



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

GUSTAVO SILVA OLIVEIRA

**METABOLÔMICA E SUA APLICAÇÃO EMERGENTE NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PÂNCREAS**

Mossoró

2022

GUSTAVO SILVA OLIVEIRA

**METABOLÔMICA E SUA APLICAÇÃO EMERGENTE NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PÂNCREAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

Orientadora: Prof. Dra. Aline Lidianne Batista

Mossoró
2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

SS586 Silva Oliveira, Gustavo.
Gusta METABOLÔMICA E SUA APLICAÇÃO EMERGENTE NO
vom DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PÂNCREAS /
Gustavo Silva Oliveira. - 2022.
41 f. : il.

Orientadora: Aline Lidianne Batista.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Medicina, 2022.

1. Metaboloma. 2. Metabolômica. 3. Prognóstico.
4. Biomarcadores. 5. Câncer de pâncreas. I.
Lidianne Batista, Aline, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

GUSTAVO SILVA OLIVEIRA

**METABOLÔMICA E SUA APLICAÇÃO EMERGENTE NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PÂNCREAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

Defendida em: 17/06/2022.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ALINE LIDIANE BATISTA**
Data: 18/12/2023 16:13:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Aline Lidiane Batista (UFERSA)

Presidente

Documento assinado digitalmente
 **ALINE MARIA CAVALCANTE GURGEL**
Data: 22/12/2023 12:06:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Aline Maria Cavalcante Gurgel (UFERSA)

Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDIA LEITE ROLIM MOREIRA**
Data: 21/12/2023 14:07:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Cláudia Leite Rolim Moreira (UFERSA)

Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo a Deus, pela minha vida e por me dar forças e capacidades para alcançar meus objetivos e concluir esse trabalho.

Agradeço meus pais pelo amor e apoio incondiciona, por toda a confiança e zelo que tem por mim, e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos.

Agradeço ao meu irmão, por todo companheirismo e força que me tem prestado, por sempre me motivar a dar meu melhor em tudo que faço.

Agradeço a minha Professora Orientadora, por todo o conhecimento proporcionado, todos os direcionamentos e conselhos fundamentais para realização deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos da faculdade e da vida, por dividirem diversos momentos comigo, por toda ajuda, confiança e motivação que me prestaram até aqui.

Resumo

Dentre os inúmeros tipos de câncer, o de pâncreas, possui uma das mais altas mortalidades e uma crescente incidência na população. Um dos grandes fatores da alta mortalidade, do câncer, deve-se ao diagnóstico tardio, onde não há possibilidade de tratamento curativo para a doença. Dessa forma, são necessários novos tipos de diagnósticos que possam detectar precocemente a doença, possibilitando um tratamento curativo. A metabolômica é o estudo dos metabólitos de um organismo vivo, e dada as características metabólicas que o câncer possui, vem como uma ferramenta para encontrar novos biomarcadores, mais acurados que os atuais, para realização do diagnóstico. O presente trabalho, realizado na forma de uma revisão narrativa, tem por finalidade, analisar estudos já realizados e averiguar os metabólitos encontrados para serem utilizados como biomarcadores e suas aplicações, sendo no diagnóstico, prognóstico da doença ou como forma de elucidar a patogênese do câncer de pâncreas. Foram utilizadas bases de dados como MEDLINE, *PubMed* e *ScienceDirect*, de onde um total de 223 foram identificados e após etapas de exclusão e seleção de trabalho, um total de 6 trabalhos foram incluídos para construção do trabalho. Foi utilizado o gerenciador de referências Mendeley®, onde os artigos foram organizados e analisados para extração de dados. Para auxiliar na construção do trabalho, houve confecção de uma tabela utilizando o *Google Docs*, onde foram inseridos nome do trabalho, quantidades de amostras utilizadas no estudo, tipo de amostra, características do estudo metabolômico utilizado, os biomarcadores encontrados e considerados mais importantes e suas possíveis aplicações. Após análise dos trabalhos, foi possível notar que os metabólitos advindos do metabolismo energético e dos sais biliares possuem alterações e podem ser utilizados para construção de um modelo diagnóstico. Também foi notado, que , nenhum metabólito isolado pode ser utilizado como para o diagnóstico, sendo necessária a construção de um modelo que envolve vários metabólitos. É importante lembrar que novos métodos diagnósticos podem contribuir para a queda da mortalidade do câncer de pâncreas.

Palavras-chave: Metaboloma; Metabolômica; Diagnóstico; Prognóstico; Biomarcadores; Câncer de pâncreas;

Abstract

Among the many types of cancer, pancreatic cancer has one of the highest mortality rates and a growing incidence in the population. One of the major factors in the high mortality of cancer is due to late diagnosis, where there is no possibility of curative treatment for the disease. Thus, new types of diagnoses are needed that can detect the disease early, enabling a curative treatment. Metabolomics is the study of the metabolites of a living organism, and given the metabolic characteristics that cancer has, it comes as a tool to find new biomarkers, more accurate than the current ones, to carry out the diagnosis. The present work, carried out in the form of a narrative review, aims to analyze studies that have already been carried out and investigate the metabolites found to be used as biomarkers and their applications, being in the diagnosis, prognosis of the disease or as a way to elucidate the pathogenesis of cancer. of pancreas. Databases such as MEDLINE, PubMed and ScienceDirect were used, from which a total of 223 were identified and after exclusion and work selection steps, a total of 6 works were included for the construction of the work. Mendeley® reference management was used, where the articles were organized and analyzed for data extraction. To assist in the construction of the work, a table was created using Google Docs, where the name of the work, quantities of samples used in the study, type of sample, characteristics of the metabolomic study used, the biomarkers found and considered most important and their possible applications. After analyzing the works, it was possible to notice that the metabolites from energy metabolism and bile salts have alterations and can be used to build a diagnostic model. It was also noted that no single metabolite can be used as a diagnostic tool, requiring the construction of a model that involves several metabolites. It is important to remember that new diagnostic methods can contribute to the decrease in pancreatic cancer mortality.

Keywords: Metabolome; Metabolomics; Diagnosis; Prognosis; Biomarkers; Pancreatic cancer;

Lista de Figuras

Figura 1 - Explicação das alterações metabólicas no câncer, fatores que podem afetar o metabolismo e aplicações laboratoriais e clínicas do metaboloma. - Página 18

Figura 2 - A: representa a análise metabólica de pacientes com câncer e pacientes saudáveis; B: visão geral em um mapa de calor dos 10 principais metabólitos diferenciais onde suas alterações podem distinguir pacientes com a doença de pacientes saudáveis. - Página 29

Figura 3 - Demonstração dos biomarcadores tradicionais e os biomarcadores encontrados pelo estudo. - Página 30

Lista de Fluxogramas

Fluxograma 1 - Demonstra o seguimento para diagnóstico do paciente com suspeita de câncer de pâncreas - Página 22

Fluxograma 2 - Fluxograma para seleção dos estudos - Página 27

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Demonstra a incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) do câncer de pâncreas a cada 100.000 habitantes em cada continente. - Página 20

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Síntese dos principais trabalhos utilizados na revisão - Páginas 34-35

Sumário

1.Introdução	13
2.Referencial Teórico	15
3.Objetivos	25
4.Metodologia	26
4.1.Identificação e seleção dos estudos	26
4.2.Extração dos dados	27
5.Resultados	28
6.Discussão	36
7.Considerações Finais	38
Referências	39

1.Introdução

Entende-se metabolômica a análise abrangente e quantitativa do metaboloma de um sistema biológico. Assim, o metaboloma consiste em decifrar o conjunto de todos os metabólitos em dada situação, sendo os metabólitos, produtos intermediários ou finais do metabolismo de uma amostra biológica presentes ou alterados em um sistema biológico (CANUTO, Gisele, et al. 2018).

O câncer é um grupo de doenças que pode começar em qualquer órgão ou tecido do corpo, quando células crescem de maneira desordenada, ultrapassando os limites usuais e invadindo as partes adjacentes ou se espalhando por outros órgãos. Sendo assim, em sua essência, é uma doença genética em que o acúmulo de alterações moleculares no genoma de células somáticas é a base da progressão da doença (WHO, 2021).

Dito isso, o metabolismo torna-se desregulado em células cancerosas, buscando atender as demandas dessa proliferação desenfreada, o que pode levar a mudanças específicas no metabolismo celular, alterando a expressão metabólica, que podem ser utilizadas no diagnóstico precoce, melhor adequação do tratamento e melhor avaliação do prognóstico (SCHMIDT, 2021).

O câncer de pâncreas, em que espera-se um aumento de até 30% em sua incidência no mundo até 2040, devido seus fatores de risco, os quais incluem idade, obesidade, tabagismo, diabetes, alcoolismo, o quais apresentam uma crescente na população mundial. Essa neoplasia também possui uma alta mortalidade, que é evidenciada pela taxa de sobrevida, na qual apenas 10% dos pacientes que sobrevivem além de 5 anos da data do diagnóstico (CHEN, 2021).

Atualmente, o diagnóstico do câncer de pâncreas é feito através de biomarcadores, exames de imagem, como a tomografia computadorizada (TC), e por biópsia. Contudo, os biomarcadores utilizados possuem baixa sensibilidade e especificidade para o diagnóstico, e exames como TC e biópsia, podem ser um tanto quanto invasivos e apenas detectar a doença em estágio avançado (NCCN).

Dessa forma, o uso da metabolômica para o diagnóstico, permitirá maior sensibilidade e especificidade na avaliação dos biomarcadores, propiciando um diagnóstico mais precoce, e assim possibilitando um tratamento mais efetivo e consequentemente aumentando a sobrevida do paciente (LUO, 2020).

Assim, a presente revisão narrativa tem por fim apresentar a técnica do metaboloma e como ela pode ser aplicada ao diagnóstico, comparando estudos recentes que identificaram novos biomarcadores em potencial.

2.Referencial Teórico

Ciências ômicas tem como objetivo, esclarecer o funcionamento celular dos organismo e as alterações que neles possam acontecer, sendo parte delas, a genômica (estudo da interação do gene e o meio ambiente), proteômica (estudo dos proteomas, que são o conjunto de proteínas e suas isoformas) e a metabolômica (CANUTO, et al, 2018).

A metabolômica, por definição, é o estudo dos metabólitos em um sistema biológico, com sua identificação e quantificação (KANTA, et al, 2020).

Os metabólitos são produtos intermediários ou finais do metabolismo de um sistema biológico, e o conjunto formado por esses metabólitos recebe o nome de metaboloma. Em 2001, Oliver Fiehn, definiu como metabolômica como a análise abrangente e quantitativa de metaboloma de um sistema biológico (CANUTO, et al, 2018).

Dessa forma, a metabolômica pode fornecer um panorama sobre os processos metabólicos, o que se traduz como o fenótipo do organismo estudado. Quando realizado e interpretado da maneira correta, produz um panorama geral de alterações que estão no DNA, RNA e em níveis proteicos, o que em alguns casos pode ser a maneira mais sensível de se identificar variações patológicas em organismos vivos (SCHMIDT, et al, 2021).

No ano de 2005, a *Metabolomics Society* criou o “*Metabolomics Standards Initiative*” (MSI), para definir uma padronização no procedimento adotado nos estudos e publicações de trabalhos em metabolômica (CANUTO, et al, 2018).

Para realizar a identificação e a quantificação dos metabólitos de um organismo vivo, existem três abordagens possíveis, sendo elas: “*Metabolite profiling*”, “*Metabolite fingerprinting*” e o “*Metabonomics*”. O “*Metabolite profiling*” tem a capacidade de identificar uma grande quantidade de metabólitos, assim, permitindo uma panorama geral do metaboloma. Já o “*Metabolite fingerprinting*” é utilizado para caracterizar a estrutura do metaboloma, visto que, cada metabólito possui uma característica única, como a digital de um ser humano, que o permite ser identificado. Por fim, o “*Metabonomics*”, em português metabonômica, tem como foco o estudo da resposta metabólica do organismo a estímulos patológicos ou modificações genéticas que venham a ocorrer no organismo (KANTA, et al, 2020).

Na realização do metaboloma, há duas possíveis abordagens, sendo o “*Targeted approach*”, utilizado quando há necessidade de realizar um estudo em um grupo específico de metabólitos, aplicado por exemplo, quando se quer verificar o efeito de uma droga de um

grupo específico de enzimas. Já o “*Untargeted approach*”, identifica e quantifica o maior número possível de metabólitos dentro da amostra biológica (KANTA, et al, 2020).

Dada a grande diversidade química de metabólitos, utiliza-se multiplataformas de análise para aquisição dos dados, para proporcionar maior cobertura de substâncias químicas detectadas e por consequência, possibilita um maior entendimento do organismo a ser estudado. Para tais fins, são utilizadas ferramentas como ressonância magnética nuclear (NMR do inglês, “*Nuclear Magnetic Ressonance*”) e espectrometria de massa (MS do inglês, “*Mass Spectrometry*”), que fornecem informações estruturais de diversas classes químicas (CANUTO, et al, 2018).

NMR é uma metodologia versátil que pode ser utilizada em amostras biológicas nos estados líquido, sólido ou gasoso sem passar por processos de preparação. Nesse método, a amostra é sujeito a um forte campo magnético para causar a excitação de seus elétrons e em seguida a remoção do campo, para que a molécula volte ao seu estado normal, e a energia emitida pelos elétrons nesse processo, possui uma frequência particular para cada molécula. Na NMR, a amostra não é destruída, o que possibilita sua reutilização, contudo, a técnica possui relativa baixa sensibilidade quando comparada a MS (SCHMIDT, et al, 2021).

MS utiliza um espectrômetro de massa para realização da análise, o qual pode revelar a natureza e estrutura das moléculas. Esse método é o mais utilizado, devido a rapidez com a qual a análise é feita e também sua alta sensibilidade e seletividade. Os pontos negativos dessa metodologia, é a necessidade de preparação da amostra para ser inserida no espectrômetro, além da destruição da amostra, impossibilitando a retestagem (KANTA, et al, 2020).

Devido a abundância e complexidade dos dados gerados, é necessário o uso de ferramentas adequadas de tratamento de dados, para evitar erros e manter a integridade das variações biológicas inspecionadas, como softwares específicos. A identificação dos metabólitos é feita utilizando bibliotecas de espectros construídas no próprio laboratório de análise ou pelo uso de bibliotecas comerciais como a NIST (National Institute of Standards and Technology) (CANUTO, et al, 2018).

A metabolômica tem sido aplicada nas mais diversas áreas, como no esportes, nutrição, microbiologia e parasitologia e na medicina. Na medicina, a técnica está sendo aplicada para a detecção de biomarcadores, que possibilitem o desenvolvimento de novos tratamentos e diagnósticos. Em especial, o método tem sido pesquisado como uma forma de diagnosticar o câncer de maneira precoce e pouco invasiva, através de biomarcadores

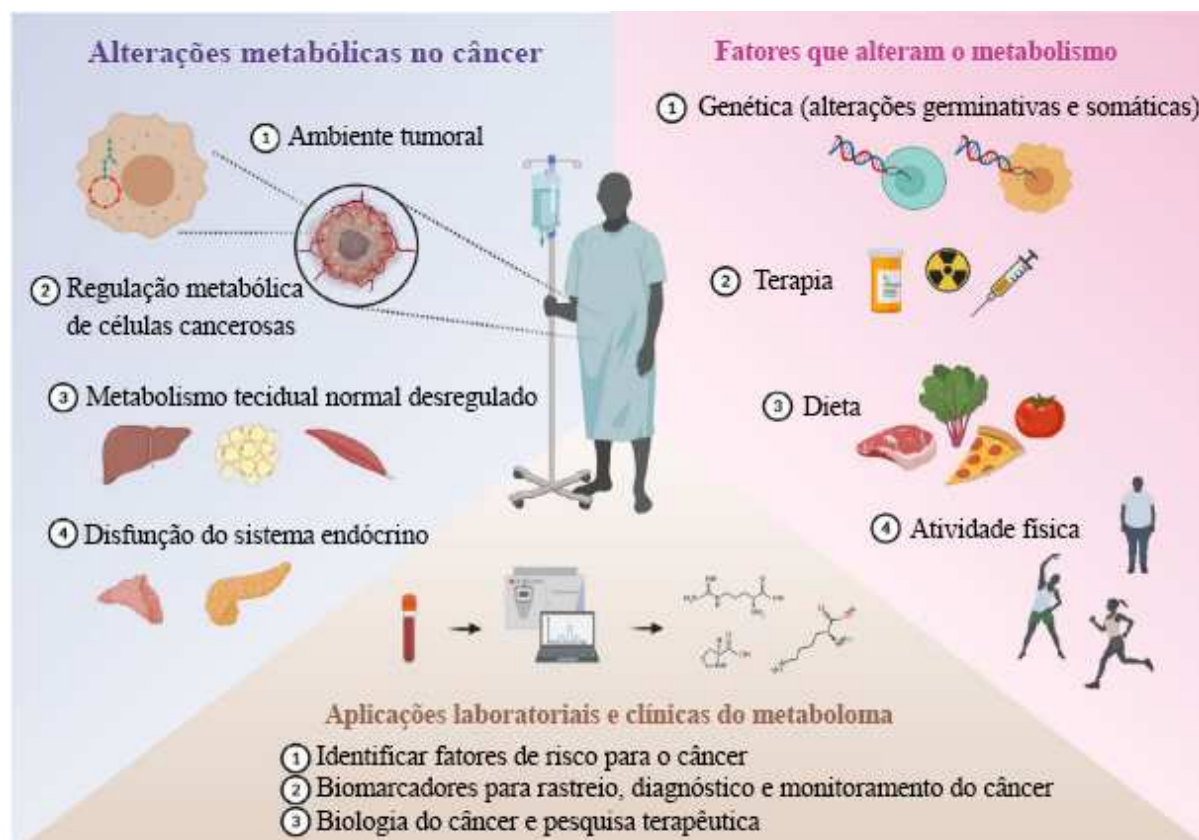
detectados para cada tipo de câncer, assim como também para realização do estadiamento da doença (CANUTO, et al, 2018).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, sendo cerca de 9.6 milhões de óbitos no ano de 2018 e é definido como um grupo de doenças que pode ter início em qualquer órgão ou tecido do corpo, devido ao crescimento celular desordenado, o que pode fazer com que os limites usuais sejam ultrapassados e ocasionando na invasão de órgãos e tecidos adjacentes, ocasionando uma invasão sistêmica (WHO, 2018).

O câncer é essencialmente uma doença genética, em que o acúmulo de alterações moleculares no genoma de células somáticas, é a base da progressão da doença. Pode-se agrupar os genes em dois grupos, sendo oncogenes e genes supressores de tumor, em que os oncogenes são aqueles que promovem o desenvolvimento da patologia, enquanto os genes supressores de tumor, são os responsáveis por reparar quaisquer alterações que levem ao aparecimento de um oncogene. Dessa forma, a doença se desenvolve quando há falha dos genes supressores de tumor e o surgimento de diversos oncogenes (DEVITA, et al, 2018).

Com o intuito de atender a demanda metabólica do tumor, o metabolismo torna-se desregulado nas células neoplásicas. Dessa forma, o tumor começa a expressar um fenótipo metabólico das alterações genéticas que ocorrem. As alterações metabólicas que ocorrem nesse processo, têm sido alvo de estudo para o desenvolvimento de técnicas que permitam haver um diagnóstico precoce da doença, melhor estadiamento e até mesmo a escolha do tratamento mais adequado àquele caso. A Figura 1 demonstra as alterações metabólicas que o câncer pode causar, fatores que podem alterar o metabolismo, além das aplicações clínicas e laboratoriais do metaboloma (SCHMIDT, et al, 2021).

Figura 1 - Explicação das alterações metabólicas no câncer, fatores que podem afetar o metabolismo e aplicações laboratoriais e clínicas do metaboloma.



Fonte: Traduzido de “*Metabolomics in Cancer Research and Emerging Applications in Clinical Oncology*” (SCHMIDT, et al, 2021)

O câncer, por possuir a capacidade de atingir diversos órgãos e tecidos do organismo, resulta em variadas apresentações da doença, cada qual com suas particularidades, métodos diagnósticos, estadiamento, tratamento e taxas de morbimortalidade. Por exemplo, o câncer de mama, no estágio localizado, possui uma sobrevida em 5 anos de 90%, ao passo que o câncer de pâncreas, nesse mesmo estágio, possui uma sobrevida de apenas 29%. (DEVITA, et al, 2018)

Tendo em vista as alterações metabólicas causadas pelo câncer, têm-se desenvolvidos estudos, utilizando o metaboloma para compreender melhor a etiologia, gerar um diagnóstico menos invasivo e mais precoce, além de uma melhor estadiamento da doença. Para tal fim, potenciais biomarcadores são identificados através de um perfil metabólico, que é a análise de um número de metabólitos pré-definidos para a investigação das vias bioquímicas desejadas. Isso é feito através da comparação dos perfis metabólicos de pacientes com câncer e pacientes de um grupo controle, onde não há doença, ou ainda, em pacientes que já

possuem a doença, onde perfis são traçados para avaliar a progressão da doença. (CHENG, et al, 2019)

Além do que já citado anteriormente, o metaboloma dentro da oncologia, pode prover informações acerca do risco de desenvolvimento da doença, resposta terapêutica, prognóstico do paciente, e também o risco de ressurgimento da patologia (CHENG, et al 2019).

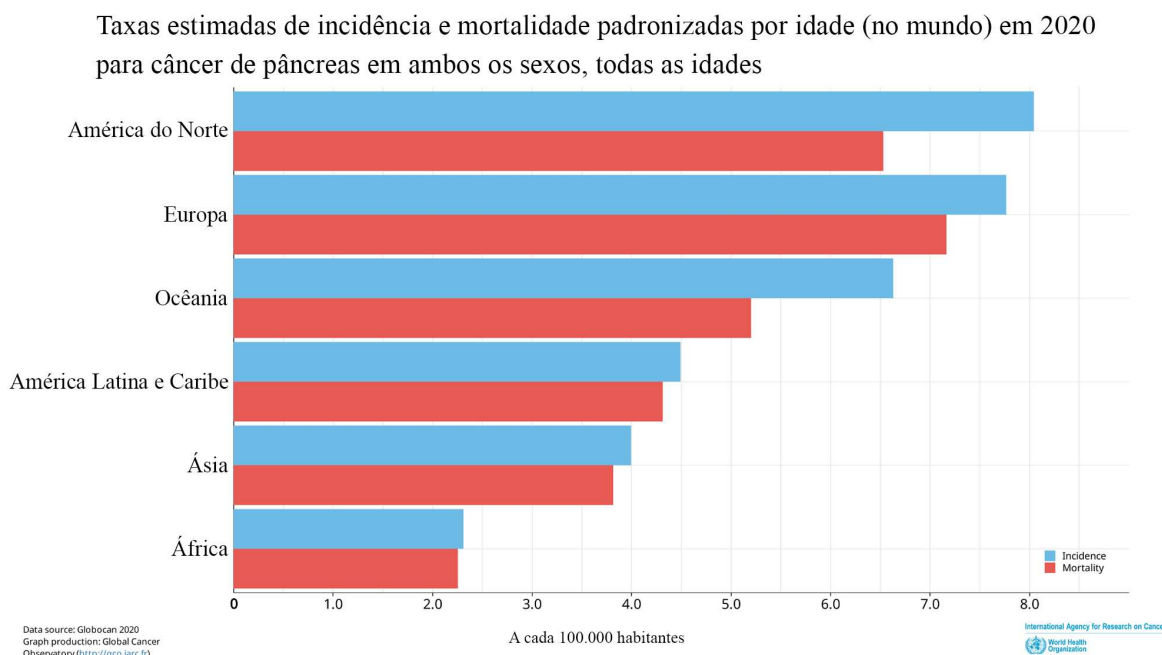
A técnica do metaboloma tem sido pesquisada para aplicação em diversos tipos de câncer, como o colorretal, próstata, fígado, pâncreas e de mama, por exemplo. No câncer colorretal, amostras de sangue, tecido, fezes e urina têm sido utilizadas para identificar possíveis biomarcadores atrelados à doença. Nas fezes, frutose, ácido linoleico e ácido nicotínico, são potenciais biomarcadores para a identificação da doença, ao passo que, na urina, hipurato, p-cresol, 2-aminobutirato, miristato, putrescina e quinurenato, são os biomarcadores que apresentam diferenças, quando comparados a um paciente saudável (CHENG, et al 2019).

Dada a alta mortalidade e sua incidência crescente, o câncer de pâncreas será melhor abordado no presente trabalho, com o fim de demonstrar como o metaboloma pode de fato, contribuir para que haja uma melhor abordagem da doença.

O câncer de pâncreas é um tumor maligno que geralmente se apresenta como adenocarcinoma pancreático, em cerca de 85% dos casos, e que é caracterizado por possuir um mal prognóstico, com uma sobrevida em cinco anos relativa de 10% aproximadamente (CAI, et al, 2020).

O artigo "Epidemiology of pancreatic cancer", escrito por Milena Ilic em 2016, relata que a incidência do câncer é praticamente idêntica a sua mortalidade, o que comprova sua alta mortalidade. Tal fato pode ser confirmado pelos números da GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*), em que no ano de 2020, houveram 495.773 novos casos de câncer pancreático no mundo e 466.003 óbitos. O Gráfico 1, gerado no site da GLOBOCAN, demonstra a incidência e mortalidade em cada continente em 2020, demonstrando o quão próximas são. O artigo também relata que a neoplasia maligna do pâncreas está entre as mais comuns de serem detectadas em estudos de autópsia (ILIC, et al, 2016).

Gráfico 1 - Demonstra a incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) do câncer de pâncreas a cada 100.000 habitantes em cada continente.



Fonte: Gráfico traduzido, gerado e retirado em GLOBOCAN, *Cancer Today*.

Com o passar das décadas, a incidência do câncer de pâncreas tem aumentado e há tendência de continuar aumentando. Isso se deve aos fatores de risco da doença, como idade, e fatores modificáveis como obesidade e tabagismo, tem crescido na população nos últimos anos e a tendência é que assim continue. Há uma estimativa, em que até 2040, a incidência desse câncer seja 30% maior do que é hoje (CAI, et al, 2020),

O câncer possui maior incidência e mortalidade em homens, afetando mais a população de países desenvolvidos, devido a fatores dietéticos e também ao aumento da expectativa de vida global, que é maior nesses países (CAI, et al, 2020).

Fatores de risco como tabagismo, diabetes mellitus tipo II (em especial, pacientes recém diagnosticados ou com a doença por mais de 3 anos), obesidade (Índice de Massa Corporal acima de 30), alcoolismo (acima de 6 doses por dia), tem tido sua incidência aumentando globalmente, o que resulta em um maior risco ao desenvolvimento da doença (KLEIN, 2021).

Pacientes com pancreatite, especialmente a crônica ou formas recorrentes, possuem um risco moderadamente maior de desenvolverem o câncer, onde, aproximadamente 4% dos pacientes com pancreatite crônica chegam a desenvolver a doença (ILIC, et al, 2016).

É importante ressaltar também a hereditariedade como fator de risco. Os genes BRCA2 e BRCA1, quando mutados, aumentam o risco de desenvolvimento da doença, assim

como os genes PALB2, ATM, CDKN2A. A pancreatite hereditária (chegando a 30-40% aos 70 anos) também é um importante fator de risco, e que quando aliado ao tabagismo, pode ter início até 20 anos antes do esperado (KLEIN, 2021).

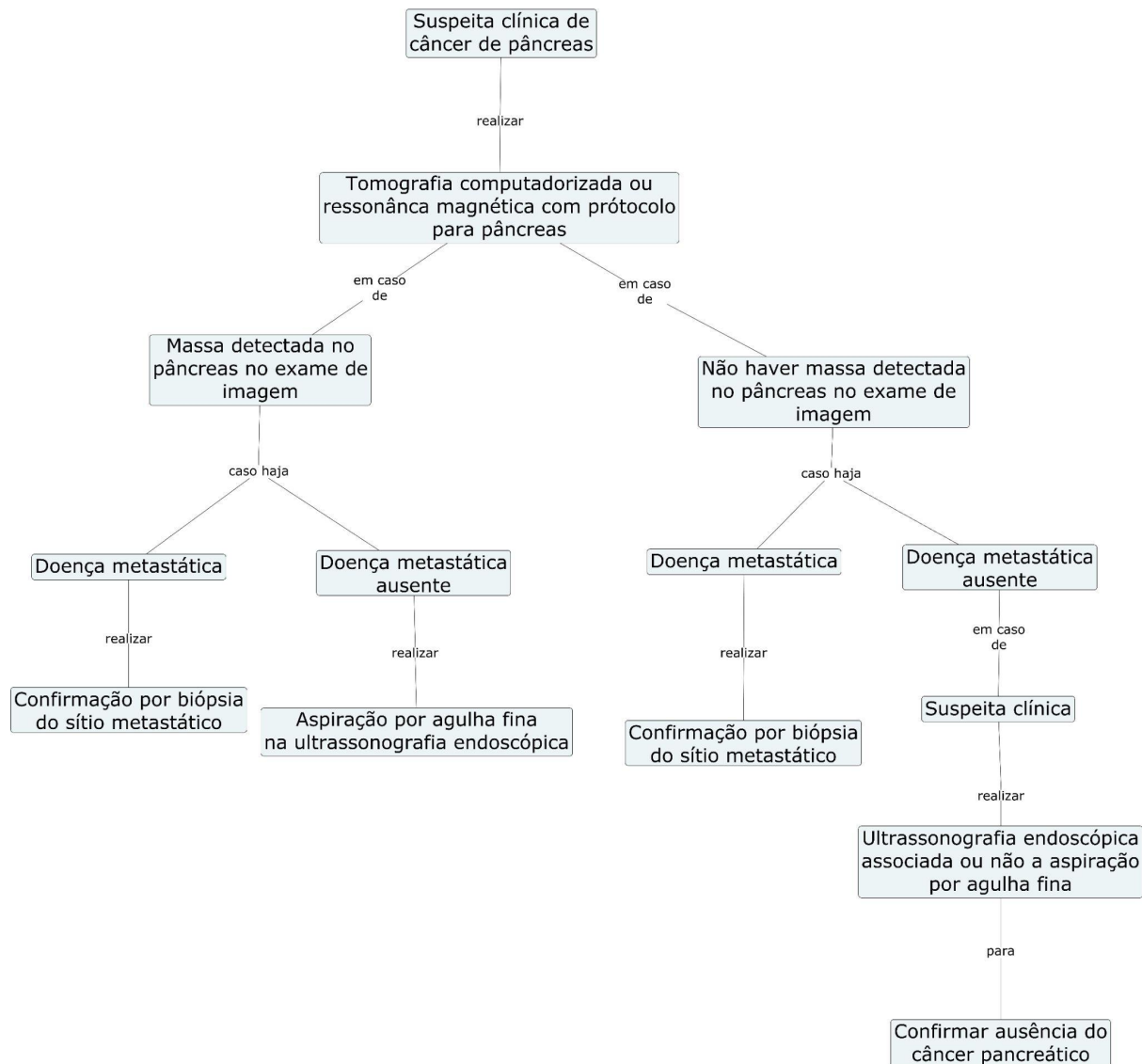
O câncer de pâncreas dificilmente é diagnosticado precocemente, sendo apenas cerca 9,7% diagnosticados em estágio local, onde a maioria dos casos já se encontra em metástase no momento do diagnóstico, o que dificulta um tratamento curativo, tendo em vista que existem poucas opções para esses casos, sendo a principal delas a ressecção cirúrgica do tumor (ILIC, et al, 2016).

A dificuldade de realizar um diagnóstico precoce, é que a maioria dos pacientes é assintomático até que a doença tenha alcançado um estágio mais avançado. O câncer, quando sintomático, apresenta perda ponderal, icterícia, má absorção intestinal, dor, dispepsia e náusea, possuindo apresentação semelhante a algumas outras doenças (ZHANG, et al., 2018).

Atualmente não existem recomendações para que haja um rastreio da doença na população geral, visto a baixa incidência e não haverem métodos de rastreios que tenham fácil execução, preço acessível e sejam precisos. Contudo, em casos nos quais o paciente possui parentes próximos com a doença, que possuem mutações no genes que elevam o risco ou com história pessoal de cisto pancreático, tem indicação de realizarem exames para detecção precoce do câncer (ZHANG, et al., 2018).

O diagnóstico do câncer é feito segundo o Fluxograma 1, em que representa um algoritmo de como deve ser feita a investigação da patologia.

Fluxograma 1 - Demonstra o seguimento para diagnóstico do paciente com suspeita de câncer de pâncreas



Fonte: Autor, 2022, construído com base no artigo “*Challenges in diagnosis of pancreatic cancer*” escrito por ZHANG, et al., 2018

Atualmente, tem-se a tomografia computadorizada como melhor método para avaliar um paciente com suspeita de câncer de pâncreas. É o exame inicial na investigação da doença, sendo também importante para o estadiamento do tumor, já que permite a visualização de importantes artérias e veias, como a artéria mesentérica superior, veia mesentérica superior e o eixo celíaco, que promove informação sobre invasão vascular e pode prever a ressecabilidade do tumor, com uma sensibilidade de 89% e especificidade entre 91% (LEE, et al., 2014).

A tomografia computadorizada (TC) também pode diagnosticar metástases intra-abdominais e no pulmão, comumente presentes na doença avançada. De forma geral, é

um procedimento não invasivo e relativamente barato de ser realizado, trazendo poucos riscos ao paciente, sendo no geral a exposição a radiação e o risco de nefrotoxicidade quando realizada com contraste a base de iodo (ZHANG, et al., 2018).

A tomografia por emissão de pósitrons (PET, do inglês: “*Positron Emission Tomography*”) ou PET-CT/PET-SCAN, não possui valor diagnóstico no câncer de pâncreas, contudo, auxilia no estadiamento da doença e tem demonstrado potencial em avaliar a resposta do tumor a radio e quimioterapia (CHU, et al., 2017).

Quando a tomografia computadorizada não consegue realizar o diagnóstico ou são necessários mais dados para o estadiamento da doença, faz-se uso da ressonância magnética, que permite detectar tumores em estágios mais precoces, além de promover uma análise morfológica das alterações no parênquima do pâncreas, assim como no duto pancreático. A vantagem da ressonância é a de poder ser utilizada em pacientes com uma função renal diminuída ou sensível ao contraste iodado. A ressonância magnética possui sensibilidade e especificidade semelhante à TC. Sua vantagem em relação a tomografia, é poder diferenciar tumores pancreáticos de massas formadas por pancreatite além de ter a capacidade de identificar tumores menores que 2 cm. A ressonância também é utilizada para realizar rastreio em paciente com alto risco da doença, visto que tem maior acurácia em detectar lesões císticas precursoras (CHU, et al., 2017),

A ultrassonografia endoscópica (EUS, do inglês: “*Endoscopic Ultrasound*”) , que é feita sob sedação, através de uma endoscopia digestiva alta, é um procedimento seguro e bem tolerado. Essa técnica, permite imagens detalhadas de alta resolução do pâncreas e dos vasos linfáticos que o cercam e também o lobo esquerdo do fígado. A aspiração por agulha fina (FNA, do inglês: “*Fine Needle Aspiration*”), com o fim de se obter um diagnóstico citopatológico, pode ser realizada em conjunto (ZHANG, et al., 2018).

A EUS-FNA, tem boa acurácia não somente para diagnosticar tumores malignos, mas também verificando a etiologia de massas sólidas do pâncreas, com um sensibilidade de 85% e especificidade de 96%. Em alguns estudos comparativos com a CT, a EUS-FNA se mostrou superior na detecção de tumor primário e estadiamento com a ausência de uma lesão de massa focal na EUS, excluindo câncer de pâncreas de forma confiável, independentemente da apresentação clínica, com um valor preditivo negativo de 100% (ZHANG, et al., 2018).

As complicações da EUS-FNA, que tem uma chance em média de 0,85% de ocorrer, incluem infecção pancreatite autolimitada, o “tumour seeding”, que é a chance de haver implante do tumor em outra localidade ao decorrer da aspiração e da perfuração (ZHANG, et al., 2018).

A colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) pode ser utilizada para prover uma drenagem biliar no caso do câncer obstrutivo da cabeça do pâncreas e também para obter citologia do ducto biliar e pancreático em pacientes com câncer mais invasivo (ZHANG, et al., 2018).

O Antígeno de Câncer 19-9, (CA19-9, do inglês: “*Carbohydrate antigen 19-9*”), é o único biomarcador sanguíneo utilizado na rotina para câncer de pâncreas, tanto para diagnóstico quanto para seguimento do paciente. Contudo, o CA19-9 pode ser expresso em doenças hepatobiliares e pancreáticas, o que diminui seu valor diagnóstico. Em pacientes sintomáticos, o CA19-9 tem uma sensibilidade de 79% e sua especificidade fica entre 81-90% (ZHANG, et al., 2018). O biomarcador tem maior valor como parâmetro para avaliar o prognóstico do paciente e para monitorização após a ressecção do tumor (AL-SHAHERI, et al., 2021).

Importante citar, que o CA19-9 pode não estar presente em 5-10% dos pacientes, devido a falta de atividade da fucosiltransferase em indivíduos que têm mutações homozigóticas no gene FUT3 (AL-SHAHERI, et al., 2021).

Além do CA19-9, o Antígeno de câncer 242 (CA242, do inglês: “*Carbohydrate antigen 242*”) e o antígeno carcinoembrionário (CEA, do inglês: “*Carcinoembryonic antigen*”) também são utilizados como biomarcadores, contudo, não tem uma performance similar ao CA19-9 (AL-SHAHERI, et al., 2021).

Com os baixos valores diagnósticos dos biomarcadores já existentes e tendo em vista o caráter metabólico do câncer, estudos vêm sendo realizados para identificar um conjunto de biomarcadores metabólicos que sejam capazes de diagnosticar e estadiar o câncer com alta sensibilidade e especificidade. Considerando as características metabólicas de um tumor e lançando mão de técnicas associadas ao estudo do metaboloma, que sejam capazes de identificar conjuntos de biomarcadores que têm o potencial de diagnosticar e/ou auxiliar no prognóstico da doença.

3.Objetivos

O presente trabalho tem por objetivo geral, verificar os possíveis conjuntos de novos biomarcadores utilizando o metaboloma, que possuam aplicação no diagnóstico e no prognósticos do câncer de pâncreas.

Os objetivos específicos do trabalho são:

- Conhecer o estudo metabolômico;
- Conhecer o câncer como uma doença que causa alterações metabólicas;
- Conhecer os fatores que levam à crescente incidência e alta mortalidade do câncer de pâncreas;
- Conhecer os metabólitos com potencial de serem utilizados como biomarcadores.

4. Metodologia

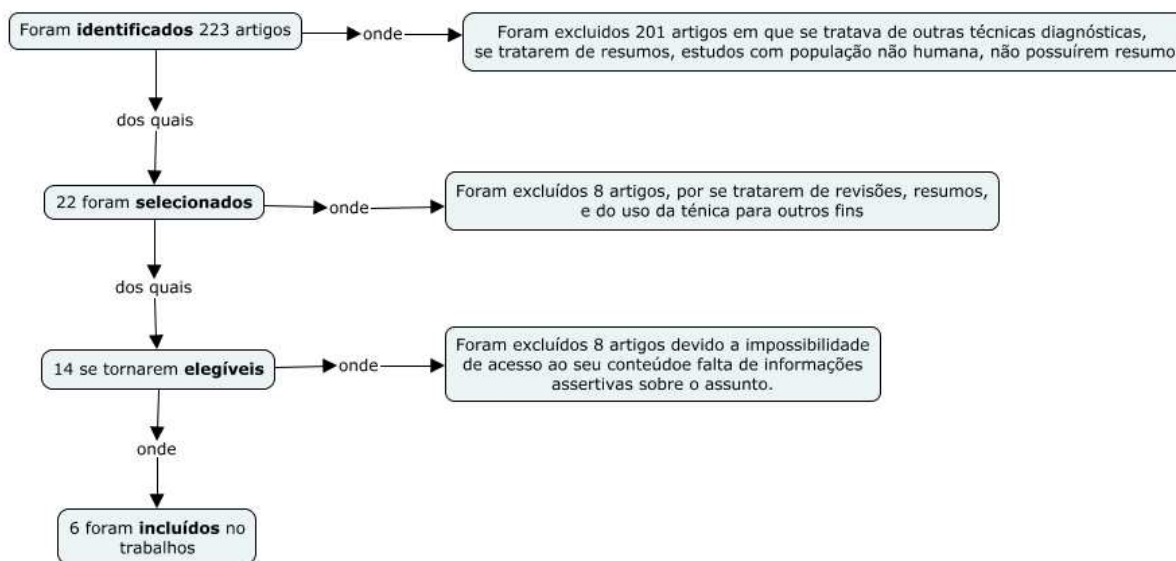
A metodologia aplicada neste trabalho é a revisão narrativa, que visa explicar como o estudo metabolômico pode ser utilizado no manejo do paciente com câncer de pâncreas e quais são os potenciais biomarcadores já em pesquisa. A construção do presente trabalho, foi feita nas seguintes etapas: elaboração da questão de pesquisa, pesquisa dos estudos primários, seleção de estudos, extração de dados, análise e síntese dos resultados e apresentação.

Para auxiliar na busca e formulação da questão do trabalho, foi utilizado o método PICO, que é um acrônimo para: População a ser estudada, Intervenções a serem estudadas, Comparador e Outcome (resultados esperados). Assim, a questão norteadora para construção do trabalho foi: “quais os potenciais biomarcadores que podem ser utilizados para diagnóstico e prognóstico do câncer de pâncreas?”

4.1. Identificação e seleção dos estudos

Para que a questão norteadora fosse respondida, foram pesquisados artigos em base de dados e motores de pesquisa como *PubMed*, *MEDLINE* e *ScienceDirect*, utilizando termos relacionados ao tema, como: pancreatic cancer, metabolomics in cancer diagnosis, pancreatic cancer diagnosis. Inicialmente, foram identificados 223 artigos na base de dados *NIH*, dos quais 201 artigos foram excluídos, por tratarem de outras técnicas diagnósticas, se tratarem de resumos, estudos com população não humana, não possuírem resumo ou não. Dessa forma, foram selecionados 22 artigos, dos quais 8 foram excluídos por se tratarem de revisões ou tratarem do uso da metabolômica para outros fins. Dos 14 artigos elegíveis, 8 foram excluídos por falta de acesso ao seu conteúdo e falta de informações assertivas sobre o tema. Por fim, 6 artigos foram incluídos na análise. Foram também consultadas fontes de dados como o GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*), livros da literatura médica e sites como o da OMS (organização mundial da saúde), para obtenção de dados e construção do trabalho. O Fluxograma 2, resume todo o processo para seleção de trabalhos.

Fluxograma 2 - Fluxograma para seleção dos estudos



Fonte: Autor, 2022

Na construção do texto, foram formuladas perguntas norteadoras, como: O que é um estudo metabolômico e como é realizado? O que é câncer? Por que câncer de pâncreas? Como é realizado o diagnóstico do câncer de pâncreas? Como o estudo metabolômico pode auxiliar no diagnóstico e estadiamento do câncer de pâncreas? Quais os possíveis novos biomarcadores encontrados em estudos metabolômicos? Para tornar a escrita mais objetiva e organizada.

4.2.Extração dos dados

Quanto à análise dos dados dos artigos incluídos, foi utilizado o gerenciador de referências Mendeley, para gerir os artigos e também realizar sua leitura, onde partes de interesse foram marcadas para posterior análise e confecção do texto.

Foi confeccionada uma tabela, onde seriam colocados os dados de interesse, onde nela contava: Nome do artigo, número de pacientes que participaram da pesquisa, tipo de amostra analisada, tipo de metaboloma utilizada (“*targeted*” ou “*untargeted*”), escolha da técnica (NMR ou MS), conjunto de metabólitos encontrados e aplicação dos grupos de metabólitos (diagnóstico, estadiamento e demais).

5.Resultados

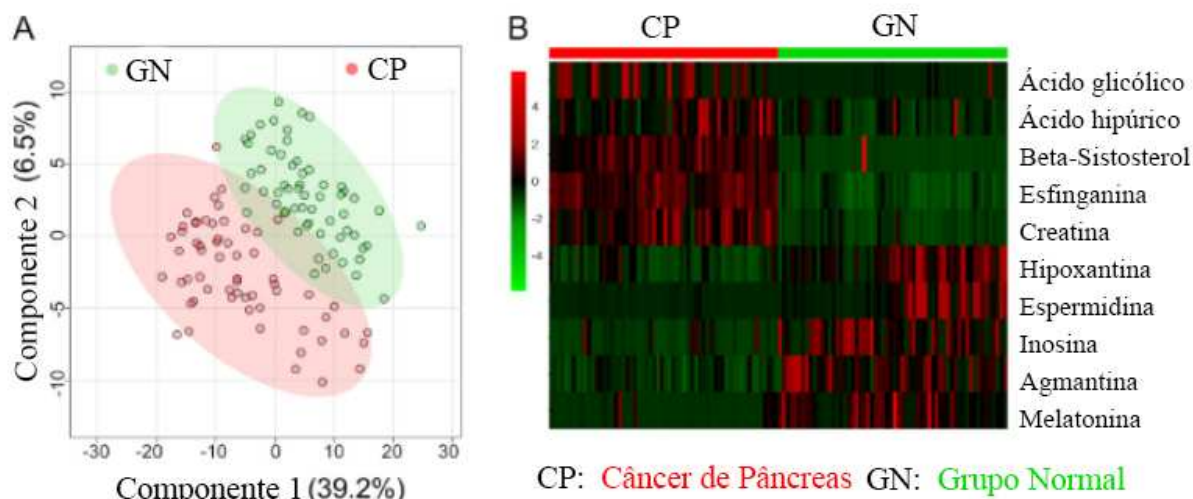
O artigo “*Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis*” escrito por Xialin Luo, et al, 2020, usa como base o efeito Warburg ou glicólise aeróbica, que é um fenômeno em que células tumorais convertem a glicose a ácido láctico mesmo na presença de oxigênio, ao contrário de células normais que realizam o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa. O artigo também considera, que existem evidências de que a glutamina facilita a progressão do tumor pancreático através de uma via metabólica regulada pelo oncogene KRAS.

Esse estudo foi realizado em 120 pacientes, onde 60 com o diagnóstico de câncer de pâncreas e 60 pacientes saudáveis. Dos quais foram colhidas amostras plasmáticas, antes da cirurgia de ressecção no caso dos pacientes já com câncer (LUO, et al., 2020).

O método adotado nesse estudo foi um metaboloma “*targeted approach*” feito por espectrometria de massa, para analisar grupos de interesse das amostras coletadas, plasma, tecidual e celular. Seis amostras pareadas de tecido de câncer pancreático e tecido não canceroso adjacente foram fornecidas pelo Southwest hospital (Chongqing, China), para haver comparações com os biomarcadores encontrados no plasma (LUO, et al., 2020).

Foram verificadas alterações significativas em cerca de 28 metabólitos quando comparados um paciente saudável com um paciente com o câncer, sendo que 18 deles estavam elevados em pacientes com neoplasia. Para formular a identidade metabólica do câncer de pâncreas, os 10 metabólitos com maior alteração foram escolhidos, sendo eles: ácido glicocólico, agmatina, melatonina, betasitosterol, esfinganina, hipoxantina, espermidina, ácido hipúrico, creatina e inosina. A partir desses metabólitos, foi possível determinar quais processos tiveram seu metabolismo alterado, sendo eles: metabolismo de purinas, glicinas, serina, arginina e prolina, alterações na biossíntese de esteróides e alterações no metabolismo de esfingolipídeos e da bile. A Figura 2, representa a análise metabólica de pacientes com câncer e saudáveis, além de mostrar uma visão geral dos 10 metabólitos mais alterados (LUO, et al., 2020).

Figura 2 - A: representa a análise metabólica de pacientes com câncer e pacientes saudáveis; B: visão geral em um mapa de calor dos 10 principais metabólitos diferenciais onde suas alterações podem distinguir pacientes com a doença de pacientes saudáveis.



Fonte: Traduzido de “Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis” (LUO, et al., 2020)

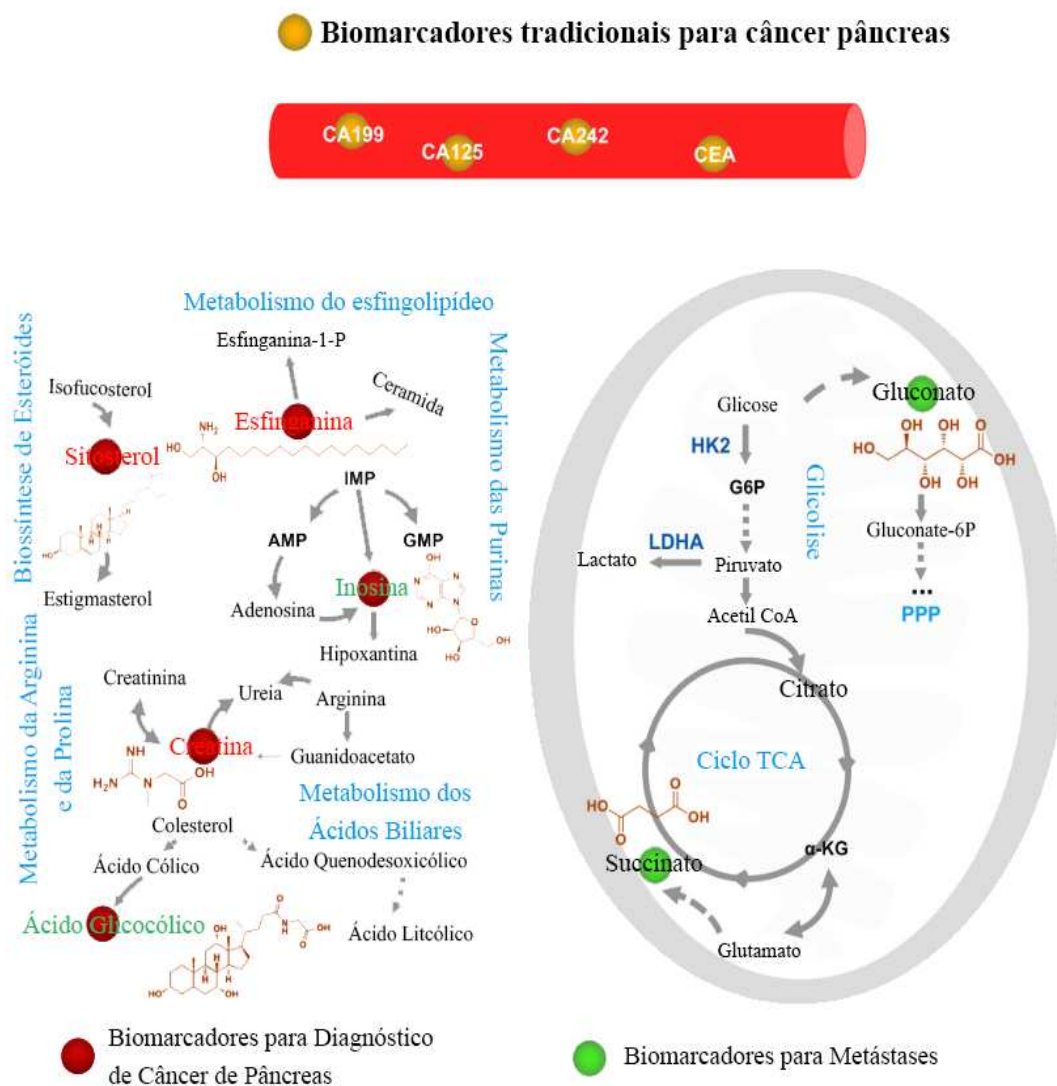
Levando em conta que metabólitos do plasma são sintetizados e circulam por todo o corpo, apenas metabólitos teciduais circulam no sangue e tem capacidade de assumir o papel de biomarcadores que possam diagnosticar o estado fisiológico e patológico do pâncreas. Dessa forma, foram colhidas amostras de tecido de um pâncreas com câncer e de tecidos adjacentes saudáveis, para verificar quais metabólitos podem ser utilizados com segurança como biomarcadores para diagnosticar o câncer de pâncreas na clínica, sendo: creatina, inosina, beta-sitosterol, esfinganina e ácido glicólico (LUO, et al., 2020).

O estudo também conseguiu identificar quais metabólitos se alteram independente de idade e gênero, o que faz com que possam ser utilizados como biomarcadores que podem diagnosticar a doença independente de gênero e idade, sendo eles: ácido glicólico, beta-sitosterol, esfinganina e inosina. Os metabólitos utilizados como biomarcadores para o diagnóstico do câncer, mostraram-se mais sensíveis e específicos que o já utilizados, como CA19-9, CA125, CA242 e o CEA, visto que no estudo proposto, os biomarcadores tradicionais falharam em diagnosticar 9 dos pacientes, ao passo que os biomarcadores proposto pelo estudo conseguiram identificar a doença em todos os pacientes. A Figura 3

ilustra os biomarcadores utilizados atualmente, e agrupa quais os principais biomarcadores para diagnóstico da doença e para diagnóstico de doenças metastáticas (LUO, et al., 2020).

Tendo em vista que a falta de um método diagnóstico efetivo para metástase contribui para a alta mortalidade do câncer, também foi estudado se haviam biomarcadores metabólitos que conseguissem realizar o diagnóstico. Houve dificuldade em se identificar metabólitos com alterações que fossem capazes de distinguir o estágio em que o câncer se encontrava, contudo. Quando o estudo classificou os pacientes em metastáticos e não metastáticos, foram encontradas alterações significativas de ácido succínico e ácido glucônico, o que demonstra seu potencial para diagnosticar metástase do câncer de pâncreas (LUO, et al., 2020).

Figura 3 - Demonstração dos biomarcadores tradicionais e os biomarcadores encontrados pelo estudo.



Fonte: Traduzido de “*Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis*” (LUO, et al., 2020).

O artigo “*Metabolomics identifies serum and exosomes metabolite markers of pancreatic cancer*” de Lianyuan Tao, et al, 2019, utiliza o metaboloma por espectrometria de massa para identificar biomarcadores capazes de realizar o diagnóstico de câncer. O estudo tem foco no exossomas que são pequenas vesículas extracelulares, secretadas por uma ampla variedade de células, incluindo células tumorigênicas. Os exossomas contêm uma quantidade numerosa de moléculas biologicamente importantes, como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos, que agem como transporte celular, transmitindo sinais e mediando a comunicação celular.

Existe um número crescente de evidências, que demonstram que os exossomas são uma fonte rica de biomarcadores no diagnóstico e prognóstico do câncer, já que estão envolvidos em processos fisiológicos e patológicos, como a transdução de sinal, resposta imune, na gênese, progressão e invasão e metástase do tumor (TAO, et al., 2019).

O estudo foi realizado pela análise de amostras colhidas de duas coortes, sendo uma de paciência com o câncer de pâncreas, sendo 22 ao total, onde 11 homens e 11 mulheres entre 31 e 84 anos e a outra de pacientes saudáveis, inicialmente 17, sendo 9 homens e 8 mulheres entre 27 e 85 anos para análise para análise lipidômica não direcionada e posteriormente 40, incluindo os 17 primeiros, sendo no total 22 homens e 22 mulheres, para quantificação de lipídios direcionada. Foram colhidas 3 tipos de amostras: sangue periférico de pacientes com câncer de pâncreas, sangue para-canceroso de pacientes com câncer e sangue periférico de pacientes saudáveis (TAO, et al., 2019).

Vale lembrar que os pacientes com câncer foram acompanhados de Dezembro de 2015 até 31 de Dezembro de 2017 ou sua morte, e todos tinham seu diagnóstico clinicamente e patologicamente confirmados, assim como seu estadiamento determinado de acordo com o *American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th Edition*. Os pacientes eram acompanhados com um intervalo de 3 meses, onde havia exame físico, laboratorial para avaliar os biomarcadores, e exames de imagem, sendo tomografia computadorizada, ressonância magnética e em alguns casos o PET-CT (TAO, et al., 2019).

As amostras passaram primeiramente por uma análise lipidômica não direcionada por espectrometria de massa, para verificar o perfil de expressão lipídica no exossomas derivados dos três grupos de amostras. Nessa primeira análise, foram identificados lipídios significativamente desregulados entre os grupos, que foram revelados através de uma análise

estatística. Dessa forma, foi formulado um análise direcionada a 61 lipídios e utilizada para os exossomas sanguíneos e as amostras dos três grupos (TAO, et al., 2019).

Dos 61 lipídios utilizados para a análise direcionada, 37 foram identificados com diferenças significativas em pacientes com o câncer e pacientes saudáveis. Dos 37 lipídios exossomais, 13 possuem associação significativa com o CA19-9 sérico, e 5 deles com o CA242 e o CEA. Três lipídios mostraram uma forte e significativa associação com características clínico patológicas. A Lisofosfatidilcolina(22:0) (LysoPC, do inglês: “*Lysophosphatidylcholine*”), possui associação com o estágio do tumor, CA19-9, CA242, diâmetro do tumor e com a contagem de linfócitos, já a Plasmêniofosfatidilcolina(36:0) (Plasményl-PC, do inglês: “*Plasménylphosphatidylcholine*”), está associado ao estágio do tumor, CA19-9, CA242, CEA e também a contagem de linfócitos e por fim, o [Fosfatidiletanolamina(34:1); Fosfatidiletanolamina(16:0/22:2)] (PE, do inglês: “*Phosphatidylethanolamine*”) estava não somente associado ao estágio do tumor, CA19-9, CA242, mas também a sobrevida geral do paciente (TAO, et al., 2019).

O estudo também determinou não haver grandes diferenças entre as amostras coletadas do sangue periférico do paciente e do sangue para-tumoral, possuindo achados semelhantes. Também foi verificado, que o [PE 34:1; PE (16:0/18:1)] possui uma especificidade de 95,8% e sensibilidade de 85,6%, sendo superior ao CA19-9 que quando tem o valor de 37 U/mL como valor de referência, possui 83,9% de especificidade e 76,4% sensibilidade. Assim, os biomarcadores metabólicos identificados, têm o potencial de aprimorar o diagnóstico e o prognóstico e podem até serem utilizados em um rastreio geral para câncer de pâncreas (TAO, et al., 2019).

No artigo “*Metabolomic profiling for biomarker discovery in pancreatic cancer*” escrito por KAUR, et al., 2011, foram utilizados 5 pares de tecido pancreático, saudável e com neoplasia para análise, através de um “targeted approach”, utilizando a técnica espectrometria de massa, para obtenção de dados.

Foram detectados 9 metabólitos com valores discrepantes entre as amostras saudáveis e com câncer, sendo eles: succinato, taurina, ácido málico, uridina, glutatona, UDP-N-acetil-D-glucosamina, nicotinamida adenina dinucleotídeo, 5'-UMP (Monofosfato de uridina ou ácido 5'-uridílico, em inglês: “*Uridine monophosphate/5'-uridylic acid*”) e AMP (monofosfato de adenosina, em inglês: “*Adenosine monophosphate*”). O trabalho não trata sobre testagem diagnóstica ou prognóstica, apenas trata da identificação do grupo de metabólitos que poderia ser utilizado para esses fins e enfatiza o potencial e necessidade da aplicação para diagnóstico e prognóstico (KAUR, et al., 2011).

O trabalho “*LS-MS/MS and SWATH based serum metabolomics enables biomarker discovery in pancreatic cancer*” escrito por XIONG, et al., 2020, foram colhidas 34 amostras sanguíneas, onde 10 pertenciam a pacientes saudáveis, 10 a pacientes com doença benigna (sendo, 3 a pacientes com pancreatite, 4 a pacientes com cistos pancreáticos, 3 a pacientes com tumores benignos) e 14 a pacientes com câncer de pâncreas. O estudo foi feito através de um metaboloma via espectrometria de massa, no qual verificou 8 potenciais metabólitos para construção de um modelo diagnóstico, sendo eles: ácido taurocólico, ácido glicólico, ácido glicoquenodexicólico, L-glutamina, ácido glutâmico, L-fenilalanina, L-triptofano e L-arginina (KAUR, et al., 2011).

O artigo também cita quais as principais vias metabólicas dos metabólitos alterados, relacionadas ao câncer de pâncreas, sendo: metabolismo de D-glutamina e D-glutamato, biossíntese de arginina, biossíntese de aminoácidos e o metabolismo de fenilalanina. Por fim, o trabalho concluiu que ácidos biliares, em especial o ácido taurocólico, foi identificado, verificado relativamente quantificado como um potencial biomarcador com poder de distinguir as amostras de pacientes saudáveis de pacientes com neoplasia. Também foi concluído que o perfil de aminoácidos nas amostras sorológicas de câncer de pâncreas, pode promover um diagnóstico sanguíneo para verificar a prevenção do câncer ou de lesões precursoras da neoplasia (KAUR, et al., 2011).

O artigo “*Discovery of Pancreatic Adenocarcinoma Biomarkers by Untargeted Metabolomics*” por BLÁZQUEZ, et al., 2020. Foram utilizadas amostras sanguíneas no estudo foram coletadas de pacientes com câncer de pâncreas irresssecável (59) e de pacientes saudáveis (60) para controle, totalizando 119 amostras. Foi utilizado o metaboloma do tipo “untargeted approach”, para identificar potenciais biomarcadores do câncer, com a análise feita pela técnica de espectrometria de massa.

O estudo, através dos metabólitos desregulados encontrados, identificou que quatro vias metabólicas estavam desreguladas, sendo elas: metabolismo do ácido linoleico, metabolismo de glicolipídeos, metabolismo glicerofosfolipídios e da biossíntese de ácidos biliares primários. Os nove principais metabólitos alterados entre amostras saudáveis e de câncer de pâncreas, foram: Fosfatidilserina(12:0/15:1) (PS, do inglês: “Phosphatidylserine”), Triacilglicerol(22:2/15:0/18:3) (TG, do inglês: “Triacylglycerol”), ácido 4-oxo-retinóico, sulfato de androsterona, Lisofosfatidiletanolamina(18:2) (LysoPE, do inglês: “Lysophosphatidylethanolamine”), fenilalanilfenilalanina, all-trans-Decaprenildisfosfato, LysoPC(18:2) e Sulfato de dehidroepiandrosterona (BLÁZQUEZ, et al., 2020).

O artigo “*A Novel Serum Metabolomics-based Diagnostic Approach to Pancreatic Cancer*” escrito por Kobayashi, et al., 2013, descreve um estudo, realizado em duas etapas, onde inicialmente, 85 pacientes foram analisados, sendo eles 43 pacientes com câncer de pâncreas, 42 pacientes saudáveis, para identificar possíveis biomarcadores, sendo chamado de “Training set” posteriormente, envolvendo 106 pacientes, onde 42 possuíam câncer de pâncreas, 41 eram saudáveis e 23 pacientes com pancreatite crônica. As amostras sanguíneas foram colhidas e preparadas para amostras sorológicas para realização do estudo.

O metaboloma foi realizado no modo “*targeted approach*”, que teve como alvo, principalmente metabólitos solúveis em água, utilizando a técnica através de espectrometria de massa (KOBAYASHI, et al., 2013).

Inicialmente, foram identificados 159 metabólitos no soro dos pacientes e 113 desses compostos foram excluídos devido à sua instabilidade. Dos 45 metabólitos restantes, após análises semiquantitativas, 18 demonstraram alterações significativas entre pacientes saudáveis e com câncer de pâncreas. Todos os 18 marcadores tiveram seu valor diagnóstico calculado, como marcadores individuais para a doença, e o 1,5-anido-D-glucitol demonstrou maior sensibilidade e especificidade dentre eles, sendo, 86,0% e 71,4% respectivamente (KOBAYASHI, et al., 2013).

Para obter um modelo diagnóstico mais preciso, foram conduzidas análises multivariadas de 45 metabólitos, onde 4 foram selecionados para compor o modelo diagnóstico: sendo eles 1,5-anidro-d-glucitol, xylitol, histidine e o inositol (KOBAYASHI, et al., 2013).

Após a aplicação do modelo no “*validation set*”, foi verificada uma sensibilidade e especificidade do modelo, alcançaram os valores de 86,0% e 88,1% respectivamente, sendo superiores ao do CA19-9, sendo 62,8% e 100% e que do CEA, sendo 44,2% e 97,6%. O modelo também demonstrou uma boa acurácia em estágios precoces do câncer, e mostrou ter um valor falso positivo em casos de pancreatite crônica, menor que o do C19-9 e CEA, sendo 17,4%, 30,4% e 43,5% respectivamente (KOBAYASHI, et al., 2013).

A Tabela 1 contém um resumo dos principais elementos analisados nos estudos.

Tabela 1 - Síntese dos principais trabalhos utilizados na revisão

Nome do Trabalho	Número de Amostras	Tipo de Amostra Analisada	Tipo de Análise	Técnica Utilizada	Metabólitos	Aplicação

<i>Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis</i> (LUO, et al., 2020)	120 amostras	Sangue Periférico e Sangue Para Canceroso	<i>Targeted Approach</i>	Espectrometria de Massa	Ácido glicocólico; Agmatina; Melatonina; Beta-sitosterol; Esfinganina; Hipoxantina; Espermidina; Ácido hipúrico; Creatina; Inosina;	Diagnóstico: Ácido glicólico, beta-sitosterol, creatina, esfinganina e inosina Identificar metástase: Inosina
<i>Metabolomics identifies serum and exosomes metabolite markers of pancreatic cancer</i> (TAO, et al., 2019)	39 amostras inicialmente, chegando a 62	Sangue Periférico	<i>Untargeted Approach</i> , seguida de <i>Targeted Approach</i>	Espectrometria de massa	LysoPC (22:00;) Plasményl-PC (36:0); [PE (34:1; PE (16:0/22:2)];	Diagnóstico e estadiamento
<i>Metabolomic profiling for biomarker discovery in pancreatic cancer</i> (KAUR, et al., 2012)	5 pares de amostras, totalizando 10	Tecido pancreático	<i>Targeted Approach</i>	Espectrometria de massa	Succinato; Taurina; Ácido málico; Uridina; Glutaciona; UDP-N-acetil-D-glucosamina; Nicotinamida adenina dinucleotídeo; 5'-UMP; AMP;	Perfil metabólico
<i>LS-MS/MS and SWATH based serum metabolomics enables biomarker discovery in pancreatic cancer</i> (XIONG, et al., 2020)	34 amostras	Sangue periférico		Espectrometria de massa	Ácido taurocólico; Ácido glicocólico; Ácido glicoquenodexicólico; L-glutamina; Ácido glutâmico; L-fenilalanina; L-triptofano; L-arginina;	Identificação das vias metabólicas afetadas Potenciais biomarcadores para diagnóstico
<i>Discovery of Pancreatic Adenocarcinoma Biomarkers by Untargeted Metabolomics</i> (MARTÍN-BLÁZQUEZ, et al., 2020)	119 amostras	Sangue periférico	<i>Untargeted Approach</i>	Espectrometria de massa	PS (12:0/15:1); TG (22:2/15:0/18:3); Ácido 4-oxo-retinóico; Sulfato de androsterona; LysoPE (18:2); Fenilalanilfenilalanina; All-trans-Decaprenildisfosfato; LysoPC (18:2); Sulfato de dehidropiandosterona;	Identificação das vias metabólicas afetadas
<i>A Novel Serum Metabolomics-based Diagnostic Approach to Pancreatic Cancer</i> (KOBAYASHI, et al., 2013)	85 amostras inicialmente, chegando a 106	Sangue periférico	<i>Targeted Approach</i>	Espectrometria de massa	1,5-anidro-d-glucitol; Xylitol; Histidina; Inositol;	Formulação de modelo diagnóstico

Fonte: Autor, 2022

6. Discussão

Tendo em vista os vários metabólitos encontrados nos trabalhos analisados, nota-se sua heterogeneidade nos resultados dos diversos trabalhos, contudo, o conjunto de alguns constitui o mesmo fim, realizar o diagnóstico do câncer de pâncreas. Tal fato em alguns estudos, deve-se ao foco nas partículas estudadas, como por exemplo, alguns têm foco nos metabólitos encontrados no plasma sanguíneo, enquanto outros, exploram os metabólitos encontrados em exossomas e no próprio tecido cancerígeno.

Dentre os estudos analisados, apenas o ácido glicocólico aparece repetidamente em dois estudos, que pode sugerir que os ácidos biliares estão fortemente atrelados, visto que no artigo "*LC-MS/MS and SWATH based serum metabolomics enables biomarker discovery in pancreatic cancer*" de Xiong, et al., 2020, vários outros sais biliares também são listados como relevantes, sendo encontrados em concentrações aumentadas quando comparados a amostras de pacientes saudáveis, para formulação de um novo modelo diagnóstico.

Xiong também sugere, que como a maioria dos tumores pancreáticos se localizarem na cabeça da glândula, que se localiza perto do duto biliar, pode haver forte relação dos ácidos biliares com o câncer. Também é sugerido que os baixos valores de alguns aminoácidos, como triptofano, fenilalanina, arginina, glutamina e ácido glutâmico, podem estar relacionados com o aumento da atividade metabólica da glutaminólise e glicólise no câncer, o que pode refletir na elevado consumo geral do suprimento sistêmico de aminoácidos. O autor também sugere, que o perfil sérico de aminoácidos pode gerar um sensível diagnóstico sanguíneo da presença do câncer e também das suas lesões precursoras.

Outro ponto a se discutir, é que o artigo "*Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis*" escrito por LUO, et al., 2020, inicialmente utiliza o efeito Warburg para guiar seu estudo. Contudo, em seus resultados, foram detectados níveis aumentados tanto de succinato e gluconato, que são importantes intermediários do ciclo dos ácido tricarboxílico, parte do metabolismo aeróbico da glicose para geração de energia. Tal fato, contraria o efeito Warburg, o qual determina que o tumor tem preferência por realizar a via anaeróbia do metabolismo da glicose.

O artigo "*Discovery of Pancreatic Adenocarcinoma Biomarkers by Untargeted Metabolomics*" de Martín-Blázquez, et al., 2020, apesar de ter encontrado metabólitos diferentes do estudo de Xiong, também conclui que os ácidos biliares possuem forte relação com o câncer de pâncreas, além sugerir que as baixas quantidade de fosfolídeos

encontradas em pacientes com o tumor devem-se a sua degradação para serem utilizados para geração de energia para expansão e disseminação do tumor.

O trabalho “*Metabolomic profiling for biomarker discovery in pancreatic cancer*” de KAUR, et al., 2012, também sugere alterações no metabolismo energético da célula, devido aos níveis menores de succinato e malato encontrados em pacientes com o câncer. O trabalho também identificou níveis elevados de taurina nos pacientes com tumor, que é um dos maiores constituintes da bile, o que também sugere a relação da vesícula biliar com a patologia.

O “*Metabolomics identifies serum and exosomes metabolite markers of pancreatic cancer*”, encontra metabólitos relacionados aos biomarcadores já utilizados, contudo, com poder para aumentar sua sensibilidade e poder contribuir no prognóstico do paciente, sendo alguns relacionados diretamente com o estágio e diâmetro do tumor, e outros com relação a sobrevida do paciente em 5 anos.

Vale também ressaltar, que o conhecimento de quais as principais vias metabólicas e quais seus principais metabólitos afetados, é importante para conhecer o processo fisiopatológico do tumor, o que também propicia o desenvolvimento de novos tratamentos alvo para a doença.

É importante salientar, que nenhum dos estudos encontrou um único biomarcador com potencial para diagnosticar a doença, sendo necessária a construção de modelos diagnósticos, como os propostos por Kobayashi, onde são envolvidos 4 diferentes metabólitos e o por Luo, onde são utilizados 5 metabólitos diferentes, para então alcançar uma sensibilidade e especificidade superior aos já utilizados. O modelo proposto por Kobayashi também possui um valor de falso positivo menor que os marcadores utilizados atualmente, quando relacionado a pancreatite crônica.

7.Considerações Finais

Os estudos demonstraram que é possível utilizar o metaboloma para encontrar biomarcadores para diagnosticar e estadiar o câncer de pâncreas. Os novos biomarcadores, não visam substituir os exames já existentes, mas sim, fazer com o que o diagnóstico seja mais acurado e menos invasivo, não expondo o paciente a uma rotina exaustiva de exames, mas sim, com que os exames sejam utilizados para os devidos fins, como planejamento cirúrgico, estadiamento e na evolução da doença.

É também importante citar, que nenhum dos biomarcadores encontrados nos estudos, tem capacidade de diagnosticar o câncer sozinho, sendo necessário modelos envolvendo diversos biomarcadores para que haja um diagnóstico preciso.

Mesmo sendo identificados vários metabólitos diferentes nos estudos, todos convergiram para conclusões parecidas, onde há envolvimento da vesícula biliar e seus produtos no câncer de pâncreas, além da alteração no metabolismo energético do órgão, o que pode acarretar na diminuição global de fosfolipídeos e aminoácidos do paciente.

Apesar da técnica demonstrar bons resultados nos estudos citados, é importante ressaltar que se trata de uma tecnologia complexa e nova, onde há necessidade do envolvimento de alta tecnologia, grande gama de profissionais devido às várias etapas do processo, o que torna difícil a realização. Também é importante lembrar que ainda há necessidade de haver uma padronização dos bancos de dados para identificação dos metabólitos, visto que, existem poucas bibliotecas com esse tipo de informação.

Por fim, o estudo metabolômico pode ser de grande valia para tornar o diagnóstico, não só do câncer de pâncreas, como de demais tipos, mais precoce, preciso e menos invasivo. Tais fatos podem acarretar em uma diminuição da mortalidade do câncer de pâncreas por exemplo, por haver maior possibilidade de tratamento curativo do paciente, além de tornar possível a realização de rastreio em tipos de câncer que ainda não possuem.

Referências

1. Al-Shaheri, F. N., Alhamdani, M. S. S., Bauer, A. S., Giese, N., Büchler, M. W., Hackert, T., & Hoheisel, J. D. (2021). Blood biomarkers for differential diagnosis and early detection of pancreatic cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102193>
2. Cai, J., Chen, H., Lu, M., Zhang, Y., Lu, B., You, L., Zhang, T., Dai, M., & Zhao, Y. (2021). Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: Trends, risk factors, screening, and prognosis. *Cancer Letters*, 520(March), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.06.027>
3. Canuto, G. A. B., Da Costa, J. L., Da Cruz, P. L. R., De Souza, A. R. L., Faccio, A. T., Klassen, A., Rodrigues, K. T., & Tavares, M. F. M. (2018). Metabolomics: Definitions, state-of-the-art and representative applications. *Química Nova*, 41(1), 75–91. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170134>
4. Cheung, P. K., Ma, M. H., Tse, H. F., Yeung, K. F., Tsang, H. F., Chu, M. K. M., Kan, C. M., Cho, W. C. S., Ng, L. B. W., Chan, L. W. C., & Wong, S. C. C. (2019). The applications of metabolomics in the molecular diagnostics of cancer. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 19(9), 785–793. <https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1656530>
5. Chu, L. C., Goggins, M. G., & Fishman, E. K. (2017). Diagnosis and detection of pancreatic cancer. *Cancer Journal (United States)*, 23(6), 333–342. <https://doi.org/10.1097/PPO.0000000000000290>
6. DEVITA JUNIOR, Vincente T. **Cancer**: Principles and practice of oncology. 11. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019.
7. Ilic, M., & Ilic, I. (2016). Epidemiology of pancreatic cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 22(44), 9694–9705. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9694>
8. Khalaf, N., El-Serag, H. B., Abrams, H. R., & Thrift, A. P. (2021). Burden of Pancreatic Cancer: From Epidemiology to Practice. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 19(5), 876–884. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.02.054>
9. Kaur, P., Sheikh, K., Kirilyuk, A., Kirilyuk, K., Singh, R., Ransom, H. W., & Cheema, A. K. (2012). Metabolomic profiling for biomarker discovery in pancreatic cancer. *International Journal of Mass Spectrometry*, 310, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2011.11.005>

10. Klein, A. P. (2021). Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(7), 493–502. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00457-x>
11. Kobayashi, T., Nishiumi, S., Ikeda, A., Yoshie, T., Sakai, A., Matsubara, A., Izumi, Y., Yoshida, M., & Azuma, T. (2013). Mo1401 Serum Metabolomics As the Diagnostic Application for Early Diagnosis of Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*, 144(5), S-657. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(13\)62432-4](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(13)62432-4)
12. Kobayashi, T., Nishiumi, S., Ikeda, A., Yoshie, T., Sakai, A., Matsubara, A., Izumi, Y., Tsumura, H., Tsuda, M., Nishisaki, H., Hayashi, N., Kawano, S., Fujiwara, Y., Minami, H., Takenawa, T., Azuma, T., & Yoshida, M. (2013). A novel serum metabolomics-based diagnostic approach to pancreatic cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 22(4), 571–579. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-1033>
13. LAB, Fiehn. LipidBlast Lipid Classes. 2016. Disponível em: <https://fiehnlab.ucdavis.edu/projects/lipidblast/lipid-classes>. Acesso em: 04 jun. 2022.
14. Lee, E. S., & Lee, J. M. (2014). Imaging diagnosis of pancreatic cancer: A state-of-the-art review. *World Journal of Gastroenterology*, 20(24), 7864–7877. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7864>
15. Luo, X., Liu, J., Wang, H., & Lu, H. (2020). Metabolomics identified new biomarkers for the precise diagnosis of pancreatic cancer and associated tissue metastasis. *Pharmacological Research*, 156(March), 104805. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104805>
16. Nalini Kanta, S., G, T., Madhusmita, S., & KS, M. (2020). An overview on NMR spectroscopy based metabolomics. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Developmental Research*, 6(1), 016–020. <https://doi.org/10.17352/ijpsdr.000029>
17. Metabolomics, U., Mart, A., Jim, C., & Caridad, D. (2020). Discovery of Pancreatic Adenocarcinoma Biomarkers.
18. Schmidt, D. R., Patel, R., Kirsch, D. G., Lewis, C. A., Vander Heiden, M. G., & Locasale, J. W. (2021). Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(4), 333–358. <https://doi.org/10.3322/caac.21670>
19. Song, Z., Wang, H., Yin, X., Deng, P., & Jiang, W. (2019). Application of NMR metabolomics to search for human disease biomarkers in blood. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 57(4), 417–441. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0380>

20. Tao, L., Zhou, J., Yuan, C., Zhang, L., Li, D., Si, D., Xiu, D., & Zhong, L. (2019). Metabolomics identifies serum and exosomes metabolite markers of pancreatic cancer. *Metabolomics*, 15(6), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11306-019-1550-1>
21. Tempero, M. A., Malafa, M. P., Al-Hawary, M., Asbun, H., Bain, A., Behrman, S. W., Al Benson, B., Binder, E., Cardin, D. B., Cha, C., Chiorean, E. G., Chung, V., Czito, B., Dillhoff, M., Dotan, E., Ferrone, C. R., Hardacre, J., Hawkins, W. G., Herman, J., ... Darlow, S. (2017). Pancreatic adenocarcinoma, version 2.2017: Clinical practice guidelines in Oncology. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 15(8), 1028–1061. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2017.0131>
22. World Healthy Organization. (2018)
23. World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC). *GLOBOCAN 2020: Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2020. pancreas, both sexe, all ages*. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2020&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=13&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=0&include_nmsc=0&include_nmsc_other=1&type_multiple=%257B%2522inc%2522%253Atrue%252C%2522mort%2522%253Atrue%252C%2522prev%2522%253Afalse%257D&orientation=horizontal&type_sort=0&type_nb_items=%257B%2522top%2522%253Atrue%252C%2522bottom%2522%253Afalse%257D
24. Xiong, Y., Shi, C., Zhong, F., Liu, X., & Yang, P. (2020). LC-MS/MS and SWATH based serum metabolomics enables biomarker discovery in pancreatic cancer. *Clinica Chimica Acta*, 506(September 2019), 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.043>
25. Zhang, L., Sanagapalli, S., & Stoita, A. (2018). Challenges in diagnosis of pancreatic cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 24(19), 2047–2060. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i19.2047>