

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

EMANUELLE LORRAYNE FERREIRA

Associação de biomarcadores espectrais com parâmetros clínicos e de sobrevida para o
prognóstico e predição do câncer de próstata avançado

Uberlândia
2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

EMANUELLE LORRAYNE FERREIRA

Associação de biomarcadores espectrais com parâmetros clínicos e de sobrevivência para o prognóstico e predição do câncer de próstata avançado

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Profa. Yara Cristina de Paiva
Maia

Coorientadora: Msc. Izabella Cristina Costa
Ferreira

Uberlândia
2023

EMANUELLE LORRAYNE FERREIRA

Associação de biomarcadores espectrais com parâmetros clínicos e de sobrevida para o prognóstico e predição do câncer de próstata avançado

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

Coorientadora: Msc. Izabella Cristina Costa
Ferreira

Uberlândia, 29 de junho de 2023.

Banca Examinadora:

Titulares:

Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia – Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Profa. Dra. Vivian Alonso Goulart – Instituto de Biotecnologia - Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Dr. Tafarel Andrade de Souza – Pós doutorando no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Suplente:

Msc. Bruna Maria Malagoli Rocha Santos – Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Dedico este estudo aos pacientes com câncer de próstata avançado do Hospital de Clínicas da UFU que aceitaram participar do estudo e, em especial, àqueles que foram à óbito. Espero que os resultados deste estudo possam somar em futuras descobertas que contribuirão para uma melhor qualidade de vida.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Yara Paiva que me deu a oportunidade e confiou em mim para colaborar neste projeto. Além disso, me orientou com muito empenho e compreensão ao longo de 3 anos de orientação em 2 iniciações científicas e meu Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).

À minha coorientadora, Izabella Ferreira, por ser tão solícita e prontamente me ajudar sempre que a procurei, sendo para mim um exemplo de pesquisadora de referência que escolhi me espelhar.

Aos meus pais, Marluce e Flávio, por todo o incentivo e suporte que recebi durante a vida para sempre aprimorar meus conhecimentos e nunca perder o essencial da vida, o brio.

Ao meu namorado, Guilherme, que foi um dos suportes fundamentais para essa jornada, uma vez que esteve comigo me amparando nos momentos de medo e insegurança e, principalmente, me incentivando a continuar. Foi um grande companheiro que escolhi para a minha vida e que todo dia me lembra que sou amada com muito zelo.

Aos meus amigos de graduação, Kamila, Lucas e Maria Paula, pela grande amizade que criamos e por trazerem leveza e alegria para os meus dias desde o começo do curso. Aos meus amigos de vida, Amanda, Bárbara, Matheus e Marina, pela amizade de vários anos e que estão comigo todos os dias fazendo parte de quem eu sou e das minhas motivações para ser o melhor de mim em todos os aspectos.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa em Biologia Molecular e Nutrição (BioNut) e ao Grupo de Estudos e Pesquisa em Marcadores Moleculares (GEP-Mmol), por compartilharem suas vivências e conhecimentos durante as discussões científicas. Em especial, agradeço à Letícia Dantas e Alinne Faria, que também participaram deste estudo e foram imprescindíveis para a realização dos experimentos e das análises.

À Prof.^a Dra. Vivian Goulart, que além de me aceitar e acolher no grupo de estudos GEP-MMol, foi a ponte de oportunidade para conhecer a Prof.^a Dra. Yara Paiva e adentrar neste estudo.

Aos pesquisadores do Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, por tornar o ambiente laboratorial produtivo e inspirador.

Aos pesquisadores do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) e seus colaboradores, que nos permitiram realizar os experimentos e aprimorar as análises do projeto na linha de luz IMBUA.

À Fundação de Amparo do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Instituto de Biotecnologia (IBTEC) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

RESUMO

A imprecisão dos métodos usuais para o prognóstico e predição do Câncer de próstata (CaP) avançado revela a necessidade pela busca de novas ferramentas mais acuradas que auxiliem a previsão clínica de sobrevivência. Dessa forma, o objetivo do estudo foi investigar novos biomarcadores espectrais sanguíneos circulantes para o prognóstico e predição do CaP avançado utilizando ATR-FTIR, associando-os com parâmetros clínicos e de sobrevida. Com base nas análises estatísticas da segunda derivada dos espectros obtidos os níveis de absorbância nos números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} , referentes à região da Amida II, foram capazes de discriminar com boa precisão ($\text{AUC} = 0,8438$) pacientes com pior prognóstico daqueles com melhor prognóstico, apresentando sensibilidade e especificidade de 100%/75% e 75%/87,5%, respectivamente. O presente estudo sugere que os números de ondas 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} possam ser utilizados como ferramentas de auxílio para o aperfeiçoamento da precisão clínica para estimar o prognóstico e predição do CaP avançado. Novos estudos são necessários para validar a hipótese apresentada.

Palavras chaves: câncer de próstata avançado; prognóstico; amida II.

ABSTRACT

The lack of accuracy of the usual methods for the prognosis and prediction of advanced prostate cancer (PCa) reveals the need to search for new accurate tools that help predict clinical survival. Thus, the aim of the study was to investigate new circulating spectral blood biomarkers for the prognosis and prediction of advanced PCa using ATR-FTIR, associating them with clinical and survival parameters. Based on the statistical analysis of the second derivative of the obtained spectra, the absorbance levels at wave numbers 1541 cm⁻¹ and 1514 cm⁻¹, referring to the Amide II region, were able to discriminate with good precision (AUC = 0.8438) patients with worse prognosis from those with better prognosis, showing sensitivity and specificity of 100%/75% and 75%/87.5%, respectively. The present study suggests that the wave numbers 541 cm⁻¹ and 1514 cm⁻¹ can be used as auxiliary tools to improve clinical precision for estimating the prognosis and prediction of advanced PCa. New studies are needed to validate the presented hypothesis.

Keywords: advanced prostate cancer; prognosis; amide II.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação esquemática da localização e estrutura anatômica da próstata.....	13
Figura 2 – Representação das vibrações de deformação axiais e angulares.....	20
Figura 3 – Métodos comuns de análise de amostras por espectroscopia FTIR.....	21
Figura 4 – Bandas características de biomoléculas no FTIR.....	22
Figura 5 – Espectro original médio do FTIR para os grupos Não óbito (linha vermelha) e Óbito (linha azul).....	30
Figura 6 – Espectro médio da segunda derivada para os grupos Não Óbito e Óbito mostrando a região fingerprint entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1}	31
Figura 7 – Espectro médio da segunda derivada para os grupos Não Óbito e Óbito da região entre 1600-1400 cm^{-1} destacando os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1}	31
Figura 8 – Comparação da absorvância média da segunda derivada dos números de onda relevantes entre os grupos Óbito e Não óbito.....	33
Figura 9 – Espectro médio da segunda derivada para os grupos ECOG 1 e ECOG 2 mostrando a região fingerprint entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1}	34
Figura 10 – Espectro médio da segunda derivada para os grupos ECOG 1 e ECOG 2 entre 1600-1400 cm^{-1} destacando os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1}	34
Figura 11 – Comparação da absorvância média da segunda derivada dos números de onda relevantes entre os grupos ECOG 1 e ECOG 2.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escore de gleason.....	17
Tabela 2 – Relação entre a área sob a curva ROC e a precisão do modelo prognóstico.....	19
Tabela 3 – Variáveis clínicas dos pacientes com CaP avançado.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AUC – Area Under Curve

ATR – Attenuated Total Reflection

CaP – Câncer de Próstata

cfDNA – Cell Free DNA

CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

CTCs – Células Tumorais Circulantes

ctDNA – Circulating Tumor DNA

ctRNA – Circulating Tumor RNA

DRE – Digital Rectal Exam

ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group

FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GLOBOCAN – Global Cancer Observatory

HC-UFU – Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

IC – Intervalo de Confiança

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IV – Infravermelho

KPS – Karnofsky Performance Score

LNLS – Laboratório Nacional de Luz Síncrotron

MCT – Mercury-Cadmium-Telluride

mRNA – Messenger RNA

NCCN – National Comprehensive Cancer Network

PCa – Prostate Cancer

PSA – Prostate Specific Antigen

ROC – Receiver Operating Characteristic

TEM – Transição Epitélio Mesênquima

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

VEs – Vesículas Extracelulares

VN – Verdadeiros Negativos

VP – Verdadeiros Positivos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Câncer de próstata	13
<i>1.1.2 Diagnóstico do CaP</i>	15
<i>1.1.2.1 Biópsia líquida</i>	15
<i>1.1.3 Prognóstico do CaP</i>	16
<i>1.1.3.1 Parâmetros clínicos</i>	16
<i>1.1.3.2 Metodologias estatísticas de precisão prognóstica</i>	18
1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	19
<i>1.2.1 Princípios do FTIR</i>	19
<i>1.2.2 Métodos de análise de amostra</i>	20
<i>1.2.3 Associações entre bandas e biomoléculas</i>	21
<i>1.2.4 Potencial clínico da espectroscopia de ATR-FTIR</i>	22
2 OBJETIVO GERAL	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Comitê de Ética	25
3.2 Participantes da pesquisa e delineamento do estudo	25
3.3 Características clínicas, bioquímicas e instrumentos utilizados	25
3.4 Coleta e processamento de amostras	26
3.5 Espectroscopia ATR-FTIR	26
3.6 Pré-processamento dos espectros	26
3.7 Análises estatísticas	27
4 RESULTADOS	28
4.1 Caracterização clínica dos pacientes com CaP	28
4.2 Análise de espectros FTIR do soro de pacientes CaP Óbito e Não óbito	30
4.3 Análise de espectros FTIR do soro de pacientes CaP ECOG 1 e ECOG 2	33
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE A – Classificação Sistema TNM para tumor de próstata	47
ANEXO A – ESCALA DE PERFORMANCE: ECOG	49
ANEXO B – APROVAÇÃO DO CEP	50

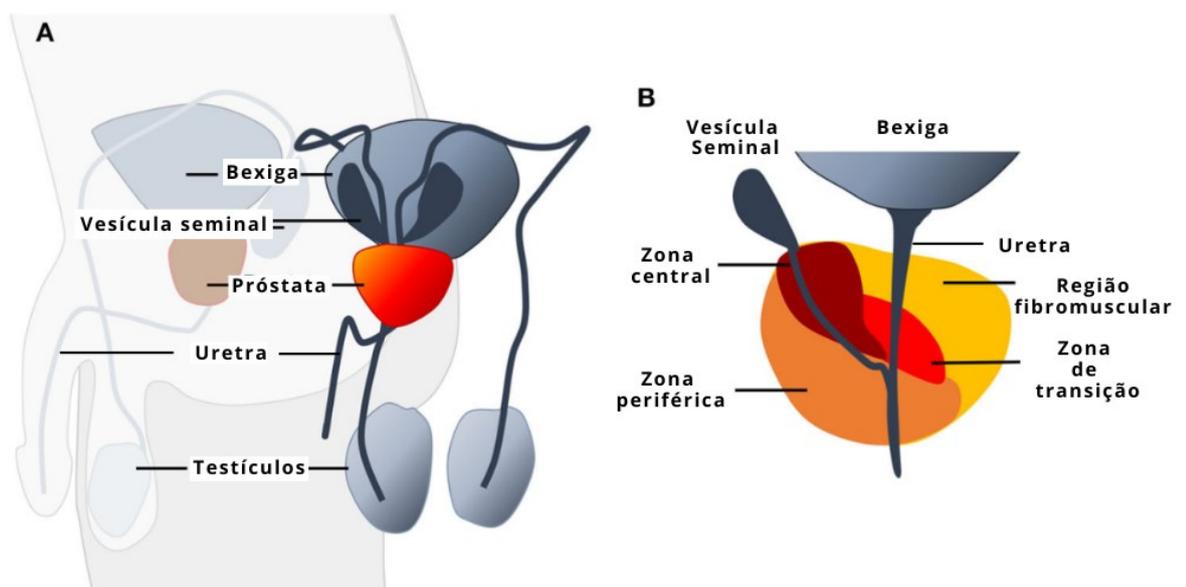
1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de próstata

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo de câncer que mais acomete homens no Brasil, atrás somente do câncer de pele não melanoma. Em 2020, a GLOBOCAN reportou mundialmente 1.4 milhões de casos e 375.000 mortes relacionadas ao CaP (SUNG *et al.*, 2021). De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a cada ano do triênio 2023-2025 são estimados cerca de 72 mil novos casos de CaP no Brasil (INCA, 2022).

A próstata é uma glândula que faz parte do aparelho reprodutor masculino situada abaixo da bexiga e ao redor da uretra (Figura 1.A.). Sua função está relacionada com a produção do líquido prostático, o qual é formado por constituintes essenciais que irão compor o sêmen influenciando a viabilidade do espermatozóide. A estrutura anatômica da próstata pode ser dividida em zona central, zona de transição, região fibromuscular e zona periférica, sendo esta última o local mais comum para o surgimento dos tumores prostáticos (Figura 1. B.). Cada uma dessas regiões é constituída por ductos e ácinos, compostas por células basais, luminais e neuroendócrinas (REBELLO *et al.*, 2021; SANDHU *et al.*, 2021; SAUER *et al.*, 2020).

Figura 1 - Representação esquemática da localização e estrutura anatômica da próstata



Legenda: A) Localização da próstata no aparelho reprodutor masculino. B) As 4 regiões principais da estrutura anatômica da próstata: zona central, zona de transição, região fibromuscular e zona periférica. Fonte: Figura adaptada de SAUER *et al.* (2020) com Copyright © 2020 distribuído sob os termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY 4.0)¹

¹ Link de acesso para os termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) para o uso de imagem do artigo SAUER *et al.* (2020): <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

A carcinogênese do CaP engloba a ocorrência de mutações somáticas no genoma das células epiteliais basais e luminais da próstata, que impactam na regulação do crescimento, proliferação e morte celular. Em estágio inicial o tumor se desenvolve lentamente e localizado na próstata, e assim que as células tumorais passam pela transição epitélio-mesênquima (TEM), apresentam caráter migratório resultando na disseminação metastática (WANG *et al.*, 2018). Os sítios localizados, como os linfonodos pélvicos e ossos, são os primeiros alvos da disseminação metastática. O avanço da doença para sítios mais distantes como linfonodos distantes, pulmão, fígado e cérebro está associado a uma pior sobrevida (REBELLO *et al.*, 2021).

Uma série de fatores de risco têm sido relacionados com o desenvolvimento de CaP. A idade é um dos fatores mais associados, uma vez que a incidência do CaP aumenta com a idade e mais de 85% dos indivíduos diagnosticados possuem mais de 60 anos. Da mesma forma, a raça e etnia têm sido associadas, uma vez que homens afro-americanos e caribenhos possuem maior risco de serem diagnosticados com CaP. Além disso, o histórico familiar também demonstra importância, já que o risco do acometimento de CaP é maior de acordo com o grau de parentesco e o número de familiares que tiveram CaP. Outros fatores como tabagismo, obesidade e dieta composta de alto teor de gordura, açúcares e alimentos processados têm sido sugeridos como potenciais fatores de risco, contudo ainda há poucas evidências (MOREIRA; ABERN, 2018; REBELLO *et al.*, 2021).

Pacientes diagnosticados com CaP podem apresentar tanto uma doença do tipo localizada quanto avançada. Cerca de 80% dos casos de CaP recém diagnosticados são localizados, 15% com metástase local e 5% com metástase à distância. A sobrevida de pacientes com CaP localizado pode chegar até 99% em 10 anos, enquanto para casos avançados e metastáticos a taxa de sobrevida varia de 26% a 30% em 5 anos (REBELLO *et al.*, 2021; RITCH *et al.*, 2018; SWAMI *et al.*, 2020).

O CaP avançado é definido como a doença em que o câncer reincidiu após intervenção clínica do tipo cirúrgica e/ou radioterapia; ou apresentou metástase sem terapia prévia. A doença avançada apresenta uma das formas mais agressivas do CaP e geralmente é considerada incurável (SWAMI *et al.*, 2020). Deste modo, a detecção precoce é imprescindível para o sucesso do tratamento e um bom prognóstico, uma vez que estudos já demonstram que homens que foram diagnosticados precocemente apresentaram uma taxa de sobrevida superior a 90% (ABOU *et al.*, 2020).

1.1.2 Diagnóstico do CaP

O diagnóstico do CaP é realizado por meio dos exames de quantificação do nível sérico de antígeno prostático (PSA), exame retal digital (DRE), ressonância magnética e biópsia da próstata (MATUSZCZAK *et al.*, 2021; REBELLO *et al.*, 2021). A avaliação do nível sérico de PSA é o mais utilizado, apesar de não poder ser usado isoladamente, visto que não é específico do câncer e sim, do órgão, sua expressão é influenciada pela idade e elevada em condições de neoplasias benignas. A solicitação de exames complementares, como a biópsia da próstata, permite a associação com parâmetros clínicos que possibilitam um diagnóstico com melhor acurácia e a melhor abordagem terapêutica (BOERRIGTER *et al.*, 2019; CROCETTO *et al.*, 2022; DÍAZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2021;).

A biópsia da próstata representa o único procedimento considerado padrão ouro com acurácia significativa. Neste método uma agulha é utilizada para coletar uma pequena amostra de tecido da região tumoral para análise microscópica (CROCETTO *et al.*, 2022; SEKHOACHA *et al.*, 2022). Apesar de ser muito utilizada, é um procedimento doloroso e invasivo para o paciente, podendo apresentar complicações como sangramento, retenção urinária, infecção, sepse, entre outros. (BOERRIGTER *et al.*, 2019; POULET *et al.*, 2019).

1.1.2.1 Biópsia líquida

Apresentando uma nova alternativa de abordagem clínica menos invasiva, a biópsia líquida tem se mostrado uma opção potencial na prática clínica. O método se baseia na varredura de componentes clinicamente informativos presentes em amostras de fluidos corporais, tais como sangue, urina e saliva (LI *et al.*, 2020; SWAMI *et al.*, 2020). Estes componentes derivados de tumor são uma fonte valiosa de biomarcadores que podem ser utilizados para orientar abordagens diagnósticas, terapêuticas e prognósticas (BOERRIGTER *et al.*, 2019).

Inicialmente, a biópsia líquida foi uma metodologia utilizada para a análise de células tumorais circulantes (CTCs), hoje abrange diversos biomarcadores, tais como DNA tumoral circulante (ctDNA), RNA tumoral circulante (ctRNA), cell-free DNA (cfDNA), RNA mensageiro (mRNAs), vesículas extracelulares (VEs) e demais conteúdos protéicos (IGNATIADIS *et al.*, 2021; POULET *et al.*, 2019). Os biomarcadores carregam informações genômicas e proteômicas dos tumores, fornecendo dados moleculares importantes em relação ao microambiente tumoral (CROCETTO *et al.*, 2022).

Quando comparada à biópsia de tecido a biópsia líquida apresenta várias vantagens que sustentam sua escolha, tais como possibilidade de acompanhamento longitudinal do tumor;

procedimento não ou minimamente invasivo; capacidade de compreensão da heterogeneidade do tumor; fácil obtenção; aproveitável para vários ensaios e diversas outras conveniências que a tornam uma opção potencial (CROCETTO *et al.*, 2022; POULET *et al.*, 2019).

1.1.3 Prognóstico do CaP

Normalmente, em estágio inicial, o CaP é assintomático e sua evolução é heterogênea, podendo ser lenta ou acelerada, evoluindo para à metástase e até ao óbito. O prognóstico é fundamental para a estratificação do risco da doença, visto que, molda as prioridades e tomadas de decisões clínicas complexas de acordo com o que o paciente necessita. Alguns exemplos de decisões envolvem a necessidade de implementação de terapias sistêmicas paliativas, intervenções cirúrgicas, tipo de nutrição, entre outras (HUI *et al.*, 2019; MOREIRA; ABERN, 2018).

O estudo do prognóstico engloba desde a previsão da sobrevida do paciente até o acompanhamento da evolução da doença. O prognóstico de sobrevivência é considerado um desafio, visto que em muitos casos depende da intuição clínica baseada em abordagens subjetivas para a avaliação da probabilidade da evolução do estado clínico de um paciente à óbito. Isso torna o prognóstico impreciso, uma vez que a confiança dos profissionais da saúde é afetada pela incerteza da precisão de seu próprio julgamento, contribuindo para a falha na transmissão de informações aos pacientes e a falta de tomadas de decisões terapêuticas cruciais (HUI *et al.*, 2019; MARTIN *et al.*, 2020).

Em vista disso, há uma gama de recomendações e modelos que têm sido descritos com o objetivo de aprimorar a acurácia dos métodos prognósticos. A maioria desses métodos se baseiam em parâmetros clínicos que quando associados complementam a análise clínica. Para o CaP, os principais parâmetros clínicos utilizados são o nível de PSA, escore de Gleason e estadiamento clínico (TNM). Uma vez que o estágio é avançado são incorporados fatores de status de performance como o Karnofsky performance score (KPS) (KPS) e/ou Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (MOREIRA; ABERN., 2018).

1.1.3.1 Parâmetros clínicos

A avaliação do nível sérico de PSA já está bem estabelecida, apesar de apresentar algumas desvantagens. Neste método, os valores de referência associam a dosagem de PSA ao risco da doença. De acordo com as diretrizes da National Comprehensive Cancer Network (NCCN, 2022), valores de PSA < 10 ng/mL são considerados de baixo risco, entre 10 e 20 ng/mL risco intermediário e > 20 ng/mL alto risco. Em síntese, quanto maior o nível de PSA,

maior o risco do paciente apresentar CaP. Todavia, é importante ressaltar que muitos fatores interferem nos valores normais de PSA, tais como idade, tamanho da próstata, inflamação e Hiperplasia benigna. Deste modo, é necessário que haja uma associação com outros parâmetros clínicos a fim de evitar resultados falsos positivos e negativos (MOREIRA; ABERN, 2018).

O escore de Gleason é um dos métodos que podem ser associados à avaliação de PSA, uma vez que esse sistema é um modelo de classificação histopatológico baseado no padrão de crescimento celular do tumor. Neste método, os padrões primários e secundários das células do CaP são classificados em 5 graus (1 a 5) e a soma desses dois padrões distintos, que variam de 2 a 10, geram o escore de Gleason (Tabela 1). Dessa forma, quanto maior o grau, mais agressivo será considerado o tumor (BUYOUNOUSKI *et al.*, 2017; MOREIRA; ABERN, 2018).

Tabela 1 - Escore de Gleason

Grupos	Escore de Gleason
1	≤6
2	7 (3+4)
3	7 (4+3)
4	8 (4+4; 3+5; 5+3)
5	9 ou 10 (4+5; 5+4; 5+5)

Fonte: Autoria própria baseado em BUYOUNOUSKI *et al.*, (2017)

Além disso, outro método comumente associado ao PSA é o sistema de estadiamento TNM (tumor-linfonodo-metástase), definido como uma metodologia que relaciona a extensão do tumor com o risco de progressão da doença. Neste método, a extensão do tumor primário (T), os linfonodos regionais (N) e a metástase à distância (M) são avaliados e classificados (APÊNDICE A). A partir dessa classificação, os pacientes são categorizados em 4 estádios, sendo 3 não-metastáticos (I, II, III) e 1 metastático (IV). Para o estágio IV, grupo de estudo em questão, é considerado: T4 N0 M0; qualquer T, qualquer N1 e M0; e qualquer T, qualquer N e M1, que se refere à metástase a distância (BUYOUNOUSKI *et al.*, 2017).

Além dos parâmetros citados, para o CaP avançado são incluídos parâmetros baseados no status de performance do paciente, como o Karnofsky performance score (KPS) e/ou Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). Ambos os modelos avaliam os sintomas e o status de desempenho da mobilidade dos pacientes oncológicos, porém se diferenciam em relação à escala de medição (DATTA *et al.*, 2019; STONE *et al.*, 2023).

No modelo KPS a escala é obtida em porcentagem que varia de 10 a 100%, sendo os menores valores mais desfavoráveis em que o paciente é considerado moribundo em iminência da morte e os maiores valores são mais favoráveis em que o paciente não apresenta sinal ou queixa da doença. Já no modelo ECOG o grau de capacidade do paciente para a realização das atividades básicas é dividido em uma escala de 6 pontos que variam de 0 a 5, sendo o valor 0 o mais promissor em que o paciente está totalmente ativo e o valor 5 o mais desfavorável em que o paciente vai a óbito (GRIDELLI *et al.*, 2022; KELLY *et al.*, 2016). Apesar de apresentarem escalas de medidas diferentes, podem ser associadas, conforme mostrado no ANEXO A.

1.1.3.2 Metodologias estatísticas de precisão prognóstica

Assim que uma nova metodologia diagnóstica ou prognóstica é proposta, é imprescindível que análises estatísticas sejam realizadas a fim de validar a eficácia e a acurácia da capacidade discriminatória do modelo. Dentre os diversos parâmetros estatísticos que podem ser avaliados, encontram-se a sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo/negativo que podem ser avaliados por meio da curva ROC (ŠIMUNDIC, 2009).

A sensibilidade se refere à medida que avalia a capacidade de um modelo discriminatório em classificar corretamente indivíduos que apresentam uma doença que terão resultados verdadeiros positivos (VP). Por outro lado, a especificidade, representa a medida que avalia a capacidade de um mesmo modelo em classificar corretamente indivíduos que não apresentam a doença que terão resultados verdadeiros negativos (VN). Essas duas variáveis são avaliadas em conjunto. Todavia, seus valores são inversamente proporcionais, uma vez que a medida que a sensibilidade aumenta, a especificidade diminui e vice-versa. (AKOBENG, 2007; MAIA, 2011; PARIKH *et al.*, 2008)

A relação entre a sensibilidade e a especificidade gera a curva ROC (Receiver Operating Characteristic). Essa ferramenta gráfica é útil para a avaliação do desempenho da capacidade discriminatória de testes diagnósticos e prognósticos. Neste modelo gráfico, a relação entre a taxa de verdadeiros positivos (sensibilidade) e a taxa de falsos negativos (especificidade) podem ser plotados e cada ponto representado na curva é considerado um possível ponto de corte (JOY *et al.*, 2005; MAIA, 2011). A partir do gráfico da curva ROC é possível calcular a área sob a curva (AUC) e por meio desses valores avaliar a precisão do modelo discriminatório. Os valores de AUC podem variar de 0 a 1, sendo os mais próximos de 1 bons indicadores da qualidade do teste proposto (Tabela 2) (ŠIMUNDIC, 2009).

Tabela 2. Relação entre a área sob a curva ROC e a precisão do modelo prognóstico

AUC	Precisão do modelo prognóstico
0.9 - 1.0	Excelente
0.8 - 0.9	Muito bom
0.7 - 0.8	Bom
0.6 - 0.7	Suficiente
0.5 - 0.6	Ruim
< 0.5	Teste não é útil

Fonte: Adaptado de ŠIMUNDIC, 2009

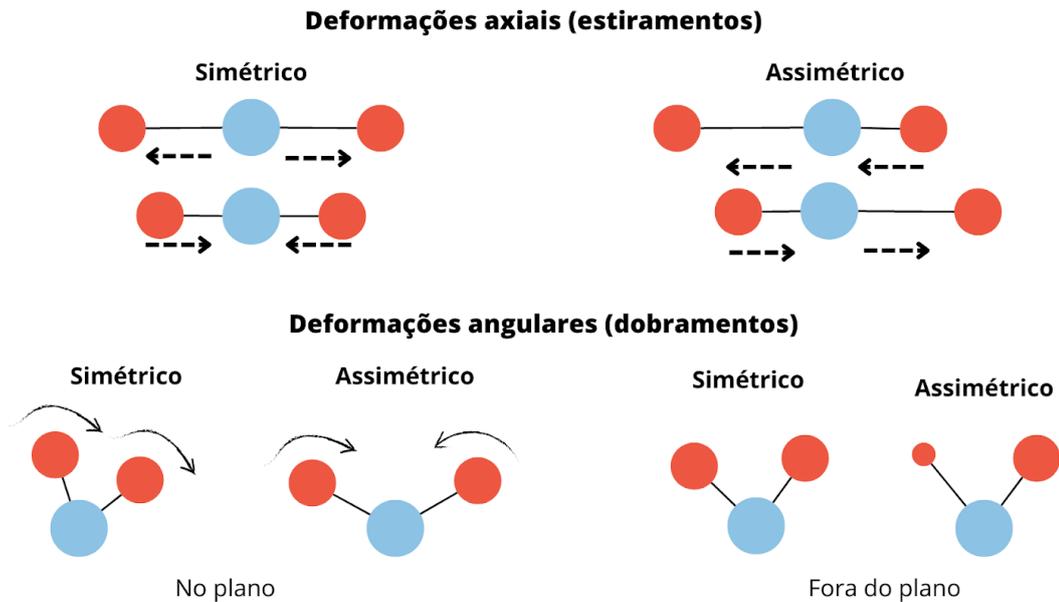
1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

1.2.1 Princípios do FTIR

A espectroscopia de FTIR é uma ferramenta analítica que tem sido aplicada em diferentes áreas para a caracterização de estruturas e composições químicas dos materiais. O método se baseia na medição da interação da luz infravermelha (IV) incidida sobre os átomos presentes nas moléculas. Mais precisamente, quando as moléculas são irradiadas pela luz IV, parte da energia é absorvida resultando na vibração, em uma frequência maior, das ligações químicas dos átomos (SOLOMONS *et al*, 2018; WANG *et al*, 2021).

Estas vibrações se dão por meio de alterações nos modos rotacionais e vibracionais das moléculas, uma vez que, ao vibrar os átomos se movem um em relação ao outro, ocasionando principalmente deformação angular/dobramento ou deformação axial/estiramento das ligações. Na deformação axial (estiramento) ocorre a variação no comprimento das ligações entre os átomos, os quais sofrem compressão ou estiramento simétrico ou assimétrico. Por outro lado, na deformação angular (dobramento) ocorre a mudança angular das ligações em relação ao plano ou fora do plano, podendo ser simétrica ou assimétrica (Figura 2) (SANTOS *et al*, 2017; SOLOMONS *et al*, 2018).

Figura 2 - Representação das vibrações de deformação axiais e angulares.



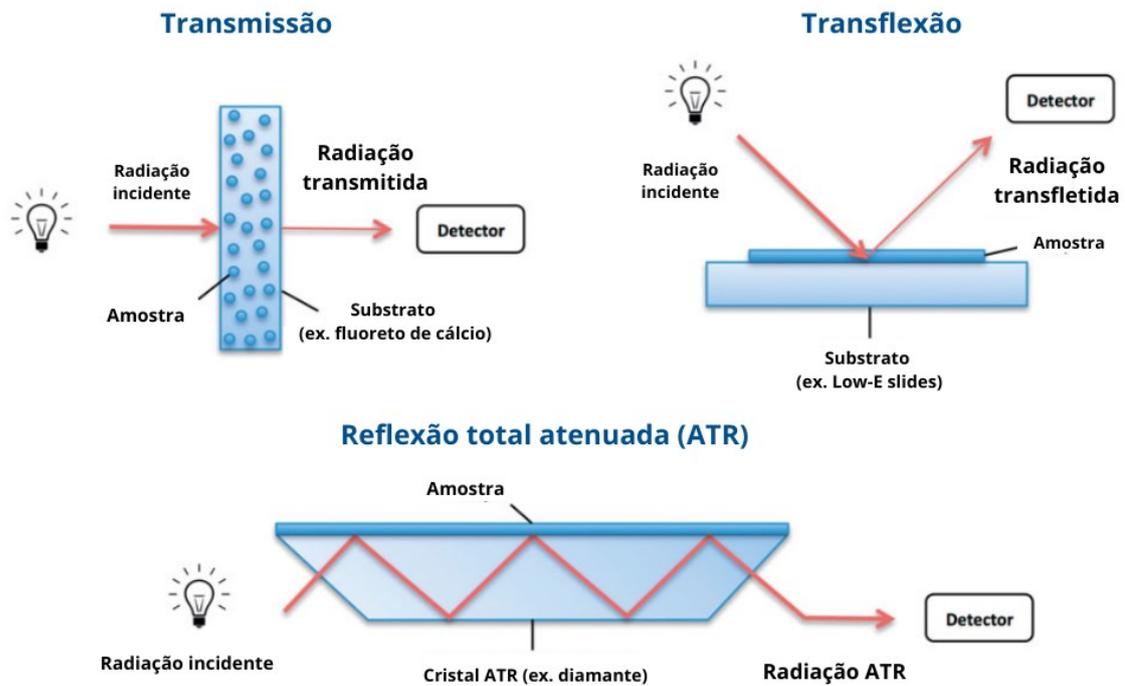
Fonte: Autoria própria baseado no SANTOS *et al*, (2017)

Esse processo é quantizado e a energia absorvida é registrada em forma de espectros que possuem padrões únicos de absorção determinados pela composição da amostra, gerando uma impressão digital molecular que permite diferenciá-la de outras moléculas. Cada espectro apresenta bandas características em que a posição, altura e largura irão variar de acordo com o perfil bioquímico da amostra (FADLELMOULA *et al*, 2022; WANG *et al*, 2021;)

1.2.2 Métodos de análise de amostra

As amostras podem ser analisadas por três métodos de espectroscopia FTIR, os quais são a transmissão, transflexão e reflexão (Figura 3). No método de transmissão, um feixe de luz IV incide sobre a amostra atravessando o substrato. Na transflexão, a amostra é colocada em um substrato e o feixe de luz IV incide por cima da amostra. Na reflexão, o feixe de luz IV é refletido da interface entre a amostra e outro meio, podendo ser externa ou interna (BAKER *et al*, 2014; BRUYNE *et al*, 2017).

Figura 3: Métodos comuns de análise de amostras por espectroscopia FTIR



Fonte: Adaptado de BRUYNE *et al.* (2017) © copyright # [2017], com permissão da Informa UK Limited, trading as Taylor & Taylor & Francis Group ²

A reflexão interna, também conhecida como reflexão total atenuada (ATR), é a mais utilizada, pois apresenta a vantagem de demandar pouca ou nenhuma preparação da amostra. Na reflexão total atenuada (ATR), o feixe infravermelho passa por um cristal com alto índice de refração (diamante, seleneto de zinco, germânio ou silício) penetrando a amostra em forma de uma onda evanescente com uma profundidade de 1 a 2 um, por fim retornando ao cristal gerando um espectro de absorbância da amostra (BAKER *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2021).

1.2.3 Associações entre bandas e biomoléculas

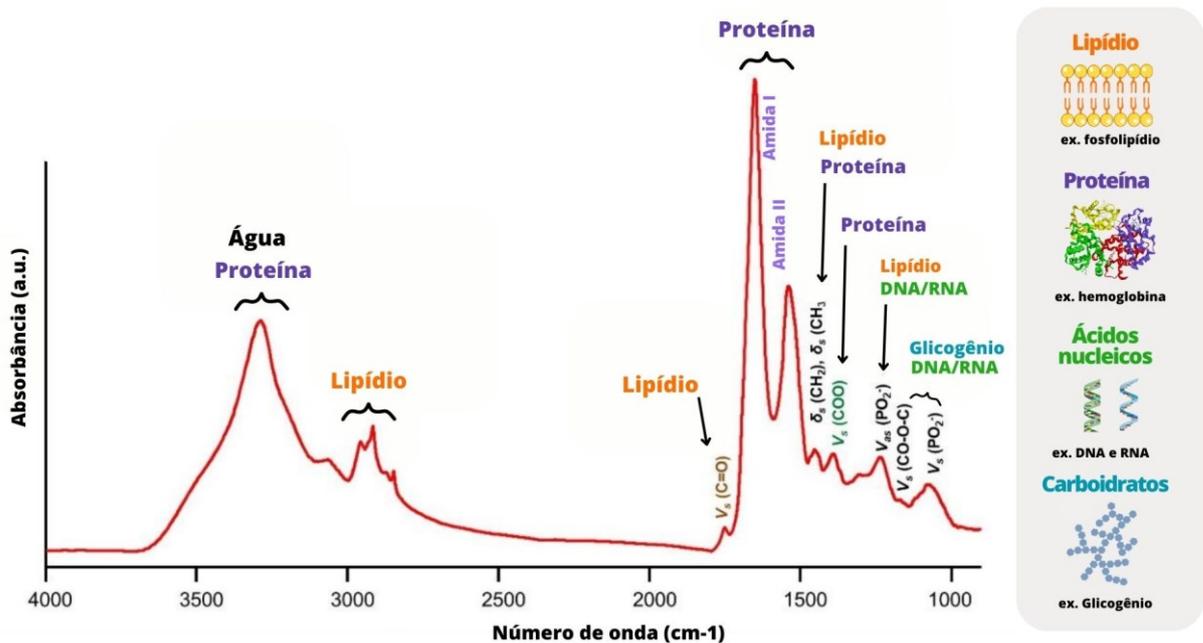
Os espectros no IV são divididos em três regiões principais, a região do Infravermelho próximo que compreende o intervalo 12500 - 4000 cm^{-1} ; a região Infravermelho médio que compreende o intervalo 4000 - 400 cm^{-1} ; e a região Infravermelho distante que compreende o intervalo 400 - 10 cm^{-1} . Quando se trata de análises biológicas, a região média é a mais utilizada, visto que é onde se localizam as informações referentes aos grupos funcionais entre 4000 - 1300

² Applications of mid-infrared spectroscopy in the clinical laboratory setting; Sander De Bruyne, Marijn M. Speeckaert, et al; Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences; © copyright # [2017], com permissão da Informa UK Limited, trading as Taylor & Taylor & Francis Group, <http://www.tandfonline.com>

cm^{-1} e a impressão digital biomolecular da amostra, que varia entre autores, em torno de $1800 - 800 \text{ cm}^{-1}$ (BAKER *et al*, 2014; SANTOS *et al*, 2017; WANG *et al*, 2021).

Quando os grupos funcionais vibram dão origem a bandas de absorção em frequências características no espectro, servindo como guias sobre a composição bioquímica da amostra. Essas regiões e picos específicos permitem a caracterização a nível molecular de lipídios, proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos entre outros; presentes na amostra biológica, conforme mostrado na Figura 4 (BAKER *et al*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2020).

Figura 4: Bandas características de biomoléculas no FTIR



Fonte: Adaptado de WANG *et al* (2021) com Copyright © 2021 distribuído sob os termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY 4.0)³. A Figura foi parcialmente gerada usando a Servier Medical Art, fornecida pela Servier, licenciada sob a licença Creative Commons Attribution 3.0.

1.2.4 Potencial clínico da espectroscopia de ATR-FTIR

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (ATR-FTIR) possibilita a caracterização ampla de espécies químicas e biológicas de sólidos, líquidos e gases; fornecendo informações quanto a composição química e estrutural a nível molecular de cada amostra (FERREIRA *et al.*, 2020; SALA *et al.*, 2020). Comparado aos demais métodos é vantajoso, visto que é reprodutível, rápido, sensível, não invasivo, barato, não necessita de reagentes e grandes quantidades de material da amostra (SALA *et al.*, 2020). Os espectros de infravermelho possibilitam a medição de alterações nos modos

³ Link de acesso para os termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) para o uso de imagem do artigo WANG *et al* (2021): <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

vibracionais que estão relacionados à carcinogênese, concedendo informações valiosas sobre a geração e a progressão do câncer a nível molecular que ocorrem previamente às alterações morfológicas (FERREIRA *et al.*, 2020).

Diversas pesquisas já têm mostrado o potencial deste método. Por exemplo, o estudo desenvolvido por Yap *et al.* (2021) utilizaram a espectroscopia de FTIR para avaliar o valor diagnóstico de vesículas extracelulares de amostras de urina de pacientes com CaP. O estudo evidenciou que o modelo desenvolvido associado ao FTIR tem potencial como método de rastreamento complementar aos já utilizados na triagem do CaP.

Outro exemplo, voltado para o domínio prognóstico mas em tipo tumoral diferente, foi o de Zelig *et al.* (2011) que demonstraram o potencial da técnica de FTIR ao aplicá-la para monitoramento de marcadores em amostras de sangue de pacientes com leucemia aguda infantil. A técnica se mostrou potencial como ferramenta de pré-triagem e monitoramento, sendo essencial no acompanhamento a longo prazo das respostas aos tratamentos quimioterápicos.

2 OBJETIVO GERAL

Associar parâmetros clínicos e de sobrevida com biomarcadores espectrais circulantes derivados do soro para o prognóstico e predição do câncer de próstata avançado (CaP).

Objetivos específicos:

- Analisar o soro de pacientes com CaP avançado e gerar espectros por meio de espectroscopia ATR-FTIR;
- Identificar números de onda específicos nos espectros a fim de caracterizar o perfil bioquímico das amostras;
- Verificar se houve diferenças espectrais na composição molecular do soro de pacientes que não foram à óbito dos que foram à óbito, assim como de pacientes com Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 1 comparados a pacientes com Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2;
- Associar os números de ondas selecionados 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} com os parâmetros clínicos de idade, sobrevivência, PSA, Gleason score, sítios metastáticos, tratamento em curso e ECOG.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia (CEP/UFU), com o número de CAAE 08755018.1.0000.5152 (ANEXO B). Após a explicação dos objetivos do estudo, os participantes da pesquisa que concordaram ser incluídos, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.2 Participantes da pesquisa e delineamento do estudo

Os participantes da pesquisa foram recrutados no Setor de Oncologia do Hospital de Clínicas da UFU (HC-UFU). Participaram deste estudo, 12 homens com câncer de próstata avançado que estavam em atendimento no serviço. O sangue periférico foi coletado por pesquisador treinado e as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho no Instituto de Biotecnologia. Dados clínicos e socioeconômicos dos pacientes foram obtidos por meio de entrevistas realizadas por pesquisadores previamente treinados e prontuários foram analisados.

3.3 Características clínicas, bioquímicas e instrumentos utilizados

Foram utilizadas informações como óbito ou não óbito, as quais foram coletadas na data da última coleta da amostra. O grupamento de óbito considerou o grupo 1 pacientes Óbitos e o grupo 0 pacientes Não óbitos.

Foi aplicado o instrumento (ECOG) (ANEXO A) para avaliar o status de performance dos pacientes. No grupamento em relação aos dados de ECOG, foi realizada a divisão dos pacientes em 2 grupos, sendo o grupo 1 os graus 0 e 1; e o grupo 2 os graus 2, 3 e 4. Essa divisão dos pacientes foi definida de acordo com as análises dos parâmetros clínicos que fundamentam a escala de ECOG e os presentes dados clínicos dos pacientes componentes da pesquisa.

Os dados clínicos referentes à idade, sobrevivência, PSA, Gleason score, sítios metastáticos, tratamento em curso e ECOG foram avaliados a partir das análises das entrevistas e prontuários dos participantes da pesquisa. O ECOG foi avaliado em posteriores análises estatísticas de acordo com o questionário e agrupamento proposto pelo Dr. Carlos Eduardo Paiva (ANEXO A). A sobrevivência foi calculada em dias considerando a última data de coleta de amostra dos participantes da pesquisa. Os valores do nível sérico de PSA (ng/ml) foram categorizados de acordo com a escala proposta pela NCCN, considerando os valores <10, entre

10-20 e ≥ 20 . Os sítios metastáticos avaliados consideraram os órgãos linfonodo, osso e pulmão. O Gleason score foi categorizado considerando a soma dos dois padrões histológicos da biópsia em < 7 , $= 7$ e > 7 . O tratamento em curso foi categorizado em sim ou não, considerando a informação da última coleta sobre a atual intervenção terapêutica a que os participantes da pesquisa estão sendo submetidos, podendo estas serem quimioterapias, hormonioterapias e/ou radioterapias.

3.4 Coleta e processamento de amostras

As amostras de sangue periférico foram coletadas em tubo à vácuo contendo gel separador e ativador de coágulo. Posteriormente, foram centrifugadas uma vez por 15 minutos a 2500xg à temperatura ambiente para separação e obtenção do soro. Em seguida, as amostras de soro foram armazenadas em tubos eppendorfs e guardadas em ultra-freezer a -80°C até a análise.

3.5 Espectroscopia ATR-FTIR

As análises por Espectroscopia ATR-FTIR foram realizadas em parceria com o Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) na linha de luz IMBUIA do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) em Campinas (SP). Título do projeto “Smart Prognosis: a new approach using the FTIR platform for metastatic solid tumors” ID: 20221855. Os espectros foram medidos na região de número de onda 4000 a 650 cm^{-1} utilizando o Espectrômetro FTIR Agilent Cary 600 Series (*Agilent Technologies*) acoplado com detector MCT (*Mercury-Cadmium-Telluride*). O espectro do ar foi utilizado como background antes de cada análise. No experimento 1 uL de amostra foi colocado diretamente sob o cristal ATR, em seguida uma pastilha de ouro foi colocada em cima para espalhamento uniforme da amostra e logo retirada para que a amostra pudesse secar a temperatura ambiente (25°C) durante 4 minutos. O espectro foi registrado e salvo pelo *software Resolutions pro*. Os espectros das amostras foram obtidos em triplicata, com uma resolução espectral de 4 cm^{-1} , e para cada medição foram realizadas 64 varreduras.

3.6 Pré-processamento dos espectros

Os espectros infravermelhos obtidos foram analisados após passar por etapas de pré-processamentos utilizando o *software Orange*, essas etapas envolveram a correção positiva da linha de base *Rubberband* e normalização por mínimo e máximo. Além disso, a fim de acentuar

as bandas e aumentar a precisão de análise, foi aplicada a segunda derivada do espectro pelo filtro *Savitzky-Golay* com *23 points of window*.

3.7 Análises estatísticas

Após o pré-processamento, os valores originais e de segunda derivada foram utilizados nas análises estatísticas, que foram realizadas pelo *software GraphPad Prism 8.0.1*. Primeiramente, realizou-se o teste de normalidade dos dados (*Shapiro-Wilk*) e a partir do comportamento das variáveis, que apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste paramétrico Teste-t não pareado com correção de *Welch*, considerando um intervalo de confiança (IC) de 0,95 e valores de $p < 0,05$. Também foram realizadas análises de curva ROC a fim de avaliar sensibilidade, especificidade e acurácia de números de onda significativos.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização clínica dos pacientes com CaP

As principais características clínicas dos participantes da pesquisa encontram-se na Tabela 3. O estudo foi realizado com 12 homens, com idade média \pm desvio padrão (DP) de $70,3 \pm 7,7$ anos. Os participantes foram agrupados de acordo com a informação de óbito, sendo que quatro foram à óbito e oito pacientes vivos até o momento das análises realizadas, com idade média \pm DP de $73,2 \pm 7,5$ anos e $68,8 \pm 7,8$ anos, respectivamente ($p > 0,05$) e sobrevivência média \pm DP de $161,5 \pm 83,4$ dias e $424,4 \pm 161,1$ dias, respectivamente ($p = 0,004$). Em relação ao exame de PSA realizado em até 3 meses antes ou após ao momento da coleta, 100% dos pacientes do grupo óbito ($n = 4$) apresentaram valor maior ou igual a 20 ng/ml, enquanto pacientes não óbito 75% ($n = 6$) apresentaram o mesmo valor. No escore de Gleason, medido no momento de diagnóstico, 100% dos pacientes óbito ($n = 4$) apresentaram a soma dos padrões maior que sete, comparado aos pacientes não óbito que 50% ($n = 4$) apresentaram > 7 e 37,5% ($n = 3$) apresentaram Gleason score igual a sete. Quanto ao agrupamento ECOG, 100% dos pacientes óbito ($n = 4$) apresentaram status de performance dois que inclui os graus 2, 3 e 4, enquanto cerca de 62,50% dos pacientes não óbito ($n = 5$) apresentaram performance 1 que inclui os graus 0 e 1.

Tabela 3 -Variáveis clínicas dos participantes da pesquisa com CaP avançado

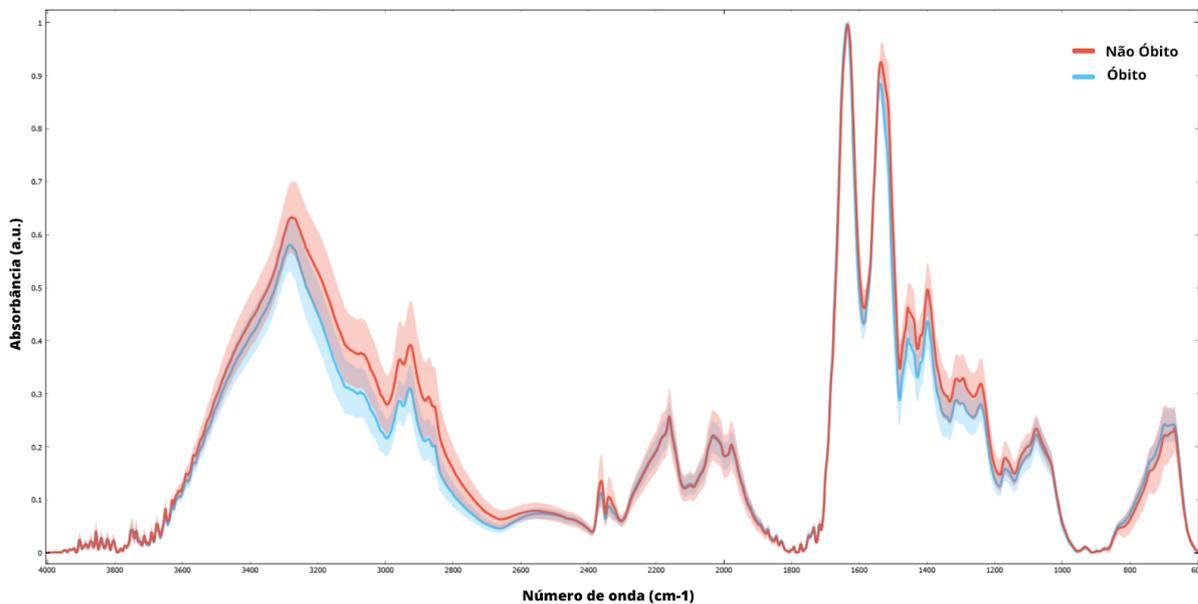
Variáveis	ÓBITO		NÃO ÓBITO	
	Pacientes (n= 4)		Pacientes (n= 8)	
Idade (anos) Média ± DP (Mín-Máx)	<u>73,25 ± 7,5 (62 - 78)</u>		<u>68,8 ± 7,8 (61 - 85)</u>	
Sobrevivência (dias) Média ± DP (Mín-Máx) ¹	<u>161,5 ± 83,4 (54 - 230)</u>		<u>424,4 ± 161,1 (185 - 576)</u>	
	n	%	n	%
Sítios metastáticos				
Linfonodos	0	0%	5	62,50%
Ossos	4	100%	8	100%
Pulmões	0	0%	2	25%
PSA (ng/ml)				
<10	0	0%	1	12,50%
10-20	0	0%	1	12,50%
≥20	4	100%	6	75%
Gleason score				
<7	0	0%	1	12,50%
7	0	0%	3	37,50%
>7	4	100%	4	50%
Tratamento em curso				
Não	1	25%	5	62,5%
Sim	3	75%	3	37,5%
ECOG ²				
1	0	0%	5	62,50%
2	4	100%	3	37,50%

Legenda: ¹ Sobrevivência foi avaliada em dias desde a data da última coleta até o momento em que foi realizado as análises dos dados; ² ECOG foi agrupado em 1 (0 e 1) e 2 (2,3 e 4).

4.2 Análise de espectros FTIR do soro de pacientes CaP Óbito e Não óbito

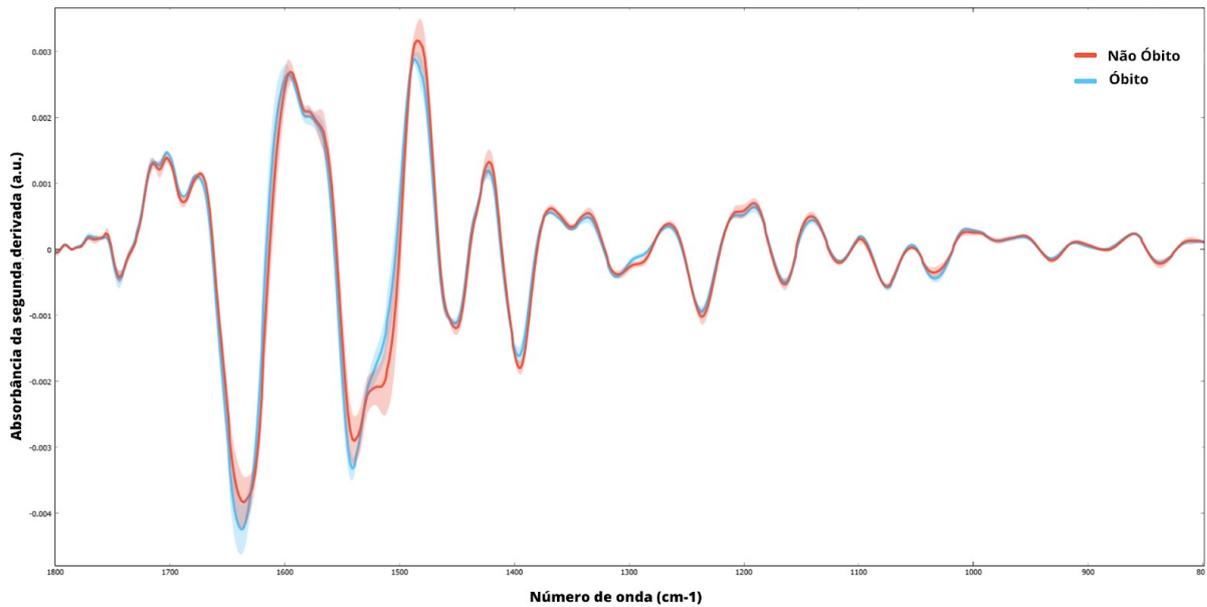
A média do espectro infravermelho original total dos pacientes agrupados em Óbito e Não óbito está representada na Figura 5. Foi observado que a absorvância do espectro do grupo Não óbito foi maior em algumas regiões em comparação com o grupo Óbito. Dessa forma, com o objetivo de acentuar essas alterações, foi obtida a segunda derivada do espectro infravermelho, sendo mostrada na Figura 6 a região *fingerprint* (1800 - 800 cm^{-1}). Os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} , referente à região amida II, apresentaram alterações consideráveis na intensidade da banda de absorção, conforme mostrado na Figura 7. Por esse motivo, esses números de ondas foram selecionados para posteriores análises, a fim de investigar seus potenciais como biomarcadores.

Figura 5 - Espectro original médio do FTIR para os grupos Não óbito (linha vermelha) e Óbito (linha azul).



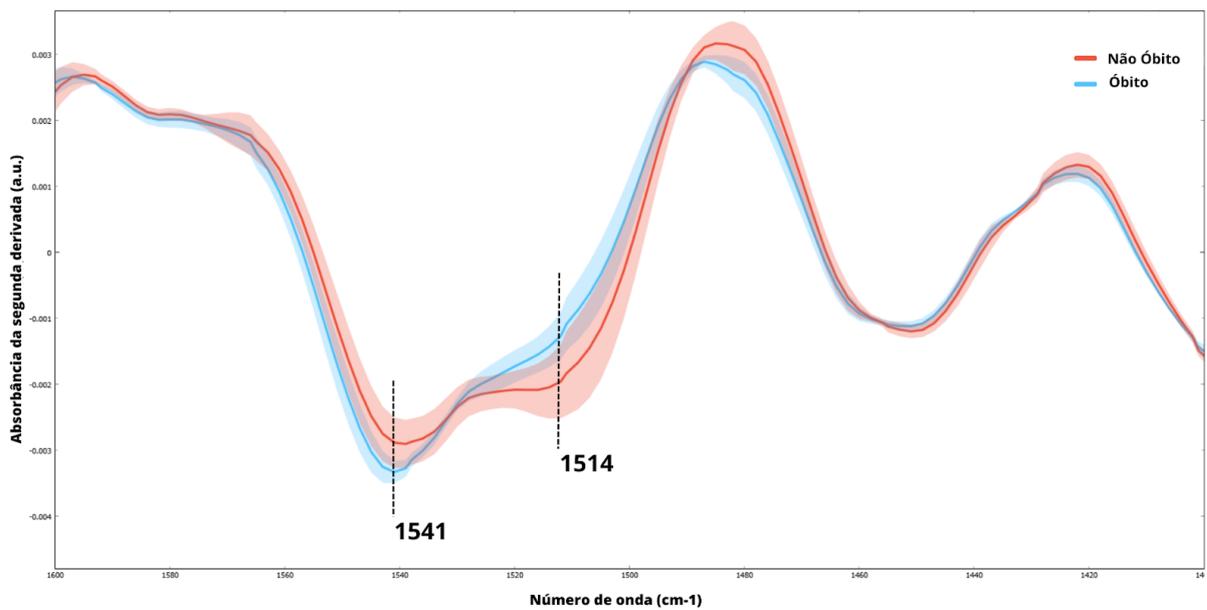
Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software Orange.

Figura 6 - Espectro médio da segunda derivada para os grupos Não Óbito e Óbito mostrando a região *fingerprint* entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1} .



Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software Orange.

Figura 7. Espectro médio da segunda derivada para os grupos Não Óbito e Óbito da região entre $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ destacando os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} .



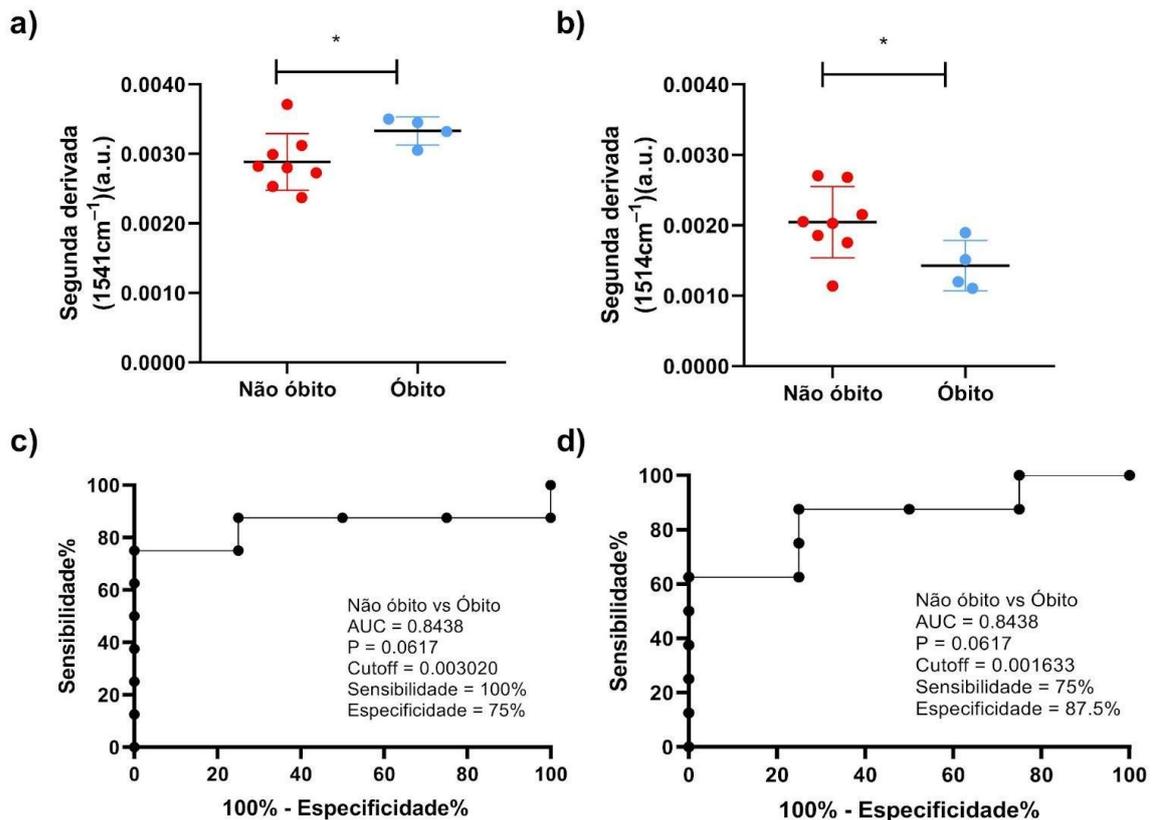
Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software Orange

A fim de avaliar a capacidade discriminatória dos números de ondas 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} que se mostraram relevantes entre os grupos Óbito e Não óbito, primeiramente foram realizadas comparações das absorbâncias médias da segunda derivada (Figura 8 a,b).

O número de onda 1541 cm^{-1} do grupo Óbito apresentou com significância ($p = 0,0299$) uma maior absorbância ($0,0033\text{ a.u.}$) quando comparado ao grupo Não óbito ($0,0029\text{ a.u.}$). Já em relação ao número de onda 1514 cm^{-1} , o grupo Não óbito apresentou com significância ($p = 0,0389$) uma maior absorbância ($0,0021\text{ a.u.}$) que o grupo Óbito ($0,0014\text{ a.u.}$). Portanto, os dois números de onda selecionados anteriormente permitiram uma discriminação entre os dois grupos, havendo diferença significativa entre as médias. O próximo passo foi avaliar a curva ROC e a área sobre a curva (AUC), a fim de testar o desempenho e acurácia do modelo discriminatório, através dos parâmetros de especificidade e sensibilidade.

Os resultados das análises de curva ROC e AUC de ambos os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} estão apresentados na Figura 8 c, d. Ao analisar os dados, foi observado que ambos os números de ondas apresentaram AUC de 0.8438 para pacientes Óbito e Não óbito. O melhor ponto de corte da curva ROC para o número de onda 1541 cm^{-1} apresentou especificidade de 75% e sensibilidade de 100% com $p = 0.0617$, enquanto para 1514 cm^{-1} apresentou sensibilidade de 75% e especificidade de $87,5\%$ com $p = 0.0617$.

Figura 8. Comparação da absorbância média da segunda derivada dos números de onda relevantes entre os grupos Óbito e Não óbito.



Gráficos de dispersão dos números de onda (a) 1541 cm^{-1} e (b) 1514 cm^{-1} para óbito (azul) e não óbito (vermelho). A linha representa a média, e as barras de erro representam o desvio padrão da média (* $P < 0,05$, comparação de grupos via teste-t não pareado com correção de Welch's). Curvas ROC relativas aos números de onda (c) 1541 cm^{-1} e (d) 1514 cm^{-1} . Os resultados de área sob a curva (AUC), valor de P, *cut-off*, sensibilidade e especificidade estão sendo mostrados próximos à curva ROC (* $P < 0,05$). Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software *GraphPad Prism 8.0.1*.

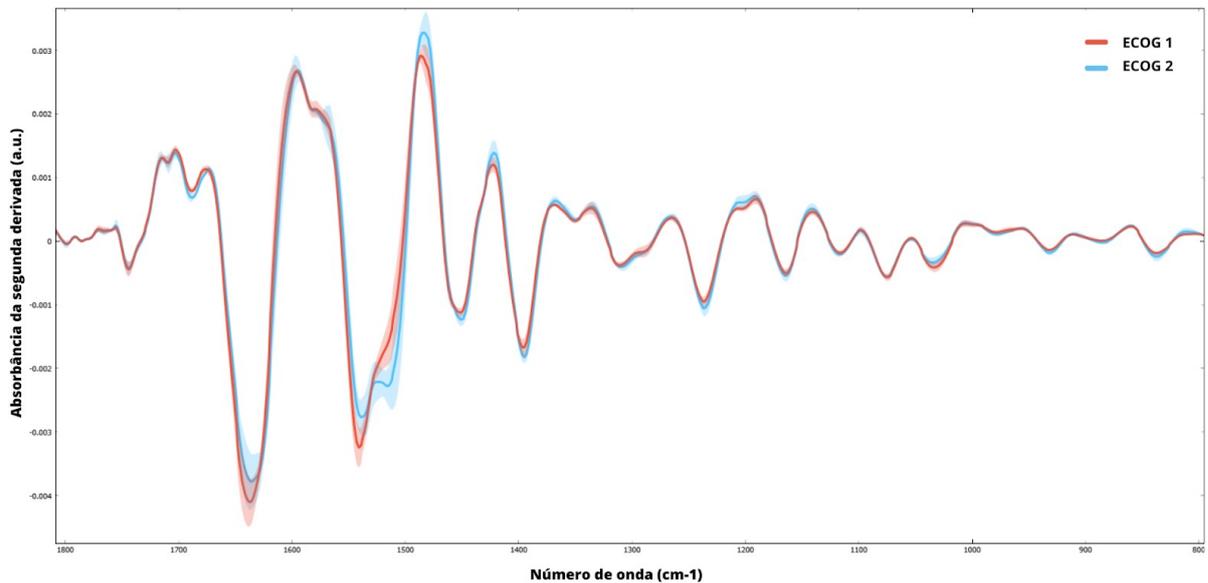
4.3 Análise de espectros FTIR do soro de pacientes CaP ECOG 1 e ECOG 2

Com o objetivo de validar o potencial biomarcador dos números de ondas obtidos nas análises anteriores entre os espectros de Óbito e Não óbito, análises comparativas foram realizadas com o parâmetro clínico clássico ECOG. Nessas análises os pacientes foram agrupados em ECOG 1 e ECOG 2, compreendendo os graus 0 e 1; e 2,3 e 4, respectivamente.

A média do espectro infravermelho original total dos pacientes ECOG 1 e ECOG 2 foi obtida e a partir desta foi feita a 2ª derivada desse espectro a fim de acentuar as diferenças das absorbâncias em certas regiões de interesse. O espectro médio da segunda derivada para os grupos ECOG 1 e ECOG 2 na região *fingerprint* (1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1}) é mostrado na Figura 9. Observou-se que a região da Amida II também apresentou notáveis alterações na absorção

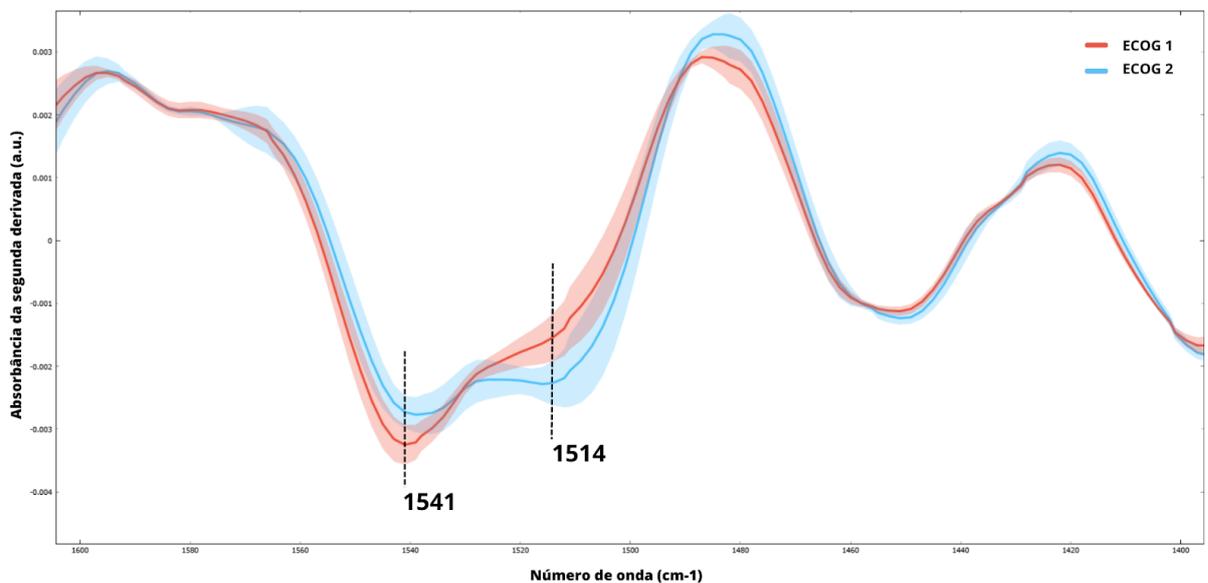
nos números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} entre os dois grupos avaliados, assim como observado nas análises anteriores entre Óbito vs Não óbito (Figura 10).

Figura 9. Espectro médio da segunda derivada para os grupos ECOG 1 e ECOG 2 mostrando a região *fingerprint* entre 1800 cm^{-1} e 800 cm^{-1} .



Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software Orange

Figura 10. Espectro médio da segunda derivada para os grupos ECOG 1 e ECOG 2 entre $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ destacando os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} .

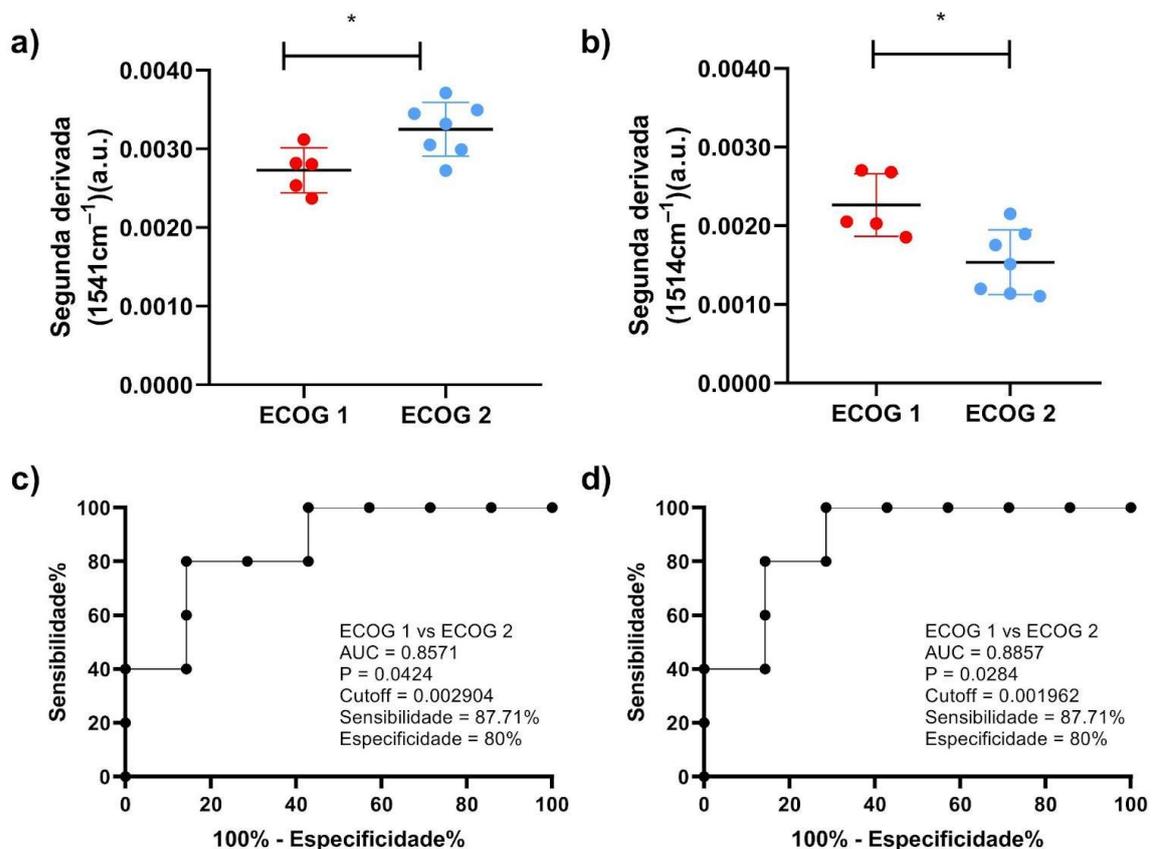


Fonte: Autoria própria, com dados retirados do software Orange

Dessa forma, análises de teste-t e curva ROC foram realizadas a fim de comparar e avaliar a acurácia do potencial discriminatório das absorbâncias médias da segunda derivada

dos números de ondas 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} dos grupos ECOG 1 e ECOG 2. Para as análises de teste-t (Figura 11 a,b), foi observado que o número de onda 1541 cm^{-1} do grupo ECOG 2 apresentou, com significância ($p=0,0176$), maior absorvância (0,0033 a.u.) em relação ao grupo ECOG 1 (0,0027 a.u.). Em relação ao número de onda 1514 cm^{-1} o grupo ECOG 1 apresentou, com significância ($p=0.0135$), maior absorvância (0,0023 a.u.) quando comparado ao ECOG 2 (0,0015 a.u.). Portanto, os dois números de onda permitiram discriminar os grupos ECOG 1 e ECOG 2. O desempenho discriminatório dos números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} foi avaliado por análises de curva ROC e área sob a curva (AUC) e os resultados estão apresentados na Figura 11 c, d. Para os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} o resultado de AUC foram, respectivamente, 0,8571 e 0,8857. Já em relação a curva ROC, o melhor ponto de corte para ambos os números de onda apresentou sensibilidade de 87,71% e especificidade de 80%.

Figura 11. Comparação da absorvância média da segunda derivada dos números de onda relevantes entre os grupos ECOG 1 e ECOG 2



Gráficos de dispersão dos números de onda 1541 cm^{-1} (a) e 1514 cm^{-1} (b) para ECOG 1 (vermelho) e ECOG 2 (azul). A linha representa a média, e as barras de erro representam o desvio padrão da média (* $p < 0.05$, comparação de grupos via teste-t não pareado com correção de Welch's). Curvas ROC relativas aos números de

onda 1541 cm^{-1} (c) e 1514 cm^{-1} (d). Os resultados de área sob a curva (AUC), valor de p, *cut-off*, sensibilidade e especificidade estão sendo mostrados próximos à curva ROC (*p < 0,05). Fonte: Autoria própria, com dados retirados do *software GraphPad Prism 8.0.1*.

5 DISCUSSÃO

A busca por novos biomarcadores para o prognóstico e predição do CaP avançado é de suma importância, uma vez que a precisão da estimativa da sobrevivência é determinante tanto nas tomadas de decisões terapêuticas quanto na melhoria da qualidade do fim de vida do paciente (HUI *et al.*, 2019; STONE *et al.*, 2023). Neste estudo, biomarcadores espectrais 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} conseguiram discriminar com acurácia pacientes com câncer de próstata avançado com perfil de pior prognóstico daqueles de melhor prognóstico. Sugere-se que os números de ondas selecionados possam ser utilizados como ferramentas de auxílio para o aperfeiçoamento da precisão clínica para estimar a sobrevida de pacientes com CaP avançado.

Nas análises, os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} apresentaram uma boa capacidade discriminatória entre pacientes Óbito e Não óbito, uma vez que 1541 cm^{-1} apresentou sensibilidade de 100% e especificidade de 75%, enquanto 1514 cm^{-1} apresentou sensibilidade de 75% e especificidade de 87,75%. Além disso, ambos os métodos apresentaram boa acurácia, visto que o valor do cálculo de AUC foi de 0,8438.

De acordo com a literatura, os resultados obtidos são positivos, visto que valores de AUC entre 0,8 - 0,9 indicam que um teste possui uma capacidade discriminatória considerada “Muito Bom” (ŠIMUNDIC, 2009). Além disso, em relação aos valores de sensibilidade e especificidade, os resultados são otimistas, visto que biomarcadores hoje considerados bem estabelecidos, tal qual o PSA, apresentam sensibilidade e especificidade de 93% e 20%, respectivamente (MERRIEL *et al.*, 2022).

A fim de validar a capacidade discriminatória dos biomarcadores selecionados, foram realizadas análises comparativas com o parâmetro clínico prognóstico considerado padrão ouro, o ECOG. Observou-se que ambos os números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} mostraram novamente potencial discriminatório entre os grupos divididos em ECOG 1 e ECOG 2, apresentando sensibilidade e especificidade de 87,71% e 80%, respectivamente. Os valores de AUC para 1541 cm^{-1} foram de 0,8571 e para 1514 cm^{-1} de 0,8857, novamente capacidade discriminatória considerada “Muito bom” (ŠIMUNDIC, 2009).

Os resultados dessas análises comparativas entre as ferramentas analíticas comprovaram que os números de onda em ambos os testes provaram ter boa capacidade discriminatória, validando a hipótese do potencial dos biomarcadores espectrais selecionados. Além disso, demonstrou que os biomarcadores conseguem discriminar pacientes com a mesma acurácia que um método padrão ouro (ECOG), com a vantagem do ATR-FTIR ser uma metodologia mais simples e objetiva.

O FTIR quando comparado às demais metodologias já vigentes é muito vantajoso, pois é um método reprodutível, rápido, sensível, não invasivo e barato (SALA *et al.*, 2020). Essa técnica analítica fornece informações a nível molecular a respeito da composição bioquímica e estrutural das amostras biológicas, gerando uma espécie de impressão digital (*fingerprint*) da amostra. A partir do espectro gerado é possível analisar a presença de grupos funcionais que estão relacionados às regiões e picos específicos, permitindo compreender a composição de lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos presentes na amostra biológica (BAKER *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2021).

Em relação ao perfil bioquímico dos biomarcadores espectrais selecionados neste estudo, ambos os números de ondas 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} compreendem a região proteica da Amida II. Essa região é comumente associada ao dobramento das ligações NH combinada com o estiramento das ligações peptídicas de CN. De acordo com a literatura, as amidas I, II e III são conhecidas por fornecerem informações em relação à conformação das estruturas secundárias das proteínas e alguns estudos já têm evidenciado a correlação com o câncer (BARTH, 2007; BORTOLETTO *et al.*, 2018).

A diferença do conteúdo proteico entre ambos os pacientes foi um fator significativo discriminatório entre os 2 grupos avaliados (Óbito e Não Óbito; ECOG 1 e ECOG 2). Ao explorar os dados clínicos dos pacientes óbitos e não óbitos, nota-se que todos os pacientes que foram a óbito apresentaram valores clínicos avançados, tais como PSA > 20 ng/mL, Gleason > 7; ECOG 2; entre outros. Já para análise de ECOG, observou-se que o grupamento ECOG 1 apresentou valores mais brandos, compreendendo os graus 0 e 1, em que os pacientes estavam ativos, mas com certa limitação. Além disso, ECOG 2 compreendeu os graus 2,3 e 4, com aqueles pacientes que já estavam bastante limitados ou até acamados.

Analisando os aspectos de ambos os grupos, supõe-se que o conteúdo proteico é influenciado pela agressividade do câncer, uma vez que os pacientes que tinham parâmetros mais agressivos e pior prognóstico foram bem discriminados daqueles que tinham parâmetros brandos e melhor prognóstico. Ambos apresentaram absorbâncias diferentes nos dois números de ondas na região proteica de amida II.

Essa hipótese é consistente com a literatura, uma vez que autores como Ali *et al.* (2020) demonstraram que diferenças nas bandas de proteínas Amida I e II conseguiram discriminar tecidos normais de tecidos de tumor cerebral humano em 1650 cm^{-1} e 1545 cm^{-1} , respectivamente. Outro estudo desenvolvido por Łach *et al.* (2023), evidenciaram que os picos de proteínas Amida II (1541 cm^{-1}) e Amida I (1650 cm^{-1}), possuíam diferenças entre pacientes controles e com Meduloblastoma. Além disso, Baker *et al.* (2008) mostraram que as bandas de

Amida I e II conseguiram discriminar os tecidos de CaP localmente confinado do invasivo, considerando o pico 1541 cm^{-1} um biomarcador de amida II de estrutura alfa-helicoidal localmente mais agressivo.

Os resultados obtidos nesta pesquisa são fundamentais para o área clínica, uma vez que, para o prognóstico do CaP, possibilita a realização da estratificação do risco e a evolução da doença utilizando uma metodologia prática e fácil. Esta metodologia permite que os profissionais da saúde determinem com precisão a previsão da sobrevivência dos pacientes e o tipo de intervenção terapêutica que será aplicada (HUI *et al.*, 2019; MARTIN *et al.*, 2020; MOREIRA; ABERN, 2018).

O estudo em questão apresentou algumas limitações, como o pequeno tamanho amostral, que apesar disso mostrou potencial de gerar resultados significativos e preliminares para futuros estudos com maior número amostral. Além disso, outra limitação foi a escassez de dados atuais na literatura que envolvam a relação da carcinogênese do CaP avançado com a região espectral proteica Amida II. Em contrapartida o presente estudo atuou nessa carência sugerindo hipóteses inovadoras suscetíveis a serem trabalhadas e validadas em posteriores análises.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que os biomarcadores espectrais 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} conseguiram discriminar com acurácia pacientes com câncer de próstata avançado com perfil de pior prognóstico daqueles de melhor prognóstico. Os biomarcadores foram validados ao serem comparados ao método prognóstico padrão ouro ECOG e apresentaram valores de ROC e AUC promissores utilizando apenas FTIR. Além disso, em relação ao perfil bioquímico foi destacado que as alterações do conteúdo proteico da região Amida II, referente aos números de onda 1541 cm^{-1} e 1514 cm^{-1} , podem estar associadas à evolução da agressividade do tumor de CaP.

As perspectivas para este estudo compreendem aumentar o número amostral e avaliar o perfil proteico das amostras de CaP avançado, a fim de esclarecer quais proteínas estão presentes nas amostras e a relação entre os processos bioquímicos em que estão inseridas e a carcinogênese do CaP.

REFERÊNCIAS

- ABOU, Diane *et al.* Prostate Cancer Theranostics - An Overview. **Frontiers In Oncology**, [s.l.], v. 10, 5 jun. 2020. DOI: 10.3389/fonc.2020.00884. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00884/full>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- AKOBENG, Anthony K. Understanding diagnostic tests 1: sensitivity, specificity and predictive values. **Acta Paediatrica**, [s.l.], v. 96, n. 3, p. 338-341, mar. 2007. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2006.00180.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1651-2227.2006.00180.x>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ALI, Tammar Hussein *et al.* Detection of human brain tumours via evaluation of their biochemical composition using ATR-FTIR spectroscopy. **Biomedical Physics & Engineering Express**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 015014, 6 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.1088/2057-1976/ab5cea>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2057-1976/ab5cea>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BARTH, Andreas. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Bioenergetics**, [s.l.], v. 1767, n. 9, p. 1073-1101, set. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17692815/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BAKER, M J *et al.* FTIR-based spectroscopic analysis in the identification of clinically aggressive prostate cancer. **British Journal Of Cancer**, [s.l.], v. 99, n. 11, p. 1859-1866, 4 nov. 2008. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6604753>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18985044/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BAKER, Matthew J *et al.* Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. **Nature Protocols**, [s.l.], v. 9, n. 8, p. 1771-1791, 3 jul. 2014. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2014.110>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24992094/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BOERRIGTER, Emmy *et al.* Clinical utility of emerging biomarkers in prostate cancer liquid biopsies. **Expert Review Of Molecular Diagnostics**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 219-230, 11 out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1080/14737159.2019.1675515>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31577907/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BORTOLETTO, Daiana R. *et al.* Vibrational spectra calculation of squamous cell carcinoma in the amide band region. **Vibrational Spectroscopy**, [s.l.], v. 97, p. 135-139, jul. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.06.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924203118301371?via%3Dihub>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BRUYNE, Sander de *et al.* Applications of mid-infrared spectroscopy in the clinical laboratory setting. **Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 1-20, 14 dez. 2017. <http://dx.doi.org/10.1080/10408363.2017.1414142>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408363.2017.1414142?journalCode=ilab20>. Acesso em: 15 jun. 2023.

BUYOUNOUSKI, Mark K. *et al.* Prostate cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 67, n. 3, p. 245-253, 21 fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21391>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28222223/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

CROCETTO, Felice *et al.* Liquid Biopsy in Prostate Cancer Management—Current Challenges and Future Perspectives. **Cancers**, [s.l.], v. 14, n. 13, p. 3272, 4 jul. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers14133272>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35805043/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

DATTA, Soumitra s *et al.* How do clinicians rate patient’s performance status using the ECOG performance scale? A mixed-methods exploration of variability in decision-making in oncology. **Ecancermedicalscience**, [s.l.], v. 13, 28 mar. 2019. <http://dx.doi.org/10.3332/ecancer.2019.913>. Disponível em: <https://ecancer.org/en/journal/article/913-how-do-clinicians-rate-patients-performance-status-using-the-ecog-performance-scale-a-mixed-methods-exploration-of-variability-in-decision-making-in-oncology>. Acesso em: 14 jun. 2023.

DÍAZ-FERNÁNDEZ, Ana *et al.* Impedimetric aptamer-based glycan PSA score for discrimination of prostate cancer from other prostate diseases. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 175, p. 112872-0, mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2020.112872>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33288424/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

FADLELMOULA, Ahmed *et al.* Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: a review towards lab-on-a-chip devices. **Micromachines**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 187, 26 jan. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/mi13020187>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35208311/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

FERREIRA, Izabella C. C. *et al.* Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy Analysis of Saliva for Breast Cancer Diagnosis. **Journal Of Oncology**, [s.l.], v. 2020, n. 0, p. 1-11, 10 fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1155/2020/4343590>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32104176/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

GRIDELLI, C. *et al.* First-line immunotherapy in advanced non-small-cell lung cancer patients with ECOG performance status 2: results of an international expert panel meeting by the italian association of thoracic oncology. **Esmo Open**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 100355, fev. 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100355>. Disponível em: [https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029\(21\)00317-3/fulltext](https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029(21)00317-3/fulltext). Acesso em: 14 jun. 2023.

HUI, David *et al.* Prognostication in advanced cancer: update and directions for future research. **Supportive Care In Cancer**, [s.l.], v. 27, n. 6, p. 1973-1984, 13 mar. 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s00520-019-04727-y>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30863893/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

IGNATIADIS, Michail *et al.* Liquid biopsy enters the clinic — implementation issues and future challenges. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s.l.], v. 18, n. 5, p. 297-312, 20 jan.

2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41571-020-00457-x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33473219/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Estimativa 2023**: incidência do câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2023.

JOY, Janet E. *et al.* **Saving Women's Lives**:: strategies for improving breast cancer detection and diagnosis. [S.l.]: Washington (Dc): National Academies Press, 2005. Disponível em: <http://www.nap.edu/catalog/11016.html>. Acesso em: 14 jun. 2023.

KELLY, Ciara M. *et al.* Moving beyond Karnofsky and ECOG Performance Status Assessments with New Technologies. **Journal Of Oncology**, [s.l.], v. 2016, n. 0, p. 1-13, mar. 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6186543>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jo/2016/6186543/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

ŁACH, Kornelia *et al.* Infrared Spectroscopy as a Potential Diagnostic Tool for Medulloblastoma. **Molecules**, [s.l.], v. 28, n. 5, p. 2390, 5 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28052390>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/5/2390>. Acesso em: 14 jun. 2023.

LI, Bo *et al.* Facile fluorescent aptasensor using aggregation-induced emission luminogens for exosomal proteins profiling towards liquid biopsy. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 168, n. 0, p. 112520, nov. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2020.112520>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32866725/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MAIA, Yara Cristina Paiva. **Peptídeos ligantes de células tumorais e de imunoglobulinas g específicos do câncer de mama**. 2011. 132 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

MARTIN, Emily J. *et al.* Prognostication in Serious Illness. **Medical Clinics Of North America**, [s.l.], v. 104, n. 3, p. 391-403, maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2019.12.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32312405/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MATUSZCZAK, Milena *et al.* Prostate Cancer Liquid Biopsy Biomarkers' Clinical Utility in Diagnosis and Prognosis. **Cancers**, [s.l.], v. 13, n. 13, p. 3373-0, 5 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers13133373>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34282798/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MERRIEL, Samuel W. D. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of prostate-specific antigen (PSA) for the detection of prostate cancer in symptomatic patients. **Bmc Medicine**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 0-0, 7 fev. 2022. <http://dx.doi.org/10.1186/s12916-021-02230-y>. Disponível em: <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-021-02230-y>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MOREIRA, Daniel M.; ABERN, Michael R. Prostate Cancer: overview, detection, treatment. **Encyclopedia Of Reproduction**, [s.l.], v. 4, n. 0, p. 474-478, jan. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.65168-1>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128012383651681?via%3Dihub>. Acesso em: 14 jun. 2023.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK (U.S.). **Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines): Prostate Cancer**. Version 1.2023, September 12, 2022. Disponível em: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf. Acesso em: 15 jun. 2023.

OKEN, M M. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. **Am J Clin Oncol**, [s.l.], n. 6, p. 649-655, dez. 1982.

PARIKH, Rajul *et al.* Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values. **Indian Journal Of Ophthalmology**, [s.l.], v. 56, n. 1, p. 45-0, 2008. <http://dx.doi.org/10.4103/0301-4738.37595>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2636062/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

POULET, Geoffroy *et al.* Liquid Biopsy: general concepts. **Acta Cytologica**, [s.l.], v. 63, n. 6, p. 449-455, 2019. <http://dx.doi.org/10.1159/000499337>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31091522/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

REBELLO, Richard J. *et al.* Prostate cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 0-0, 4 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41572-020-00243-0>. Acesso em: 15 jun. 2023.

RITCH, Chad *et al.* Recent trends in the management of advanced prostate cancer. **F1000Research**, [s.l.], v. 7, p. 1513-0, 21 set. 2018. <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.15382.1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30345007/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SALA, Alexandra *et al.* Biofluid diagnostics by FTIR spectroscopy: a platform technology for cancer detection. **Cancer Letters**, [s.l.], v. 477, n. 0, p. 122-130, maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.020>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32112901/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SANDHU, Shahneen *et al.* Prostate cancer. **The Lancet**, [s.l.], v. 398, n. 10305, p. 1075-1090, set. 2021. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)00950-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(21)00950-8). Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00950-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00950-8/fulltext). Acesso em: 14 jun. 2023.

SANTOS, I. J. B. *et al.* O impacto da nanotecnologia na indústria de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: sustentabilidade, desafio e inovação**. Rio Paranaíba: Universidade Federal de Viçosa Campus Rio Paranaíba, v. 1, p. 1-406, 2017.

SAUER, Ann Katrin *et al.* Zinc Deficiency in Men Over 50 and Its Implications in Prostate Disorders. **Frontiers In Oncology**, [s.l.], v. 10, n. 0, p. 0-0, 6 ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2020.01293>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.01293/full>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SEKHOACHA, Mamello *et al.* Prostate Cancer Review: genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. **Molecules**, [s.l.], v. 27, n. 17, p. 5730-0, 5 set. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27175730>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36080493/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SIMCOCK, R. *et al.* Beyond Performance Status. **Clinical Oncology**, [s.l.], v. 32, n. 9, p. 553-561, set. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clon.2020.06.016>. Disponível em: [https://www.clinicaloncologyonline.net/article/S0936-6555\(20\)30272-7/fulltext](https://www.clinicaloncologyonline.net/article/S0936-6555(20)30272-7/fulltext). Acesso em: 14 jun. 2023.

ŠIMUNDIC, AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. **International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**.19(4):203-11, Jan. 2009.

SOLOMONS, T. W. G. , FRUHLE, C. B. , Química Orgânica, 12ª edição, LTC – **Livros Técnicos e Científicos Editora S. A.**, Rio de Janeiro, c.2, p. 86-97, 2018.

SOUZA, Carlos. D. F.; LIMA, R. S. . GESTAO DE CAMPANHA EM SAÚDE PÚBLICA: Relato de Experiência da Campanha Nacional de Hanseníase em Juazeiro-Bahia em 2014.. **BIS. Boletim do Instituto de Saúde** (Impresso), v. 16, p. 97-106, 2015.

STONE, P. *et al.* Prognostic evaluation in patients with advanced cancer in the last months of life: esmo clinical practice guideline. **Esmo Open**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 101195-0, abr. 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.esmoop.2023.101195>. Disponível em: [https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029\(23\)00417-9/fulltext](https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029(23)00417-9/fulltext). Acesso em: 18 jun. 2023.

SUNG, Hyuna *et al.* Global Cancer Statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SWAMI, Umang *et al.* Advanced Prostate Cancer: treatment advances and future directions. **Trends In Cancer**, [s.l.], v. 6, n. 8, p. 702-715, ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trecan.2020.04.010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32534790/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

ZELIG, Udi *et al.* Pre-screening and follow-up of childhood acute leukemia using biochemical infrared analysis of peripheral blood mononuclear cells. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, [s.l.], v. 1810, n. 9, p. 827-835, set. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.06.010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21722709/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

WANG, Guocan *et al.* Genetics and biology of prostate cancer. **Genes & Development**, [s.l.], v. 32, n. 17-18, p. 1105-1140, 1 set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.315739.118>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6120714/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

WANG, Rong *et al.* Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Oral Cancer Diagnosis. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 1206, 26 jan. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22031206>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/3/1206>. Acesso em: 14 jun. 2023.

YAP, Xin-Le *et al.* Detection of Prostate Cancer via IR Spectroscopic Analysis of Urinary Extracellular Vesicles: a pilot study. **Membranes**, [s.l.], v. 11, n. 8, p. 591-0, 31 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/membranes11080591>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0375/11/8/591>. Acesso em: 14 jun. 2023.

APÊNDICE A – Classificação Sistema TNM para tumor de próstata

T - Tumor Primário		
TX		O tumor primário não pode ser avaliado
T0		Não há evidência de tumor primário
T1		Tumor não diagnosticado clinicamente, não palpável
	T1a	Achado histológico incidental de tumor em 5% ou menos do tecido ressecado
	T1b	Achado histológico incidental de tumor em mais de 5% do tecido ressecado
	T1c	Tumor identificado por biópsia por agulha, mas não palpável
T2		Tumor é palpável e confinado à próstata
	T2a	Tumor envolve uma metade de um dos lobos ou menos
	T2b	Tumor envolve mais da metade de um dos lobos, mas não ambos os lados
	T2c	Tumor envolve ambos os lobos
T3		
	T3a	Tumor extra prostático não fixo ou que não invade estruturas adjacentes
	T3b	Tumor invade vesícula(s) seminal(ais)
T4		O tumor está fixo ou invade outras estruturas adjacentes que não as vesículas seminais, esfíncter externo, reto, bexiga, músculos elevadores e/ou parede pélvica
N - Linfonodos Regionais		
NX		Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0		Ausência de metástase nos linfonodos regionais
N1		Metástase nos linfonodos regionais
M - Metástase a Distância		
M0		Sem metástase distante
M1		Metástase a distância
	M1a	Linfonodo(s) não regional(ais)
	M1b	Osso(s)

	M1c	Outros locais com ou sem doença óssea
--	------------	---------------------------------------

Fonte: Aatoria própria baseado em BUYYOUNOUSKI *et al.*, (2017)

ANEXO A – ESCALA DE PERFORMANCE: ECOG**Escala de Performance: ECOG**

0	Completamente ativo; capaz de realizar todas as suas atividades sem restrição (Karnofsky 90-100 %)
1	Restrição a atividades físicas rigorosas; é capaz de trabalhos leves e de natureza sedentária (Karnofsky 70-80%)
2	Capaz de realizar todos os auto-cuidados, mas incapaz de realizar qualquer atividade de trabalho; em pé aproximadamente 50% das horas em que o paciente está acordado. (Karnofsky 50-60%).
3	Capaz de realizar somente auto-cuidados limitados, confinado ao leito ou cadeira mais de 50% das horas em que o paciente está acordado (Karnofsky 30-40%)
4	Completamente incapaz de realizar auto-cuidados básico, totalmente confinado ao leito ou à cadeira (Karnofsky < 30%).

ANEXO B – APROVAÇÃO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: A IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS METASTÁTICOS

Pesquisador: Yara Cristina de Paiva Maia

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 08755018.1.0000.5152

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.971.857

Apresentação do Projeto:

- Trata-se de uma emenda do projeto aprovado segundo o Parecer Substanciado Número 4.556.238, de 24 de Fevereiro de 2021.

- São critérios do estudo:

-**INCLUSÃO:** pacientes com idade maior ou igual a 18 anos atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) com diagnóstico de câncer com estimativa clínica de sobrevida < 1 ano; presença de metástase e/ou recorrência loco-regional inoperável não passível de cura; admitidos no programa de cuidados paliativos; preenchendo todos os pré-requisitos para o exame da Bioimpedância Elétrica e possuindo capacidade física, verbal e cognitiva para responder os questionários.

- **EXCLUSÃO:** pacientes que desconhecem sobre o diagnóstico de doença avançada; acamados; inconscientes; com neoplasias hematológicas; presença de infecções e lesão em membros superiores e inferiores que impossibilitem a realização da BIA; em uso de antiinflamatórios, sondas alimentares, marcapasso e desfibrilador cardíacos; além da recusa em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4131 **E-mail:** cep@propp.ufu.br