

## High expression of cytokines and chemokines in patients with chronic liver disease associated to HCV infection

<sup>2</sup>Barbosa FBA\*, <sup>1,2,4</sup>Silva Neto PV\*\*, <sup>1,2,4</sup>Tarragô AM\*\*, <sup>1,2,4</sup>Duarte FFC\*\*, <sup>1,2,4</sup>Toro DM\*\*, <sup>1,2,4</sup>Pereira GL\*\*, <sup>1,2,4</sup>Sarmiento PS\*\*, <sup>1,2,4</sup>Neves WLL\*\*, <sup>1,2,3,4</sup>Costa AG\*\*, <sup>3</sup>Victória MB, <sup>3</sup>Victória FS, <sup>1,2,4</sup>Malheiro A

<sup>1</sup>Universidade Federal do Amazonas, <sup>2</sup>Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, <sup>3</sup>Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, <sup>4</sup>Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada

**Introduction:** Hepatitis C virus infection is a serious public health problem affecting approximately 3% of the world population. Approximately 85% of individuals develop the chronic form of the disease and may lead to fibrosis, liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma. The exacerbated inflammatory process becomes persistent due to the recruitment of cells and presence of inflammatory mediators in the hepatic tissue microenvironment. **Objective:** To evaluate the serum levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10 and CCL2, CXCL9 and CXCL10 and in culture supernatant stimulated with lipopolysaccharide (LPS). **Materials and Methods:** We collected 30 samples from patients with chronic liver disease (CLD) (classified as non-advanced liver disease ( $\leq$ F2 score = 15), advanced liver disease ( $\geq$ F2 score = 15)) and 15 samples from donation candidates (DC). The mediators were quantified by ELISA and CBA. We used Microsoft Excel® and GraphPadPrism® software (the analysis performed: *t student*; ANOVA, for comparisons between groups of three or more variables, followed by *Kruskal Wallis* and *Dunn's Multiple Comparison Test*). The cytokine and chemokine profiles were analyzed to identify the "high" and "low" producers, calculating its global median values, considering the results above the cut-off of 50%. **Results and Discussion:** CLD patients with advanced fibrosis produced more IL-6 ( $p=0,003$ ), CXCL9 ( $p=0,036$ ) and CXCL10 ( $p=0,0003$ ) serum levels compared to DC. When we stimulated with LPS, we observed a significant increase of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, CCL-2, CXCL-9 and CXCL-10 production in patients with  $\leq$ F2 score. Such difference was observed in patients  $\leq$ F2 stimulated with LPS only when categorized in high and low mediators' producers. **Conclusion:** The results demonstrates that the inflammatory profile in advanced fibrosis could provide the progression of liver damage.

**Key words:** Hepatitis C, fibrosis, cytokines, chemokines

**Financial support:** CNPq

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE PEPÍTIdeos MIMÉTICOS REATIVOS AOS SOROS DE PACIENTES HCV+ E SUA INFLUÊNCIA NO DESENVOLVIMENTO DA FIBROSE HEPÁTICA IN VITRO

**Pesquisador:** ANDRÉA MONTEIRO TARRAGÓ

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 49652615.8.0000.0009

**Instituição Proponente:** Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.406.965

**Apresentação do Projeto:**

Projeto de Pesquisa: IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE PEPÍTIdeos MIMÉTICOS REATIVOS AOS SOROS DE PACIENTES HCV+ E SUA INFLUÊNCIA NO DESENVOLVIMENTO DA FIBROSE HEPÁTICA IN VITRO

Trata-se de um estudo descritivo, transversal constituindo subprojeto de um estudo maior da linha de pesquisa sobre Biotecnologia & Saúde

intitulado: "Desenvolvimento de tecnologias aplicadas ao diagnóstico e terapia de doenças infecciosas tropicais", que será desenvolvido pelos

grupos de Pesquisa "Virologia" da Universidade Federal do Pará – UFPA, em parceria com os grupos "Imunologia Básica e Aplicada" da

Universidade Federal do Amazonas e "Nanotecnologia" da Universidade Federal de Uberlândia- UFU. Ainda teremos apoio das Universidade da

Califórnia (UCDAVIS) e da Universidade de Miami(UM). Aprovado pelo Edital Pró-Amazônia n. 047/2012,

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

- Determinar a reatividade em soro de indivíduos HCV+ para peptídeos miméticos ao HCV identificados pela técnica phage display e caracterizar o

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 Bl.D Cir Ens Pesq  
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002  
UF: AM Município: MANAUS  
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemcam.am.gov.br

Continuação do Parecer: 1.408.965

perfil de citocinas envolvidas no desenvolvimento de fibrose hepática em cultura de células

**Objetivo Secundário:**

- Selecionar e identificar peptídeos miméticos reativos a soros de pacientes HCV+ com fibrose hepática;
- Sequenciar os clones isolados e realizar análises de bioinformática;
- Descrever o perfil de citocinas envolvidos no desenvolvimento da fibrose em cultura de células mesenquimais e hepatócitos;
- Pré-validar os clones selecionados através de ensaios de Phage-ELISA utilizando proteínas totais de pacientes com fibrose hepática;

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Risco de contaminação dos colaboradores da pesquisa com sangue contaminado com o vírus da Hepatite C  
**Benefícios:** Conseguir desenvolver peptídeos que possam ser utilizados posteriormente em biossensores capazes de detectar proteínas presente em soro de pacientes que possam prever e servir de biomarcadores para diagnóstico de fibrose.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa Relevante que busca detectar marcadores que auxiliem na detecção de peptídeos miméticos ao vírus da hepatite C capazes de prever fibrose utilizando tecnologias combinadas em engenharia genética, como Phage Display com o intuito de gerar estratégias direcionadas para a investigação do processo do desenvolvimento da fibrose.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos foram apresentados

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	09/09/2015		Aceito

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq  
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002  
UF: AM Município: MANAUS  
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE  
HEMATOLOGIA E  
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 1.406.965

Básicas do Projeto	ETO_579290.pdf	15:35:04		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	09/09/2015 15:32:42	ANDRÉA MONTEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	09/09/2015 15:30:02	ANDRÉA MONTEIRO TARRAGÔ	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	09/09/2015 15:26:05	ANDRÉA MONTEIRO TARRAGÔ	Aceito
Declaração de Pesquisadores	anuencias.pdf	09/09/2015 15:21:14	ANDRÉA MONTEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	anuencias.docx	09/09/2015 14:46:19	ANDRÉA MONTEIRO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

MANAUS, 12 de Fevereiro de 2016

---

**Assinado por:**  
**Elisa Brosina de Leon**  
**(Coordenador)**

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq  
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002  
UF: AM Município: MANAUS  
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br