<i>Yes-associated-protein</i>

# 1. Introdução

## 1.1 Adenocarcinoma do Pâncreas

O pâncreas é um órgão retroperitoneal de considerável importância pelas suas funções, quer endócrinas, quer exócrinas. Assim, os tumores do pâncreas podem ser discriminados em dois grupos, endócrinos e não-endócrinos. Estes últimos são ainda passíveis de subdivisão em: 1) Benignos (adenoma, cistoadenoma, lipoma, fibroma, hemangioma, linfangioma e neuroma); 2) Malignos, como é o caso do adenocarcinoma ductal do pâncreas (PDAC) e do cistoadenocarcinoma do pâncreas (1). Estima-se que cerca de 95% dos tumores pancreáticos correspondem a tumores exócrinos, dos quais o mais comum é o PDAC, que acolhe mais de 90% dos casos, e que a outra diminuta porção é ocupada pelos tumores endócrinos, geralmente mais indolentes e de melhor prognóstico (2,3).

O cancro do pâncreas é, mundialmente, uma das neoplasias com pior prognóstico, com uma taxa de sobrevivência global aos 5 anos de apenas 10% (2). De acordo com os dados da *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) 2020, constatou-se que o cancro do pâncreas, de entre todos os tumores malignos, ocupava o décimo segundo lugar, com 495 773 novos casos diagnosticados nesse ano. Notavelmente, quando se considerava as 466 003 mortes atribuídas ao cancro do pâncreas, este subia para sétimo lugar, com uma taxa de mortalidade de 94% em ambos os sexos. Verificou-se uma incidência e mortalidade superiores em indivíduos do sexo masculino e em países desenvolvidos, particularmente na Europa, América do Norte, Austrália e Nova Zelândia (4).

Comparativamente, em Portugal, o cancro do pâncreas assume o nono lugar, com 1 792 novos casos diagnosticados em 2020. Relativamente à letalidade, contabilizaram-se 1 770 mortes atribuídas ao cancro do pâncreas, números que, em confronto, são bastante elucidativos quanto ao prognóstico da neoplasia. De modo similar ao panorama global, verificou-se uma maior incidência de casos no sexo masculino (5).

Assim, tendo em conta o fatal prognóstico do cancro do pâncreas, torna-se premente a identificação de fatores de risco, de entre os quais a idade avançada, as mutações genéticas e a pancreatite crónica, que assumem um papel de destaque por acarretarem maior risco da neoplasia (6).

Atualmente, os fatores de risco ganharam mais amplitude e podem ser categorizados em características individuais, estilo de vida e ambiente, e antecedentes médicos pessoais. No que diz respeito às características individuais, destacam-se a idade avançada, o sexo

masculino, a raça negra, o grupo sanguíneo A, a história familiar e mutações genéticas, principalmente no *breast cancer gene 1 e 2* (BRCA1; BRCA2), no parceiro e localizador de BRCA2 (PALB2), na ataxia-telangiectasia mutada (ATM) e no inibidor de quinase dependente de ciclina 2A e codificador da proteína 16 (CDKN2A/p16) (6,7).

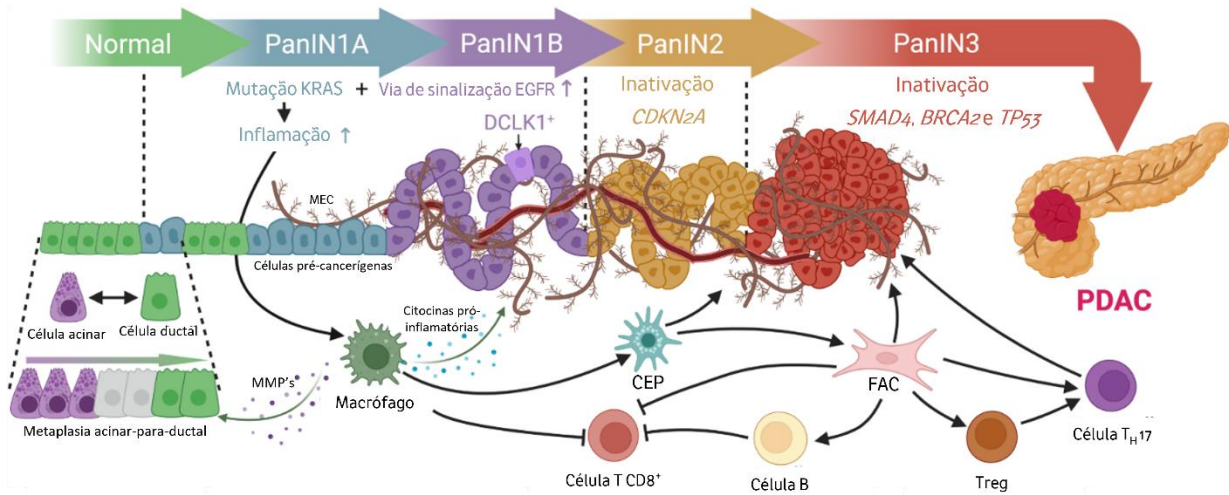
Já os fatores de risco relacionados com o estilo de vida e ambiente incluem os hábitos alimentares pouco saudáveis, como a ingestão excessiva de carnes vermelhas, de gorduras saturadas e de açúcar, o consumo moderado/excessivo ou abusivo de álcool, os hábitos tabágicos, o sedentarismo e o excesso de peso/obesidade (6).

Por último, os fatores de risco relacionados com os antecedentes médicos pessoais albergam outras doenças que contribuem para uma maior probabilidade de ocorrência e de desenvolvimento de cancro do pâncreas. Destas podemos destacar a pancreatite crónica, especialmente se idiopática, a existência de lesões císticas pancreáticas, as infeções, como por vírus da Hepatite B (VHB) e *Helicobacter pylori*, e a diabetes *mellitus* (DM) (6).

A vasta maioria dos PDAC's cresce a partir de lesões precursoras, que têm origem em células estaminais tumorais (CET's) pancreáticas. Existem, assim, três neoplasias/lesões precursoras: 1) Neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN); 2) Neoplasia mucinosa papilar intraductal (IPMN); 3) Neoplasia cística mucinosa. Esta progressão pode ser motivada pelo *turnover* celular, pelo encurtamento dos telómeros e pela instabilidade genómica (1).

A lesão precursora mais frequente é a PanIN, uma neoplasia microscópica e não invasiva que se divide em três graus, consoante o grau de displasia, em que apenas a PanIN3 (displasia de alto grau) é a verdadeira precursora do cancro *in situ*. Nas lesões PanIN observam-se três grandes subgrupos de mutações germinativas e somáticas que são, habitualmente, encontradas na neoplasia pancreática e que estimulam a transformação destas lesões precursoras em PDAC: 1) Ativação de oncogenes (*KRAS*; *HER2*); 2) Inativação de genes supressores tumorais (*TP53*, *16/CDKN2A*, *SMAD4/DPC4*, *BRCA1*, *BRCA2*); 3) Inativação dos genes de manutenção do genoma (*MLH1*; *MSH2*) (3). (Figura 1)

Uma vez que a apresentação clínica do cancro do pâncreas cursa, geralmente, com poucos ou nenhuns sintomas até à fase mais avançada da neoplasia, apenas uma minoria dos doentes surge com um tumor cirurgicamente ressecável. Todavia, os doentes que efetivamente desenvolvem sintomatologia, apresentam sintomas inespecíficos e facilmente descartados por presunção de condições benignas, como fadiga (86%), perda ponderal não intencional (85%), dor epigástrica (70-80%), dor abdominal (40-60%), icterícia (30-50%), diabetes de início recente (13-20%), dispepsia (cerca de 20%), náuseas ou vômitos (~16%) e dor lombar (~12%). Existem, frequentemente, alterações nas provas de biologia hepática, sintomas de insuficiência enzimática pancreática (distensão abdominal, saciedade precoce e diarreia/esteatorreia), sinais de má absorção de gorduras e de vitaminas lipossolúveis e, ocasionalmente, pancreatite aguda (1,2,8).



**Figura 1** - Fisiopatologia do PDAC. BRAC2 – *Breast Cancer Gene 2*; CDKN2A - Inibidor de quinase dependente de ciclina 2A; CEP – Célula estrelada pancreática; EGFR – Recetor do fator de crescimento epidérmico; FAC – Fibroblasto associado a cancro; MCE – Matriz extracelular; MMP's – Metaloproteínas da matriz; SMAD4 – Membro da família SMAD; TP53 – Supressor tumoral 53. *Adaptado de Ruze et al. (63)*

A apresentação clínica pode diferir, consoante a localização do tumor no pâncreas. As neoplasias que se encontram na cabeça (60-70%) causam, habitualmente, obstrução biliar e icterícia consecutiva, já as que se apresentam no corpo tendem a invadir as estruturas vasculares adjacentes (celíacas, hepáticas, mesentéricas superiores e a veia porta), causando dor lombar e epigástrica, e, por último, os tumores localizados na cauda tendem a assumir um diagnóstico ainda mais tardio que os anteriores, devido às suas características anatómicas mais isoladas, que permitem o seu crescimento sem embargos e, por isso, apenas apresentarão sintomatologia relacionada com os locais de metástase (8).

Posto isto, o diagnóstico do cancro do pâncreas implica uma angiotomografia (angio-TC), com protocolo de injeção de contraste bifásico, que permite uma visualização aprimorada da vasculatura regional, de modo a avaliar o estadiamento e a ressecabilidade. Apesar de este exame apresentar uma sensibilidade de 90%, a ressonância magnética poderá surgir como uma alternativa, para avaliar o trato biliar ou para detetar lesões hepáticas, e a ecoendoscopia uma ferramenta adjuvante, para identificar gânglios linfáticos regionais e examinar a sua relação com o tumor. A tomografia por emissão de positrões com tomografia computadorizada (PET-TC) poderá ter a sua utilidade em doentes com alto risco para doença metastática oculta (8). Os biomarcadores tumorais, particularmente o CA 19-9, CA-50 e CA 72-4, poderão ser úteis na suspeita diagnóstica em indivíduos sintomáticos e o CA 19-9 poderá ter um papel complementar na monitorização da resposta ao tratamento sistémico e na avaliação do prognóstico da doença (1,8).

Relativamente ao rastreio do cancro do pâncreas, este não é atualmente recomendado para a generalidade da população, devido à baixa incidência da neoplasia e ao escasso benefício do rastreio (6). Adicionalmente à fraca capacidade diagnóstica dos exames

complementares que detemos, se assumirmos o risco individual de 1,49% de desenvolvimento de cancro do pâncreas e um exame hipotético de diagnóstico com 90% de sensibilidade e de especificidade, teríamos um valor preditivo positivo (VPP) de apenas 12%, o que indica que quase 9 em cada 10 resultados positivos no rastreio estariam incorretos (3,6).

No entanto, o mesmo não se verifica para indivíduos de alto risco para cancro do pâncreas, onde se inclui os indivíduos com síndromes genéticas específicas (Síndrome de Peutz-Jeghers e Síndrome de Lynch, por exemplo) ou com cancro do pâncreas familiar (CPF). Este último grupo é definido pela Associação Americana de Gastroenterologia (AGA) como o cancro do pâncreas que ocorre em 2 ou mais familiares em primeiro grau, mas que não cumpre critérios para outras síndromes hereditárias (7).

As recomendações para indivíduos de alto risco incluem um programa de rastreio com início aos 50 anos (ou 10 anos antes da idade ao diagnóstico do familiar com a neoplasia) para pessoas com CPF e aos 35-40 anos se estivermos perante uma síndrome genética hereditária. Este programa inclui, por recomendação do Consórcio Internacional de Rastreio do Cancro do Pâncreas e da AGA, uma vigilância com recurso a ressonância magnética e a ecoendoscopia, faseada em intervalos de 1 ano para lesões de baixo risco, de 3-6 meses para lesões indeterminadas e de menos de 3 meses para lesões de alto risco (7). Apesar do foco do rastreio atual incidir na predisposição genética, já foi, igualmente, proposta a triagem em populações de alto risco para cancro do pâncreas esporádico, com diabetes de início recente, alterações ponderais ou outros fatores de risco. No entanto, as pesquisas e evidências ainda são limitadas, de modo a definir concretamente as populações que beneficiariam de rastreio (6).

A nível do tratamento, apesar da baixa sobrevida dos doentes que são submetidos a ressecção cirúrgica, a cirurgia persiste como o único tratamento que oferece potencial curativo. De modo a avaliar a ressecabilidade do tumor, o doente deve ser discutido por uma equipa multidisciplinar, após uma avaliação imagiológica de alta resolução (8).

A fim de qualificar o estado de ressecabilidade existem, igualmente, diversas diretrizes, que possibilitam a classificação do tumor não metastizado, com base nas imagens pré-operatórias, em ressecável, ressecável *borderline* e localmente avançado (irressecável). De entre as anteriores, podemos recorrer às Diretrizes da Prática Clínica em Oncologia da *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), que, resumidamente, definem o tumor ressecável como a ausência de envolvimento arterial ou venoso, o ressecável *borderline* quando existe contiguidade arterial (<180 graus) ou contiguidade, encapsulamento ou trombose venosa, desde que reparável, e o localmente avançado como o envolvimento venoso irremediável ou o encapsulamento arterial ( $\geq 180$  graus). A última indicação é a única que se distingue das diretrizes de outras organizações, uma vez que a NCCN considera

que tumores no corpo ou na cauda do pâncreas com envolvimento da artéria celíaca, mas sem envolvimento da aorta ou da artéria gastroduodenal, podem ser considerados ressecáveis *borderline*, através de um procedimento de *Appleby* modificado, enquanto as outras organizações consideram sempre como um localmente avançado (2,8,9).

O tratamento do tumor ressecável e do ressecável *borderline* alberga a pancreatectomia, seguida de 6 meses de quimioterapia sistêmica adjuvante e/ou precedida de quimioterapia neoadjuvante, apesar das recomendações ainda pouco explícitas. No caso do ressecável *borderline*, poderá recorrer-se a quimiorradioterapia (2,8). O tipo de cirurgia varia consoante a localização do tumor, uma vez que os que envolvem o corpo e a cauda incluem uma pancreatectomia distal, geralmente associada a esplenectomia, os da cabeça envolvem uma ressecção de Whipple e os que atingem vários locais do órgão implicam excisão total. Poderá ser necessária linfadenectomia, se envolvimento ganglionar, com excisão de 15 ou mais gânglios regionais (8).

Já os tumores localmente avançados, ou com metástases à distância, apresentam como modalidade de tratamento primária a quimioterapia sistêmica e o tratamento paliativo, por não serem candidatos a cirurgia (8).

O sistema de estadiamento TMN permite, acima de tudo, oferecer uma avaliação prognóstica da neoplasia. Este subdivide-se em Tumor (T), de T1 a T4, que se correlaciona com a dimensão do tumor, e em que T4 representa um envolvimento arterial independentemente do tamanho, Metástase (M), em que M1 nos indica invasão dos tecidos à distância e M0 a ausência da mesma, e Gânglios Linfáticos (N), que podem não estar envolvidos (N0), podem ter 1-3 gânglios regionais acometidos (N1) ou  $\geq 4$  gânglios regionais acometidos (N2) (2).

## **1.2 Diabetes *mellitus***

A diabetes *mellitus* (DM) é um termo coletivo para um grupo de distúrbios metabólicos heterogêneos que apresentam, em comum, um estado de hiperglicemia crônico. Este pode ser consequência de uma perturbação na secreção de insulina, ou secundário à ação alterada da insulina, ou devido a ambos. Assim, estes distúrbios podem ser divididos em 4 tipos: diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1), diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), outros tipos específicos de DM e DM gestacional (10).

A DM1 tem uma componente autoimune, que promove a destruição de células  $\beta$ , provocando uma deficiência absoluta de insulina (10).

Já a DM2, como consequência da insulinoresistência característica e da síndrome metabólica, está associada a uma perda progressiva, não imunomediada, da capacidade de secreção adequada de insulina pelas células  $\beta$  (10,11).

Dentro do grupo dos tipos específicos de DM associados a outras causas, encontramos as DM relacionadas a doenças do pâncreas exócrino (como pancreatite e fibrose quística), as DM associadas a endocrinopatias e as DM induzidas por fármacos ou químicos (como o uso de glicocorticoides, de neurolépticos, de fármacos usados no tratamento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) ou após transplante de órgãos). Adicionalmente a estes tipos específicos de DM, surgem ainda as síndromes monogénicas, que albergam a diabetes neonatal e a diabetes MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*). A diabetes MODY apresenta uma transmissão autossómica dominante e caracteriza-se por uma hiperglicemia de início em idade jovem. Apesar de uma ação normal da insulina nestes doentes, a sua produção encontra-se alterada devido a defeitos monogénicos que causam disfunção das células  $\beta$  (10,11).

Por último, a DM gestacional é um distúrbio de tolerância à glicose que ocorre pela primeira vez no segundo ou terceiro trimestre da gravidez (10).

O diagnóstico de DM1 e DM2 baseia-se numa glicemia em jejum  $\geq 126$  mg/dL (7,0 mmol/L), uma glicemia ocasional  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L), na presença de sintomas clássicos ou de uma crise hiperglicémica, ou um resultado anormal numa prova de tolerância à glicose oral (PTGO), com uma glicemia  $\geq 200$  mg/dL às 2 horas. Na ausência de sintomas, a hiperglicemia tem de estar presente em duas ocasiões diferentes. O diagnóstico de DM também poderá ser realizado com base num valor de concentração de hemoglobina glicada ( $HbA_{1c}$ )  $\geq 6,5\%$  (48 mmol/mol), porém, pela rápida progressão do descontrolo glicémico na DM1, torna-se um método de diagnóstico menos sensível neste tipo de DM (12).

Os alvos glicémicos definidos para adultos com DM, apesar de exigirem uma individualização com base na duração da doença, no risco cardiovascular e em outras comorbilidades, incluem uma  $HbA_{1c}$  inferior a 7,0% (53 mmol/mol), uma glicemia pré-prandial entre 80 e 130 mg/dL (4.4-7.2 mmol/L) e uma glicemia pós-prandial inferior a 180 mg/dL (10.0 mmol/L) (13).

### 1.2.1 Diabetes *mellitus* tipo 1

Comumente denominada “diabetes insulino dependente” ou “diabetes de início juvenil”, a DM1 é uma doença crónica autoimune que representa 5 a 10% do global dos casos de DM e que se encontra num paradigma crescente, quer de incidência quer de prevalência,

com um aumento anual de incidência de cerca de 2-3% por ano, especialmente nos mais jovens (11,12).

A destruição autoimune das células  $\beta$ , que caracteriza a fisiopatologia da DM1, resulta de múltiplos fatores genéticos e aparenta estar também relacionada com fatores ambientais, embora ainda mal elucidados. Apesar do doente com DM1, geralmente, não apresentar obesidade, esta mostra-se cada vez mais preponderante na população em geral e, por isso, não pode surgir como obstáculo ao seu diagnóstico (11).

Indivíduos com este tipo de DM estão, igualmente, propensos a outras doenças autoimunes, como tiroidite de Hashimoto, doença de Graves, doença celíaca, doença de Addison, vitiligo, hepatite autoimune, entre outras (11).

A idade de manifestação da DM1 ostenta uma maior extensão temporal, podendo ser desde a infância até à idade adulta. As manifestações clínicas vão, assim, oscilar consoante a idade do doente. As crianças tendem a apresentar tipicamente sintomas de poliúria, polidipsia, polifagia, perda de peso e, em metade dos casos, cetoacidose diabética, enquanto os adultos têm uma clínica mais variável e com sintomas menos clássicos (10,12,13).

O tratamento da DM1, apesar de continuar a ser foco de evolução, continua a assentar em regimes de insulina de doses múltiplas, de modo a simular a libertação fisiológica da hormona. Esta administração pode ser por injeção ou, de forma mais cómoda, por bomba de infusão (12).

Adicionalmente à dependência de insulina associada à DM1, esta doença acarreta maior risco de complicações ameaçadoras de vida, como a hipoglicemia severa e a cetoacidose diabética, de complicações microvasculares, como a retinopatia, nefropatia e neuropatia, e de complicações macrovasculares, como a aterosclerose e eventos trombóticos (12).

### 1.2.2 Diabetes *mellitus* tipo 2

A DM2 é uma condição crónica que está a atingir níveis mundiais alarmantes de prevalência e de custos económicos associados. Representa 90-95% de todos os casos de DM e caracteriza-se por uma resistência periférica à insulina, conjugada com uma deficiência relativa, em vez de absoluta, da hormona (11,14).

A causa da DM2 é complexa e acredita-se que, apesar de uma forte componente genética, possua uma dependência multifatorial. Alguns destes fatores de risco são modificáveis, como a dieta, o sedentarismo e o tabagismo, e outros não modificáveis, como a idade, a etnia e a genética. Uma diabetes gestacional anterior, síndrome do ovário

poliquístico, hipertensão arterial e dislipidemia são condições que integram, igualmente, os fatores de risco deste tipo de DM (10,11,14).

Ao contrário da DM1, a DM2 apresenta, geralmente, uma idade de manifestação dos sintomas predominante na idade adulta e com um início mais insidioso, que por vezes deixa a doença por diagnosticar durante anos. Este desenvolvimento gradual de hiperglicemia transforma a respetiva sintomatologia menos severa, englobando também sintomas de polidipsia, poliúria e perda ponderal não intencional (10,11).

Em certos adultos assintomáticos, poderá estar indicada a realização de um programa de rastreio, como é o caso dos doentes com excesso de peso/obesidade, doentes com pré-diabetes e indivíduos que foram diagnosticados com DM gestacional ou com VIH. Para a restante população, esta avaliação também deve ser promovida a partir dos 35 anos (13).

O tratamento da DM2 assenta em medidas de modificação do estilo de vida, com integração de um plano de perda de peso, de atividade física e de uma dieta saudável, antidiabéticos orais e/ou injetáveis e, consoante o grau de hiperglicemia, pode haver necessidade de insulinoaterapia (10,11).

### **1.3 Relação bidirecional entre o adenocarcinoma do pâncreas e a diabetes *mellitus***

Apesar da relação entre o adenocarcinoma do pâncreas e a diabetes *mellitus* já ser conhecida há mais de 175 anos, a sua complexidade e bidirecionalidade carece ainda de explicação (15).

Inúmeros estudos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e experimentais começam agora a cultivar esta temática, de modo a esclarecer a dupla causalidade entre as duas patologias, uma vez que a DM é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de PDAC e, alternadamente, o PDAC assume-se como uma causa de alguns casos de DM (16).

Tendo em conta o prognóstico e a mortalidade do PDAC, pela sua sintomatologia genérica, apresentação tardia com metastização e a sua resistência às modalidades atuais de tratamento, o foco da investigação científica tem vindo a desviar-se progressivamente para a prevenção e intervenção precoce. É aqui que surge a importância da identificação de fatores de risco, nomeadamente a DM, a interação com os mesmos e a avaliação do benefício de programas de rastreio dirigidos (17,18).

Reversamente, a DM é, atualmente, um crescente problema global de saúde pública, com significativas mortalidade, morbidade e incapacidade prematuras. Deste modo, a

compreensão dos mecanismos patológicos, que explicam o PDAC como fator causal, poderia ser benéfica no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para a prevenir (19,20).

Acredita-se que a relação da DM contribuir para o desenvolvimento de PDAC poderá ter como base os fatores de risco em comum, a resistência à insulina, a hiperinsulinemia, a hiperglicemia e a inflamação crônica. Já os mecanismos por detrás da relação do PDAC como causa de DM não são, ainda, muito compreendidos (20).

O estudo da relação entre câncros do pâncreas não-PDAC com a DM é muito limitado e o PDAC é o subtipo que acarreta maior prevalência e mortalidade (19). Deste modo, na presente dissertação, apenas será alvo de estudo o PDAC.

Já em relação à DM, a magnitude e trajetória temporal do risco conferido às 2 principais formas de DM são similares, o que sugere um mecanismo causal comum. No entanto, a DM2 é a forma mais comum de DM e, devido à sua esmagadora prevalência, tem sido mais correlacionada com o risco de PDAC do que a DM1. Porém, investigações epidemiológicas mais recentes demonstraram o envolvimento da DM1 no desenvolvimento de PDAC (19). Deste modo, na presente dissertação, excetuando possíveis referências a tipos específicos de DM, esta patologia será abordada na sua generalidade.



## 2. Objetivos

As duas patologias em destaque na presente dissertação, que partilham o seu órgão de ação, são responsáveis por uma considerável morbimortalidade mundial. Uma vez que se presume uma relação causal em ambos os sentidos entre as duas doenças, torna-se pertinente a avaliação desta e do seu impacto na prevenção secundária.

Assim, este trabalho assume o compromisso de analisar a relação causa-efeito bidirecional entre a DM e o PDAC e, com base nesses resultados, averiguar a existência de possíveis oportunidades diagnósticas, de prevenção e de deteção precoce, subjacentes a esta correspondência.

Pretende-se, devido ao crescimento exponencial do número de estudos recentemente publicados sobre este tópico, realizar uma revisão bibliográfica narrativa extensa, que compreenda os resultados e conclusões fundamentais.



### 3. Métodos

Para a realização da presente dissertação, procedeu-se a duas pesquisas bibliográficas de artigos científicos, ambas nas plataformas *PubMed*, *Scopus* e *Nature*, entre junho e outubro de 2023. As pesquisas em causa foram restringidas aos últimos 10 anos e a artigos redigidos apenas em inglês. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave:

1. Pancreatic adenocarcinoma AND (Diabetes OR Hyperglycemia) AND Risk factor
2. Pancreatic adenocarcinoma AND (Diabetes OR Hyperglycemia) AND (Screening OR Prevention)

Da pesquisa 1. resultaram 1326 artigos, que, após exclusão de 234 artigos que se encontravam em duplicado, perfizeram 1092 artigos para leitura do respetivo título, palavras-chave e resumo. Destes procedeu-se à seleção, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão elucidados na figura 1., de 120 artigos para a sua leitura integral. Após exclusão de 80 artigos não relevantes ao tema, 19 não originais, 8 que não permitiam acesso ao artigo completo e 1 que não se encontrava redigido em inglês e inclusão de 5 artigos encontrados por cruzamento de referências, pela sua pertinência para o tema, resultaram 17 artigos para integrar na presente revisão bibliográfica.

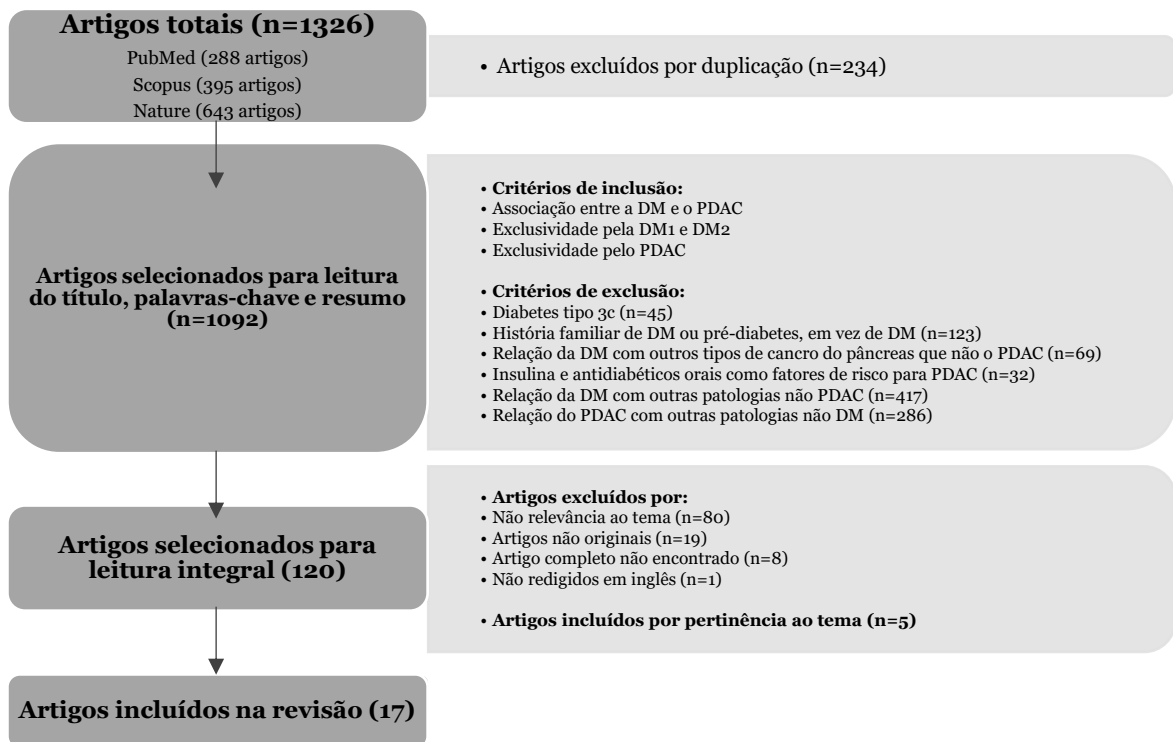


Figura 2 - Fluxograma da recolha de artigos.

Da pesquisa 2. resultaram 785 artigos, dos quais, após distinção por título no âmbito do tema escolhido, resultaram 30 artigos. Após exclusão dos 16 artigos que, após leitura do resumo, não eram relevantes ao tema e dos 5 que não permitiam acesso completo, resultaram 9 artigos. Foram ainda incluídos 8 artigos, encontrados por cruzamento de referências, por pertinência para o tema, resultando em 14 artigos a ser incluídos na segunda componente da revisão.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Diabetes *mellitus* como fator de risco para adenocarcinoma ductal do pâncreas

#### 4.1.1 Estudos epidemiológicos

De modo a avaliar a associação entre a DM e o risco de PDAC, foram selecionados estudos epidemiológicos, uma vez que permitem a análise e o acompanhamento observacional de populações pré-estabelecidas, para determinar a ocorrência de determinadas patologias.

Foi com esta premissa que Elena *et al.* (21) desenvolveram um estudo caso-controlo, utilizando dados de 12 estudos coorte prospetivos do *PanScan*, uma iniciativa fundada em 2006, pelo Instituto Nacional do Cancro, no Estados Unidos da América (EUA), para investigar as causas de cancro do pâncreas. Assim, foram incluídos no estudo 1621 indivíduos com diagnóstico de PDAC (grupo de casos) e 1719 indivíduos sem diagnóstico de cancro (grupo de controlos), ajustados à idade, sexo, raça e etnia dos casos. Foi solicitada, aos participantes, informação relativa ao sexo, idade, raça, índice de massa corporal (IMC), perímetro abdominal, relação cintura-quadril, história de tabagismo, hábitos alcoólicos, história familiar em primeiro grau de cancro do pâncreas, antecedentes pessoais, como história prévia de pancreatite, e duração da DM. Verificou-se que a maioria dos indivíduos envolvidos no estudo era europeu, com idade compreendida entre 60 e 80 anos e que, no grupo dos casos, a idade média ao diagnóstico do PDAC foi de 68.9 anos. Comparativamente com o grupo de controlos, constatou-se um predomínio de tabagismo ativo, de excesso de peso/obesidade e de diagnóstico de DM (10% vs. 7%) nos casos. Evidenciou-se, assim, a capacidade de a DM conferir um risco superior de desenvolvimento de PDAC, e que a idade, sexo, raça, hábitos alcoólicos e tabágicos, IMC e história familiar de cancro do pâncreas não mostraram influência significativa nesta associação. Para além da DM como fator de risco, estudou-se igualmente o efeito da duração desta patologia no desenvolvimento de PDAC, agrupando-se os indivíduos em 2 grupos: 1) DM com uma duração entre 2 e 8 anos; 2) DM com uma duração superior ou igual a 9 anos. Excluíram-se os indivíduos com diagnóstico de DM há menos de 2 anos, pelo facto de a DM poder assumir-se, nestas situações, como uma manifestação de PDAC, e não como um fator de risco. Posto isto, verificou-se um risco superior de desenvolvimento de PDAC nos indivíduos com DM de duração entre 2-8 anos, e, curiosamente, uma redução do risco nos

participantes com uma duração de DM igual ou superior a 9 anos, comparativamente com os controlos. Deste modo, Elena *et al.* corroboraram a hipótese de que a DM corresponde a um fator de risco, moderado e independente, para este tipo de cancro do pâncreas, conferindo um risco 40% superior ao de indivíduos não diabéticos (21).

Já Kuruma *et al.* (22), a partir de um estudo caso-controlo, investigaram a relação genética entre as duas patologias, avaliando o papel dos polimorfismos genéticos e das interações gene-ambiente no desenvolvimento de cancro do pâncreas, em particular a análise do potencial das variantes genéticas relacionadas com a DM, no aumento do risco desta neoplasia. Para este fim, utilizaram um grupo de casos que integrou 360 indivíduos recentemente diagnosticados com PDAC, em 5 hospitais participantes, e um grupo de controlos que albergou 400 utentes dos mesmos hospitais, ajustados à idade e ao sexo dos casos, mas sem qualquer diagnóstico de cancro. Com recurso a questionários, procedeu-se à recolha de características demográficas, de estilo de vida e antecedentes pessoais dos participantes, nomeadamente a idade, sexo, altura, peso, IMC, história pessoal de DM e hábitos tabágicos. Adicionalmente, e após consentimento, colheu-se uma amostra de 7mL de sangue venoso de cada participante, de modo a extrair DNA genómico dos linfócitos periféricos para análise. De seguida, procedeu-se à genotipagem de 7 polimorfismos de nucleotídeo único (*Single-nucleotide polymorphism* - SNP) nos genes PPAR $\gamma$ 2 (rs1801282), ADIPOQ (rs1501299), ADRB3 (rs4994), KCNQ1 (rs2237895), KCNJ11 (rs5219), TCF7L2 (rs7903146) e CDKAL1 (rs2206734), que possuem uma pressuposta relação com a DM. Com a exceção do rs1501299 no gene ADIPOQ, não se verificaram diferenças na frequência dos genótipos entre os grupos de casos e controlos. O SNP rs1501299 no gene ADIPOQ apresentou uma relação positiva com o risco de cancro do pâncreas, com um risco aumentado 1.9 vezes. Já o rs2237895 no gene KCNQ1 demonstrou a relação inversa com a neoplasia. Os restantes 5 SNP's não evidenciaram associações significativas. Relativamente às características pessoais dos participantes, apesar de idade, sexo, IMC e hábitos tabágicos similares entre os grupos de casos e controlos, o número de indivíduos com DM foi superior nos casos, comparativamente com os controlos (24.1% vs. 8.7%). Deste modo, este estudo demonstrou que a variante genética rs1501299 no gene ADIPOQ, gene de suscetibilidade para DM, aparenta estar relacionada também com o risco de PDAC (22).

Ao contrário das investigações anteriores, Setiawan *et al.* (23) realizaram um estudo coorte multiétnico prospetivo para avaliar não só o papel da DM, mas em especial da DM de início recente, definida como o diagnóstico de DM a preceder o diagnóstico de cancro do pâncreas em 3 anos ou menos, no aumento do risco de cancro do pâncreas. Assim, selecionaram para o estudo, entre 1993 e 1996, 48 995 indivíduos afro-americanos e latinos, com mais de 50 anos e sem antecedentes pessoais, nem de DM, nem de cancro. Aquando da

seleção para a coorte, foi avaliado o sexo, demografia, IMC, raça, escolaridade, tabagismo, hábitos alcoólicos, história familiar de cancro, antecedentes pessoais, fatores de estilo de vida, consumo de carne vermelha e medicação habitual. Já numa análise posterior, utilizaram-se questionários de seguimento, de modo a atualizar as informações dos participantes, particularmente o diagnóstico de DM, em intervalos definidos (1999-2001, 2003-2008, 2011-2013). Destes inquéritos, verificaram-se 15833 novos casos de DM. Já para a identificação de novos casos de cancro, após a seleção para o estudo, usufruiu-se do *California State Cancer Registry* (Registo de Cancro do Estado da Califórnia), onde se verificaram os registos de cancro do pâncreas, mas também de cancro da mama invasivo, da próstata e colorretal. Deste seguimento de 14 anos, resultaram 408 novos casos de cancro do pâncreas. Após este período, os autores constataram que, dos 15833 indivíduos que desenvolveram DM, 128 foram diagnosticados com cancro do pâncreas. Comparativamente com os outros cancros em estudo, verificou-se também que, dos 408 indivíduos com diagnóstico de cancro do pâncreas, 31.4% apresentava DM concomitante, valor significativamente superior ao do cancro da mama invasivo (14.5%), da próstata (11.7%) e colorretal (16.4%). Apuraram ainda que, dos casos com diagnóstico concomitante de DM e cancro do pâncreas, 52.3% desenvolveu DM nos 3 anos anteriores ao diagnóstico de cancro do pâncreas, com predomínio no ano anterior ao diagnóstico de PDAC e com uma média de 34,4 meses. Assim, este estudo permitiu observar uma associação entre a DM de início recente e o risco de cancro do pâncreas 2.3 vezes superior à relação da neoplasia com a DM de longa duração, sendo a relação estatisticamente significativa em todas as idades examinadas (65, 75 e 85 anos), porém observou-se um declínio da mesma com o aumento da idade. Em suma, Setiawan *et al.* demonstraram que a DM está associada a um risco aproximadamente duas vezes maior de cancro do pâncreas do que em indivíduos sem a patologia, em especial nos doentes com uma duração inferior da mesma (23).

Noutra instância, Wu *et al.* (24) investigaram, por análise retrospectiva, o papel da subida do valor de HbA<sub>1c</sub> no aumento do risco de PDAC e, para isso, constituíram uma coorte de base, que albergou 851 402 participantes, com idades compreendidas entre os 50 e os 84 anos, sem história de PDAC e com pelo menos uma medição de HbA<sub>1c</sub> numa instituição envolvida no estudo e realizada no intervalo de tempo da seleção. Foi reunida informação, de todos os participantes, sobre a idade, sexo, raça/etnia, valor de HbA<sub>1c</sub> e presença de quistos pancreáticos, de pancreatite aguda/crónica e de perturbação do uso do álcool. Assim, na coorte de base, verificou-se uma idade média de 62 anos e um valor médio de HbA<sub>1c</sub> de 6.0%. A fim de proporcionar uma comparação adaptada, foram, posteriormente, criadas 12 coortes contemporâneas, com base em quatro limiares de HbA<sub>1c</sub> (6.1%, 6.3%, 6.5% e 6.7%). Indivíduos com valor de HbA<sub>1c</sub> igual ou superior aos limites pré-definidos, independentemente de valores anteriores ou de história pessoal de DM, foram

incluídos em 4 coortes separadas de HbA<sub>1c</sub> elevada (EGH), mencionadas como EGH<sub>6.1%</sub>, EGH<sub>6.3%</sub>, EGH<sub>6.5%</sub>, EGH<sub>6.7%</sub>. Adicionalmente, formaram-se 4 coortes com exclusão de DM (DEC), onde se reuniram indivíduos de cada coorte EGH, porém sem história pessoal de DM, que foram identificadas como DEC<sub>6.1%</sub>, DEC<sub>6.3%</sub>, DEC<sub>6.5%</sub>, DEC<sub>6.7%</sub>. Por último, estabeleceram-se mais 4 coortes com, adicionalmente à exclusão de DM, hiperglicemia de início recente confirmada (IHC), o que implicou um valor de HbA<sub>1c</sub> normal ou não elevado nos 18 meses anteriores à seleção. Estas foram definidas como IHC<sub>6.1%</sub>, IHC<sub>6.3%</sub>, IHC<sub>6.5%</sub>, IHC<sub>6.7%</sub>. O número de participantes nas coortes variou de um máximo de 495 310 indivíduos na EGH<sub>6.5%</sub>, até um mínimo de 12 540 indivíduos na IHC<sub>6.7%</sub>. Relativamente às características individuais dos 3 subgrupos (EGH, DEC e IHC), verificou-se um valor 1-2 anos superior de idade média (63-64 anos) e uma frequência ligeiramente superior de indivíduos do sexo feminino (52.1%-55.1%) na coorte IHC, comparativamente com a coorte de base e com as coortes EGH e DEC. Posteriormente, no estudo das coortes, estimou-se o risco a 3 anos e a taxa de incidência de PDAC, através de um momento de seguimento, onde se contabilizaram 1041 novos casos de PDAC. Analogamente à coorte de base (0.46), constatou-se uma taxa de incidência de PDAC 1,7 e 4,0 vezes superior nas coortes IGH<sub>6.1%</sub> (0.78) e IGH<sub>6.7%</sub> (1.82), respetivamente. Relativamente ao risco a 3 anos de PDAC, observou-se um valor máximo nos indivíduos que integravam a coorte IGH<sub>6.7%</sub> (0.80%) e um valor mínimo na coorte EGH<sub>6.1%</sub> (0.21%), logo, quanto maior o valor de HbA<sub>1c</sub>, principalmente se de início recente, maior o risco de PDAC. Verificou-se, igualmente, um risco superior de PDAC nos indivíduos brancos não-hispânicos (2.37) e um risco inferior nos participantes asiáticos (0.72). Adicionalmente, avaliou-se o tempo médio, desde a elevação da HbA<sub>1c</sub> até ao diagnóstico de PDAC, que flutuou desde 246 até 456 dias. Dos 708 de 1041 indivíduos com PDAC, que disponibilizavam informação relativa ao estadio da neoplasia, 465 (65.7%) foram diagnosticados em estadio avançado (III ou IV), número que se mostrou consistente entre todas as coortes. Adicionalmente, de modo a avaliar a rentabilidade de um programa de rastreio para a neoplasia em causa, estimou-se, ainda, o número de casos que teriam de ser avaliados num período de 3 anos, para se detetar 1 caso de cancro do pâncreas, tendo por base o risco observado em cada uma das coortes em estudo. Esta estimativa apresentou um valor inferior na coorte IGH<sub>6.7%</sub>, de 206 casos, comparativamente com a coorte de base, que necessitava de avaliação de 818 casos para o diagnóstico de 1 caso de PDAC, e com a EGH<sub>6.1%</sub>, que exigia 600 casos. Assim, Wu *et al.*, ao analisar as 12 coortes contemporâneas, demonstraram que, tanto o risco a 3 anos, como a taxa de incidência, de PDAC aumentavam com critérios de elegibilidade cada vez mais rigorosos, desde a coorte EGH até à IHC, e com limiares mais elevados dos valores de HbA<sub>1c</sub>, desde 6.1% até 6.7%. Apesar da eleição de um intervalo de idades dos participantes representativo de uma população adequada a integrar um programa de rastreio de PDAC (50-84 anos), e da definição de limiares de HbA<sub>1c</sub> que

espelhassem o espectro de indivíduos com pré-DM ou DM de início recente, a estimativa do número de doentes que necessitavam de ser rastreados para PDAC, somente pela elevação da HbA<sub>1c</sub>, ultrapassa os limites sensatos, logo, a estratificação de risco, apenas baseada neste valor glicémico, mostrou-se insuficiente para o rastreio (24).

Analogamente, a fim de examinar o contributo de certos fatores de risco, como DM, obesidade e tabagismo, no desenvolvimento de cancro do pâncreas, Sanat *et al.* (25) desenvolveram um estudo caso-controlo, com seleção de participantes, a partir do registo de doentes para ecoendoscopia no Hospital Shariati, no Tehran (Irão). A partir de entrevistas, foram recolhidos dados em relação aos participantes, nomeadamente peso, altura, IMC (com obesidade sendo definida por um IMC acima de 30), sexo, idade, história de DM (com diagnóstico há mais de 2 anos), hábitos tabágicos, consumo de opióides e história familiar de cancro em 1º grau. Deste modo, recrutaram-se 470 indivíduos, com diagnóstico histopatológico de cancro do pâncreas, para integrar o grupo de casos, e 526 indivíduos, sem qualquer tipo de cancro e ajustados à idade e sexo dos casos, para incorporarem o grupo de controlos. Após análise dos dados fornecidos, verificou-se que 51.3% dos indivíduos que desenvolveram cancro do pâncreas foram diagnosticados com mais de 65 anos e que, dos casos de cancro do pâncreas, 8.2% estavam relacionados com a DM de longa duração como fator de risco e 10.9% estavam associados a história familiar de cancro, principalmente da mama, próstata e colorretal. Não se verificou uma relação positiva entre a obesidade e o risco de cancro de pâncreas, porém o tabagismo e o consumo do opióides aumentaram significativamente este risco. Deste modo, Sanat *et al.* comprovaram o efeito positivo da DM de longa duração no risco de desenvolvimento de cancro do pâncreas. Demonstraram, igualmente, o papel do tabagismo, dos opióides e da história familiar de cancro, possivelmente associada a síndromes hereditárias como BRCA 1/2, no risco da neoplasia (25).

Adicionalmente ao papel da DM no desenvolvimento de PDAC, foi também estudada, neste caso por Jacobson *et al.* (26), a relação entre os valores da glicemia em jejum, caracteristicamente elevados na DM, e o risco de PDAC, através de colheitas sistemáticas de amostras pré-diagnóstico. De modo a avaliar esta associação, desenharam um estudo caso-controlo prospetivo, e triaram 182 indivíduos que tinham sido diagnosticados com PDAC para integrar o grupo de casos e 728 indivíduos, sem qualquer diagnóstico de cancro, numa proporção 1 caso:4 controlos, ajustados à idade, sexo e data da participação no estudo, de modo a formar o grupo de controlos. Aquando da seleção dos participantes, foram colecionadas informações individuais, como idade, glicemia em jejum, glicemia após PTGO, IMC, tensão arterial, diagnóstico de DM, hábitos tabágicos e consumo de álcool. No grupo de casos acrescentou-se a glicemia e a idade ao diagnóstico de PDAC, a data de início da DM, o diagnóstico de outros cancros e o estadio, grau, sobrevivência e localização do tumor.

A avaliação inicial da população em estudo evidenciou um predomínio de hábitos tabágicos nos casos, mas nenhuma diferença relativamente ao IMC, consumo de álcool e existência de DM entre os dois grupos. Na altura da recolha dos dados, no grupo dos casos, 3,4% apresentavam diagnóstico de DM, valor bastante inferior aos 30% de casos de DM, quando os dados foram reavaliados na altura do diagnóstico de PDAC. Comparativamente com o grupo de controlos, os casos, sobretudo os indivíduos com mais de 55 anos, demonstraram um incremento mais marcado dos valores de glicemia em jejum ao longo do tempo, em especial nos 6 anos anteriores ao diagnóstico de PDAC, com valores acima do limite para pré-diabetes ( $>110$  mg/dL), e aquando do diagnóstico de PDAC, com valores acima do limite para diabetes ( $>126$  mg/dL). Verificou-se, ainda, dentro do grupo dos casos, que a hiperglicemia ou o diagnóstico de DM nos 6 anos anteriores ao diagnóstico de PDAC não influenciaram a taxa de sobrevivência da neoplasia ( $p=.56$ ), nem apresentaram relação com o estadió do tumor. Também não se observaram diferenças entre a DM de início recente e a de longa duração ( $p=.40$ ). No geral, observou-se um *odds ratio* (OR) superior para o desenvolvimento de PDAC a cada subida de 1mmol/L na glicemia em jejum (OR 1.30, 95% Intervalo de Confiança (IC) 1.05-1.60,  $p= .02$ ). Este risco foi estatisticamente significativo nos não fumadores (OR 4.02, 95% IC 1.26-12.77,  $p= .018$ ) e nos não diabéticos (OR 3.08, 95% IC 1.08-8.79,  $p= .035$ ). Deste modo, Jacobson *et al.* evidenciaram o papel da elevação da glicemia em jejum no aumento do risco de PDAC, como fator independente da síndrome metabólica, especialmente em indivíduos com mais de 55 anos. Comprovaram, igualmente, que este quadro hiperglicémico influencia simplesmente a presença do tumor, não é afetado pela presença de metástases, nem está relacionado com a mortalidade da neoplasia (26).

Adicionalmente ao já constatado em relação ao papel da DM no desenvolvimento de PDAC, Ozsay *et al.* (27) pretenderam aprofundar a associação e analisar a influência da idade ao diagnóstico de DM no risco de desenvolvimento de PDAC. Assim, triaram, através de um sistema automático de seleção de doentes com PDAC e DM concomitante (anterior ou posterior ao diagnóstico de PDAC), 158 indivíduos para integrar o grupo de casos. Já o grupo de controlos albergou 244 indivíduos com DM, contudo sem qualquer diagnóstico de cancro. De seguida, examinaram, prospectivamente, os dados dos 402 participantes, nomeadamente idade, sexo, idade aquando dos diagnósticos de DM e de PDAC e níveis de CA 19-9 (utilizou-se como intervalo de referência 0-37 U/mL). Desta análise, constatou-se uma relação estatisticamente significativa entre o sexo masculino e o risco de PDAC ( $p<0.0001$ ), uma vez que 88 (49%) dos 178 participantes masculinos apresentaram a neoplasia. No entanto, não se observou nenhuma associação estatisticamente relevante entre a idade e o risco de PDAC ( $p=0.16$ ). Comparando os valores de CA 19-9 entre os dois grupos, verificou-se que 87% dos indivíduos com níveis elevados deste marcador tumoral desenvolveram PDAC, uma correlação estatisticamente considerável ( $p<0.0001$ ),

comparativamente com os 12% dos indivíduos com valores de CA 19-9 dentro do intervalo de referência que desenvolveram PDAC. Posteriormente, avaliaram a correspondência entre a idade ao diagnóstico de DM e a incidência de PDAC, com base em dois intervalos de idade, antes e depois dos 60 anos. Verificou-se que o PDAC foi detectado em 89 (68%) dos 130 indivíduos com diagnóstico de DM após os 60 anos e em 69 (25%) dos 272 indivíduos com diagnóstico de DM antes dos 60 anos. Deste modo, a relação do diagnóstico de DM após os 60 anos com a incidência de PDAC foi considerada estatisticamente relevante ( $p < 0.001$ ). Verificou-se, assim, que o risco de PDAC aumentou 8.5 vezes com o diagnóstico de DM após os 60 anos, comparativamente com o diagnóstico antes dos 60 anos (*Hazard ratio* (HR) = 8.5, 95% IC, 5.66-12.90,  $p < 0.001$ ). Nestes doentes, o tempo entre o diagnóstico de DM e o diagnóstico de PDAC alcançou o auge aos 32 meses. Deste modo, Ozsay *et al.*, ao verificarem o risco 8.5 vezes superior de PDAC nos indivíduos com diagnóstico de DM após os 60 anos, alertaram para a importância de avaliar regularmente indivíduos que cumpram com estas características, mesmo que assintomáticos (27).

De modo a compilar a informação obtida de uma forma sintetizada, os resultados epidemiológicos do estudo da DM como fator de risco para PDAC encontram-se reunidos na tabela 1.

#### 4.1.2 Estudos laboratoriais

Complementarmente à observação epidemiológica, assume-se de equivalente pertinência a investigação laboratorial, a fim de se analisar a relação entre a DM e o risco de PDAC e os possíveis mecanismos subjacentes, através de uma intervenção dirigida e de um ambiente controlado.

Posto isto, Zechner *et al.* (28), recorrendo a ratos como espécie de estudo, explorou, maioritariamente *in vivo*, a influência de fatores de risco conhecidos para PDAC, como a DM2, na fisiopatologia de um tumor primário estabelecido no pâncreas, neste caso induzido pela injeção de células 6606PDA. Para tal, foram necessárias culturas celulares (6606PDA, 6606l e 7265PDA), provenientes, originalmente, de adenocarcinomas do pâncreas de ratos com expressão do oncogene KRAS<sup>G12D</sup>. De seguida, procedeu-se a uma cirurgia abdominal nos ratos com média de 93 dias, de modo a prosseguir com a injeção da suspensão de células 6606PDA, na cabeça do pâncreas dos ratos, quer diabéticos, quer normoglicémicos. No dia 0, antes da injeção das células de carcinoma, mediram-se as glicemias dos ratos. Decorridos 20 dias, foram reavaliadas as glicemias e procedeu-se à análise dos tecidos, incluindo o peso do órgão, o peso do tumor e a expressão de Aldh1 e CD133, marcadores de células estaminais tumorais. Procedeu-se, igualmente, a uma observação histológica da peça e a uma análise

imuno-histoquímica. Da análise descrita, verificou-se que os ratos diabéticos obesos apresentavam valores de glicemia superiores e que desenvolveram tumores de dimensões e peso ( $p < 0.002$ ), significativamente, superiores, comparativamente com os tumores dos ratos normoglicêmicos. Após análise imuno-histoquímica, constatou-se um aumento expressivo de núcleos das células BrdU+ nos carcinomas dos ratos diabéticos obesos ( $p = 0.005$ ), o que evidenciou o papel da DM no aumento da proliferação das células cancerígenas. Verificou-se, ainda, uma quantificação de células CD133+ superior nos ratos diabéticos, contudo as células Aldh1+ encontraram-se diminuídas neste grupo. Assim, Zechner *et al.* demonstraram que a DM2 tem um papel fundamental no desenvolvimento de PDAC, pela sua capacidade de modular a proliferação de células cancerígenas. A DM aparentou ser responsável, igualmente, por um aumento do peso e das dimensões tumorais, mas não mostrou relação com o grau de apoptose, nem com a área de necrose. A expressão, nos tecidos analisados, dos marcadores das células estaminais tumorais, Aldh1 e CD133, células que têm vindo a ser associadas a uma resistência à quimioterapia, não corroboraram essa hipótese (28).

Já Sun *et al.* (29) propuseram, como hipótese de explicação para esta relação causa-efeito, o papel de uma proteína de ligação à actina, com funções na transformação e morfologia celular, a transgelina-2. Assim, com o intuito de caracterizar o padrão de expressão da mesma no PDAC e, subsequentemente, desvendar os mecanismos envolvidos, quer na desregulação desta proteína, quer a sua implicação nos doentes com DM concomitante, examinou-se, *in vitro*, o nível de transgelina-2, por coloração imuno-histoquímica de uma amostra de 70 tecidos humanos pancreáticos com PDAC. Estas amostras de PDAC foram recolhidas de doentes submetidos a pancreatectomia, em conjunto com dados pessoais e clínicos dos mesmos, nomeadamente idade, sexo, grau histológico, estadio, tamanho e metastização linfática do tumor e diagnóstico de DM. Da análise imuno-histoquímica, observou-se uma coloração para transgelina-2 de intensidade superior nos tecidos com PDAC (71%), relativamente aos tecidos normais adjacentes (29%). Verificou-se ainda que esta expressão superior da proteína está associada a uma menor sobrevivência dos doentes com PDAC (HR= 2,30, IC 95%: 1,07–4,97,  $p < 0,05$ ). Também se constatou uma relação positiva entre o nível de transgelina-2 e a metastização linfática, o grau histológico, o estadio e o tamanho do tumor, porém não se verificou uma relação com a idade e o sexo. Dentro do grupo de participantes com PDAC, os que apresentavam DM concomitante apresentaram uma expressão superior de transgelina-2, comparativamente com os que não tinham diagnóstico de DM. Assim, provou-se que o grau histológico (OR=5,293,  $p = 0,030$ ), o tamanho do tumor (OR=5,357,  $p = 0,017$ ) e a DM (OR=4,623,  $p = 0,020$ ) são preditores independentes de alta expressão de transgelina-2. Posteriormente, colocou-se, como possível fundamento para a regulação da transgelina-2 no PDAC

associado a DM, o papel da insulina, caracteristicamente elevada na DM2. Para testar esta hipótese, trataram as linhagens celulares de PDAC com insulina durante 24 horas e avaliaram a expressão consecutiva de transgelina-2, a qual se verificou aumentada em todas as linhagens celulares analisadas. A via de sinalização da insulina, assinalada pela fosforilação da AKT (S473), foi constantemente ativada pelo tratamento com insulina, pelo que se estudou ainda, *in vivo*, a expressão da transgelina-2 em ratos db/db (diabéticos) e ob/ob (obesos), que apresentavam um fenótipo de hiperinsulinemia. A transgelina-2 foi regulada positivamente nos tecidos pancreáticos dos ratos db/db e ob/ob. De seguida, de modo a elucidar sobre o papel oncogénico da transgelina-2 no PDAC, analisou-se a proliferação celular, aquando da inibição da expressão da proteína nas células cancerígenas, recorrendo a transgelina2-siRNA-2. Ao silenciar a expressão da transgelina-2, verificou-se um efeito de redução eficaz da proteína e, conseqüentemente, uma diminuição de proliferação das células PANC-1, BxPC-3 e AsPC-1. Por último, como a expressão da transgelina-2 é induzida pela insulina, explorou-se o possível papel do fator de transcrição relacionado com a insulina, como responsável pelo aumento da proteína no PDAC. Deste modo, ao proceder-se ao silenciamento da *sterol regulatory element-binding protein 1* (SREBP-1) por um siRNA, verificou-se uma regulação negativa do seu nível, o que indica que o SREBP-1 aparenta estar envolvido na ativação da transcrição da transgelina-2, após estimulação pela insulina. Adicionalmente, evidenciou-se uma correlação elevada da transgelina-2 com SREBP-1, em tecidos com PDAC (coeficiente de correlação de Spearman: 0,617,  $p < 0,001$ ). Já em relação ao diagnóstico concomitante de DM, demonstrou-se que os níveis de transgelina-2 e SREBP-1 se encontravam superiores em pacientes com PDAC com DM, comparativamente com os pacientes sem DM. Em suma, aliando as observações *in vitro* e *in vivo*, este estudo permitiu concluir que a expressão da transgelina-2 é regulada pela insulina e que os efeitos oncogénicos da insulina são, potencialmente, incitados pela sobre-expressão de transgelina-2 no PDAC. Constatou-se, igualmente, que o SREBP-1 está envolvido na ativação da transcrição da transgelina-2, após estimulação pela insulina. Assim, foi demonstrado o envolvimento do eixo insulina/SREBP-1/transgelina-2 na DM associada ao PDAC (29).

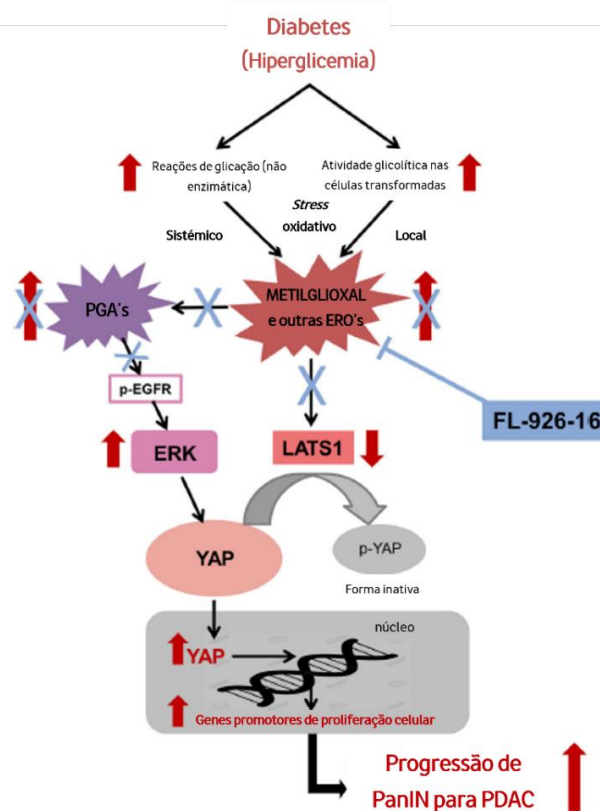
De forma suplementar à avaliação do papel da insulina no desenvolvimento de PDAC, Sato *et al.* (30) propuseram estudar o efeito da hiperglicemia, principal característica da DM, na progressão da PanIN. Para isso, utilizaram ratos Pdx1Cre (controlo) e ratos Pdx1Cre *Kras*<sup>LSL G12D</sup> (KP), com mutação *Kras*. Assim, para analisar esta relação, começaram por induzir, *in vivo*, o desenvolvimento de DM1 em alguns ratos de ambos os grupos (controlo e KP), recorrendo a uma injeção de estreptozotocina (STZ). Os restantes ratos foram injetados apenas com veículo. À 10<sup>a</sup> semana, as caudas dos pâncreas dos ratos foram injetadas com a linhagem celular mPKC1, de modo a induzir o desenvolvimento do tumor e

à 12<sup>a</sup> semana, todos os ratos foram sacrificados, de modo a analisar os seus tecidos e a avaliar a área de PanIN dos 4 grupos formados: controlo veículo, controlo STZ, KP veículo e KP STZ. Assim, do estudo dos tecidos, constatou-se que os ratos KP apresentavam um *ratio* peso pancreático/peso corporal superior, comparativamente com ambos os grupos controlo (veículo e STZ). Analogamente, a área de PanIN às 12 semanas mostrou-se ser superior nos ratos KP com indução de DM por STZ, comparativamente com os ratos KP veículo (KP veículo:  $0.73 \pm 0.69\%$ ; KP STZ:  $4.8 \pm 3.8\%$ ). Já *in vitro*, de modo a avaliar o efeito da hiperglicemia em células com PDAC positivo para a mutação Kras, colocaram-se as linhagens celulares de PDAC (PANC-1, BxPC3 e mPKC1) em meios escassos (5.5mM) e ricos (25mM) em glicose, durante 28 dias. Após este período constatou-se que os ambientes ricos em glicose aumentaram a viabilidade celular nas células PANC-1 e mPKC1, porém o mesmo não se verificou nas células BxPC-3, com Kras do tipo selvagem. Posteriormente, de modo a elucidar sobre o mecanismo subjacente à maior viabilidade celular num ambiente hiperglicémico, estudaram-se as proteínas relacionadas com o crescimento tumoral, pSTAT3, ERK, AKT e MYC, Zeb1. Desta análise constatou-se que um meio rico em glicose promoveu a fosforilação de STAT3 e um aumento da expressão de MYC nas linhagens celulares PANC-1 e mPKC1. De modo a clarificar se a sobre-expressão de pSTAT3 e MYC também apresentava um papel *in vivo* na progressão da PanIN, realizou-se uma imunocoloração para estas proteínas em PanINs pré-cancerígenas. Desta análise, concluiu-se que os níveis das proteínas eram superiores nas PanINs dos ratos STZ KP, do que nos ratos KP controlo. Por último, por inibição da STAT3, verificou-se uma diminuição da expressão de MYC e da viabilidade celular, particularmente nas células mantidas em meios hiperglicémicos. Já a inibição de MYC reduziu os níveis da proteína nos meios ricos em glicose, mas aumentou ligeiramente a fosforilação de STAT3, sugerindo um efeito de *feedback* negativo. Posto isto, Sato *et al.* concluíram que os ratos KP, em especial os com DM induzida pela STZ, apresentavam um *ratio* peso pancreático/peso corporal e uma área de PanIN superiores. *In vitro*, desvendaram o papel da hiperglicemia na aceleração da progressão da PanIN, com incremento dos níveis de pSTAT3 e MYC, assumindo as mesmas como potenciais fomentadoras de PDAC, em condições de hiperglicemia. A STAT3 mostrou-se, ainda, ser promotora dos níveis de MYC e a inibição da última verificou-se ser eficaz na atenuação do avanço da PanIN (30).

Similarmente, Menini *et al.* (31), com o seu estudo *in vivo* e *in vitro*, avaliaram o impacto da hiperglicemia, associada a DM1, no desenvolvimento de PDAC invasivo e os mecanismos envolvidos, nomeadamente o *stress* oxidativo. Propuseram-se, adicionalmente, a analisar os efeitos da DM e do FL-926-16, um derivado da carnosina resistente à carnosinase, na atividade da *Yes-associated-protein* (YAP), um alvo chave da sinalização Kras, necessário para a progressão da PanIN a PDAC invasivo e para o

crescimento tumoral induzido por metilglioxal (MGO). Acredita-se que os produtos finais de glicosilação avançada (PGA) promovem a proliferação das linhagens celulares do PDAC e que a acumulação destes produtos na DM se deve, essencialmente, ao aumento da formação das espécies reativas de oxigênio (ERO), derivadas da auto-oxidação da glicose (glioxal (GO), por ex.), mas também do metabolismo celular do excesso de glicose através da glicólise (MGO, por exemplo). Posto isto, estudaram inicialmente, *in vivo*, 54 ratos KCM, que foram o resultado de um cruzamento entre ratos Pdx1Cre Kras<sup>LSL G12D</sup> (KC), que desenvolveram PDAC, e MITO-Luc (M). Destes, 33 foram injetados com STZ, de modo a induzir o desenvolvimento de DM, dos quais 24 apresentaram sucesso nesta indução. Após 3 dias da injeção, os 24 ratos com DM foram selecionados, de forma randomizada, para não receber tratamento (Diab; n=12) ou para serem administrados com FL-926-16 (Diab + FL; n=12). Os restantes 21 ratos, injetados com veículo, foram utilizados como controlos não diabéticos e, ou não tiveram tratamento (Ctr; n=12), ou foram injetados com FL-926-16 (Ctr + FL; n=9). Os ratos foram seguidos durante 16 semanas após a injeção, através de palpação abdominal, peso corporal e glicemia diários e avaliação semanal por técnica de bioluminescência, a fim de verificar o crescimento tumoral. No final, procedeu-se às análises moleculares e histológicas dos pâncreas dissecados. Foram ainda medidos os níveis de PGA's e de proteínas oxidadas (PO), dois marcadores de *stress* oxidativo e a distribuição de YAP1 ativado. Em conjunto com as amostras dos ratos, incluíram-se tecidos pancreáticos humanos com PDAC (n=14). Assim, do estudo *in vivo*, verificou-se uma redução significativa dos PGA's e PO's circulantes, associadas à DM, nos ratos diabéticos sob tratamento com FL-926-16 (Diab + FL). Em relação ao desenvolvimento tumoral, constatou-se um peso do pâncreas significativamente superior ( $p < 0.01$ ) nos ratos Diab (0.82g), comparativamente com os Ctr (0.38g) e com os Diab + FL (0.44g). Da análise histológica, estimou-se uma incidência cumulativa de PDAC invasivo, às 22 semanas de idade, de 75% no grupo Diab, 25% nos Diab + FL e 8.3% nos Ctr. Relativamente à percentagem de ductos pancreáticos displásicos, verificou-se uma percentagem de PanINs inferior no grupo Diab + FL, comparativamente com os ratos Diab, evidenciando, assim, a redução da capacidade invasiva do tumor proporcionada pelo FL-926-16. Observou-se, ainda, em comparação com os Ctr, uma acumulação pancreática de PGA's e dos níveis de fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), um alvo transcricional estabelecido de YAP, e de YAP1 nuclear nos ratos Diab, observação que foi comum na análise dos tecidos humanos. Estes incrementos também foram prevenidos pelo tratamento com FL-926-16. Na componente *in vitro*, estudou-se o papel putativo das ERO's e dos PGA's, como mediadores no efeito promotor de tumor da glicose elevada e do efeito protetor do FL-926-16. Posto isto, de modo a avaliar a ação da glicose e do FL-926-16 na proliferação celular, utilizaram-se células humanas MIA PaCa-2 e PANC-1, que foram incubadas em diferentes condições,

incluindo de normoglicemia (5mM D-glicose) e hiperglicemia (25mM D-glicose). O YAP e o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) foram silenciados, utilizando pequenos RNAs de interferência, com o objetivo de desvendar o papel da via YAP e EGFR na proliferação celular induzida por ERO's e PGA's. De seguida, avaliaram-se os níveis de YAP1, p-EGFR, p-ERK 1/2 e LATS1, uma cinase chave na via de sinalização Hippo, responsável pela transformação de YAP na sua forma inativa, p-YAP. Das observações *in vitro*, constatou-se que a concentração elevada de glicose, a mimetizar a hiperglicemia diabética, promoveu o crescimento das células PDAC e que este efeito foi evitado pelo FL-926-16. Os precursores de PGA (ERO, MGO, GO) também estimularam a proliferação celular do PDAC e o FL-926-16 foi, uma vez mais, capaz de inibir esse efeito. Esta influência na proliferação celular do MGO foi associada à persistência e atividade nuclear do YAP. Por último, o silenciamento do YAP1 inibiu, de forma significativa, a atividade de transcrição de genes alvo desta proteína, induzidas por MGO e PGA nas células de PDAC. Assim, Menini *et al.* comprovaram que a hiperglicemia associada à DM promove o avanço da PanIN a PDAC invasivo e que o FL-926-16, um eliminador seletivo de ERO's e inibidor de PGA's, previne este efeito acelerador da DM, dando, assim, evidência do papel do *stress* oxidativo na associação causal entre a DM e o PDAC. Neste sentido, os autores propuseram um modelo (Figura 2) para esclarecer esta associação (31).



**Figura 3** - O *stress* oxidativo na promoção de PDAC induzido por DM e o mecanismo de proteção mediado por FL-926-16. ERK – Cinase regulada por sinal extracelular; ERO – Espécie reativa de oxigénio; LATS1 – *Large tumour suppressor kinase*; p-EGFR – Recetor do fator de crescimento epidérmico fosforilado; PanIN – Neoplasia intraepitelial pancreática; PDAC – Adenocarcinoma ductal do pâncreas; PGA – Produto final de glicosilação avançada; p-YAP – YAP fosforilada; YAP – *Yes-associated protein*. Adaptado de Menini *et al.* (31)

Por último, e de forma análoga, Otto *et al.* (32), assumiram como propósito para o seu estudo desvendar se a exposição concomitante a hiperglicemia e aos macrófagos, principal população de células imunes associada ao desenvolvimento de PDAC, agrava as alterações associadas à transição epitelial-mesenquimal (TEM) nas células epiteliais ductais pancreáticas (CEDP). Para este efeito, foram necessárias células CEDP, incluindo o fenótipo benigno (H6c7-*pBp*) e pré-maligno (H6c7-*kras*), que foram colocadas em monocultura e em co-cultura com macrófagos M1, em condições de normoglicemia (5mM D-glicose) e de hiperglicemia (25mM D-glicose), por 2 ou 5 dias. Posto isto, avaliaram os níveis de indutores da TEM e das CET's, nomeadamente as citocinas interleucina (IL)-6, IL-8, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e fator de transformação do crescimento  $\beta$  (TGF $\beta$ ) -1, dos fatores de transcrição envolvidos, Snail, Slug e Zeb1, e dos marcadores mesenquimais, E-caderina, vimentina e L1CAM, nas células expostas aos macrófagos M1 e/ou a hiperglicemia. Posteriormente, procedeu-se à inibição das citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6, a fim de avaliar o potencial contributo das mesmas na aquisição de propriedades relacionadas à TEM pelas CEDP, nas condições acima descritas. Verificou-se que os níveis de IL-6 se encontravam ligeiramente elevados nas células H6c7-*pBp*, quando em hiperglicemia, e que estes valores diminuía quando eram expostas a macrófagos em normoglicemia. Já nas células H6c7-*kras*, a presença de macrófagos mostrou um efeito maior na expressão de IL-6 do que a hiperglicemia. Relativamente aos níveis de IL-8, constatou-se uma redução disseminada da sua expressão nas células em co-cultura com macrófagos M1. Já os níveis de TNF- $\alpha$  mostraram um aumento de 9.24 vezes nas células benignas incubadas durante 2 dias, especialmente em meio hiperglicémico e em co-cultura com macrófagos M1. Por último, a expressão de TGF $\beta$ -1 mostrou-se superficialmente elevada pela co-cultura com macrófagos, predominantemente nas células pré-malignas e após cultura de 2 dias. Assim, o padrão de expressão destas citocinas indica que a interação entre as CEDP e a hiperglicemia e/ou os macrófagos influencia os níveis dos indutores inflamatórios de TEM e CET. Adicionalmente, os níveis de mRNA dos fatores de transcrição da TEM e CET nas CEDP, particularmente Snail e Zeb1, mostraram-se superiores nas células H6c7-*kras*. A expressão, especialmente, de Snail mostrou-se elevada em co-cultura com macrófagos durante 2 dias. Já em relação aos marcadores mesenquimais, verificou-se uma redução da expressão de E-caderina nas células H6c7-*pBp* em co-cultura com macrófagos e nas células H6c7-*kras* em hiperglicemia concomitante com co-cultura de macrófagos, onde se observou uma redução de 50%. Constatou-se, adicionalmente, um aumento da expressão de vimentina e L1CAM nas células em co-cultura com macrófagos. Deste modo, Otto *et al.* demonstraram a íntima relação entre os macrófagos e a hiperglicemia, pelo papel, em comum, de mediadores cruciais num ambiente inflamatório. Estes atuam, sinergicamente, na aquisição de malignidade das CEDP, por transição epitelial mesenquimal (32).

De modo a reunir, de igual forma, a informação essencial dos estudos laboratoriais que exploram a relação causal da DM com o PDAC, estes foram sumariamente compilados na tabela 2.

#### 4.1.3 Discussão

A relação entre a DM e o PDAC é um tópico em crescente evolução nos dias de hoje, uma vez que, tendo em conta o infrutífero tratamento disponível para a neoplasia, a identificação de fatores de risco, com o objetivo de a prevenir, tornou-se o cerne da investigação. Deste modo, verificou-se, efetivamente, uma relação causal entre as duas patologias, com um risco 40% superior de desenvolvimento de PDAC nos diabéticos, comparativamente com a população saudável (21). A prevalência da DM nesta neoplasia detém ainda de alguma exclusividade, tendo em conta que, comparativamente com o predomínio da DM nos cancros colorretal, da mama e da próstata, a prevalência de DM no PDAC é 2.3 vezes maior (23). A relação causa-efeito foi, curiosamente, mais evidente nos 3 anos precedentes ao diagnóstico de PDAC, a denominada DM de início recente, com um risco 2.3 vezes superior (21,23), e acima dos 60 anos de idade, com um risco 8.5 vezes maior do que nas faixas etárias anteriores (25,27). Esta relação de causalidade entre a DM e o PDAC vai diminuindo, por razão inversa, com a duração da DM, e uma duração superior ou igual a 9 anos não se associa a um risco significativamente aumentado da neoplasia (21,23), constatação que é singular, tendo em conta o reconhecimento atual da idade avançada como fator de risco de PDAC (6,33). Este efeito da DM no PDAC foi, igualmente, constatado laboratorialmente, onde se verificou, nos ratos com DM2, um aumento da proliferação de células cancerígenas e um peso e dimensão tumorais superiores, comparativamente com os ratos normoglicémicos (28).

Apesar da íntima relação da DM, principalmente a DM2, com a obesidade, no contexto da síndrome metabólica, e dos prováveis mecanismos envolvidos em comum na iniciação/progressão tumoral, incluindo a resistência à insulina, a inflamação e o *stress* oxidativo (21), ambas as condições são consideradas fatores de risco independentes para o PDAC (18). Relativamente aos restantes parâmetros comumente avaliados em simultâneo com a DM, como fatores de risco para PDAC, nomeadamente hábitos tabágicos e alcoólicos, sexo e raça, as conclusões variam entre os estudos (23). Apesar do tabagismo e do sexo masculino serem fatores de risco reconhecidos de PDAC (34), evidenciado na presente dissertação por Ozsay *et al.* (27), Elena *et al.* (21) e Setiawan *et al.* (23) demonstraram um efeito estatisticamente insignificante de ambos os fatores no incremento do risco de PDAC. De forma similar, embora o consumo moderado/excessivo de álcool seja distinguido como um fator de risco de PDAC (6), não foi possível corroborar esta hipótese na presente revisão

(23). Já em relação à raça, apesar de se assumir um maior risco de PDAC na população afro-americana (6), Wu *et al.* (35) constataram um risco superior de PDAC nos indivíduos de raça branca não-hispânica e um risco inferior na população asiática, resultado que é corroborado por uma meta análise, de 22 estudos, que pretendeu definir os fatores de risco para PDAC, em indivíduos com DM (36).

Adicionalmente à avaliação da interação entre a DM e o PDAC, também é frequente a apreciação da relação entre a hiperglicemia ou a HbA<sub>1c</sub> e o PDAC, pelas suas ligações inerentes com a DM. Relativamente à hiperglicemia, entendeu-se que, nos 6 anos anteriores ao diagnóstico de PDAC, ocorre um quadro hiperglicémico premonitório, com valores acima do limite para pré-diabetes (>110 mg/dL), ou até mesmo acima do valor determinante de DM (>126 mg/dL) aquando do diagnóstico da neoplasia, conferindo-se uma relação proporcional entre cada aumento de 1 mmol/L da glicemia em jejum e o aumento do risco de PDAC (26). Enquanto isso, a HbA<sub>1c</sub> elevada comprovou a sua pertinência no risco de desenvolvimento de PDAC, com um risco a 3 anos de PDAC superior, especialmente se na ausência de história pessoal de DM e com hiperglicemia de início recente (35).

O CA 19-9, amplamente conjugado ao PDAC, como marcador tumoral, apresentou níveis aumentados em 87% dos indivíduos com a neoplasia e DM concomitante (27), podendo ser um indicador eficaz do controlo glicémico, da progressão da patologia e do metabolismo lipídico em doentes com DM2 (37).

A nível genético, a variante rs1501299 no gene ADIPOQ, que está associado a uma maior suscetibilidade para DM, verificou-se estar, igualmente, relacionada com o PDAC, porém torna-se necessária a replicação em mais estudos, de modo a usufruir dos seus possíveis fins preventivos (22). Outros estudos destacaram ainda a relevância do gene NR5A2 na DM associada a PDAC (20).

Curiosamente, a relação entre a DM e o PDAC aparenta ir além da associação fisiopatológica entre as duas doenças e envolver também as respetivas terapêuticas nesta interação, uma vez que a metformina, um antidiabético oral com reconhecido benefício antineoplásico em diabéticos com CCR e da mama, ultimamente também tem vindo a demonstrar o seu efeito no PDAC, podendo ter futuras aplicações clínicas no *outcome* do tratamento desta neoplasia (17). Assim, é pertinente destacar a capacidade da metformina, um fármaco amplamente difundido nos dias de hoje, de adicionar 4 a 6 meses à esperança média de vida de uma população com prognóstico reservado por cancro, nomeadamente por PDAC (38) e ainda a perícia deste antidiabético oral de reduzir os níveis de CA 19-9 nos indivíduos com DM2 (37). De forma inversa, a insulina exógena, terapêutica antidiabética utilizada essencialmente na DM1 e na DM2 insulínica, pode ter o efeito oposto e aumentar o risco de cancro do pâncreas (17). No entanto, ainda não se conseguiu determinar se este efeito inverso ao da metformina é devido ao estímulo mitogénico da insulina nas

células tumorais ou se simplesmente reflete a gravidade da DM e a possível ineficácia no controlo da hiperglicemia (19).

Assim, para uma aprimorada compreensão do risco aproximadamente duas vezes superior de PDAC, proporcionado pela DM, é importante delinear os mecanismos que podem estar subjacentes a esta relação. Uma das explicações fisiopatológicas propostas envolve o papel anteriormente referido da hiperinsulinemia, uma vez que a DM2 está associada a uma resistência à insulina, conduzindo a uma secreção descontrolada de insulina e glucagon. Esta sobreprodução de insulina leva, assim, à produção de adipocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo e pelos macrófagos residentes, e à libertação excessiva de ERO's. Há uma secreção desmesurada de glicose pelo fígado, colmatada pelo contínuo aumento da secreção da insulina pelas células  $\beta$  e conduzindo a um aumento dos níveis de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Quer a insulina, quer o IGF-1, ativam a via de sinalização da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), levando ao aumento da síntese proteica em lesões precursoras no pâncreas. Anatomicamente, a dispersão dos ilhéus de Langerhans pelo pâncreas exócrino proporciona a distribuição de uma fração de sangue numa circulação portal intrapancreática, expondo, possivelmente, as células acinares e ductais adjacentes a níveis muito elevados de insulina, que exercem efeitos tróficos nessas células (16). Assim, o aumento compensatório do nível de insulina, de modo a superar a resistência à mesma, e aumentos concomitantes nos níveis de IGF-1, que ocorrem em doentes com DM e/ou obesidade, são prováveis alterações metabólicas cancerígenas de PDAC (39), facto que pode ser atestado pelo efeito anti-neoplásico da metformina, que é reconhecida por reduzir a sinalização insulina/IGF-1, interromper a respiração mitocondrial e inibir a via mTOR (18). Um outro mediador envolvido no eixo da insulina é a transgelina-2, que é regulada de forma positiva pela insulina, através de transcrição mediada pela SREBP-1, e é expressa de forma dominante nos tecidos tumorais com DM concomitante, sendo um indicador de mau prognóstico nestes casos (29).

Aliada à insulinoresistência, de forma compensatória, surge também a hiperglicemia, que se assume por si só como um possível promotor da progressão tumoral, com um aumento da proliferação celular e da tumorigénese nas linhagens de PDAC, especialmente se a duração da exposição for superior a 28 dias (30,31). Em condições de hiperglicemia com exposição concomitante a macrófagos M1, que produzem citocinas que contribuem para a inflamação dos ilhéus pancreáticos, para a disfunção das células  $\beta$  na DM2 e para o aumento do risco de PDAC (18), constatou-se, em células pré-malignas, uma expressão superior de IL-6, TNF- $\alpha$ , uma redução da expressão da E-caderina, um supressor tumoral que é inibido por TGF $\beta$ -1 e, conseqüentemente, um efeito promotor de TEM (32), sugerindo que a hiperglicemia promove a aquisição de propriedades mesenquimais e de

CET's nas CEDP, ativando a sinalização TGF- $\beta$  e facilitando a tumorigênese pancreática (40).

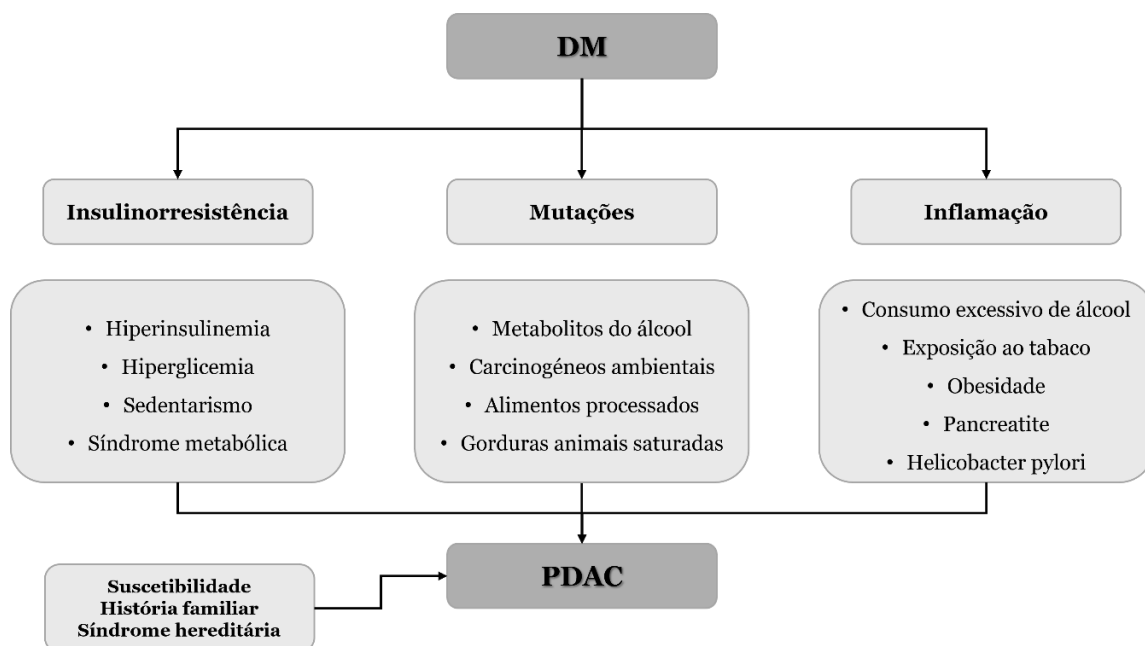
Apesar de não ter sido o foco dos resultados incluídos na presente dissertação, uma dieta constituída por elevado índice calórico e por diminuto valor nutritivo leva a um estado de inflamação excessiva, ao produzir citocinas inflamatórias como IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , conduzindo a uma produção aumentada de ERO's, que se acredita que exacerbem as mutações do ADN e a progressão do PDAC (17). Já os ácidos gordos polinsaturados, em conjunto com os óleos do peixe da dieta, demonstraram reduzir a incidência e o crescimento de PDAC (18).

No seguimento do papel da inflamação crónica, destaca-se a capacidade da DM e dos seus processos inflamatórios concomitantes de promoverem a progressão tumoral, a TEM e a metastização, pela produção de citocinas, como IL-6 e TNF $\alpha$ , levando à ativação de cinases p38, MAPK e fator nuclear kappa B (NF $\kappa$ B). As vias NF $\kappa$ B e do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3), que é estimulada por estados hiperglicémicos (30), funcionam de forma próxima e semelhante, como promotoras da proliferação celular e inibidoras da morte celular programada (17,30). A perpetuação deste estado inflamatório nos doentes com DM2 deve-se, essencialmente, ao recetor dos produtos finais de glicosilação avançada (RPGA) (17), cujos produtos são estimulados pelo *stress* crónico e pela hiperglicemia persistente (16). Ao aumentar a produção de PGA's e, por conseguinte, ativar o RPGA e o Kras, a hiperglicemia contribui para o desenvolvimento de PDAC na DM, uma vez que a ligação de PGA a RPGA ativa fatores de transcrição e vias de sinalização sensíveis a reações de oxidação-redução, levando à formação de ERO's, inflamação, fibrose, autofagia e proliferação (19). O RPGA também se liga a proteínas da família S100, reconhecidamente envolvidas na inflamação e no desenvolvimento de PDAC (16,17). Nesta sequência, a maior disponibilidade de glicose e/ou lípidos, que determina a DM e a obesidade, aumenta a produção de espécies de oxigénio altamente reativas, ERO's, glicotoxinas e lipotoxinas, condição reconhecida como *stress* oxidativo e que participa na lesão celular e no avanço da doença (16,19). Estes compostos reagem rapidamente e danificam molecularmente as células, formando, dependendo da natureza do substrato de que os originam (hidratos de carbono ou lípidos), os anteriormente referidos PGA's ou produtos finais de lipoxidação avançada, respetivamente (19). Como evidenciado por Menini *et al.* (31), a acumulação pancreática de ERO's (MGO e GO), precursoras de PGA's, e o conseqüente aumento dos níveis de PGA's, p-ERK 1/2, CTGF e YAP1, conduz a uma estimulação da proliferação celular no PDAC. Assim, acredita-se que os PGA's contribuam para o desenvolvimento de distintas doenças, incluindo distúrbios metabólicos relacionados com a DM e cancro. Como um todo, o *stress* oxidativo pode influenciar a homeostase celular e tecidual, através de uma série de mediadores, cada um capaz de afetar

o estado de oxidação-redução celular, levando assim à ativação do fator de transcrição nuclear sensível às reações de oxidação-redução, NFκB (19).

Tendo em conta o conhecimento obtido relativo ao desenvolvimento de PDAC a partir de DM, surge um foco de atenção para a oportunidade terapêutica com compostos endógenos capazes de eliminar ERO's, nomeadamente um dipéptido de ocorrência natural, particularmente abundante no sistema nervoso, no músculo esquelético e nos rins, a L-carnosina. Embora o seu papel bioquímico permaneça pouco elucidado, um conjunto crescente de evidências tem vindo a demonstrar a sua capacidade de extinguir as ERO's, inibir a formação de PGA's e prevenir a ativação de vias pró-oxidantes e inflamatórias, oferecendo grande promessa na gestão de condições relacionadas ao *stress* oxidativo, incluindo a DM e os distúrbios metabólicos. No entanto, apesar dos resultados encorajadores, a curta semi-vida da L-carnosina em humanos exige a exploração de derivados resistentes à carnosinase, para futuras aplicações terapêuticas eficazes (19). É nesta lacuna de oportunidade que surge o FL-926-16, posteriormente explorado por Menini *et al.* (31), que é eliminador seletivo de ERO's e inibidor de PGA's associados à DM e que se mostrou eficaz na redução de PanIN's de alto grau, no aumento de ductos pancreáticos saudáveis e na reversão da proliferação celular induzida por YAP.

Em suma, entre processos inflamatórios, metabólicos, mutagénicos e de sinalização (Figura 4.), há inúmeros mecanismos que podem explicar o efeito causal e tempo-dependente, da DM no desenvolvimento de PDAC. É, então, fulcral o estudo pormenorizado da influência de cada um deles e das chances diagnósticas e terapêuticas que eles oferecem.



**Figura 4** - Diagrama esquemático dos principais mecanismos envolvidos no desenvolvimento de PDAC a partir de DM. DM – Diabetes *mellitus*; PDAC – Adenocarcinoma ductal do pâncreas. *Adaptado de Srivani et al.* (20).

**Tabela 1** - Características dos estudos epidemiológicos incluídos da relação da DM como causa de PDAC

Autor e referência	Ano	País	Tipo de estudo	Amostra	Parâmetros avaliados	Principais resultados e conclusões
<b>Epidemiológico</b>						
Elena <i>et al.</i> (21)	2013	EUA, Alemanha, França, Reino Unido, Itália, Dinamarca, Espanha, Suécia, Países Baixos, Grécia, Finlândia e China	Caso-controlo (dados de 12 estudos coorte do <i>PanScan</i> )	Grupo de casos: 1621 indivíduos com PDAC e sem diagnóstico de DM há <2 anos Grupo de controlos: 1719 indivíduos sem cancro e sem diagnóstico de DM há <2 anos	Altura, peso, IMC, perímetro abdominal, RCQ, hábitos tabágicos, sexo, idade, raça, história familiar de PDAC em familiar de 1º grau, hábitos alcoólicos, história de pancreatite, história e duração de diabetes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Risco 40% superior de desenvolvimento de PDAC em indivíduos com DM, comparativamente com indivíduos sem DM. Este risco mostrou-se maior nos indivíduos com DM há 2-8 anos e não se verificou risco aumentado na DM com duração superior ou igual a 9 anos.</li> <li>- Efeito insignificante do sexo no risco de PDAC.</li> <li>- Os restantes parâmetros não revelaram interações significativas com o risco de PDAC.</li> </ul>
Kuruma <i>et al.</i> (22)	2014	Japão	Caso-controlo	Grupo de casos: 360 indivíduos japoneses com PDAC recém-diagnosticado Grupo de controlos: 400 indivíduos japoneses sem história de cancro	Idade, sexo, altura, peso, IMC, história pessoal de DM, hábitos tabágicos e características demográficas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- O número de indivíduos com história de DM foi superior nos casos (24,1%), do que nos controlos (8,7%).</li> <li>- Restantes parâmetros foram estatisticamente insignificantes na associação com PDAC.</li> <li>- A variante genética rs1501299 no gene ADIPOQ mostrou-se associada a um maior risco de PDAC, enquanto a variante genética rs2237895 no gene KCNQ1 teve o efeito inverso.</li> <li>- Os restantes 5 SNP's não evidenciaram associações significativas.</li> </ul>

Adenocarcinoma do Pâncreas e Diabetes *Mellitus*: Uma relação de dois sentidos

Setiawan <i>et al.</i> (23)	2018	Califórnia, EUA	Coorte prospetivo	48995 indivíduos afro-americanos e latinos, com mais de 50 anos e sem diagnóstico de cancro ou DM	<p>1ª Análise: Demografia, sexo, IMC, raça, escolaridade, tabagismo, hábitos alcoólicos, história familiar de cancro, antecedentes pessoais, fatores de estilo de vida, consumo de carne vermelha e medicação habitual.</p> <p>2ª Análise: Diagnóstico e duração de DM, de PDAC, de cancro colorretal, de cancro da mama invasivo e de cancro da próstata.</p>	<p>- Não se verificaram diferenças entre indivíduos que desenvolveram DM e os que não desenvolveram, em termos de raça, sexo, escolaridade, tabagismo e hábitos alcoólicos.</p> <p>- Durante o <i>follow-up</i> de 14 anos, 15 833 indivíduos desenvolveram DM, dos quais 128 foram diagnosticados com cancro do pâncreas.</p> <p>- A frequência de DM verificou-se ser estatisticamente superior nos indivíduos com cancro do pâncreas (31,4%), comparativamente com os outros cancros analisados.</p> <p>- Nos casos de cancro do pâncreas com DM, 52,3% dos indivíduos desenvolveram DM nos 36 meses anteriores ao diagnóstico de cancro, com uma média de 34,4 meses.</p> <p>- A relação da DM de início recente é 2.3 vezes maior com o risco de cancro do pâncreas do que a DM de longa duração, porém, esta vai diminuindo com o aumento da idade.</p>
Wu <i>et al.</i> (35)	2020	Califórnia, EUA	Coorte retrospectivo	Coorte de base: 851402 indivíduos com 50-84 anos, sem história de PDAC e com pelo menos uma medição de HbA <sub>1c</sub> entre 2010 e 2014	Idade, sexo, raça/etnia, valor de HbA <sub>1c</sub> , presença de cistos pancreáticos, de pancreatite aguda/crónica e de transtorno relacionado ao uso de álcool.	<p>- A taxa de incidência de PDAC mostrou-se superior nos indivíduos com valores de HbA<sub>1c</sub> elevados, sem história de DM e com hiperglicemia de início recente (1.82), comparativamente com a coorte de base (0.46).</p> <p>- Constatou-se um maior risco a três anos de desenvolvimento de PDAC nos indivíduos com valores de HbA<sub>1c</sub> elevados, sem história de DM e com hiperglicemia de início recente (0.80%), comparativamente com os que apenas apresentavam valores de HbA<sub>1c</sub> elevados (0.21%).</p> <p>- Verificou-se um risco superior de PDAC nos indivíduos brancos não-hispânicos (2.37) e um risco inferior nos participantes asiáticos (0.72).</p> <p>- A vasta maioria dos casos de PDAC foi diagnosticada em estadios avançados (65.7%).</p> <p>- Estimou-se que era necessária a avaliação, durante 3 anos, de 206 indivíduos com valores de HbA<sub>1c</sub> elevados, sem história de DM e com hiperglicemia de início recente, para o diagnóstico de 1 caso de PDAC. Este valor foi inferior ao da coorte de base (818).</p> <p>- A estratificação do risco de PDAC apenas por medição de HbA<sub>1c</sub> é insuficiente para o rastreio.</p>

Adenocarcinoma do Pâncreas e Diabetes *Mellitus*: Uma relação de dois sentidos

Sanat <i>et al.</i> (25)	2021	Irão	Caso- controlo	Grupo de casos: 470 indivíduos com diagnóstico histopatológico de cancro do pâncreas  Grupo de controlos: 526 indivíduos sem cancro	Peso, altura, IMC, sexo, idade, história de DM (com >2 anos), hábitos tabágicos, consumo de opióides, AF em 1º grau de cancro	- Dos casos, 51.3% foram diagnosticados com mais de 65 anos. - 8,2% dos casos estavam relacionados com a DM como fator de risco. - A DM de longa duração aparenta estar associada a um aumento do risco de cancro do pâncreas. - Não se verificou uma relação positiva entre a obesidade e o risco de cancro do pâncreas.
Jacobson <i>et al.</i> (26)	2021	Suécia	Caso- controlo	Grupo de casos: 182 indivíduos com PDAC Grupo de controlos: 728 indivíduos sem cancro	Idade, glicemia em jejum, glicemia após PTGO, IMC, tensão arterial, diagnóstico de DM, hábitos tabágicos e consumo de álcool. No grupo de caso acrescentou-se a glicemia e idade ao diagnóstico de PDAC, idade de início da DM, o diagnóstico de outros cancros e o estadio, grau, sobrevivência e localização do tumor.	- Verificou-se uma hiperglicemia em jejum progressivamente superior nos casos, comparativamente com os controlos, especialmente em indivíduos com >55 anos. - Dentro dos casos, constataram-se níveis da glicemia em jejum superiores nos seis anos anteriores ao diagnóstico de PDAC, com valores acima do limite para pré-diabetes (>110 mg/dL) e aquando do diagnóstico de PDAC, com valores acima do limite para diabetes (>126 mg/dL). - Nos casos, a hiperglicemia ou o diagnóstico de DM nos 6 anos anteriores ao diagnóstico de PDAC não influenciaram a taxa de sobrevivência da neoplasia, nem apresentaram relação com o estadio da mesma. - Não se comprovou uma relação entre o IMC e o risco de PDAC. - Verificou-se uma relação positiva entre cada aumento de 1 mmol/L da glicemia em jejum e o risco de desenvolvimento de cancro do pâncreas, independentemente da existência de síndrome metabólica.
Ozsay <i>et al.</i> (27)	2022	Turquia	Caso- controlo	Grupo de casos: 158 indivíduos com PDAC e DM2 Grupo de controlos: 244 indivíduos com DM2, mas sem cancro	Idade, sexo, idade aquando dos diagnósticos de DM e de PDAC, níveis de CA 19-9.	- Verificou-se uma relação estatisticamente significativa entre o sexo masculino e o risco de PDAC. - 87% dos indivíduos com valores elevados de CA 19-9 desenvolveram PDAC, comparativamente com os 12% que apresentavam valores normais. - 68% dos indivíduos com DM diagnosticada após os 60 anos desenvolveram PDAC, comparativamente com os 25% com diagnóstico de DM antes dos 60 anos. O risco de PDAC em indivíduos com diagnóstico de DM após os 60 anos foi 8.5 vezes maior do que aqueles com diagnóstico de DM antes dos 60 anos.

**Tabela 2** - Características dos estudos laboratoriais incluídos da relação da DM como causa de PDAC

Autor e referência	Ano	Tipo de estudo	Espécie	Amostra	Parâmetros avaliados	Intervenção	Principais resultados e conclusões
<b>Laboratorial</b>							
Zechner <i>et al.</i> (28)	2015	<i>In vivo e in vitro</i>	Rato	Ratos diabéticos obesos e ratos normoglicêmicos magros	Glicemia, atividade da lipase, crescimento tumoral, grau de apoptose, grau de inflamação e de desmoplasia, área de necrose, expressão de marcadores de células estaminais tumorais (CD133 e Aldh1) e análise histológica e imuno-histoquímica.	Injetaram-se células 6606PDA na cabeça do pâncreas dos ratos diabéticos e dos ratos normoglicêmicos, para induzir o crescimento do PDAC e, assim, avaliar a relação com a DM2. 20 dias depois foram analisados os tecidos, de acordo com os parâmetros incluídos no estudo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificou-se uma proliferação de células cancerígenas e um aumento do peso e dimensão tumoral superiores nos ratos obesos com DM2, comparativamente aos ratos normoglicêmicos.</li> <li>- Não se verificou uma influência da DM2 na diminuição do grau de apoptose, nem da área de necrose.</li> </ul>
Sun <i>et al.</i> (29)	2017	<i>In vitro e in vivo</i>	Humano	<p><i>In vitro</i></p> <p>70 amostras de tecido pancreático com PDAC e 70 amostras adjacentes sem tumor</p> <p><i>In vivo:</i> Ratos ob/ob e ratos db/db</p> <p><i>In vivo</i></p> <p>Tecido pancreático dos ratos</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>Idade, sexo, grau histológico, estadió, tamanho e metastização linfática do tumor, tumor primário e diagnóstico de DM.</p>	<p><i>In vitro</i>, examinou-se o nível de transgelina-2 e SREBP-1 nos tecidos, por coloração imuno-histoquímica. Linhagens celulares do PDAC (PANC-1, AsPC-1, BxPC-3 e SW-1990) foram tratadas com insulina 24h. Posteriormente, a expressão da transgelina-2 foi inibida por siRNAs, nas células do PDAC, para avaliar o potencial oncogénico. Procedeu-se ainda ao silenciamento do SREBP-1, de</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A transgelina-2 é expressa de forma dominante nos tecidos com PDAC e é um indicador de pior prognóstico do tumor. Esta expressão mostrou-se superior nos indivíduos com DM concomitante.</li> <li>- A regulação positiva da transgelina-2 é induzida pela insulina, através da transcrição mediada pela SREBP-1, nas linhagens celulares do PDAC.</li> <li>- O eixo insulina/SREBP-1/transgelina-2 está envolvido no PDAC associado à DM.</li> </ul>

Adenocarcinoma do Pâncreas e Diabetes *Mellitus*: Uma relação de dois sentidos

					modo a avaliar o papel do fator de transcrição no aumento da transgelina-2 no PDAC. <i>In vivo</i> , estudou-se a expressão da transgelina-2 nos tecidos pancreáticos dos ratos.
Sato <i>et al.</i> (30)	2020	<i>In vivo e in vitro</i>	Rato	Ratos Pdx1Cre (controlo) e ratos Pdx1Cre Kras <sup>LSL</sup> G12D (KP)	Glicemia, insulinemia, amilase sérica, peso corporal, <i>ratio</i> peso pancreático/peso corporal, área de PanIN.
					<p><i>In vivo</i>, alguns ratos dos 2 grupos foram injetados com estreptozotocina diluída em tampão citrato, de modo a induzir DM1, e os restantes foram injetados apenas com tampão citrato. Depois induziu-se a formação de PDAC por injeção de células mPKC1. Avaliou-se a área de PanIN nos 4 grupos.</p> <p><i>In vitro</i>, colocaram-se linhagens celulares do PDAC (PANC-1, BxPC-3 e mPKC1) em meios escassos e ricos em glicose. Avaliaram-se os níveis de STAT3, ERK, AKT, Zeb1 e MYC presentes nestes meios e procedeu-se à sua imunocoloração em PanINs <i>in vivo</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificou-se uma área de PanIN e um <i>ratio</i> peso pancreático/peso corporal superiores nos ratos KP, especialmente nos com DM induzida pela estreptozotocina.</li> <li>- A exposição prolongada a um meio rico em glicose mostrou-se promotora da progressão tumoral, com um aumento dos níveis de STAT3 e MYC e, por conseguinte, da viabilidade celular e formação de esferas, respetivamente. Estas alterações apenas foram observadas nas linhagens celulares PANC-1 e mPKC1.</li> <li>- A STAT3 apresentou um papel regulador positivo nos níveis de MYC.</li> <li>- A exposição a hiperglicemia por mais de 28 dias evidenciou um aumento da proliferação celular e da tumorigénese.</li> </ul>

Menini <i>et al.</i> (31)	2020	<i>In vivo</i> e <i>in vitro</i>	Rato e humano	<i>In vivo</i> :	<i>In vivo</i> :	<p><i>In vivo</i>, 33 ratos foram injetados com estreptozotocina, de modo a induzir DM, os restantes serviram como grupo de controlo. Dos ratos com DM (n=24), alguns foram seleccionados, aleatoriamente, para receber tratamento com FL-926-16 (n=12). Procedeu-se à disseção dos pâncreas dos ratos e de cadáveres humanos para análise molecular e histológica.</p> <p><i>In vitro</i>, as células foram incubadas, durante 3 dias, em condições de (1) Normoglicemia (5 mM D-glicose); (2) Hiperglicemia (25 mM D-glicose); (3) Tratadas com GO e MGO; (4) Tratadas com N<sup>e</sup>-carboximetilisina; (5) DMEM hipoglicémico e com 10% de soros, não diabéticos ou diabéticos. YAP e EGFR foram silenciados por siRNA's e as células foram analisadas, de acordo com os parâmetros incluídos.</p>	<i>In vivo</i> :	<p>- Nos ratos injetados com estreptozotocina, o tratamento com FL-926-16 contribuiu para uma redução significativa dos níveis de PGA's e PCO's, associados à diabetes.</p> <p>- Os ratos com DM, mas sem tratamento com FL-926-16, evidenciaram maior peso do pâncreas, maior <i>ratio</i> peso do pâncreas/peso corporal e maior incidência de PDAC invasivo, comparativamente com os outros grupos.</p> <p>- Os ratos com DM e com tratamento com FL-926-16 mostraram menor percentagem PanIN's de alto grau e maior quantidade de ductos pancreáticos normais, quando comparados com os ratos que não usufruíram do tratamento.</p> <p>- Acumulação pancreática de PGA's e níveis de p-ERK 1/2, CTGF e YAP1 estavam aumentados nos ratos com DM sem FL-926-16. Esta observação também se verificou em tecido humano pancreático.</p> <p><i>In vitro</i>:</p> <p>- A hiperglicemia mostrou-se promover o crescimento de PDAC, sendo este efeito prevenido pelo FL-926-16.</p> <p>- Os precursores de PGA (MGO, GO) e o CML estimulam a proliferação celular do PDAC. O FL-926-16 foi capaz de inibir o efeito do MGO e do GO, mas não do CML.</p> <p>- O tratamento com FL-926-16 reverteu a regulação positiva da expressão genética dos três alvos da proteína YAP1 (CTGF, WTN5A e EMP2), mas foi ineficaz na prevenção do efeito modulador do CML no nível de mRNA desses genes.</p>
<i>In vivo</i> :	<i>In vivo</i> :		<i>In vivo</i> :					
<p>- 54 ratos KCM, por reprodução entre ratos</p> <p>Pdx1Cre Kras<sup>LSL</sup> G12D (KC) e MITO-<i>Luc</i> (M)</p> <p>- 14 tecidos pancreáticos de indivíduos com PDAC</p> <p><i>In vitro</i>:</p> <p>- Células MIA PaCa-2 e PANC-1 humanas</p>	<p>Peso corporal, glicemia e HbA<sub>1c</sub> dos ratos, PGA's e PCO's no soro dos ratos.</p> <p>Níveis de p-ERK 1/2, YAP1, CTGF, distribuição tecidual de PGA's, peso do pâncreas e percentagem de ductos pancreáticos displásicos.</p> <p><i>In vitro</i>:</p> <p>Níveis de YAP1, p-EGFR, p-ERK 1/2 e LATS1, atividade de KRAS e níveis de mRNA de CTGF/CCN2, WTN5A e EMP2.</p>		<i>In vivo</i> :					

Otto <i>et al.</i> (32)	2021	<i>In vitro</i>	Humano	Células H6c7- <i>pBp</i> benignas e células H6c7- <i>kras</i> pré-malignas	Níveis de mRNA dos indutores (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ e TGF $\beta$ -1), fatores de transcrição (Snail, Slug e Zeb1) e marcadores mesenquimais (E-caderina, vimentina e L1CAM), envolvidos na TEM e nas CEC.	As células foram colocadas em monocultura e em co-cultura com macrófagos M1, em condições normoglicémicas (5 mM D-glicose) e hiperglicémicas (25 mM D-glicose), por 2 ou 5 dias e foram analisadas por RT-PCR.	<p>- Verificou-se uma expressão superior de IL-6 nas células benignas, em condições de hiperglicemia durante 2 dias. Nas células pré-malignas, a expressão de IL-6 e TGF<math>\beta</math>-1 mostrou-se aumentada quando em co-cultura com macrófagos. Valores de TNF-<math>\alpha</math> revelaram-se superiores em condições concomitantes de hiperglicemia e co-cultura, especialmente nas células benignas.</p> <p>- Relativamente aos fatores de transcrição, os níveis de Slug e Zeb1 mostraram-se superiores nas células pré-malignas e os de Snail nas células em co-cultura com macrófagos.</p> <p>- Verificou-se uma redução da expressão de E-caderina nas células benignas em co-cultura com macrófagos e nas células pré-malignas em exposição concomitante a hiperglicemia e macrófagos. Os níveis de vimentina e L1CAM encontraram-se elevados nas células em co-cultura com macrófagos. Verificou-se, assim, um efeito promotor de TEM pela exposição concomitante a hiperglicemia e a macrófagos.</p>
-------------------------------	------	-----------------	--------	--	--	--	--

*PanScan*: Estudo de associação do genoma completo (GWAS) do cancro pancreático, realizado no âmbito do Consórcio do *National Cancer Institute* (NCI)

AF – Antecedentes familiares; CET – Células estaminais tumorais; CTGF – Fator de crescimento do tecido conjuntivo; DM – Diabetes *mellitus*; DM1 – Diabetes *mellitus* tipo 1; DMEM – *Dulbecco's Modified Eagle Medium*; EGFR – Recetor do fator de crescimento epidérmico; EUA – Estados Unidos da América; GO – Glioxal; HbA<sub>1c</sub> – Hemoglobina glicada; IL – Interleucina; IMC – Índice de Massa Corporal; mRNA – RNA mensageiro; PanIN – Neoplasia intraepitelial pancreática; PDAC – Adenocarcinoma ductal do pâncreas; IMC – Índice de massa corporal; MGO – Metilglioxal; p-ERK 1/2 – *Extracellular signal-regulated kinase 1 and 2*; PCO – Proteínas carboniladas; PGA – Produto final de glicosilação avançada; PTGO – Prova de tolerância à glicose oral; RCQ – Relação cintura-quadril; RT-PCR - Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase; siRNA – RNA silenciador; SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único; SREBP-1 – Proteína de ligação ao elemento regulador de estero 1; STAT3 - Transdutor de sinal e ativador da transcrição 3; TEM – Transição epitelial-mesenquimal; TGF $\beta$ -1 - Fator de transformação do crescimento  $\beta$ ; TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; YAP - *Yes-associated-protein*.



## **4.2 Adenocarcinoma ductal do pâncreas como fator de risco para diabetes *mellitus***

### 4.2.1 Estudos epidemiológicos

Similarmente à relação inversa anteriormente explorada, integraram-se também estudos epidemiológicos para explorar o papel do PDAC no desenvolvimento de DM, através de estudos sobre amostras de uma população definida.

Foi com este intuito que Aggarwal *et al.* (41) desenvolveram um estudo caso-controlo, que comparava, retrospectivamente, a prevalência e a correlação temporal da DM com os 4 cancros mais comuns nos EUA, nomeadamente o PDAC, e com controlos sem cancro. Posto isto, identificaram 500 indivíduos com diagnóstico de cancro, 100 com PDAC, 100 com cancro do pulmão, 100 com cancro da mama, 100 com cancro colorretal e 100 com cancro da próstata, a fim de constituir o grupo de casos. Já para o grupo de controlos, selecionaram 100 indivíduos sem qualquer diagnóstico de cancro. Posteriormente, reuniram informação demográfica e clínica sobre os 600 participantes, incluindo idade, sexo, história familiar de DM, altura, peso, IMC, glicemia, duração e controlo da DM e data do diagnóstico de cancro, no grupo de casos. Após análise dos dados pessoais, verificou-se que 33 a 37% dos indivíduos com PDAC apresentava história familiar de DM. Já os níveis de glicemia entre pacientes sem diagnóstico de DM foram significativamente superiores no grupo de casos com PDAC ( $109.3 \pm 10.6$  mg/dL), comparativamente com os grupos de casos com outros tipos de cancros e com o grupo de controlos. Relativamente à prevalência de DM, dos 600 participantes analisados, 158 reuniram critérios para o diagnóstico de DM, número que foi significativamente superior ( $p < 0.0001$ ) nos indivíduos com PDAC (68%), comparativamente com os restantes tipos de cancros (14.8%-20.7%) e com o grupo de controlos (23.5%). Já a prevalência de DM de início recente, ou seja, o diagnóstico de DM nos 3 anos que precedem o diagnóstico de cancro ou da seleção para o estudo, também se mostrou marcadamente superior ( $p < 0.0001$ ) nos indivíduos com PDAC (40.2%), relativamente aos outros tipos de cancro (3.3-5.7%) e ao grupo de controlos (4.1%). Verificou-se que 59% dos participantes com diagnóstico concomitante de DM e PDAC são casos de DM de início recente. Assim, Aggarwal *et al.* demonstraram a alta prevalência de DM nos doentes com PDAC, em especial da DM de início recente, sugerindo o aparecimento desta nos doentes com PDAC como um fenómeno posterior paraneoplásico (41).

A fim de corroborar as conclusões anteriores, Nagpal *et al.* (42), através também de um estudo caso-controlo, visaram analisar as alterações morfológicas no pâncreas endócrino de doentes com PDAC e, seguidamente, compará-las com os pâncreas de indivíduos com DM2,

mas sem cancro, e de indivíduos saudáveis. Para isso, selecionaram 43 indivíduos com diagnóstico de PDAC, com e sem DM, para integrar o grupo de casos 1, 50 indivíduos com diagnóstico de DM2 e sem cancro, de modo a constituir o grupo de casos 2 e 45 indivíduos saudáveis, a fim de formarem o grupo de controlos. Do grupo de casos 1, com diagnóstico de PDAC, 9 participantes apresentavam DM de longa duração, 8 DM de início recente e 26 não apresentavam DM. Já do grupo de casos 2, 42 participantes apresentavam DM de longa duração e 8 DM de início recente. Posto isto, procederam a uma recolha de dados pessoais dos 138 participantes, nomeadamente idade, sexo, IMC, duração da DM e glicemia em jejum, e a uma análise morfológica dos 41 767 ilhéus pancreáticos dos indivíduos do estudo, incluindo quantidade, tamanho médio, densidade, área relativa de células  $\alpha$  e de células  $\beta$ , área positiva ao glucagon e a insulina e depósito de amiloide pancreático. Entre os grupos de casos e o grupo de controlos, constatou-se que a duração da diabetes e que as glicemias em jejum eram significativamente superiores no grupo de casos 2, com DM2 e sem cancro. Já a nível morfológico, observou-se, neste mesmo grupo, uma redução da área de células  $\beta$  e um aumento na área de células  $\alpha$ , comparativamente com o grupo de controlo. No entanto, no grupo de casos 1, apesar de uma redução similar da área de células  $\beta$ , estes apresentavam também valores inferiores da área de células  $\alpha$ , comparativamente com o grupo de controlos e independentemente da história de DM dos indivíduos. De forma consistente com o resultado anterior, também se observou um tamanho e densidade inferiores dos ilhéus pancreáticos no grupo de casos com PDAC, comparativamente com o grupo de casos com DM2 e com o grupo de controlos, indicando uma redução na formação de ilhéus, especialmente nos casos de PDAC associados a DM de início recente. Em suma, Nagpal *et al.* evidenciaram o papel do PDAC no desenvolvimento de DM e comprovaram que o pâncreas endócrino dos doentes com PDAC tem características morfológicas específicas, nomeadamente a redução de área celular  $\alpha$  e  $\beta$  e do tamanho e densidade dos ilhéus pancreáticos. Tendo em conta que estas alterações foram observadas em áreas sem tumor e são distintas das alterações observadas na DM2, colocaram como hipótese um mecanismo único por detrás da falência das células  $\beta$  e da intolerância à glicose, associadas à DM, no PDAC (42).

Já Chen *et al.* (43), em vez da comparação entre casos e controlos, desenharam um estudo transversal, para o qual elegeram 221 doentes, com diagnóstico patológico de PDAC e diagnóstico de DM nos 12 meses posteriores ao diagnóstico do tumor, a fim de investigar o impacto do índice de inflamação imune sistémica (SII) na DM secundária a PDAC. Foram recolhidos, dos participantes, dados pessoais e clínicos, nomeadamente medidas antropométricas, informação relacionada com a glicose (glicemia em jejum, glicemia às 2 horas da PTGO, HbA<sub>1c</sub>, insulina em jejum e peptídeo C em jejum), características do tumor e as contagens, no sangue periférico, de neutrófilos, linfócitos, monócitos, leucócitos, plaquetas e

SII, pelo cálculo neutrófilos x linfócitos/plaquetas. Avaliou-se ainda a resistência à insulina e a função das células  $\beta$ . Da análise das características dos participantes, constatou-se que 35,8% foram diagnosticados com DM num intervalo inferior a 12 meses da confirmação do tumor e que esta incidência de DM foi superior nos indivíduos mais velhos e do sexo masculino. Também se verificaram tumores de maior dimensão e em estadios mais avançados no grupo dos diabéticos. Adicionalmente, é importante destacar que o SII aumentou significativamente nos doentes com DM secundária a PDAC, comparativamente com os não diabéticos (4.41 vs. 3.19,  $p < 0.0001$ ). Observou-se, ainda, uma correlação positiva entre o SII e a resistência à insulina. Deste modo, Chen *et al.* comprovaram o papel do PDAC no desenvolvimento de DM e identificaram o SII (OR:2.024, 95% IC:1.297,  $p=0.002$ ) e a idade (OR:1.043, 95% IC:1.01,  $p=0.011$ ) como fatores de risco independentes para a DM secundária a PDAC, confirmando o papel da resposta inflamatória neste processo (43).

Os principais resultados e conclusões dos estudos epidemiológicos incluídos, para explorar o papel do PDAC como fator de risco para DM, encontram-se compilados na tabela 3.

#### 4.2.2 Estudos laboratoriais

De modo a estudar a relação causal do PDAC e da DM, torna-se igualmente premente a investigação dos possíveis mecanismos subjacentes à DM secundária ao PDAC, logo, foi também integrada no trabalho uma seleção de estudos laboratoriais que exploram esta direção da relação.

Assim, Wang *et al.* (44) tentaram identificar as proteínas implicadas no desenvolvimento da DM associada ao PDAC, recorrendo a 80 amostras de tecido pancreático, de 40 indivíduos com PDAC, que foram submetidos a resseção cirúrgica pancreática inicial, no Hospital de Zhongshan. Foram, igualmente, recolhidos dados clínicos e pessoais dos participantes do estudo, nomeadamente idade, sexo, história pessoal de DM e localização, diferenciação e estadio TMN do tumor. Posteriormente, de modo a examinar os tecidos obtidos, utilizaram o método de marcação isobárica para quantificação absoluta e relativa, iTRAQ, em conjunto com o LC-MS/MS 2D, um método de identificação proteica que acopla a cromatografia líquida bidimensional à espetrometria de massa, de forma a reconhecer as proteínas diferencialmente expressas nos tecidos de PDAC com DM concomitante ( $n=20$ ), comparativamente com os tecidos tumorais sem DM ( $n=20$ ) e com os tecidos não tumorais adjacentes, com ( $n=20$ ) e sem DM ( $n=20$ ). Este reconhecimento das proteínas expressas diferencialmente nos tecidos de PDAC com DM exigiu uma comparação de perfis proteicos entre dois tipos de tecidos: 1) Tecidos PDAC com DM vs. Tecidos PDAC sem DM; 2) Tecidos não tumorais adjacentes com

DM vs. Tecidos não tumorais adjacentes sem DM), o que resultou em três padrões diferentes de expressão proteica, que foram utilizados para identificar as proteínas diferencialmente expressas nos tecidos PDAC com DM, uma vez que correspondem às proteínas que apresentam, de forma positiva ou negativa, alterações estatisticamente significativas na sua expressão, nas três comparações pareadas. Procederam ainda a uma análise imuno-histoquímica e por *western blot* das proteínas selecionadas, recorrendo a 100 indivíduos adicionais para esta análise complementar. Por último, visando a exploração do significado biológico da alteração dos padrões de expressão destas proteínas, procedeu-se uma classificação funcional das mesmas, por ontologia genética. Assim, constatando os resultados, obtiveram da análise proteômica um total de 1611 proteínas que foram repetidamente identificadas e quantificadas, das quais 23 foram expressas diferencialmente, 12 sobre-reguladas e 11 sub-reguladas nos tecidos com PDAC e DM concomitante, comparativamente com os outros grupos. Do grupo anterior de proteínas de interesse, a proteína S100A9, integrante da família de proteínas de ligação ao cálcio, e a proteína acetaldeído desidrogenase 2 (ALDH2), foram ainda triadas para validar os resultados da análise proteômica, por *western blot* e imuno-histoquímica, que evidenciaram, analogamente, a elevada expressão de S100A9 ( $p=0.002$  e  $p<0.005$ , respetivamente) e a reduzida expressão de ALDH2 ( $p=0.004$  e  $p<0.001$ , respetivamente), nos tecidos de PDAC com DM. Não se verificou uma correlação entre a expressão de S100A9 e ALDH2 nos tecidos com PDAC e a idade, sexo e localização, diferenciação e estadió do tumor. No entanto, os tecidos tumorais com uma expressão superior ou inferior destas duas proteínas apresentaram valores de glicemia em jejum significativamente diferentes ( $p<0.005$ ). Por último, os resultados da análise por ontologia genética revelaram que as proteínas diferenciais estavam envolvidas em vias de sinalização associadas ao cancro, como a MAPK, ERK, JNK e vias de sinalização Akt. Deste modo, Wang *et al.* demonstraram o papel da regulação positiva da proteína S100A9, predominantemente expressa nas células mielóides e em doenças inflamatórias, e da regulação negativa de ALDH2, associada à modulação das funções celulares, incluindo em resposta ao *stress* oxidativo, no desenvolvimento de DM em indivíduos com PDAC. A análise por ontologia genética destacou a complexidade da fisiopatologia da DM secundária a PDAC, uma vez que envolve numerosos processos biológicos. Posto isto, conseguiram identificar proteínas-chave envolvidas no desenvolvimento de DM secundária a PDAC, conhecimento que pode servir como base para uma melhor compreensão e aprofundamento da etiologia e fisiopatologia da relação do PDAC como fator de risco para DM (44).

Foi no âmbito desta pesquisa de mediadores envolvidos na relação do PDAC como fator de risco para DM, que Javeed *et al.* (45) surgiram com um estudo inovador, que pretendia testar uma hipótese que sugere que o cancro do pâncreas liberta, na circulação, exossomas

contendo adrenomedulina, uma candidata a mediadora da disfunção das células  $\beta$  pancreáticas no PDAC. De modo a comprovar a tese anterior, recorreram a células  $\beta$  INS-1, a ilhéus pancreáticos humanos e a linhagens celulares, como células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) e CEDP (controles), PANC-1, 4 linhagens celulares de enxertos de doentes com PDAC e plasma humano de doentes com PDAC. Primeiramente, através de centrifugação diferencial, isolaram todas as micropartículas (microvesículas e exossomas) libertadas pelas linhagens celulares do PDAC, que se verificaram ser predominantemente de tamanho exossomal. De seguida, incubaram os ilhéus pancreáticos com exossomas, previamente isolados da linhagem celular PANC-1, e constataram que a internalização do exossoma no ilhéu necessitou de 48 horas de co-incubação. Posteriormente, procedeu-se a uma análise por *western blot* das amostras de exossomas, quer das recolhidas dos doentes com PDAC, quer das isoladas das linhagens pancreáticas normais de controlo, HUVEC e CEDP. Esta observação revelou a presença de CA 19-9 em todas as amostras de exossomas de PDAC, mas o mesmo já não se verificou nas amostras de controlo. Já em relação à adrenomedulina, esta mostrou-se presente em todas as amostras, apesar de uma diminuição nas CEDP, e constatou-se, adicionalmente, a sua presença nos exossomas isolados do plasma humano de doentes com PDAC, sugerindo, assim, uma produção tumoral constante de exossomas, contendo cargas metabolicamente ativas, que são libertados para a circulação. Posteriormente, de modo a avaliar o possível efeito inibitório dos exossomas na secreção de insulina, adicionou-se, às células  $\beta$  INS-1 e aos ilhéus pancreáticos, exossomas derivados das linhagens celulares de PDAC, intervenção que resultou numa efetiva redução da secreção de insulina, de forma dose-dependente. Para desvendar o processo subjacente à inibição da secreção de insulina pela adrenomedulina, avaliaram a interação da última com o seu recetor, por visualização microscópica, após incubação das células  $\beta$  INS-1 com uma dose crescente de exossomas derivados de PDAC. Da observação concluiu-se que as interações adrenomedulina/recetor aumentavam com a quantidade crescente de exossomas mas, após inibição do seu recetor, estas diminuía, revelando que os exossomas de PDAC, contendo adrenomedulina, são capazes de transportar o peptídeo de forma eficiente para as células recetoras e que a inibição competitiva da adrenomedulina, na presença de exossomas, resulta em menos interação adrenomedulina/recetor. Esta análise demonstrou ainda que estas interações decorrem intracelularmente e, após inibição farmacológica de vários mecanismos endocíticos, verificaram que a internalização do exossoma é mediada por endocitose dependente de caveolina e por macropinocitose. Por último, para avaliar o impacto da adrenomedulina na secreção de insulina e o seu potencial papel no *stress* do retículo endoplasmático (RE) nos ilhéus pancreáticos, avaliou-se a expressão de dois marcadores, os genes *Bip* e *Chop*, na presença de adrenomedulina nas células  $\beta$  INS-1. Constataram-se níveis aumentados de ambos

os marcadores, que, em conjunto com o aumento simultâneo dos níveis de pró-insulina, sugere uma falha na resposta a proteínas não dobradas (UPR). Verificou-se ainda um aumento da produção de ERO's, devido à indução de *stress* oxidativo a partir do *stress* do RE. Assim, Javeed *et al.* demonstraram que a disfunção das células  $\beta$  no PDAC é mediada por exossomas que carregam elementos tóxicos para estas células, nomeadamente a adrenomedulina e o CA 19-9, e que são libertados na circulação, entrando facilmente nas células e inibindo a secreção de insulina. Este resultado é provavelmente devido a *stress* do RE que, devido à falência da UPR, promove a produção de ERO's e, conseqüentemente, o aumento da morte das células  $\beta$ . O inibidor do recetor da adrenomedulina mostrou-se eficaz a inibir estes efeitos, o que revela o seu potencial num novo mecanismo molecular envolvido na DM paraneoplásica, associada ao PDAC (45).

Foram, analogamente, para investigar o papel do PDAC como fator de risco para DM, compendiados os principais resultados e conclusões dos estudos laboratoriais explorados, que se encontram na tabela 4.

#### 4.2.3 Discussão

Nesta vertente da relação causal protagonista da presente dissertação, constata-se uma, ainda mais, parca investigação, quer da relação do PDAC como fator de risco para DM, quer dos mecanismos implícitos da mesma. Esta escassez de interesse e indagação em relação à DM secundária a PDAC pode advir da frequente fusão com a DM pancreatogénica ou DM tipo 3c. Este é um subtipo em crescente destaque e está associado a condições que criam lesão no pâncreas, como a pancreatite crónica (80%), fibrose quística, cirurgia pancreática e hemocromatose, que levam a um défice severo das hormonas envolvidas na homeostase da glicose, que são produzidas pelo órgão (17). É sugerido um mecanismo único e díspar no desenvolvimento da DM induzida por PDAC (42), porém, apesar dos esforços em desenvolvimento para identificar uma assinatura que distinga a DM secundária a doença pancreática exócrina, ou seja, DM tipo 3c, da DM2 e da DM secundária a PDAC, estes ainda não revelaram resultados promissores (19).

Não obstante, constatou-se uma elevada prevalência de DM (68%) no PDAC, comparativamente com outros tipos de cancro (14.8-20.7%) e com a população saudável (23.5%), especialmente de DM de início recente (59%) (41). O diagnóstico de DM, por PTGO, foi obtido, em 35.8% dos casos, num intervalo inferior a 12 meses após o diagnóstico da neoplasia pancreática (43). A coexistência de PDAC com DM provocou uma redução de tamanho e densidade dos ilhéus pancreáticos, revelando uma diminuição da formação dos

mesmos, e um incremento de volume e estadió tumoral, aliado a um aumento do SII, que se correlaciona com um aumento da insulinoresistência (42,43).

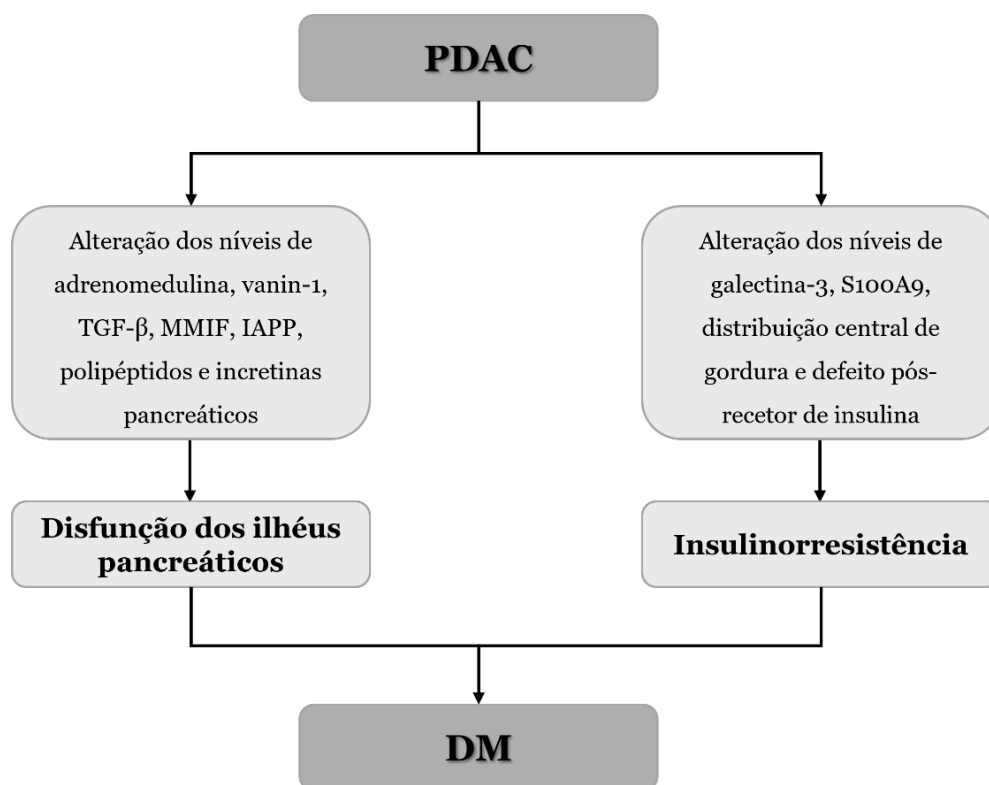
A insulinoresistência, que se assume como um elo em comum dos dois sentidos da relação, pode resultar de um defeito pós-recetor de insulina e da sobre-expressão, característica da DM secundária a PDAC, de galectina-3 e S100A9 (46). A análise proteômica de tecidos de PDAC com DM evidenciou esta expressão aumentada de S100A9, e ainda a reduzida expressão de ALDH2, que comprova o papel das proteínas diferencialmente expressas nas vias de sinalização relacionadas com a tumorigénese (44). Outro candidato a mediador da DM secundária a PDAC é a neuromedina U, um peptídeo com expressão aumentada no PDAC e na pancreatite crónica, que pode ser um importante intermediário da insulinoresistência e da DM, no contexto do cancro do pâncreas, e, conseqüentemente, um biomarcador para diagnóstico precoce de PDAC, em doentes com DM de início recente (16). A resistência à insulina pode também ser incitada pela gordura ectópica e pelos exossomas associados ao PDAC, que carregam elementos tóxicos e inibem as vias de sinalização do recetor de insulina (45,46).

Os exossomas, que caracteristicamente predominam nos tecidos de PDAC, inibem também a secreção de insulina, de forma dose-dependente (16,45), efeito que é atribuído à adrenomedulina, encontrada nos exossomas de todas as linhagens celulares de PDAC (45). Os exossomas, contendo adrenomedulina, e alguns CA 19-9, são internalizados nas células pancreáticas recetoras, por endocitose dependente de caveolina e por macropinocitose, resultando numa disfunção dos ilhéus pancreáticos, por falha na UPR e por produção aumentada de ERO's, devido ao *stress* do RE (45). Assim, foi proposta a classificação da DM secundária a PDAC como uma exossomopatia, uma doença causada por exossomas, contudo isto é uma inovadora conjectura, que requer mais estudos (16). A disfunção dos ilhéus pancreáticos na DM secundária a PDAC, demonstrada pela redução da densidade e da área de células  $\alpha$  e  $\beta$ , está ainda associada a um depósito inferior de polipéptido amiloide dos ilhéus (IAPP), comparativamente com a DM2 (42). Adicionalmente, a vanina-1, TGF- $\beta$  e o fator inibitório de migração dos macrófagos (MMIF) são responsáveis, respetivamente, por disfunção celular paraneoplásica dos ilhéus pancreáticos induzida por PDAC, destruição das células  $\beta$  pancreáticas e diminuição da função secretória de insulina das células anteriores (46).

Apesar da variedade de mecanismos fisiopatológicos propostos para este sentido da relação (Figura 5.), o predomínio dos diagnósticos de DM com uma duração inferior a 3 anos após o diagnóstico de PDAC, sugere um fenómeno paraneoplásico como fundamento (41). Esta hipótese é passível de ser justificada pela resolução da DM secundária a PDAC, em 57% dos doentes com DM de início recente, após pancreatectomia parcial, a ressecção de Whipple, cirurgia utilizada como tratamento curativo para a neoplasia (19,39). O mesmo já não se

verificou nos doentes com DM de longa duração (39). Assim, o PDAC aparenta ter um impacto paraneoplásico no metabolismo da glicose (39). A resolução da DM após pancreatectomia apenas é exequível se persistirem ilhéus pancreáticos suficientes no tecido pancreático residual (47), caso contrário origina DM tipo 3c, por deficiência total de insulina e produção quase ausente de glucagon (47,48).

No geral, ambos os sentidos da relação bidirecional de causa-efeito entre a DM e o PDAC estão consideravelmente atrasados a nível de oportunidades de investigação que esta permite, contudo, a DM secundária a PDAC continua, ainda mais, desvalorizada do ponto de vista da pesquisa científica. Torna-se premente realizar estudos adicionais sobre a patogénese e os mediadores relacionados com este tipo de DM, desenvolver modelos animais que permitam este estudo, validar marcadores de citocinas associados à disfunção das células  $\beta$  no PDAC, compreender de forma mais aprofundada o papel das microvesículas e dos exossomas no PDAC, validar biomarcadores sanguíneos de DM relacionada ao PDAC, confirmar critérios de diagnóstico distintos de DM secundária ao PDAC, comparativamente com DM tipo 3c e DM2, e desenvolver algoritmos clínicos que visam prever o diagnóstico de DM em doentes com PDAC e DM de início recente (16).



**Figura 5** - Diagrama esquemático dos principais mecanismos envolvidos no desenvolvimento de DM a partir de PDAC. DM – Diabetes *mellitus*; IAPP – Polipéptido amiloide dos ilhéus; MMIF – Fator inibitório de migração dos macrófagos; PDAC – Adenocarcinoma ductal do pâncreas; TGF- $\beta$  – Fator de transformação do crescimento beta. Adaptado de Roy et al. (46).

**Tabela 3** - Características dos estudos epidemiológicos incluídos da relação do PDAC como causa de DM

Autor e referência	Ano	País	Tipo de estudo	Amostra	Parâmetros avaliados	Principais resultados e conclusões
<b>Epidemiológico</b>						
Aggarwal, <i>et al.</i> (41)	2013	Minnesota, EUA	Caso-controlo	Grupo de caso: 500 indivíduos com diagnóstico de cancro (100 PDAC, 100 do pulmão, 100 da mama, 100 colorretais e 100 da próstata) Grupo de controlo: 100 indivíduos sem diagnóstico de cancro	Idade, sexo, história familiar de DM, altura, peso, IMC, glicemia em jejum, duração e controlo da DM, data do diagnóstico de cancro (casos).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificou-se uma história familiar de DM em 33-37% dos indivíduos em cada um dos 5 subgrupos do grupo de caso.</li> <li>- Comparativamente aos restantes cancros em estudo e ao grupo de controlo, constataram-se valores de glicemia em jejum significativamente superiores nos indivíduos com PDAC.</li> <li>- Dos 600 indivíduos analisados, 158 foram diagnosticados com DM.</li> <li>- A prevalência de DM mostrou-se expressivamente superior nos indivíduos com PDAC (68%), quando comparado com os outros tipos de cancro (14.8-20.7%) e com o grupo de controlo (23.5%). De entre os indivíduos com PDAC e DM concomitantes, 59% são casos de DM de início recente (com menos de 3 anos de diagnóstico), sugerindo o aparecimento desta doença como um fenómeno paraneoplásico.</li> <li>- Relativamente ao diagnóstico e duração da DM, não se observaram diferenças entre os grupos de casos com outros tipos de cancro e o grupo de controlos.</li> </ul>
Nagpal <i>et al.</i> (42)	2020	Minnesota, EUA	Caso-controlo	Grupo de casos 1: 43 indivíduos com diagnóstico de PDAC (9 com DM de longa duração, 8 com DM de início recente e 26 sem DM)	Idade, sexo, IMC, duração da DM, percentagem de diabéticos a realizar insulinoaterapia, glicemia em jejum, quantidade, tamanho médio e densidade de ilhéus pancreáticos, área relativa de	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A idade, o IMC e o sexo não revelaram diferenças significativas entre os grupos de casos e o grupo de controlos.</li> <li>- Verificaram-se valores superiores expectáveis de duração da DM e de glicemia em jejum no grupo de casos 2.</li> <li>- No grupo de casos 2, comparativamente com o grupo de controlo, constatou-se uma redução da área de células <math>\beta</math>, porém verificou-se um</li> </ul>

Adenocarcinoma do Pâncreas e Diabetes *Mellitus*: Uma relação de dois sentidos

				<p>Grupo de casos 2: 50 indivíduos com diagnóstico de DM2 (42 com DM de longa duração e 8 com DM de início recente)</p> <p>Grupo de controlo: 45 indivíduos saudáveis (sem diagnóstico de DM2 ou de PDAC)</p>	<p>células <math>\alpha</math>, área relativa de células <math>\beta</math>, área positiva ao glucagon e a insulina e depósito de amiloide pancreático.</p>	<p>aumento na área de células <math>\alpha</math>. Já no grupo de casos 1, verificou-se uma redução similar da área de células <math>\beta</math>, mas acompanhada de valores inferiores da área de células <math>\alpha</math>, independentemente do estado de DM dos indivíduos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Os indivíduos do grupo de caso 1 apresentaram ilhéus pancreáticos de menor tamanho e densidade, em relação ao grupo de casos 2 e ao grupo de controlos, revelando diminuição na formação de ilhéus pancreáticos, que foi ainda mais evidente nos indivíduos com DM de início recente.</li> <li>- Os ilhéus pancreáticos do grupo de caso 2 evidenciaram um aumento da área positiva ao glucagon e uma presença robusta de depósito amiloide.</li> <li>- Sugeriu-se um mecanismo único no desenvolvimento de DM induzido pelo PDAC.</li> </ul>
Chen <i>et al.</i> (43)	2023	China	Transversal	<p>221 indivíduos com maioria, com diagnóstico de PDAC e de DM nos 12 meses seguintes</p>	<p>Idade, sexo, altura, peso, IMC, HbA<sub>1c</sub>, insulina em jejum, peptídeo C em jejum, glicemia em jejum, glicemia às 2h PTGO, nível de resistência à insulina e função das células beta (pelo índice de HOMA2-IR e HOMA2-<math>\beta</math>, respetivamente), contagem de neutrófilos, linfócitos, monócitos, leucócitos e plaquetas, SII, perfil lipídico, hemoglobina, creatinina, albumina, bilirrubina, ALT, volume e localização tumoral, estadio TMN do tumor e CA 19-9.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 35,8% dos indivíduos foi diagnosticado com DM, por PTGO, num intervalo inferior a 12 meses após o diagnóstico de PDAC.</li> <li>- Verificou-se uma incidência superior de DM nos indivíduos com PDAC mais velhos (média de 62 anos) e do género masculino.</li> <li>- Os doentes com DM secundária a PDAC apresentaram volumes e estadios tumorais superiores e um aumento do SII.</li> <li>- Testemunhou-se uma relação positiva entre o aumento do SII e uma maior resistência à insulina.</li> <li>- Constatou-se, em análise multivariada, que a idade e o SII são fatores de risco independentes para DM secundária a PDAC.</li> </ul>

**Tabela 4** - Características dos estudos laboratoriais incluídos da relação do PDAC como causa de DM

Autor e referência	Ano	Tipo de estudo	Espécie	Amostra	Parâmetros avaliados	Intervenção	Principais resultados e conclusões
<b>Laboratorial</b>							
Wang, <i>et al.</i> (44)	2013	<i>In vivo</i>	Humano	80 amostras de tecido pancreático de 40 indivíduos com PDAC (20 tumorais com DM, 20 tumorais sem DM, 20 não tumorais adjacentes com DM e 20 não tumorais adjacentes sem DM)	Idade, sexo, história pessoal de DM, glicemia em jejum, localização, diferenciação e estadio TMN do tumor.	Procedeu-se a uma análise proteômica das amostras de tecido, com recurso a iTRAQ e LC-MS/MS 2D. De seguida, realizou-se uma análise imuno-histoquímica e por <i>western blot</i> de duas proteínas expressas diferencialmente, S100A9 e ALDH2. Por último, procedeu-se a uma classificação funcional das proteínas, por ontologia genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Identificaram-se 1611 proteínas, por análise proteômica, das quais 23 foram diferencialmente expressas nos tecidos PDAC com DM (12 sobre-reguladas e 11 sub-reguladas).</li> <li>- Da análise imuno-histoquímica e por <i>western blot</i> verificou-se uma expressão superior de S100A9 e inferior de ALDH2 nos tecidos de PDAC com DM, comparativamente com os outros grupos.</li> <li>- Não se constatou uma correlação entre a expressão de S100A9 e ALDH2 nos tecidos com PDAC e a idade, sexo e localização, diferenciação e estadio do tumor, mas sim com os valores da glicemia em jejum.</li> <li>- Evidenciou-se o papel das proteínas diferencialmente expressas em várias vias de sinalização relacionadas com o cancro.</li> </ul>
Javeed, <i>et al.</i> (45)	2015	<i>In vitro</i>	Humano	Células $\beta$ INS-1, ilhéus pancreáticos humanos, linhagens celulares (HUVEC, CEDP, PANC-1 e 4	Expressão de <i>Bip</i> , <i>Chop</i> e pró-insulina, níveis de CA 19-9, adrenomedulina e ERO's e secreção de insulina	Procederam a centrifugação diferencial das linhagens celulares de PDAC. Posteriormente, incubaram	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificou-se que o tamanho das partículas centrifugadas do PDAC é predominantemente exossomal.</li> <li>- A co-incubação dos exossomas com os ilhéus pancreáticos resultou numa</li> </ul>

---

linhagens celulares primárias de PDAC) e plasma humano de doentes com PDAC.	exossomas, isolados de PANC-1, com os ilhéus pancreáticos. De seguida, realizou-se uma análise <i>western blot</i> dos exossomas das linhagens de PDAC, das linhagens normais (HUVEC e CEDP) e do plasma humano de doentes com PDAC. Adicionou-se, às células $\beta$ INS-1 e aos ilhéus pancreáticos, exossomas derivados das linhagens celulares de PDAC. Incubaram, ainda, as células $\beta$ INS-1 com uma dose crescente de exossomas derivados de PDAC e inibiram, posteriormente, o recetor da adrenomedulina. Posteriormente, inibiram, farmacologicamente, vários mecanismos endocíticos e avaliou-se a expressão dos genes <i>Bip</i> e <i>Chop</i> e os níveis de pró-insulina, na presença de adrenomedulina nas células $\beta$ INS-1.	internalização das micropartículas após 48 horas. - Constatou-se um predomínio de CA 19-9 nos exossomas das linhagens de PDAC. Já a adrenomedulina encontrou-se em todas as linhagens celulares e, ainda, no plasma humano dos doentes com PDAC. - Evidenciou-se o papel dos exossomas derivados de PDAC na redução da secreção da insulina, de forma dose-dependente. - Os exossomas de PDAC, contendo adrenomedulina, são capazes de transportar o peptídeo de forma eficiente para as células recetoras e a inibição competitiva da adrenomedulina, na presença de exossomas, resulta em menos interação adrenomedulina/recetor. - Constataram que a internalização dos exossomas nas células recetoras é mediada por endocitose dependente de caveolina e por macropinocitose. - Comprovou-se o papel da falha na UPR e do <i>stress</i> do RE, pela expressão aumentada de <i>Bip</i> , <i>Chop</i> e pró-insulina, na diminuição de secreção de insulina. Por conseguinte, observou-se um aumento das ERO's.
---	---	---

---

ALT – Alanina aminotransferase; CEDP – Células epiteliais ductais pancreáticas; DM – Diabetes *mellitus*; ERRO – Espécie reativa de oxigênio; EUA – Estados Unidos da América; HbA<sub>1c</sub> – Hemoglobina glicada; HOMA – Modelo de Avaliação da Homeostase; HUVEC – Células endoteliais da veia umbilical humana; IMC – Índice de Massa Corporal; PDAC – Adenocarcinoma ductal do pâncreas; PTGO – Prova de tolerância à glicose oral; RE – Retículo endoplasmático; SII – Índice de Inflamação Imune Sistêmica (Neutrófilos x Linfócitos / Plaquetas); UPR – Resposta a proteínas não dobradas.



## 5. Oportunidades de diagnóstico precoce

Com a identificação de uma relação de natureza bidirecional, entre as duas patologias em destaque nesta dissertação, desbrava-se caminho para novas oportunidades de diagnóstico prematuro destas doenças, especialmente do PDAC. É neste âmbito que surge a segunda pesquisa bibliográfica integrada neste trabalho, relativa às oportunidades atuais de diagnóstico precoce, de modo a elucidar, brevemente, sobre as estratégias de rastreio já exploradas e a sua eficácia e viabilidade.

De uma perspetiva da discussão, uma vez que o PDAC é uma doença relativamente incomum, estaríamos a implementar um programa de rastreio para uma patologia de baixa prevalência, que por si só, constitui um argumento para a inviabilidade deste tipo de prevenção secundária. Adicionalmente, a única forma de excluir a neoplasia inclui uma TC ou RMN, o que acarreta custos e atrasos no diagnóstico, e a sua apresentação clínica é de escassa especificidade. (49) No entanto, da outra face da moeda, o PDAC é uma doença extremamente fatal, com a vasta maioria dos doentes a sobreviver menos de 6 meses com a neoplasia, logo, dada a essência fulcral do diagnóstico precoce do PDAC, ao dirigir o rastreio a grupos de alto risco e ao aprimorar a precisão dos testes utilizados, este rastreio poderia desenvolver-se mais custo-efetivo, específico e menos invasivo. (50,51)

À luz da relação dissecada no presente trabalho, uma das soluções sugeridas para superar a pouca especificidade do atual diagnóstico de PDAC é a idade ao diagnóstico de DM. Nesta orientação, a realização do rastreio da neoplasia seria indicada em doentes com diagnóstico de DM em idade mais tardia, especialmente se associado a história familiar de PDAC e a perda ponderal recente inexplicada.

Uma solução inovadora e prática, que colmata também algumas das questões erguidas, engloba as ferramentas de apoio à decisão clínica (*Clinical decision support tools* – CDST's), que, através de um programa incorporado nos sistemas computacionais, comumente utilizados nos cuidados de saúde primários, tornariam possível a criação de “alarmes”, se certos sintomas fossem registados durante um intervalo de tempo específico, a alertar para a consideração de um diagnóstico de cancro. Adaptando à relação causal da DM com o PDAC e aliando às atuais recomendações da *The National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), estes alertas surgiriam, essencialmente, aquando do registo digital de um diagnóstico recente de DM, em indivíduos com mais de 50 anos e com perda ponderal inexplicada, ou quando se verificasse a anotação no software de um descontrolo súbito glicémico num doente diabético previamente controlado. Apesar de com menor evidência, a implementação do regime de insulino-terapia em doentes com DM2, também

pode constituir uma marca temporal fidedigna para colocar em consideração o diagnóstico de PDAC. (49)

O descontrolo glicémico anterior poderá ser anunciado pela elevação dos valores de HbA<sub>1c</sub>, porém esta medida, por si só, pode assumir-se como um recurso para o diagnóstico precoce de PDAC em doentes com predisposição genética, uma vez que, através de um programa de vigilância pancreática de alto risco, os níveis elevados de HbA<sub>1c</sub> mostraram estar associados à presença de quistos pancreáticos, especialmente IPMN's. (52) Contudo, em populações de baixo risco, o rastreio baseado somente na elevação do nível de HbA<sub>1c</sub> não representa uma estratégia viável e eficaz. (24)

Todavia, o padrão dos valores da glicemia isolados também pode ser útil para o diagnóstico precoce de PDAC, pela hiperglicemia distintiva nos 30 a 36 meses anteriores ao diagnóstico da neoplasia. Assim, torna-se premente distinguir a hiperglicemia característica da DM, da hiperglicemia que prenuncia a presença de tumor, discrepância que se torna difícil já que quase metade da população com mais de 60 anos apresenta valores de glicemia em jejum elevados. Para esta distinção, encontram-se em amadurecimento algoritmos que, se incorporarem o diagnóstico de DM de início recente com o descontrolo glicémico inesperado, poderão aprimorar o diagnóstico prematuro de PDAC.

A identificação de biomarcadores sanguíneos, para reconhecer doentes diabéticos que carecem de exames de imagem para diagnóstico de PDAC, pode representar uma outra abordagem realista para o diagnóstico precoce desta neoplasia, em populações de alto risco, nomeadamente com DM de início recente. (50) Deste grupo, destaca-se o CA 19-9 que, embora amplamente utilizado, hodiernamente, para o seguimento clínico do tratamento do PDAC, pela sua ineficácia no rastreio da população assintomática, os seus níveis após um diagnóstico de DM de início recente podem ser um marcador profícuo de PDAC, particularmente nos doentes com uma elevação da bilirrubina sérica. (53) O CA 19-9 pode ser, igualmente, integrado num painel múltiplo de biomarcadores, de modo a incrementar a precisão de deteção de PDAC em doentes com DM, especialmente se de início recente, de 40%, quando de forma isolada, para 80%. (50,51) Suplementarmente, é notável de referir o destaque, em estudos recentes, de outros biomarcadores, como a adrenomedulina, a osteoprotegerina, a trombospondina 1 e a betatrofina. (51)

Ao grupo anterior acrescenta-se o IGF-1, uma proteína com um presumível papel nos distúrbios do metabolismo dos hidratos de carbono e, mais recentemente, no desenvolvimento de PDAC. Assim, pela sua relação com a carcinogénese precoce, os níveis de IGF-1 poderão ser convenientes no reconhecimento prematuro de PDAC, em doentes com doenças endócrinas recém-diagnosticadas, nomeadamente a DM. (54) Neste sentido, desenvolveram-se possíveis terapêuticas de anticorpos monoclonais dirigidos ao recetor de IGF-1, que revelaram muito pouco sucesso, até identificarem, recentemente, um anticorpo

promissor, BI836845, capaz de neutralizar o IGF, contudo ainda não se registaram resultados definitivos. (55) É relevante destacar, ainda dentro do conjunto dos biomarcadores, o contributo da SREBP-1 e da transgelina na progressão tumoral e, mais recentemente, como inovadores marcadores de prognóstico de PDAC. De modo a evidenciar este papel, quando se recorre à inibição destas proteínas, constata-se uma interdição do crescimento das células cancerígenas pancreáticas, promovendo a sua apoptose, e uma redução do peso tumoral. A alta expressão de SREBP-1 e transgelina no PDAC, que reduz a sobrevivência global associada a neoplasia, mas cuja inibição reverte esses efeitos, frisa, assim, a relevância diagnóstica e terapêutica destes marcadores. (56,57)

Do ponto de vista genético, uma área cujo desenvolvimento foi tão benéfico na redução da carga da doença e da mortalidade do cancro da mama, tendo em conta a robusta e já comprovada associação entre as variantes genéticas usualmente relacionadas com o PDAC e a DM, reconheceu-se um teste de pontuação de risco poligénico preditivo para o desenvolvimento de PDAC, com potencial para selecionar doentes, com DM de início recente, que beneficiariam de medidas de prevenção secundária para a neoplasia. (58)

Já numa abordagem mais futurística, recorrendo à ciência em exponencial desenvolvimento, a nanotecnologia, após observação da interação do plasma humano, de doentes com e sem PDAC, com nanopartículas de óxido de grafeno, posteriormente submetido a levitação magnética e ao cruzarem os resultados com os valores de glicemia, evidenciou-se a possível utilidade de uma análise de sangue multiplex, recorrendo à nanotecnologia, como uma ferramenta de rastreio no diagnóstico de PDAC, em populações com hiperglicemia. Contudo, apesar de uma precisão surpreendente de 91% do teste anterior, é necessário mais estudos e coortes mais abrangentes, no âmbito deste domínio. (59)

Ultimamente, surgiram também alguns modelos de predição de risco de PDAC, como é o caso do modelo de Boursi, que visa o reconhecimento de doentes com DM de início recente que favoreceriam de rastreio para a neoplasia, auxiliado por informações clínicas prontamente disponíveis, de modo a uma aplicação fácil e eficiente do modelo pelos médicos. Esta ferramenta, de implementação e automatização simples e de baixo custo, apesar de carecer de uma validação externa e de uma avaliação de *outcomes* previamente ao seu uso clínico, ostenta um papel significativo na melhoria do diagnóstico e prognóstico do PDAC e apresenta-se, ainda, receptiva à integração de outros fatores de risco e alterações genéticas conhecidas, a fim de diminuir e filtrar os doentes expostos à morbilidade associada aos procedimentos diagnósticos. (60)

Neste seguimento, e visando uma idêntica integração nos cuidados de saúde, surge o modelo *Enriching New-Onset Diabetes for Pancreatic Cancer* (END-PAC), desenvolvido para estratificar os doentes com DM de início recente em baixo, intermédio e alto risco de

PDAC, com base na idade aquando do diagnóstico de DM e na variação do peso e dos valores da glicemia. (61) Após aplicação do modelo num estudo retrospectivo, constatou-se um valor preditivo positivo superior nos grupos de alto risco, com uma especificidade elevada, mas uma sensibilidade que deixa o modelo aquém do necessário para a sua validação e implementação. (61,62) Assim, é crucial que os modelos de predição de risco, recursos custo-efetivos e menos invasivos para o rastreio de PDAC, sejam revistos, validados e reformados, antes de serem implementados em diferentes contextos populacionais e clínicos. (62)

Em suma, o diagnóstico precoce de PDAC é um objetivo amplamente partilhado e estão a ser realizados, com cada vez mais zelo e rigor, inúmeros estudos com este fim em vista. Numa visão prospetiva, apesar de um extenso caminho de investigação adiante, a junção e o polimento das propostas já exploradas estão a contribuir, progressivamente, para a diminuição da morbimortalidade deste cancro.

## 6. Conclusão e perspectivas futuras

A DM e o PDAC são duas patologias de elevada morbimortalidade mundial e a complexa relação entre elas, apesar de já ser reconhecida há mais de 175 anos, apresenta um componente de bidirecionalidade, que permanece pouco assimilado. Dado o mau prognóstico de PDAC e a elevada carga global de doença da DM, há um realce crescente na prevenção e intervenção precoce, com base nas associações causais entre as duas doenças, uma vez que a DM é identificada como um fator de risco para PDAC, mas também pode ser secundária à neoplasia.

Estudos mostram um risco 40% maior de PDAC em diabéticos, especialmente em casos de DM de início recente e em faixas etárias mais avançadas. A interação da DM como fator de risco de PDAC parece envolver mecanismos complexos, incluindo resistência à insulina, hiperinsulinemia, hiperglicemia, inflamação crónica e *stress* oxidativo, que contribuem para a iniciação e progressão de PDAC. As modalidades terapêuticas que visam, como alvo, o *stress* oxidativo, como os derivados da L-carnosina, oferecem, assim, potencial no tratamento de ambas as condições, mas é crucial compreender esses mecanismos para os possíveis avanços diagnósticos e terapêuticos que este conhecimento permite.

Já os mecanismos subjacentes ao papel do PDAC como causa de DM, apesar da notável elevada prevalência de DM em doentes com PDAC, especialmente em casos de início recente, ainda não se encontram muito desenvolvidos e ensaiados. Contudo, os mecanismos que ligam esta relação aparentam envolver a insulinoresistência, a alteração da expressão proteica e os exossomas, que causam disfunção dos ilhéus pancreáticos, como fundamento. O domínio da DM de início recente no PDAC e a resolução da DM pós-pancreatectomia sugerem também um efeito paraneoplásico mas são necessárias mais pesquisas para compreender e abordar a DM secundária a PDAC.

Posto isto, tendo em conta a íntima relação entre a DM e o PDAC, e ainda a próxima associação entre os mecanismos potenciadores das duas patologias, acaba por haver um conhecimento “cíclico” e com uma relação temporal a sugerir um fenómeno paraneoplásico, como o cerne da interação entre a DM e o PDAC.

Em relação às oportunidades de diagnóstico precoce ultimamente exploradas, destacam-se estratégias como o uso de ferramentas de apoio à decisão clínica, identificação de biomarcadores sanguíneos e modelos de predição de risco para melhorar o diagnóstico e prognóstico do PDAC, abordagens que, embora promissoras, requerem validação e refinamento adicional.

Relativamente às perspectivas futuras, assume prioridade a continuidade da investigação de estratégias de deteção precoce e do rastreio de PDAC, através do estudo dos mecanismos subjacentes ao desenvolvimento de PDAC a partir da DM e da identificação de

biomarcadores associados a esta progressão tumoral, permitindo, assim, uma intervenção igualmente precoce e uma melhoria generalizada do prognóstico e da sobrevida desta neoplasia. Futuramente, é também importante a identificação de novos alvos terapêuticos, de modo a criar um tratamento direcionado mais eficaz para o PDAC em diabéticos, e a triagem de grupos de risco de entre os diabéticos, como predisposição genética e perfis metabólicos, permitindo uma abordagem personalizada e profícua. Permanece, ainda, com muitas oportunidades de investigação, a área dos fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento de PDAC em doentes diabéticos. O estudo da relação entre estas duas patologias carece de mais estudos prospetivos de longo prazo, de forma a caracterizar melhor a associação temporal entre a DM e o desenvolvimento de PDAC, sobre a história natural da doença e a eficácia das intervenções na prevenção, ou no retardar, do início de PDAC em diabéticos.

Em suma, a presente dissertação objetivou, além de explorar, amplamente, a peculiar relação entre a DM e o PDAC, desbravar caminhos e plantar ideias sobre a investigação mais aprofundada dos mecanismos subjacentes a esta associação e patentear as oportunidades que continuam por usufruir, relativas à alcançável melhoria da prevenção, tratamento, prognóstico e sobrevida do PDAC.

## 7. Referências bibliográficas

1. Goral V. Pancreatic cancer: Pathogenesis and diagnosis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;16(14):5619–24.
2. Grossberg AJ, Chu LC, Deig CR, Fishman EK, Hwang WL, Maitra A, et al. Multidisciplinary standards of care and recent progress in pancreatic ductal adenocarcinoma. *CA Cancer J Clin* [Internet]. Setembro de 2020 [citado 4 de novembro de 2023];70(5):375–403.
3. Becker AE, Hernandez YG, Frucht H, Lucas AL. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J Gastroenterol* [Internet]. 28 de agosto de 2014 [citado 1 de novembro de 2023];20(32):11182–98.
4. 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]. Maio de 2021 [citado 1 de novembro de 2023];71(3):209–49.
5. The Global Cancer Observatory. Global Cancer Statistics GLOBOCAN 2020 - Portugal [Internet]. 2021 [citado 27 de janeiro de 2024]. p. 1–2.
6. Cai J, Chen H, Lu M, Zhang Y, Lu B, You L, et al. Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: Trends, risk factors, screening, and prognosis. *Cancer Lett*. 1 de novembro de 2021; 520:1–11.
7. Waleleng BJ, Adiwinata R, Wenas NT, Haroen H, Rotty L, Gosal F, et al. Screening of pancreatic cancer: Target population, optimal timing and how? *Annals of Medicine and Surgery* [Internet]. 1 de dezembro de 2022 [citado 20 de novembro de 2023]; 84:104814.
8. Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* [Internet]. 27 de junho de 2020 [citado 1 de novembro de 2023];395(10242):2008–20.
9. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Behrman SW, Benson AB, Cardin DB, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* [Internet]. 1 de abril de 2021 [citado 14 de novembro de 2023];19(4):439–57.
10. Petersmann A, Müller-Wieland D, Müller UA, Landgraf R, Nauck M, Freckmann G, et al. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* [Internet]. 2019 [citado 5 de dezembro de 2023];127(S 01): S1–7.
11. Elsayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care* [Internet]. 1 de janeiro de 2023 [citado 1 de novembro de 2023];46(Suppl 1): S19–40.
12. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet* [Internet]. 16 de junho de 2018 [citado 5 de dezembro de 2023];391(10138):2449–62.
13. Feldman H, ElSayed NA, McCoy RG, Moverley J, Oser SM, Segal AR, et al. Standards of Care in Diabetes-2023 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes* [Internet]. 2022 [citado 6 de dezembro de 2023];41(1):4–31.
14. Tinajero MG, Malik VS. An Update on the Epidemiology of Type 2 Diabetes: A Global Perspective. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 1 de setembro de 2021 [citado 9 de dezembro de 2023];50(3):337–55.

15. Toledo FGS, Chari S, Yadav D. Understanding the Contribution of Insulin Resistance to the Risk of Pancreatic Cancer. *Am J Gastroenterol* [Internet]. Junho de 2021;116(4):669–70.
16. Abbruzzese JL, Andersen DK, Borrebaeck CAK, Chari ST, Costello E, Cruz-Monserrate Z, et al. The interface of pancreatic cancer with diabetes, obesity, and inflammation: Research gaps and opportunities: Summary of a national Institute of Diabetes and digestive and kidney diseases workshop. *Pancreas*. Junho de 2018;47(5):516–25.
17. George S, Jean-Baptiste W, Ali AY, Inyang B, Koshy FS, George K, et al. The Role of Type 2 Diabetes in Pancreatic Cancer. *Cureus* [Internet]. Junho de 2022;14(6):e26288.
18. Eibl G, Cruz-Monserrate Z, Korc M, Petrov MS, Goodarzi MO, Fisher WE, et al. Diabetes Mellitus and Obesity as Risk Factors for Pancreatic Cancer. *J Acad Nutr Diet*. Junho de 2018;118(4):555–67.
19. Menini S, Iacobini C, Vitale M, Pesce C, Pugliese G. Diabetes and Pancreatic Cancer- A Dangerous Liaison Relying on Carbonyl Stress. *Cancers (Basel)* [Internet]. Junho de 2021;13(2):1–26.
20. Srivani G, Dariya B, Alam A, Nagaraju GP. Diabetes with pancreatic ductal adenocarcinoma. Exploring Pancreatic Metabolism and Malignancy. 1 de janeiro de 2019;111–31.
21. Elena JW, Steplowski E, Yu K, Hartge P, Tobias GS, Brotzman MJ, et al. Diabetes and risk of pancreatic cancer: A pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. *Cancer Causes and Control*. Janeiro de 2013;24(1):13–25.
22. Kuruma S, Egawa N, Kurata M, Honda G, Kamisawa T, Ueda J, et al. Case-control study of diabetes-related genetic variants and pancreatic cancer risk in Japan. *World J Gastroenterol*. Junho de 2014;20(46):17456–62.
23. Setiawan VW, Stram DO, Porcel J, Chari ST, Maskarinec G, Le Marchand L, et al. Pancreatic Cancer Following Incident Diabetes in African Americans and Latinos: The Multiethnic Cohort. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1 de janeiro de 2019 [citado 16 de outubro de 2023];111(1).
24. Wu BU, Butler RK, Lustigova E, Lawrence JM, Chen W. Association of Glycated Hemoglobin Levels with Risk of Pancreatic Cancer. *JAMA Netw Open*. 12 de junho de 2020;3(6).
25. Sanat ZM, Masoudi S, Mansouri M, Shishavan NG, Jameshorani M, Pourshams A. Diabetes Mellitus, Obesity, and Risk of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: a Large Case-Control Study from Iran. *Middle East J Dig Dis* [Internet]. junho de 2021;13(1):15–20.
26. Jacobson S, Dahlqvist P, Johansson M, Svensson J, Billing O, Sund M, et al. Hyperglycemia as a risk factor in pancreatic cancer: A nested case-control study using prediagnostic blood glucose levels. *Pancreatology*. Junho de 2021;21(6):1112–8.
27. Ozsay O, Karabacak U, Cetin S, Majidova N. Is diabetes onset at advanced age a sign of pancreatic cancer? *Ann Ital Chir*. Junho de 2022;93(4):476–80.
28. Zechner D, Radecke T, Amme J, Bürtin F, Albert AC, Partecke LI, et al. Impact of diabetes type II and chronic inflammation on pancreatic cancer. *BMC Cancer*. Junho de 2015;15(1).
29. Sun Y, He W, Luo M, Zhou Y, Chang G, Ren W, et al. Role of transgelin-2 in diabetes-associated pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(30):49592–604.

30. Sato K, Hikita H, Myojin Y, Fukumoto K, Murai K, Sakane S, et al. Hyperglycemia enhances pancreatic cancer progression accompanied by elevations in phosphorylated STAT3 and MYC levels. *PLoS One*. Junho de 2020;15(7).
31. Menini S, Iacobini C, Latouliere L De, Manni I, Vitale M, Pillozzi E, et al. Diabetes promotes invasive pancreatic cancer by increasing systemic and tumour carbonyl stress in *Kras G12D/+mice*. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. Junho de 2020;39(1).
32. Otto L, Rahn S, Daunke T, Walter F, Winter E, Möller JL, et al. Initiation of pancreatic cancer: The interplay of hyperglycemia and macrophages promotes the acquisition of malignancy-associated properties in pancreatic ductal epithelial cells. *Int J Mol Sci*. 2 de maio de 2021;22(10).
33. Song S, Wang B, Zhang X, Hao L, Hu X, Li Z, et al. Long-Term Diabetes Mellitus Is Associated with an Increased Risk of Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. *PLoS One* [Internet]. 29 de julho de 2015 [citado 7 de agosto de 2023];10(7).
34. Midha S, Chawla S, Garg PK. Modifiable and non-modifiable risk factors for pancreatic cancer: A review. *Cancer Lett*. Junho de 2016;381(1):269–77.
35. Wu BU, Butler RK, Lustigova E, Lawrence JM, Chen W. Association of Glycated Hemoglobin Levels with Risk of Pancreatic Cancer. *JAMA Netw Open*. Junho de 2020;3(6).
36. Mellenthin C, Balaban VD, Dugic A, Cullati S. Risk Factors for Pancreatic Cancer in Patients with New-Onset Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*. 1 de outubro de 2022;14(19).
37. Ankit BS, Agrawal R, Gadhwal A, Chahar C, Agrawal RP. The influence of metformin on serum carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) levels in type 2 diabetes mellitus patients. *Journal of Association of Physicians of India*. Junho de 2018;66(March):38–41.
38. Souza AL De, Saif MW. Diabetes and pancreatic cancer. *Journal of the Pancreas*. 2014;15(2):118–20.
39. Dunne RF, Roeland EJ. The Interplay Among Pancreatic Cancer, Cachexia, Body Composition, and Diabetes. *Hematol Oncol Clin North Am*. Junho de 2022;36(5):897–910.
40. Rahn S, Zimmermann V, Viol F, Knaack H, Stemmer K, Peters L, et al. Diabetes as risk factor for pancreatic cancer: Hyperglycemia promotes epithelial-mesenchymal-transition and stem cell properties in pancreatic ductal epithelial cells. *Cancer Lett*. 28 de fevereiro de 2018; 415:129–50.
41. Aggarwal G, Kamada P, Chari ST. Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers. *Pancreas* [Internet]. Março de 2013 [citado 7 de agosto de 2023];42(2):198–201.
42. Nagpal SJS, Kandlakunta H, Her T, Sharma A, Sannapaneni S, Smyrk TC, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with a unique endocrinopathy distinct from type 2 diabetes mellitus. *Pancreatology* [Internet]. 1 de julho de 2020 [citado 31 de outubro de 2023];20(5):929–35.
43. Chen G, Tan C, Liu X, Wang X, Tan Q, Chen Y. Associations between Systemic Immune-Inflammation Index and Diabetes Mellitus Secondary to Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Clin Med*. 1 de fevereiro de 2023;12(3).
44. Wang WS, Liu XH, Liu LX, Jin DY, Yang PY, Wang XL. Identification of proteins implicated in the development of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus by

- iTRAQ-based quantitative proteomics. *J Proteomics* [Internet]. 2013 [citado 31 de outubro de 2023]; 84:52–60.
45. Javeed N, Sagar G, Dutta SK, Smyrk TC, Lau JS, Bhattacharya S, et al. Pancreatic Cancer-Derived Exosomes Cause Paraneoplastic  $\beta$ -cell Dysfunction. *Clin Cancer Res* [Internet]. 1 de abril de 2015 [citado 8 de agosto de 2023];21(7):1722–33.
  46. Roy A, Sahoo J, Kamalanathan S, Naik D, Mohan P, Kalayarasan R. Diabetes and pancreatic cancer: Exploring the two-way traffic. *World J Gastroenterol*. Junho de 2021;27(30):4939–62.
  47. Andersen DK, Korc M, Petersen GM, Eibl G, Li D, Rickels MR, et al. Diabetes, pancreatogenic diabetes, and pancreatic cancer. *Diabetes*. Junho de 2017;66(5):1103–10.
  48. Chaudhry ZW, Hall E, Kalyani RR, Cosgrove DP, Yeh HC. Diabetes and pancreatic cancer. *Curr Probl Cancer*. Junho de 2013;37(5):287–92.
  49. Sharp P, Brown B, Price H. Screening for pancreatic ductal adenocarcinoma in the population with diabetes. *Practical Diabetes*. 1 de janeiro de 2021;38(1):37–40a.
  50. Peng H, Pan S, Yan Y, Brand RE, Petersen GM, Chari ST, et al. Systemic Proteome Alterations Linked to Early Stage Pancreatic Cancer in Diabetic Patients. *Cancers (Basel)* [Internet]. 11 de junho de 2020 [citado 10 de julho de 2023];12(6):1–14.
  51. Zhang Z, Qin W, Sun Y. Contribution of biomarkers for pancreatic cancer-associated new-onset diabetes to pancreatic cancer screening. *Pathol Res Pract* [Internet]. 1 de dezembro de 2018 [citado 31 de outubro de 2023];214(12):1923–8.
  52. Bar-Mashiah A, Aronson A, Naparst M, Dimairo CJ, Lucas AL. Elevated hemoglobin A1c is associated with the presence of pancreatic cysts in a high-risk pancreatic surveillance program. *BMC Gastroenterol*. 27 de maio de 2020;20(1).
  53. Choe JW, Kim HJ, Kim JS, Cha J, Joo MK, Lee BJ, et al. Usefulness of CA 19-9 for pancreatic cancer screening in patients with new-onset diabetes. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* [Internet]. 1 de junho de 2018 [citado 31 de outubro de 2023];17(3):263–8.
  54. Włodarczyk B, Gasiórowska A, Malecka-Panas E. The Role of Insulin-like Growth Factor (IGF) Axis in Early Diagnosis of Pancreatic Adenocarcinoma (PDAC). *J Clin Gastroenterol*. 1 de agosto de 2018;52(7):569–72.
  55. Trajkovic-Arsic M, Kalideris E, Siveke JT. The role of insulin and IGF system in pancreatic cancer. *J Mol Endocrinol*. Junho de 2013;50(3).
  56. Sun Y, He W, Luo M, Zhou Y, Chang G, Ren W, et al. SREBP1 regulates tumorigenesis and prognosis of pancreatic cancer through targeting lipid metabolism. *Tumour Biol* [Internet]. 11 de junho de 2015 [citado 16 de outubro de 2023];36(6):4133–41.
  57. Zhou L, Zhang R, Zhang L, Sun Y, Yao W, Zhao A, et al. Upregulation of transgelin is an independent factor predictive of poor prognosis in patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Sci* [Internet]. Abril de 2013 [citado 16 de outubro de 2023];104(4):423–30.
  58. Sharma S, Tapper WJ, Collins A, Hamady ZZR. Predicting Pancreatic Cancer in the UK Biobank Cohort Using Polygenic Risk Scores and Diabetes Mellitus. *Gastroenterology*. 1 de Maio de 2022;162(6):1665-1674.e2.
  59. Quagliarini E, Caputo D, Cammarata R, Caracciolo G, Pozzi D. Coupling magnetic levitation of graphene oxide–protein complexes with blood levels of glucose for early detection of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Nanotechnol*. 1 de dezembro de 2023;14(1).

60. Boursi B, Finkelman B, Giantonio BJ, Haynes K, Rustgi AK, Rhim AD, et al. A Clinical Prediction Model to Assess Risk for Pancreatic Cancer Among Patients With New-Onset Diabetes. *Gastroenterology*. 1 de março de 2017;152(4):840-850.e3.
61. Sharma A, Kandlakunta H, Nagpal SJS, Feng Z, Hoos W, Petersen GM, et al. Model to Determine Risk of Pancreatic Cancer in Patients With New-Onset Diabetes. *Gastroenterology* [Internet]. 1 de setembro de 2018 [citado 8 de agosto de 2023];155(3):730-739.e3.
62. Chen W, Butler RK, Lustigova E, Chari ST, Wu BU. Validation of the Enriching New-Onset Diabetes for Pancreatic Cancer Model in a Diverse and Integrated Healthcare Setting. *Dig Dis Sci*. 2020.
63. Ruze R, Song J, Yin X, Chen Y, Xu R, Wang C, et al. Mechanisms of obesity- and diabetes mellitus-related pancreatic carcinogenesis: a comprehensive and systematic review [Internet]. Vol. 8, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Nature; 2023 [citado 22 de junho de 2023]. p. 1–41.