

## Marcadores de risco para carcinoma hepatocelular em amostras de plasma de pacientes com hepatite C

Lima E.O. <sup>1</sup>; Praxedes, R.R.<sup>1</sup>; Giovanni F.S.<sup>1</sup>; Galvani A.F. <sup>1</sup>; Kurokawa G.A.<sup>1</sup>; Pardini MIMC<sup>1</sup>; Delafiori J.<sup>2</sup>; Oliveira N.A.<sup>2</sup>; Dias-Audibert F.L.<sup>2</sup>; Catharino R.R.<sup>2</sup>; Ferrasi A.C.<sup>1</sup>

1- São Paulo State University (UNESP), Botucatu Medical School (FMB), Botucatu, Brazil.

2- University of Campinas (UNICAMP), Innovare Biomarkers Laboratory, School of Pharmaceutical Sciences, Campinas, Brazil.

### Introdução

A hepatite C (HCV) é a segunda principal causa de morte por hepatite viral. A doença evolui silenciosamente para a fase crônica, em que as lesões hepáticas vão desde a fibrose leve à cirrose ou ao carcinoma hepatocelular (CHC). A monitorização da progressão da doença é essencial para o acompanhamento do doente e para o delineamento de estratégias terapêuticas assertivas. O atual acompanhamento depende de métodos histológicos, que apresentam variabilidade e imprecisão. Portanto, o quadro revela a urgência de biomarcadores de prognóstico precoce para o desenvolvimento do tumor. Considerando a ausência de métodos precisos para monitorar o progresso dos doentes com HCV, o objetivo deste estudo foi selecionar um perfil biomarcadores indicativo do risco de HCC em amostras de plasma de hepatite C crônica através da análise metabólica.

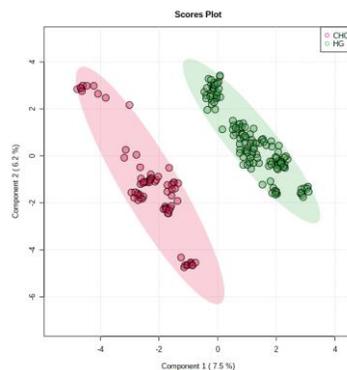
### Casuística e Métodos

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local (Protocolo 3.666.609), e os participantes concordaram em participar assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram coletadas amostras de sangue de 21 pacientes com HCV diagnosticados com alto grau de fibrose, correspondendo aos graus F3 ou F4 (*high grade* - HG). Todas as amostras foram coletadas antes do diagnóstico de HCC, mas os doentes foram acompanhados ao longo de 10 anos. Os pacientes foram separados em grupos: fibrose HG que não desenvolveu CHC (n = 14) e fibrose HG que evoluiu para CHC (n = 7). As amostras de plasma foram preparadas e submetidas à análise de espectrometria de massas em ESI-LTQ-XL (Thermo-Scientific) em 10 replicatas analíticas para cada replicata biológica. Os dados espectrais foram analisados através de análise multivariada com análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA). Os biomarcadores mais importantes para o grupo CHC foram selecionados através do parâmetro de importância representado por *Variable Importance in Projection* (VIP) score. Estabelecendo um *VIP score* > 3,0, os marcadores apresentaram valores de massa/carga correspondentes a: 734, 871, 825, 854, 835, 798, 976. Os mesmos foram testados através da curva ROC para avaliar os marcadores que apresentam maior potencial como biomarcadores de risco de CHC.

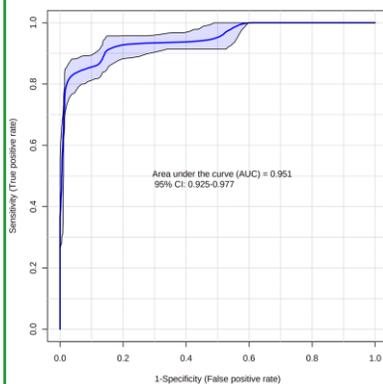
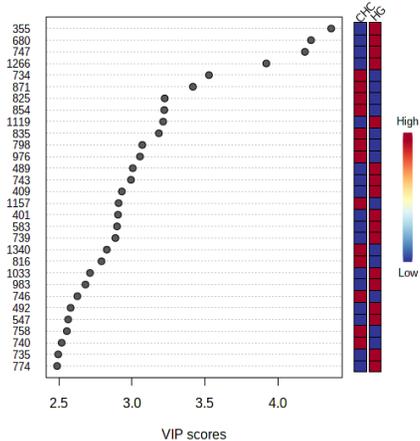
### Resultados

Os resultados obtidos mostraram uma boa separação entre ambos os grupos HG e CHC quando PLS-DA foi aplicado (Figura 1). A partir do *VIP score* (Figura 2), foi alcançado um perfil biomarcadores promissor para o risco de HCC, e 3 valores de massa/carga, entre os 9 primeiros selecionados, apresentaram um grande potencial de utilização como marcadores prognósticos de progresso da hepatite C crônica para o carcinoma hepatocelular. Os biomarcadores selecionados são representados pelas relações massa/carga de 976, 854, e 871, que em conjunto foram responsáveis por uma curva ROC AUC = 0,951 (95% CI: 0,925-0,977) (Figura 3), com uma sensibilidade de 0,93 e uma especificidade de 0,77.

**Figura 1.** Score plot gerado a partir da análise pelo PLS-DA no estudo comparativo entre os grupos CHC e HCV HG.



**Figura 2.** Marcadores identificados para os grupos CHC e HCV HG de acordo com o *VIP score*, a partir da análise PLS-DA.



**Figura 3.** Curva ROC gerada a partir dos biomarcadores *m/z* = 976, 854, e 871 selecionados para risco de carcinoma hepatocelular na hepatite C crônica.

### Conclusões

Embora os resultados atuais sejam ainda preliminares e devam ser validados numa casuística maior, apresentam o potencial da análise metabólica para a seleção de biomarcadores de risco para CHC em amostras de plasma. Os marcadores selecionados no presente trabalho poderão, a médio prazo, ser identificados; a partir dessa identificação, a compreensão da fisiologia da hepatite C e da oncogênese será ampliada, pois a função dos biomarcadores será conhecida e a rede de conexões bioquímicas, esclarecida. Dada a importância do prognóstico de progresso do HCV no câncer, nossos dados apresentam parâmetros estatísticos relevantes, no primeiro momento, melhores do que as técnicas histopatológicas e menos invasivas.

### Contato

Estela de Oliveira Lima - estela.lima@unesp.br

### Agradecimentos

