



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO

**EFICÁCIA DA ANÁLISE METABONÔMICA DO SORO DE PACIENTES COM  
CÂNCER DE PRÓSTATA**

Recife

2021

MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO

**EFICÁCIA DA ANÁLISE METABONÔMICA DO SORO DE PACIENTES COM  
CÂNCER DE PRÓSTATA**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

**Área de concentração:** Cirurgia Clínica e Experimental.

**Orientador:**

Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima

Professor Titular do Departamento de Cirurgia do CCM da UFPE

**Coorientador:**

Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva

Professor Adjunto do Departamento de Química Fundamental da UFPE

Recife

2021

Catálogo na fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 1010

A345e Albuquerque Neto, Moacir Cavalcante de.  
Eficácia da análise metabonômica do soro de pacientes com câncer de próstata / Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto. – 2021.  
54 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Salvador Vilar Correia Lima.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. Recife, 2021.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Câncer de próstata. 2. Biomarcadores. 3. Metabolômica. 4. Espectroscopia de prótons por ressonância magnética. I. Lima, Salvador Vilar Correia (Orientador). II. Título.

617.91

CDD (20.ed.)

UFPE (CCS2021-096)

MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO

**EFICÁCIA DA ANÁLISE METABONÔMICA DO SORO DE PACIENTES COM  
CÂNCER DE PRÓSTATA**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

Aprovada em: 25/02/2021

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima (Presidente da Banca Examinadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Geraldo de Aguiar Cavalcanti (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Esdras Marques Lins (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Leslie Clifford Noronha Araújo (Examinador Externo)  
Universidade Católica de Pernambuco  
Faculdade de Medicina de Olinda

---

Prof. Dr. Thomé Décio Pinheiro Barros Júnior (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

À minha esposa **Aline**, por suportar esse período com compreensão, incentivo e apoio;

À minhas filhas **Maria** e **Isabel**, pelos momentos em que não pude dedicar-lhes a atenção necessária;

Aos meus pais **Flávio** e **Olga**, responsáveis pela minha formação profissional;

Aos demais **familiares** e **amigos**.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima, referência em ensino e pesquisa, pela orientação da tese;

Ao Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva, pelas orientações durante o planejamento e execução do projeto;

Ao colega Thiago Siqueira Leite, pela dedicação na coleta dos dados e apoio na elaboração da tese;

Aos demais pesquisadores do Departamento de Química Fundamental, pela contribuição na análise dos dados;

Ao corpo clínico, professores e residentes do Serviço de Urologia do Hospital das Clínicas da UFPE, pela compreensão e apoio profissional;

Aos pacientes que participaram do estudo, pela confiança e nobreza em contribuir com a pesquisa.

“Não se deve ir atrás de objetivos fáceis. É preciso buscar o que só pode ser alcançado por meio dos maiores esforços.” (Einstein, 1915)

## RESUMO

**Introdução:** O câncer de próstata é a segunda neoplasia maligna mais comum e a segunda principal causa de morte relacionada ao câncer no sexo masculino, no Brasil. Apesar do PSA ter uma boa sensibilidade, há uma carência de marcadores com alta especificidade para o diagnóstico do câncer de próstata. **Objetivos:** Avaliar se há diferença nos espectros das amostras de sangue por meio de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio ( $H^1$  RMN) entre pacientes com câncer de próstata e pacientes saudáveis. **Materiais e Métodos:** Foram estudados 40 pacientes provenientes do Ambulatório de Urologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sendo 20 com diagnóstico de câncer de próstata e 20 sem evidências de câncer de próstata. Os pacientes tiveram as amostras de sangue coletadas no ambulatório e na enfermaria de Urologia do Hospital das Clínicas que, em seguida, foram encaminhadas à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE para obtenção do espectro de  $H^1$  RMN. **Resultados:** Utilizando métodos de estatística multivariada, a avaliação metabômica das amostras de sangue foi capaz de diferenciar pacientes portadores de câncer de próstata do grupo sadio com acurácia de 95%, sensibilidade de 95%, especificidade de 95%, valor preditivo positivo de 95% e valor preditivo negativo de 95%. **Conclusão:** Os espectros do soro do sangue analisados por  $H^1$  RMN em pacientes com câncer de próstata apresentou diferença significativa dos espectros dos pacientes sem evidências de câncer de próstata. A metabômica pode se tornar uma ferramenta fundamental no diagnóstico do câncer de próstata.

**Palavras-chave:** Câncer de próstata. Biomarcadores. Metabômica. Espectroscopia de prótons por ressonância magnética.

## ABSTRACT

**Introduction:** Prostate cancer is the second most common malignancy and the second leading cause of cancer-related death in males, in Brazil. Although PSA has a good sensitivity, there is a lack of markers with high specificity for the diagnosis of prostate cancer. **Objectives:** To evaluate whether there is difference in the spectra of blood samples obtained by Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance ( $H^1$ -NMR) among patients with prostate cancer and healthy patients.

**Materials and Methods:** Forty patients from the Urologic Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco (UFPE) were studied. Twenty with a diagnosis of prostate cancer and 20 without evidence of prostate cancer. The patients had blood samples collected in the urology ambulatory and infirmary of the Hospital das Clínicas and then the blood samples were sent to the Analytical Center of the Fundamental Chemistry Department at UFPE to obtain the  $H^1$ -NMR spectrum. **Results:** Using multivariate statistical methods, metabonomic evaluation of blood samples was able to differentiate patients with prostate cancer from the healthy group with 95% accuracy, 95% sensitivity, 95% specificity, 95% positive predictive value and 95% negative predictive value. **Conclusion:** The blood serum spectra analyzed by  $H^1$  NMR in patients with prostate cancer showed a significant difference from the spectra of patients without evidence of prostate cancer. Metabonomics can become a fundamental tool in the diagnosis of prostate cancer.

**Keywords:** Prostatic neoplasms. Biomarkers. Metabolomics. Proton magnetic resonance spectroscopy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	A cascata “ômica” -----	20
Figura 2 –	Etapas da avaliação metabonômica -----	22
Figura 3 –	Espectro de H <sup>1</sup> RMN de soro das 40 amostras (Grupos A e B) -----	32
Figura 4 –	Análise dos componentes principais (PCA) demonstrando falha em diferenciar os grupos -----	33
Figura 5 –	Análise discriminante parcial de mínimos quadrados ortogonal (OPLS- DA) demonstrando diferenciação entre os grupos -----	33
Figura 6 –	Análise discriminante linear (LDA) demonstrando diferenciação entre os grupos -----	34
Figura 7 –	Relação entre idade, PSA e volume prostático -----	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Estimativa de novos casos de Câncer de Próstata no Brasil em 2020 -----	13
Tabela 2 –	Mortalidade por Câncer de Próstata no Brasil em 2018 -----	13
Tabela 3 –	Relação entre o valor do PSA e a prevalência de Câncer de Próstata e doença de alto grau -----	14
Tabela 4 –	Benefício do rastreamento do Câncer de Próstata com o prolongamento do tempo de rastreamento -----	15
Tabela 5 –	Classificação histológica do Câncer de Próstata -----	16
Tabela 6 –	Classificação TNM para Câncer de Próstata -----	17
Tabela 7 –	Classificação de risco do Câncer de Próstata - <i>European Association of Urology</i> -----	18
Tabela 8 –	Evolução do número de metabólitos catalogados -----	19
Tabela 9 –	Comparação entre espectrometria de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa -----	21
Tabela 10 –	Classificação PI-RADS e probabilidade de Câncer de Próstata -----	23
Tabela 11 –	Características demográficas e clínicas dos grupos A e B -----	32
Tabela 12 –	Resultados do modelo da análise discriminante linear (LDA) dos dados espectrais de $H^1$ RMN para discriminação entre os grupos -----	35
Tabela 13 –	Valores de PSA ajustados com a idade -----	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCS	Centro de ciências da saúde
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EDR	Exame digital retal
EM	Espectrometria de massa
ERMN	Espectrometria de ressonância nuclear magnética
GC	Cromatografia de gás
GC-MS	Cromatografia de gás/espectrometria de massa
HMDB	Base de dados do metaboloma humano
HPB	Hiperplasia prostática benigna
H <sup>1</sup> RMN	Ressonância nuclear magnética de hidrogênio
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
ISUP	Sociedade Internacional de Urologia
LDA	Análise discriminante linear
LC-MS	Cromatografia líquida/espectrometria de massa
LOOCV	Validação cruzada <i>Leave-one-out</i>
OPLS-DA	Análise discriminante parcial de mínimos quadrados ortogonal
p2PSA	Isoforma precursora do PSA
PI-RADS	Relatório de imagens da próstata e sistema de dados
PLS-DA	Análise discriminante parcial de mínimos quadrados
PCA	Análise de componentes principais
PSA	Antígeno prostático específico
PSAd	Densidade do PSA
PSAdt	Tempo de duplicação do PSA
PSA <sub>l</sub>	PSA livre
PSA <sub>t</sub>	PSA total
PSA <sub>vel</sub>	Velocidade de crescimento do PSA
RMMPP	Ressonância magnética multiparamétrica da próstata
RNA	Ácido Ribonucléico
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
RMN	Ressonância nuclear magnética
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
USG	Ultrassonografia
USPSTF	Força-Tarefa de Serviço Preventivo dos EUA

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1	CÂNCER DE PRÓSTATA	13
1.2	METABOLÔMICA E METABONÔMICA	18
1.3	OBJETIVO	22
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>26</b>
3.1	LOCAL DO ESTUDO	26
3.2	TIPO DE ESTUDO	26
3.3	SELEÇÃO	26
<b>3.3.1</b>	<b>Crítérios de inclusão</b>	<b>26</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Crítérios de exclusão</b>	<b>26</b>
3.4	TAMANHO DA AMOSTRA	27
3.5	PROCEDIMENTOS	27
<b>3.5.1</b>	<b>Procedimentos técnicos</b>	<b>27</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Procedimentos analíticos</b>	<b>28</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Procedimentos éticos</b>	<b>30</b>
3.5.3.1	Aprovação pelo Comitê de Ética do CCS	30
3.5.3.2	Proteção dos indivíduos envolvidos no estudo	30
3.5.3.3	Benefícios para os indivíduos e sociedade	31
3.5.3.4	Benefícios para a ciência	31
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
4.1	DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS	32
4.2	DADOS ESPECTRAIS E ANÁLISES MULTIVARIADAS	32
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>39</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>40</b>
	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>	<b>46</b>
	<b>APÊNDICE B – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS</b>	<b>49</b>
	<b>ANEXO A – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UFPE</b>	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 CÂNCER DE PRÓSTATA

O câncer de próstata é o segundo tipo de câncer mais comum entre os homens, no Brasil. O Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) projetou o diagnóstico de 65.840 novos casos de câncer de próstata no Brasil para o ano de 2020 (**Tabela 1**). Ainda, é o segundo tipo de câncer com maior taxa de mortalidade, nos homens. Em 2018, o câncer de próstata foi responsável por 15.576 óbitos, ficando atrás apenas do câncer de pulmão, traqueia e brônquios. (**Tabela 2**) (1)

**Tabela 1** – Estimativa de novos casos de Câncer de Próstata no Brasil em 2020.

Localização	Casos novos	%
Próstata	65.840	29,2
Cólon e Reto	20.540	9,1
Traqueia, Brônquios e Pulmões	17.760	7,9
Estômago	13.360	5,9
Cavidade Oral	11.200	5,0
Esôfago	8.690	3,9
Bexiga	7.590	3,4
Laringe	6.470	2,9
Leucemias	5.920	2,6
Sistema Nervoso Central	5.870	2,6
Todas as Neoplasias, exceto pele não melanoma	225.980	100,0
<b>Todas as Neoplasias</b>	<b>309.750</b>	

**Tabela 2** – Mortalidade por Câncer de Próstata no Brasil em 2018.

Localização	Óbitos	%
Traqueia, Brônquios e Pulmões	16.371	13,9
Próstata	15.576	13,3
Cólon e Reto	9.608	8,2
Estômago	9.387	8,0
Esôfago	6.756	5,8
Fígado e Vias Biliares Intra-hepáticas	6.181	5,3
Pâncreas	5.497	4,7
Cavidade Oral	4.974	4,2
Sistema Nervoso Central	4.803	4,1
Laringe	3.859	3,3
<b>Todas as Neoplasias</b>	<b>117.477</b>	<b>100,0</b>

Classicamente, a suspeita de câncer de próstata ocorre quando há uma alteração no exame digital retal (EDR) e/ou nos valores séricos do antígeno prostático específico (PSA). Havendo essa suspeita, deve-se proceder à biópsia do tecido prostático para confirmar o

diagnóstico. Em cerca de 18% dos casos, o câncer de próstata é diagnosticado quando apenas o EDR está alterado, independentemente do valor do PSA. Com relação ao PSA, valores séricos elevados do PSA total (PSAt) podem estimar o risco de câncer de próstata, porém outras variações do PSA podem ser utilizadas para aumentar a acurácia, como a densidade do PSA (PSAd), a velocidade de elevação do PSA (PSAvel), o tempo de duplicação do PSA (PSAdt) e a relação do PSA livre sobre o PSA total (PSAl/PSAt). (**Tabela 3**) (2–4)

**Tabela 3** – Relação entre o valor do PSA e a prevalência de Câncer de Próstata e doença de alto grau. Adaptado de Thompson, 2004.

PSA (ng/ml)	Nº de homens	Homens com Câncer de Próstata	Homens com Câncer de Próstata de alto grau	Sensibilidade	Especificidade
		Nº de homens (/%)	Nº/total nº (%)		
≤ 0,5	486	32 (6,6)	4/32 (12,5)	1,0	0,0
0,6 – 1,0	791	80 (10,1)	8/80 (10,0)	0,93	0,02
1,1 – 2,0	998	170 (17,0)	20/170 (11,8)	0,75	0,33
2,1 – 3,0	482	115 (23,9)	22/115 (19,1)	0,37	0,73
3,1 – 4,0	193	52 (26,9)	13/52 (25,0)	0,12	0,92

O rastreamento do câncer de próstata, tema polêmico na urologia, é a ferramenta que permite o diagnóstico nas fases mais incipientes da doença, quando a possibilidade de cura é maior que 90%. As críticas à realização do rastreamento populacional se devem aos potenciais danos causados pela biópsia e pelo tratamento *versus* o ganho de sobrevida. Alguns estudos não demonstraram ganho de sobrevida com o rastreamento e em 2012, a Força-Tarefa de Serviço Preventivo dos EUA (USPSTF), órgão americano que tem influência na elaboração de diretrizes na prevenção de doenças, recomendou a não realização do rastreamento. Porém, reavaliação dos dados e divulgação de resultados de estudos com maior tempo de seguimento mostraram que o rastreamento pode ser benéfico, especialmente com o prolongamento do tempo de rastreamento. O número necessário para rastrear para prevenir uma morte por câncer de próstata foi de 570 pacientes com 16 anos de seguimento em comparação com 1947

pacientes com 9 anos de seguimento, uma diminuição importante, enfatizando o impacto benéfico a longo prazo do rastreamento.

Já o número de casos necessários a serem diagnosticados para evitar uma morte diminuiu de 48 pacientes com 9 anos de seguimento para 18 pacientes com 16 anos de seguimento (**Tabela 4**). Assim, a tendência atual é tentar identificar quais pacientes devem ser submetidos ao rastreamento e discutir com eles os riscos e benefícios. Ainda, mesmo que o paciente seja diagnosticado com câncer de próstata, não necessariamente será submetido a algum tratamento cirúrgico ou radioterápico, podendo ser realizada a vigilância ativa, a depender da classificação de risco da doença. (5–9)

**Tabela 4** – Benefício do rastreamento do Câncer de Próstata. Adaptado de Hugosson, 2019.

<b>Seguimento (em anos)</b>	<b>Número de casos necessários para rastrear para evitar 1 morte por câncer de próstata</b>	<b>Número de casos necessários para diagnosticar para evitar 1 morte por câncer de próstata</b>
9	1.410	48
11	979	35
13	781	27
16	570	18

A realidade é que há uma necessidade em melhorar a precisão dos métodos diagnósticos a fim de diminuir a realização de biópsias prostáticas desnecessárias, diminuir o diagnóstico da doença clinicamente insignificante e aumentar o diagnóstico de doença clinicamente significativa. Assim, a utilização da RMMPP (ressonância magnética multiparamétrica da próstata) e de biomarcadores vem ganhando espaço na propedêutica do câncer de próstata. (10)

O diagnóstico de câncer de próstata é confirmado com o estudo histopatológico do tecido prostático biopsiado. O dado histológico mais importante é a determinação do Escore de Gleason (EG) que está diretamente relacionado ao prognóstico da doença. O EG é calculado pela soma do grau histológico mais frequente com o segundo mais frequente. O grau histológico varia de 3 a 5 e o EG pode ser 6 (3+3), 7 (3+4 ou 4+3), 8 (4+4 ou 3+5 ou 5+3), 9 (5+4 ou 4+5) e 10 (5+5). Em 2014, o consenso da ISUP reformulou o sistema de classificação para facilitar o entendimento da classificação histológica, conforme a **Tabela 5**. (11)

**Tabela 5** – Classificação histológica do Câncer de Próstata.

ISUP	Escore de Gleason
1	6
2	7 (3+4)
3	7 (4+3)
4	8
5	9 e 10

Uma vez diagnosticada a condição maligna da próstata deve-se definir, em consenso com o paciente, qual a conduta a ser tomada. Paciente com expectativa de vida menor que 10 anos deve permanecer em observação vigilante, isto é, o seguimento com exames não invasivos e tratamento paliativo, se houver necessidade. Se o paciente tiver expectativa de vida maior que 10 anos, terapia com intenção curativa deve ser realizada, dependendo da classificação de risco (**Tabelas 6 e 7**). Doença de baixo risco pode ser conduzida com a vigilância ativa, ou seja, o acompanhamento do paciente utilizando exames em intervalos preestabelecidos (EDR, PSA, RMMPP e biópsia prostática) para identificar possível progressão da doença e indicação de terapia curativa. (4)

Quando a doença é diagnosticada e classificada em risco intermediário ou alto risco (localizada), as diretrizes recomendam a realização de terapia curativa. As opções são a prostatectomia radical, radioterapia isolada ou associada à hormonioterapia e a braquiterapia. Na doença de alto risco (localmente avançada), muitas vezes é necessário a utilização da terapia trimodal (prostatectomia radical + radioterapia + hormonioterapia).(16)

Há também a fase metastática, quando não há mais possibilidade de cura. Pode ser metastática ao diagnóstico (*de novo*) ou ser resultado da progressão da doença localizada ou localmente avançada após tratamento. Classicamente, é tratada com hormonioterapia (castração química ou cirúrgica), porém novos estudos mostram benefícios significativos no ganho de sobrevida quando se associa quimioterapia, novos agentes hormonais ou até mesmo a radioterapia prostática. (17–22)

**Tabela 6** – Classificação TNM para Câncer de Próstata.

<b>T</b>	<b>Tumor primário – avaliado por EDR</b>
TX	Tumor primário não pode ser avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
T1	Tumor não palpável
	T1a – Tumor incidental $\leq 5\%$ do tecido ressecado
	T1b – Tumor incidental $> 5\%$ do tecido ressecado
	T1c – Tumor identificado em biópsia por agulha (PSA elevado)
T2	Tumor palpável e confinado à próstata
	T2a – Tumor envolve metade ou menos de 1 lobo
	T2b – Tumor envolve mais da metade de 1 lobo, mas não 2 lobos
	T2c – Tumor envolve os 2 lobos
T3	Tumor se estende através da cápsula prostática
	T3a – Extensão extracapsular
	T3b – Tumor invade vesícula(s) seminal(is)
T4	Tumor fixo ou invade estruturas adjacentes: esfíncter externo, reto, músculos elevadores do ânus e/ou parede pélvica
<b>N</b>	<b>Linfonodos regionais (pélvicos)</b>
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem metástases nos linfonodos regionais
N1	Metástases nos linfonodos regionais
<b>M</b>	<b>Metástases à distância</b>
M0	Sem metástases à distância
M1	Metástases à distância
	M1a – Linfonodos não-regionais
	M1b - Osso
	M1c – Outros locais

**Tabela 7** – Classificação de risco do Câncer de Próstata - European Association of Urology.

	<b>Baixo risco</b>	<b>Risco intermediário</b>	<b>Alto risco localizada</b>	<b>Alto risco Localmente avançada</b>
PSA (ng/ml)	<10	10-20	>20	<b>Qualquer PSA</b>
ISUP (Escore de Gleason)	<b>e 1 (6)</b>	<b>ou 2 ou 3 (7)</b>	<b>ou &gt;7 (4/5)</b>	<b>Qualquer Gleason</b>
TNM	<b>e cT1-2a</b>	<b>ou cT2b</b>	<b>ou cT2c</b>	<b>cT3-4 ou N+</b>

## 1.2 METABOLÔMICA E METABONÔMICA

Metabolômica é o estudo, a quantificação e a identificação dos metabólitos em um determinado sistema biológico, usando amostras biológicas que incluem plasma, urina, saliva, tecidos, entre outros. Os metabólitos são moléculas de baixo-peso molecular, ou seja, <1500 daltons e podem incluir uma gama de entidades químicas endógenas e exógenas, como peptídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos, ácidos orgânicos, vitaminas, polifenóis, alcalóides, minerais e praticamente qualquer outro produto químico que possa ser usado, ingerido ou sintetizado por uma determinada célula ou organismo. Na Base de Dados do Metaboloma Humano (Human Metabolome Database – HMDB) 4.0, estão catalogados 114.100 metabólitos. **(Tabela 8)** (12-15)

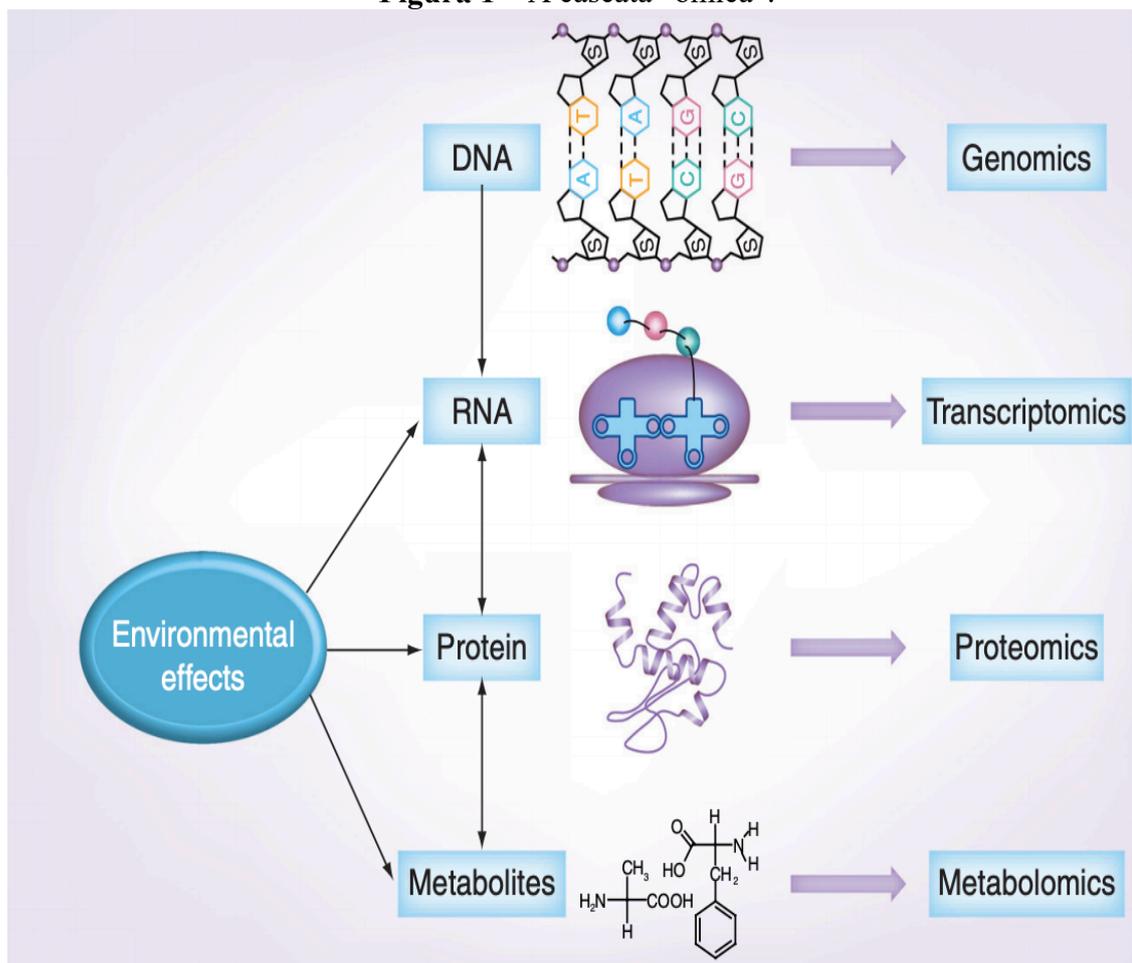
Metabolômica deriva do termo metaboloma, criado em 1998 por Oliver e é definido como a interação dos metabólitos em determinado sistema biológico. Faz parte das ciências “ômicas”, como a genômica (estudo do DNA e da informação genética), a transcriptômica (estudo do RNA e das diferenças na expressão do RNAm) e a proteômica (estudo conjunto de proteínas e suas isoformas). Porém, a metabolômica reflete a atividade bioquímica das células e/ou tecidos, representando o fenótipo molecular. **(Figura 1)** (23–24)

**Tabela 8** – Evolução do número de metabólitos catalogados. Adaptado do Banco de dados do metaboloma humano (HMDB).

Categoria	HMDB1.0	HMDB2.0	HMDB3.0	HMDB4.0
Número total de metabólitos	2180	6408	40 153	114 100
Número de metabólitos detectados e quantificados	883	4413	16 714	18 557
Número de metabólitos detectados e não quantificados	1297	1995	2798	3271
Número de metabólitos esperados	0	0	20 641	82 274
Número de metabólitos previstos*	0	0	0	9548
Número de sinônimos exclusivos	27 700	43 882	199 668	1 231 398
Número de cmpds com expt. MS/MS espectro	390	799	1249	2265
Número de cmpds com expt. GC/MS espectro	0	279	1220	2544
Número de cmpds com espectro expt. NMR	385	792	1054	1494
Número de cmpds com espectros pred. MS/MS*	0	0	98	601
Número de cmpds com espectros pred. GC/MS*	0	0	26	880
Número de espectros experimentais de NMR	765	1580	2032	3840
Número de espectros experimentais de MS/MS	1180	2397	5776	22 198
Número de espectros GC/MS experimentais	0	279	1763	7418
Número de espectros de MS/MS previstos*	0	0	0	279 972
Número de espectros GC/MS previstos*	0	0	0	38 277
Número de mapas de vias metabólicas	26	58	442	25 570
Número de compostos com ligações da doença	862	1002	3105	5498
Número de compostos com dados de concentração	883	4413	5027	7552
Número de propriedades moleculares previstas	2	2	10	24
Número de interações metabólica-SNP*	0	0	0	6777
Número de interações metabólito-droga*	0	0	0	2497
Não. de metabólitos w. sexo/diurnal/idade variação*	0	0	0	2901
Número de reações metabólicas*	0	0	0	18.192
Número de termos de ontologia definidos*	0	0	0	3150
Número de reações metabólicas*	0	0	0	18.192

\*Novidade na versão HMDB 4.0.

**Figura 1 – A cascata “ômica”.**



Fonte: Gupta, 2012.

Além da metabolômica, outra estratégia utilizada para estudo dos metabólitos é a metabonômica. Apesar de alguns autores considerarem os dois termos como sinônimos, existem diferenças entre eles. A metabonômica também avalia um sistema biológico e identifica mudanças nos níveis de metabólitos endógenos que resultam de processos patológicos ou terapêuticos, mas diferentemente da metabolômica, não é necessário haver a quantificação e identificação dos metabólitos. Isso permite uma técnica com método rápido, não destrutivo e de alto rendimento, necessitando de preparação mínima de amostra, como a ERMN (espectrometria de ressonância nuclear magnética). Já a metabolômica requer técnica mais elaborada, como a EM (Espectrometria de massa), promovendo uma avaliação qualitativa mais demorada, sensível e seletiva com análises quantitativas capazes de identificar metabólitos. **(Tabela 9)** (25–26)

**Tabela 9** – Comparação entre espectrometria de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa.

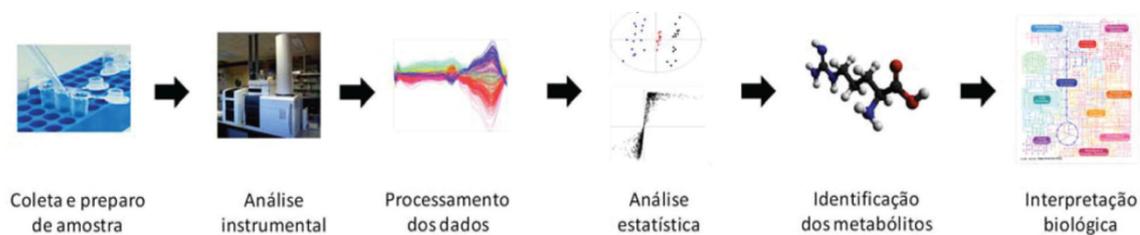
	ERMN	EM
Sensibilidade	Baixa	Alta
Reprodutibilidade	Muito alta	Média
N metabólitos detectáveis	30 –100	300 – 1000
Análise direcionada	Não ideal	Melhor
Preparação da amostra	Mínima	Mais complexa
Extração do tecido	Não é necessário	Requer extração
Tempo de análise da amostra	Rápida	Demorada
Custo do equipamento	Mais caro e espaçoso	Mais barato e compacto
Custo da amostra	Baixo custo	Alto custo

Na medicina, a metabolômica/metabonômica tem importância em diversas áreas, como reumatologia, endocrinologia, neurologia, doenças cardiovasculares, oncologia, entre outras, podendo ser útil no diagnóstico, na classificação do estágio de uma determinada doença e na predição de resultados de determinado tratamento, permitindo o desenvolvimento de uma medicina personalizada. Estudos realizados em nossa universidade desenvolveram modelos metabonômicos com amostras de urina para diagnóstico de hepatite C e diagnóstico de câncer de rim, próstata e bexiga e com amostras de sêmen para avaliar a fertilidade em homens com varicocele. (27-31)

Para obtenção dos resultados, algumas etapas devem ser seguidas, desde a coleta até a análise estatística (**Figura 2**). A preparação da amostra vai depender do biofluido ou tecido utilizado, tendo sido descritos variados protocolos. A técnica a ser utilizada, EM ou ERMN, vai depender do tipo de análise desejada. Como já citado anteriormente, a ERMN é uma técnica não invasiva e não destrutiva, com alta reprodutibilidade. O princípio da RMN (ressonância nuclear magnética) é baseado nas propriedades de rotação e carga dos núcleos do átomo. Quando uma amostra é exposta a um campo magnético e a um pulso de radiofrequência, os núcleos absorvem e reemitem essa radiação eletromagnética. A energia emitida tem uma frequência de ressonância específica que depende de vários fatores, incluindo as propriedades magnéticas dos isótopos dos átomos e a força do campo magnético, permitindo a identificação e a distinção dos diferentes metabólitos de acordo com os picos gerados no espectro de frequência. Assim, a RMN é a ferramenta analítica mais poderosa disponível para determinar a estrutura química dos compostos, revelando informações dos núcleos no átomo de uma

molécula. O próton  $H^1$  tem alta magnetização e disponibilidade, sendo bastante utilizado na metabonômica. (32–36)

**Figura 2** – Etapas da avaliação metabonômica.



Fonte: Canuto, 2018.

### 1.3 OBJETIVO

Avaliar se há diferença nos espectros das amostras de soro de sangue analisadas por  $H^1$  RMN (Ressonância Nuclear Magnética de Hidrogênio) entre os pacientes com câncer de próstata e os indivíduos do grupo controle.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

O diagnóstico do câncer de próstata, como já citado anteriormente, é confirmado pelo estudo histopatológico, cuja amostra é obtida por meio de biópsia prostática indicada quando há suspeita de doença maligna devido ao EDR e/ou dosagem sérica de PSA alterados. Em algumas situações, a biópsia pode proporcionar um resultado negativo para malignidade ou o diagnóstico doença clinicamente insignificante. Nestas situações, a realização da biópsia não traz benefício, além de expor o paciente a um procedimento invasivo com potenciais riscos de complicações. Em outros casos, pode haver um resultado falso-negativo, isto é, o paciente pode ter uma doença clinicamente significativa e a biópsia não identificar malignidade na amostra. Assim, outras ferramentas diagnósticas vêm sendo utilizadas, como a RMMPP e os biomarcadores, com o intuito de melhorar a acurácia diagnóstica e diminuir a necessidade de biópsias desnecessárias. (10)

Um dos métodos mais utilizados é a RMMPP. É um exame não-invasivo e com critérios padronizados de interpretação para minimizar divergências e aumentar a reprodutibilidade do método entre os radiologistas utilizando o escore Prostate Imaging Reporting and Data System versão 2 (PI-RADS). O PI-RADS classifica as lesões de 1 a 5, estimando a probabilidade de uma lesão ser maligna, podendo evitar a realização de biópsias desnecessárias. Além disso, pode orientar a biópsia por métodos cognitivos e por técnicas de fusão, aumentando a sensibilidade do método e a identificação de lesões clinicamente significantes. Porém, ainda é um exame de alto custo e demorado, o que restringe o acesso às classes sociais menos favorecidas. **(Tabela 10)** (37–39)

**Tabela 10** – Classificação PI-RADS e probabilidade de Câncer de Próstata.

### PI-RADS (Prostate Imaging and Report Data System)

PI-RADS 1 = Muito baixa probabilidade de câncer clinicamente significativo

PI-RADS 2 = Baixa probabilidade de câncer clinicamente significativo

PI-RADS 3 = Intermediária probabilidade de câncer clinicamente significativo

PI-RADS 4 = Alta probabilidade de câncer clinicamente significativo

PI-RADS 5 = Muito alta probabilidade de câncer clinicamente significativo

---

Os biomarcadores também são utilizados na avaliação diagnóstica do câncer de próstata. Em nosso meio, o acesso é limitado, porém vêm sendo cada vez mais utilizados em países desenvolvidos. O Prostate Health Index ou PHI é um teste sérico que é calculado utilizando o

PSAt, o PSAI e o p2PSA. Escore de 0 – 26,9; 27,0 – 35,9; 36,0 - 54,9; e  $\geq 55,0$  tem correlação de probabilidade de Escore de Gleason  $\geq 7$  na biópsia de 9,8%, 16,8%, 33,3%, e 50,1% respectivamente, com estudos demonstrando uma redução na solicitação de biópsias prostáticas desnecessárias. Outro teste sérico é o 4-Kallikrein ou 4K que utiliza dados do PSAt, PSAI, PSA intacto e calicreína humana 2, gerando um escore que pode prever o risco de câncer de próstata Gleason  $\geq 7$ . (40–42)

O PCA3 é um biomarcador de microRNA não-codificante que pode ser identificado na urina após três cursos de massagem prostática durante o EDR. Seu escore está aumentado no câncer de próstata, porém os dados são conflitantes sobre a detecção do câncer de próstata clinicamente significativo. Atualmente, tem sido utilizado para determinar a necessidade de rebiópsia em paciente com biópsia prévia negativa e suspeita clínica persistente de câncer de próstata. Outros biomarcadores, como o SelectMDX e o TMPRSS2-ERG também podem estimar o risco de detecção de câncer de próstata na biópsia. Porém, os dados ainda são limitados para a utilização de biomarcadores no diagnóstico do câncer de próstata e a EAU recomenda fracamente sua utilização para essa finalidade. (4,43–45)

Testes genéticos também podem ser utilizados. Sabe-se que homens com mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 têm risco aumentado de desenvolverem câncer de próstata em idade mais precoce e com curso mais agressivo. É recomendada a avaliação genética em homens cujos parentes apresentam essas mutações, e se estiverem presentes, deve-se iniciar o rastreamento em idade mais precoce (a partir dos 40 anos) e com intervalo de tempo mais curto. (46–48)

A metabolômica é outra ferramenta que vem ganhando espaço no desenvolvimento de biomarcadores de doenças oncológicas. Vários tipos de doenças malignas têm sido estudados pela metabolômica. Entre eles, podemos citar o carcinoma hepatocelular, o câncer gástrico, o câncer colorretal, o câncer de tireóide, o câncer de pulmão, além de vários outros. As células malignas apresentam um perfil de crescimento anormal, metástases, replicação aumentada, angiogênese sustentada e tendem a evitar a apoptose, promovendo uma alteração no fenótipo, que pode ser detectada pelo produto final do metabolismo. Diferentes tipos de estudo e plataformas analíticas podem ser empregadas para a análise de amostras dependendo do objetivo do estudo. (49–54)

O câncer de próstata também tem sido estudado pela metabolômica. O 1-estearoilglicerol, produto do catabolismo do lipídio, foi inversamente associado ao risco de desenvolvimento de câncer de próstata, mas não à agressividade da doença. As amostras séricas foram analisadas por LC-MS (cromatografia líquida/espectrometria de massa) e GC-MS

(cromatografia de gás/espectrometria de massa). Em outra análise, o mesmo grupo observou associação inversa entre metabólitos dos lipídios e agressividade do câncer. O inositol 1-fosfato apresentou a maior associação. O alfa-cetoglutarato e o citrato também foram associados, assim como a tiroxina e o óxido de trimetilamina. (55,56)

Outro método utilizado pela metabolômica, como previamente citado, é a ERMN. Com essa ferramenta, a observação mais comum e significativa tem sido a detecção de menores níveis de citrato em pacientes com câncer de próstata em comparação com indivíduos normais ou pacientes com HPB em vários tipos de amostras, incluindo tecido da próstata, fluido prostático, fluido seminal e plasma sérico. Por outro lado, foi demonstrado aumento na expressão de outros metabólitos na ERMN, como o lactato e alguns aminoácidos (alanina, glicina, lisina, glutamato e glutamina). (57–60)

Contudo, a identificação dos metabólitos não é mandatória, já que as alterações são diversas em pacientes com câncer de próstata. Assim sendo, a diferença entre os espectros pode diferenciar os pacientes sadios dos pacientes com câncer de próstata por meio de estatística multivariada. (61,62)

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAL DO ESTUDO

Foram recrutados pacientes provenientes do ambulatório de urologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) com diagnóstico de câncer de próstata, bem como voluntários sem evidências de câncer de próstata.

#### 3.2 TIPO DO ESTUDO

Estudo clínico, prospectivo, transversal, analítico, aberto e de centro único.

#### 3.3 SELEÇÃO

##### 3.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes do sexo masculino entre 40 e 75 anos de idade, com diagnóstico de câncer de próstata que foram submetidos a prostatectomia radical (Grupo A) e pacientes sem evidências de câncer de próstata (Grupo B).

##### **Grupo A**

- 40 a 75 anos de idade
- Diagnóstico histológico de adenocarcinoma de próstata
- USG sem evidência de outros tumores abdominais
- Sumário de urina com menos de 5 hemácias por campo

##### **Grupo B**

- 40 a 75 anos de idade
- PSA < 1 ng/ml
- Exame digital retal sem detecção de nódulos ou consistência alterada da próstata
- USG sem evidência de outros tumores abdominais
- Sumário de urina com menos de 5 hemácias por campo

##### 3.3.2 Critérios de exclusão (Grupo A e B)

- Pacientes que fazem ou fizeram uso de inibidores da 5 alfa-redutase

- Pacientes que fazem ou fizeram uso de bloqueadores androgênicos
- Pacientes previamente submetidos a cirurgia prostática
- Pacientes previamente submetidos a radioterapia pélvica
- Pacientes com antecedente de qualquer neoplasia maligna (exceto próstata)

Os indivíduos que concordaram em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), conforme o **Apêndice A**. Todos os pacientes foram avaliados com exame digital retal, dosagem do PSA sérico, sumário de urina e USG do abdome total. Os pacientes do Grupo B, tiveram amostras de sangue coletadas no ambulatório de urologia e os pacientes do grupo A tiveram amostras coletadas na enfermaria de urologia na véspera da realização da prostatectomia radical. As amostras foram encaminhadas à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE para obtenção do espectro de  $H^1$  RMN. Os estudos anatomopatológicos das peças operatórias obtidas com a prostatectomia radical foram realizados pelo Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da UFPE. Os protocolos de coleta dos dados estão no **Apêndice B**.

### 3.4 TAMANHO DA AMOSTRA

Para calcular o tamanho da amostra, utilizamos a fórmula:

$$n = N \cdot Z^2 \cdot p \cdot (1-p) / Z^2 \cdot p \cdot (1-p) + e^2 \cdot N - 1$$

n: amostra calculada

N: população

Z: variável normal

p: real probabilidade do evento

e: erro amostral

Onde, n=60 indivíduos (30 em cada grupo).

Porém, devido às restrições para combate à pandemia da COVID-19, não conseguimos atingir o tamanho amostral calculado, sendo alocados 20 indivíduos em cada grupo.

### 3.5 PROCEDIMENTOS

#### 3.5.1 Procedimentos técnicos

Após assinatura do TCLE, todos os participantes foram submetidos a uma anamnese e exame físico, incluindo EDR. As amostras de sangue foram coletadas no ambulatório da urologia do Hospital das Clínicas (Grupo B) e na enfermaria da urologia (Grupo A), por meio de venopunção periférica. No ambulatório, realizaram-se os processamentos das amostras com

centrifugação a 3000 rpm durante 05 minutos para obtenção do soro (sem os elementos figurados do sangue). A amostra final permaneceu armazenada a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a análise.

Após descongeladas, cada amostra foi submetida à análise de  $\text{H}^1$  RMN, sendo adicionados 400  $\mu\text{L}$  da amostra de soro do sangue em tubos de  $\text{H}^1$  RMN com 5mm de diâmetro interno. Em seguida, foi acrescentado 200  $\mu\text{L}$  de água deuterada ao tubo e a mistura foi homogeneizada. O sinal do grupo metileno do lactato ( $\delta$  1,33x' ppm) foi utilizado como deslocamento químico de referência. Os espectros de  $\text{H}^1$  RMN foram obtidos utilizando uma sequência de pulsos modificada de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) com pressaturação (presat) do sinal da água, no equipamento VARIAN VNMRS 400, operando a 400 MHz e a temperatura de 298 K.

Foram utilizados os seguintes parâmetros:

- Tempo de aquisição = 2,556 s;
- Tempo de pressaturação = 2,0 s;
- Pw90 = 13,2  $\mu\text{s}$ ;
- Janela espectral = 4,8 kHz;
- Número de ciclos = 88;
- Tempo de espera do spin eco = 0,365 s e 128 transientes.

Os espectros foram processados utilizando o *line broadening* de 0,3 Hz e a linha de base e distorções de fase foram ajustadas manualmente. Um segundo processamento foi efetuado com a assistência do software MestReNova 9.0, com a linha de base sendo novamente reavaliada e ajustada pelo método de polinômios de Bernstein e a fase dos espectros, manualmente. Para a construção da matriz de dados, utilizamos apenas a região do espectro entre  $\delta$  0,5 e 4,0 ppm, que foi dividida em regiões (bins) de 0,004 ppm. Foram retiradas as regiões: entre  $\delta$  1,10 e 1,17 ppm, entre  $\delta$  1,90 e 1,93 e entre  $\delta$  2,36 e 2,38, devido a picos anômalos que poderiam dificultar os modelos estatísticos. Dessa forma, foi obtida uma matriz com 40 linhas (amostras) e 842 variáveis (bins do espectro de  $\text{H}^1$ RMN mais a variável de classe) que posteriormente foi submetida a análise estatística multivariada.

### 3.5.2 Procedimentos analíticos

Não houve mascaramento na fase de seleção dos sujeitos do estudo, coleta das amostras e construção dos modelos metabonômicos. Assim, os pesquisadores tinham conhecimento do grupo em que cada paciente foi alocado.

Vários formalismos podem ser empregados para o processamento de problemas que envolvem a identificação de grupos. Aqui, empregamos na execução do projeto os formalismos LDA (do inglês *Linear Discriminants Analysis*), PLS-DA (do inglês *Partial Least Square Discriminants Analysis*) e OPLS-DA (do inglês *Orthogonal Partial Least Square Discriminants Analysis*).

A LDA permite a determinação de uma superfície ou limiar de decisão no espaço para que as amostras de uma classe sejam segregadas de um lado do eixo de decisão, assim como as amostras da outra classe sejam agrupadas no outro. A racionalização do formalismo LDA se baseia na imposição para um grupo de amostras o valor 1 para a variável de resposta, enquanto para o outro é atribuído o valor de 0.

A PLS-DA é uma metodologia supervisionada comumente utilizada na otimização visando a separação entre duas classes de amostras. O modelo é construído a partir de duas matrizes: uma matriz X (em nosso caso, dados espectrais) e uma matriz de classe Y, que contém a classificação das amostras. Um modelo PLS-DA tentará encontrar a direção multidimensional no espaço X que explica a direção máxima da variação multidimensional no espaço Y. O método visa encontrar uma linha reta que divida o espaço em duas regiões, separando as amostras em 2 grupos. Dentre as vantagens fornecidas pela metodologia PLS-DA para dados espectrais, destacamos a possibilidade de avaliação de dados altamente correlacionados, reduzindo os efeitos dos ruídos e extração de elementos estatísticos que avaliam a contribuição de cada variável para a construção dos modelos, dos pesos e dos valores VIP (do inglês, *variance important on projection*). Finalmente, o formalismo PLS-DA permite uma fácil e simples identificação gráfica dos dados em uma dimensão reduzida, destacando a separação entre classes distintas. Normalmente, essa validação é feita usando o teste de permutação, na qual as classes das amostras são criadas. As eficiências desses modelos na classificação das amostras são comparadas visando verificar a confiabilidade do modelo original. Tendo em vista possíveis variações dos metabólitos sanguíneos inerentes a cada indivíduo, há uma preocupação de que a alta sensibilidade da metabonômica faça com que essas variações não relacionadas aos fatores estudados sejam capturadas como variações de significância estatística. O uso de ferramentas de estatística multivariada supracitadas permite obter modelos adequados eliminando variações inerentes aos indivíduos e sem significância clínica.

A OPLS-DA é uma variante da PLS-DA que usa a informação contida na matriz Y categórica para decompor a matriz de dados X em três partes distintas. A OPLS-DA é frequentemente usado no lugar da PLS-DA para separar variações discriminantes das não discriminantes relacionadas aos grupos. Deste modo, a OPLS-DA constrói modelos mais

facilmente interpretáveis em comparação com o PLS-DA. É importante ressaltar que a PLS e a OPLS forçam a separação entre grupos experimentais, requerendo rigorosa validação para garantir sua confiabilidade.

A PLS-DA e a OPLS-DA foram realizadas usando a plataforma on-line disponibilizada para estudos metabonômicos, denominada de MetaboAnalyst 4.0, enquanto os modelos determinados pela LDA foram obtidos com a assistência do Statistica Software 10.0.

Quanto ao pré-processamento, as amostras foram individualmente normalizadas pela soma e cada variável foi normalizada usando auto escalonamento. Isto foi realizado para comparar os dados espectrais, evitando problemas com diluições de amostras. Os modelos desenvolvidos pela LDA foram construídos usando 4 variáveis, que foram selecionadas a partir do algoritmo genético. Em relação à etapa de validação, o modelo LDA para o diagnóstico de câncer de próstata foi validado por LOOCV (do inglês, *leave-one-out-cross validation*). No caso da OPLS-DA, foi determinado o número ideal de variáveis latentes para o modelo, usando LOOCV, que forneceu a base para o cálculo da capacidade preditiva ( $Q^2$ ), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e precisão de classificação do modelo.

Após a etapa de validação, foram calculadas as seguintes figuras de mérito: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia dos modelos. Para a validação dos modelos OPLS-DA foi utilizado o teste de permutação, o qual fez 1000 permutações na identificação da classe. O LOOCV foi usado para determinar os valores de  $Q^2$ ,  $R^2$  e a acurácia de classificação do modelo. O modelo OPLS-DA fornece medidas quantitativas sobre a capacidade de discriminação de cada bin espectral. Esta informação foi extraída a partir do gráfico da importância da variável na projeção VIP.

### 3.5.3 Procedimentos éticos

#### 3.5.3.1 Aprovação pelo Comitê de Ética do CCS

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do CCS em 04/08/2018 sob o parecer número 2.937.472 (**Anexo A**).

#### 3.5.3.2 Proteção dos indivíduos envolvidos no estudo

Os riscos aos pacientes incluídos na pesquisa são:

Grupo A - As possíveis complicações são decorrentes do procedimento indicado para tratar o câncer de próstata (prostatectomia radical): incontinência urinária, disfunção erétil, estenose da anastomose vésico-uretral, infecção da ferida operatória, hérnia incisional, trombose venosa profunda e infarto agudo do miocárdio. Sobre a coleta dos materiais para análise, as complicações são praticamente inexistentes ou pouco graves, podendo ocorrer hematomas no local onde a agulha foi inserida para retirada de sangue e/ou flebite que geralmente regridem espontaneamente ou com uso de anti-inflamatórios.

Grupo B - Os riscos são devidos à coleta de material para análise e são semelhantes aos do Grupo A.

Todos os procedimentos foram realizados em ambiente hospitalar adequado e por profissionais capacitados.

#### 3.5.3.3 Benefícios para os indivíduos e sociedade

Desenvolver um marcador para câncer de próstata com alta sensibilidade e especificidade, a fim de evitar biópsias prostáticas desnecessárias, diminuindo o diagnóstico de doença clinicamente insignificante e aumentando o diagnóstico de doença clinicamente significativa.

#### 3.5.3.4 Benefícios para a ciência

Promover a metabonômica como mais uma ferramenta para o diagnóstico do câncer de próstata, destacando a importância do fenótipo metabólico na medicina.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

Os grupos foram compostos por 20 participantes cada. As características demográficas e clínicas são mostradas abaixo (**Tabela 11**).

**Tabela 11** - Características demográficas e clínicas dos grupos A e B.

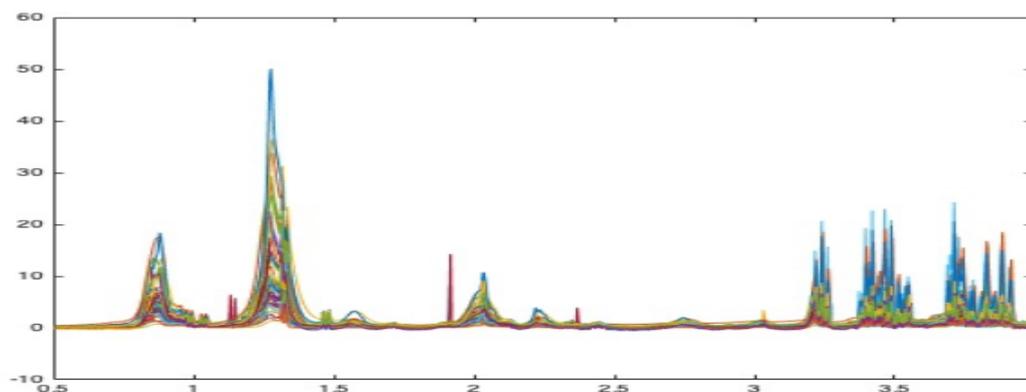
	Grupo A(n=20)	Grupo B(n=20)
Idade em anos (média ± DP*)	65,5 ± 5,2	53,1 ± 10,1 (p<0,0001)
PSA total em ng/ml (média ± DP*)	10,74 ± 8,99	0,601 ± 0,23 (p<0,0001)
Volume da próstata em cm <sup>3</sup> (USG) (média ± DP*)	43,14 ± 15,34	22,82 ± 5,73 (p<0,0001)

\*DP: desvio-padrão

### 4.2 DADOS ESPECTRAIS E ANÁLISES MULTIVARIADAS

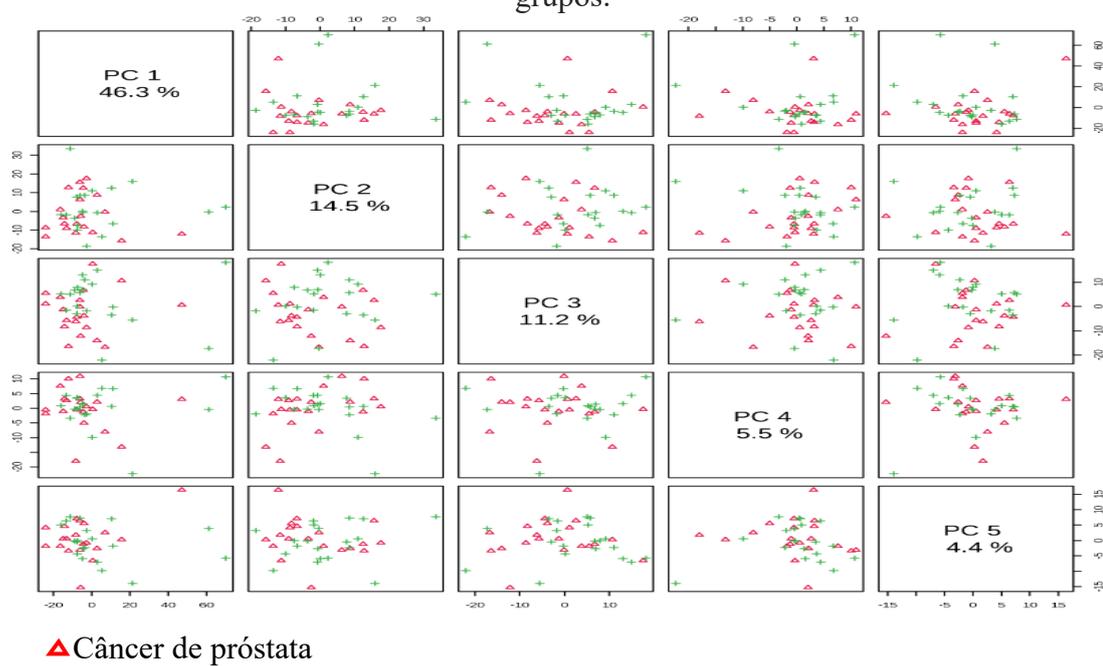
Após obtenção dos espectros de <sup>1</sup>H RMN do soro de sangue (**Figura 3**), foi inicialmente empregado o método de análise de componentes principais (PCA) para uma análise exploratória do nosso conjunto de dados com o objetivo de observar se eles naturalmente agrupavam no espaço multidimensional. (**Figura 4**) Porém, não foi observada uma aglomeração natural das amostras em função da presença ou não de câncer de próstata. Dois modelos supervisionados foram construídos, usando os formalismos OPLS-DA e LDA, respectivamente. O modelo OPLS-DA conseguiu discriminar os dois grupos com uma acurácia de aproximadamente 78% e P<0,005 (**Figura 5**).

**Figura 3** - Espectro de <sup>1</sup>H RMN de soro das 40 amostras (Grupos A e B).



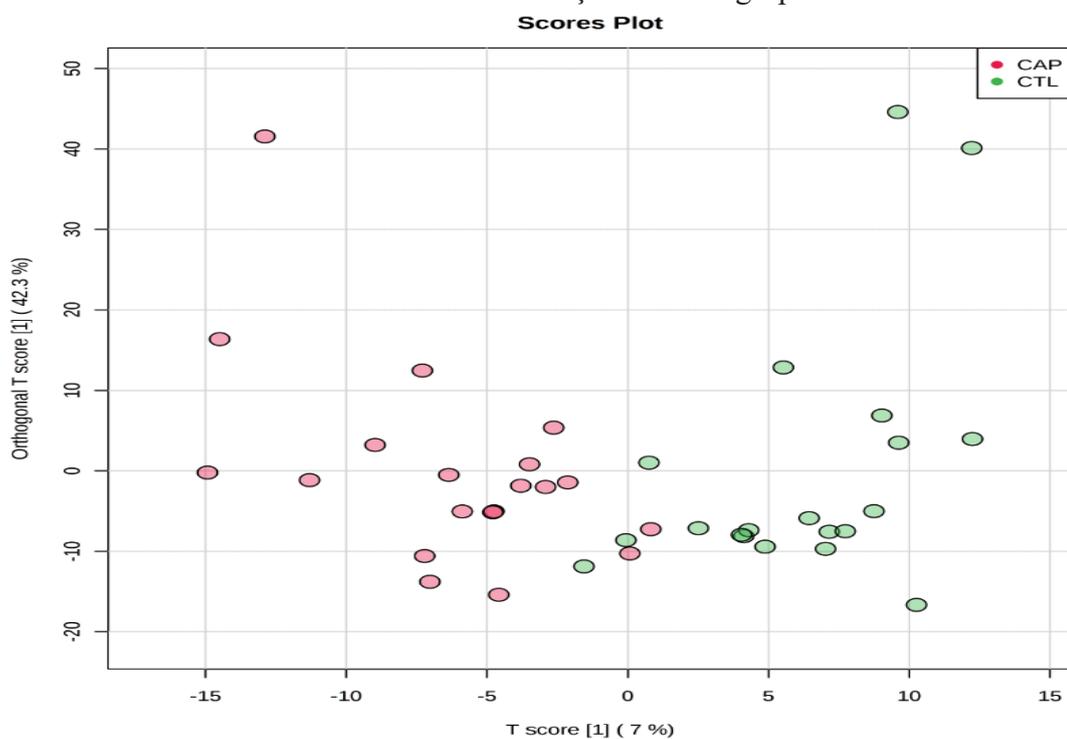
Fonte: o autor, 2021.

**Figura 4** – Análise dos componentes principais (PCA) demonstrando falha em diferenciar os grupos.



Fonte: o autor, 2021.

**Figura 5** - Análise discriminante parcial de mínimos quadrados ortogonal (OPLS-DA) demonstrando diferenciação entre os grupos.



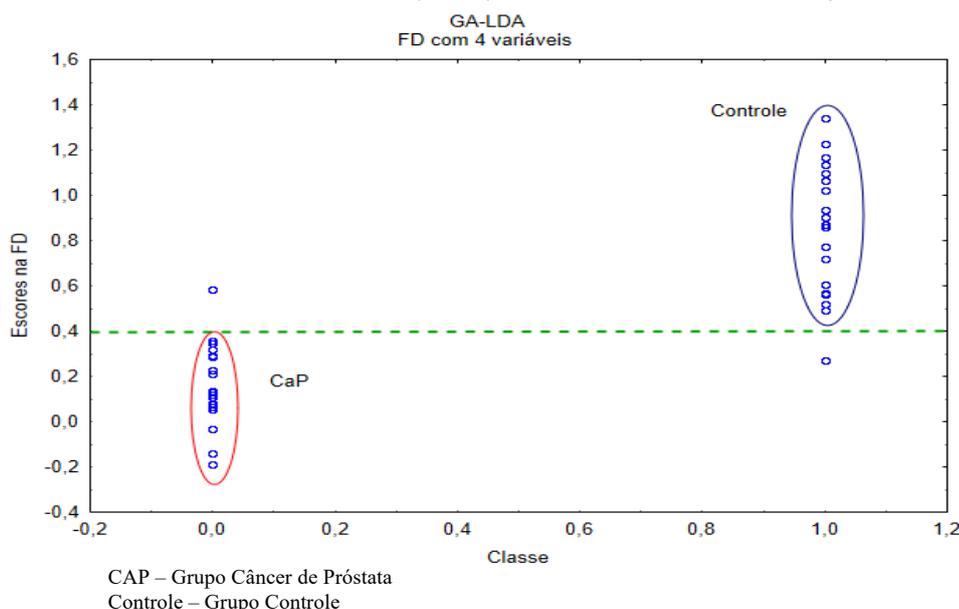
Fonte: o autor, 2021.

Buscando otimizar os resultados, a matriz de dado previamente pré-processada foi submetida à LDA. O modelo LDA foi construído com 4 variáveis a partir da seleção de variáveis utilizando o algoritmo genético. As variáveis selecionadas para o modelo LDA apresentaram os seguintes deslocamentos químicos  $\delta$  (ppm) 1,20, 1,73, 2,29, 3,95. O modelo foi avaliado pelo teste Fischer com 5 e 37 graus de liberdade e apresentou significância estatística ( $F_{37,5} = 18,10$ ;  $p < 0,001$ ).

O modelo foi validado usando LOOCV. Basicamente, essa validação constrói 40 modelos distintos utilizando as mesmas amostras, com a exceção de uma amostra por vez, que será classificada pelo modelo construído.

O resultado dessa validação apresentou uma acurácia de 95%, acima da obtida pela OPLS-DA. O modelo LDA classificou erroneamente as amostras 30 e 105, uma do Grupo A e uma do Grupo B, mostrado na **Figura 6**.

**Figura 6** – Análise discriminante linear (LDA) demonstrando diferenciação entre os grupos.



Fonte: o autor, 2021.

Após a validação LOOCV, o modelo apresentou sensibilidade = 95%, especificidade = 95%, VPP (valor preditivo positivo) = 95% e VPN (valor preditivo negativo) = 95%. A **Tabela 12** apresenta de forma resumida os resultados para o modelo LDA.

**Tabela 12** – Resultados do modelo da análise discriminante linear (LDA) dos dados espectrais de  $H^1$  RMN para discriminação entre os grupos.

<b>Modelo</b>	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>	<b>Total</b>
<b>Grupo A</b>	<b>19</b>	<b>1</b>	<b>20</b>
<b>Grupo B</b>	<b>1</b>	<b>19</b>	<b>20</b>
<b>Acurácia: 95%</b>		<b>VPP: 95%</b>	
<b>Sensibilidade: 95%</b>		<b>VPN: 95%</b>	
<b>Especificidade: 95%</b>		<b>F37,5 = 18,10</b>	
		<b>(P&lt;0.001)</b>	

---

**Grupo A: Grupo Câncer de Próstata; Grupo B: Grupo Controle; VPP: Valor Preditivo Positivo; VPN: Valor Preditivo Negativo; F37,5: Teste de Fischer**

## 5 DISCUSSÃO

A ERMN é uma das técnicas mais comumente usadas para obter uma visão sobre perfis metabólicos influenciados por vários processos patológicos e compreensão do metabolismo dos tecidos. Kumar demonstrou uma acurácia diagnóstica de 88,3% com a análise do soro por  $^1\text{H}$  RMN contra 75,2% dos exames padrões. Outro estudo utilizou três plataformas analíticas (EM, GC e ERMN) para analisar o plasma sérico e o soro, demonstrando uma sensibilidade de 81,5% e especificidade de 75,2% para diferenciar o câncer de próstata da HPB. (63–64)

Nosso estudo demonstrou uma acurácia de 95% quando utilizamos LDA e de 78% quando utilizamos OPLS-DA. LDA falhou apenas na classificação de uma amostra do Grupo A e uma do Grupo B. MacKinnon analisou amostras de urina de 317 pacientes (111 com biópsia negativa e 206 com biópsia positiva) com ERMN. PCA falhou em distinguir os pacientes corretamente. Porém, quando utilizou PLS-DA, foi possível diferenciar os pacientes com câncer de próstata. Outra diferença foi a utilização do soro de sangue no nosso estudo, já que a urina parece ser mais sensível à dieta, ao tempo da coleta e ao uso de medicações, podendo interferir nos achados do espectro. (61)

Sobre os critérios de seleção, tanto no Grupo A quanto no Grupo B, a USG abdominal não poderia apresentar nenhuma evidência de neoplasia, assim como o sumário de urina deveria apresentar menos de 5 hemácias por campo. A USG abdominal pode ser utilizada como método de rastreamento de neoplasias abdominais, apresentando sensibilidade e especificidade de 82-83% e 98-99% para diagnóstico de câncer renal. Também pode ser útil no rastreamento de câncer gástrico, câncer colorretal e carcinoma hepatocelular. Assim, achados ultrassonográficos normais minimizam o risco de neoplasias abdominais, diminuindo o risco de alterações espectrais não causadas pelo câncer de próstata. (65-67)

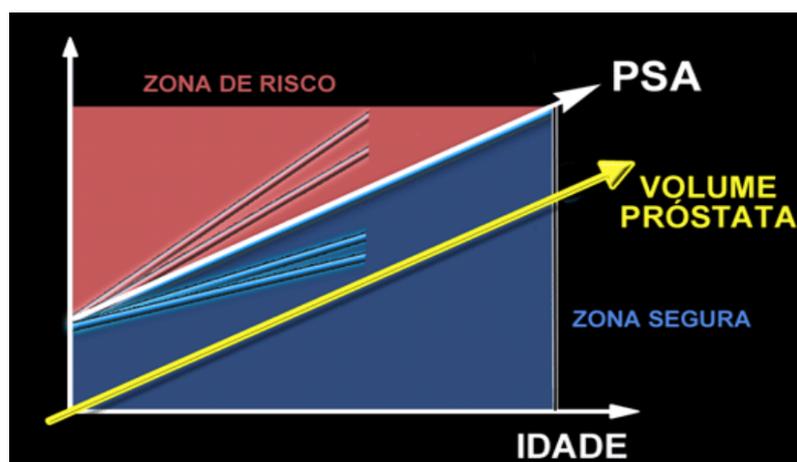
Mais de 90% dos pacientes com câncer de bexiga apresentam algum grau de hematúria ao diagnóstico, seja visível (macroscópica) ou não-visível (microscópica – definida como  $\geq 3$  hemácias/campo de alta resolução). No nosso estudo, ampliamos o ponto de corte para 5 hemácias/campo de alta resolução, já que estudos mostram uma baixa incidência de neoplasia do trato urinário com valores inferiores. (68)

Também decidimos excluir pacientes que fizeram ou estão fazendo uso de inibidores da 5 alfa-redutase, utilizados no tratamento da HPB. Essas medicações provocam alterações no perfil metabólico, principalmente relacionados aos estrógenos, andrógenos e esteróides. Os bloqueadores androgênicos, quando utilizados no câncer de próstata metastático, também

provocaram alterações no perfil metabólico, podendo apresentar-se semelhante ao perfil de indivíduos saudáveis. (3,69,70)

Como limitação do estudo, encontramos uma diferença significativa na variável idade entre os grupos ( $65,5 \pm 5,2$  anos no Grupo A e  $53,1 \pm 10,1$  anos no Grupo B,  $p < 0,0001$ ). A prevalência do câncer de próstata aumenta com a idade, sendo um dos motivos da diferença significativa entre os grupos. No grupo controle do estudo foi necessário que os indivíduos tivessem um valor de  $PSA < 1$  ng/ml e conforme descrito por Gustafsson, o PSA aumenta 2,4% ao ano em pacientes sem câncer de próstata. (**Tabela 13**) Ainda, os indivíduos do grupo controle apresentaram volume prostático significativamente menor que os do grupo A, o que também pode ser explicado pela diferença de idade entre os grupos. Gustafsson, em seu estudo, também descreveu o aumento do volume prostático de 1,6% ao ano. **Figura 7** (71,72)

**Figura 7** – Relação entre idade, PSA e volume prostático.



Fonte: <http://www.prostata.com.br>, 2021.

O envelhecimento também pode provocar alterações no fenótipo metabólico. Darst, após o ajuste para múltiplos testes, verificou que os níveis de 623 metabólitos (56,8% dos metabólitos avaliados) mudaram significativamente com a idade, 523 dos quais aumentaram com a idade. Do total de 34 lipídios esteróides testados, 29 diminuíram significativamente com a idade (incluindo 19/22 androgênicos, 5/5 progestágenos, 4/4 pregnenolona e 1/3 corticosteróides), enquanto dois, o 11-cetoetiocolanolona glucuronídeo, um esteróide androgênico, e o cortisol, aumentaram significativamente com a idade. Níveis mais elevados da maioria dos ácidos graxos foram associados ao aumento da idade (incluindo 13 de 14 ácidos graxos de cadeia longa, 28 de 34 acilcarnitinas e 42 de 78 outros ácidos graxos). Níveis mais altos de esfingolipídeos tendem a estar associados ao aumento da idade (24 de 25

esfingolipídeos associados). 87,6% dos níveis dos aminoácidos também foram alterados com a idade (92 de 105 aminoácidos associados), incluindo glutamina e tirosina. Cinco outros aminoácidos comuns diminuíram com a idade (histidina, treonina, triptofano, leucina e serina), enquanto os outros 13 não foram associados com a idade. Assim, esse viés de seleção pode influenciar no resultado dos espectros. (73)

**Tabela 13** – Valores de PSA ajustados com a idade.

Faixa etária (em anos)	PSA (ng/ml)
55-59	5,2
60-64	5,8
65-70	6,7

Não poderia deixar de citar os efeitos da pandemia de COVID-19. Devido à diferença entre a faixa-etária, havíamos decidido aumentar o número amostral dos 2 grupos, tentando recrutar indivíduos do grupo controle com idade mais avançada. Porém, devido às orientações de isolamento e distanciamento pelo governo para impedir a disseminação do vírus, ficamos impossibilitados de executar o recrutamento de indivíduos e realizar a análise das amostras que seriam coletadas.

Como perspectivas futuras, além de poder ser utilizada como biomarcador para diagnóstico do câncer de próstata, a metabonômica poderá ser usada para estratificar os pacientes de acordo com o Escore de Gleason e identificar pacientes com risco de recidiva após terapia com intenção curativa.

## 6 CONCLUSÃO

A diferença entre os espectros do soro do sangue analisados por  $H^1$  RMN dos pacientes com câncer de próstata apresentou diferença significativa quando comparado aos espectros dos pacientes sem evidências de câncer de próstata. A metabonômica pode se tornar uma ferramenta fundamental no diagnóstico do câncer de próstata.

## REFERÊNCIAS

1. Estimativa 2020 - Síntese de Resultados e Comentários | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Available from: <https://www.inca.gov.br/estimativa/sintese-de-resultados-e-comentarios>.
2. Richie JP, Catalona WJ, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, et al. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology*. 1993;42(4):365–74.
3. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level  $\leq 4.0$  ng per Milliliter. *New England Journal of Medicine*. 2004 May 27;350(22):2239–46.
4. EAU Guidelines: Prostate Cancer | Uroweb. Available from: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/>
5. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, Buys SS, Chia D, Church TR, et al. Mortality Results from a Randomized Prostate-Cancer Screening Trial. *New England Journal of Medicine*. 2009 Mar 26; 360(13):1310–9.
6. Shoag JE, Mittal S, Hu JC. Reevaluating PSA Testing Rates in the PLCO Trial. *New England Journal of Medicine*. 2016 May 5; 374(18):1795–6.
7. Hugosson J, Roobol MJ, Månsson M, Tammela TLJ, Zappa M, Nelen V, et al. A 16-yr Follow-up of the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer. *European Urology*. 2019 Jul 1;76(1):43–51.
8. Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB, Davidson KW, et al. Screening for prostate cancer US Preventive services task force recommendation statement. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2018 May 1;319(18):1901–13.
9. Klotz L. Active surveillance in intermediate-risk prostate cancer. Vol. 125, *BJU International*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 346–54.
10. Litwin MS, Tan HJ. The diagnosis and treatment of prostate cancer: A review. Vol. 317, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2017. p. 2532–42.
11. Samaratunga H, Delahunt B, Gianduzzo T, Coughlin G, Duffy D, LeFevre I, et al. The prognostic significance of the 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for prostate cancer. *Pathology*. 2015 Oct 1;47(6):515–9.
12. Canuto GAB, Luiz Da Costa J, da Cruz PLR, Rosa A, de Souza L, Faccio AT, et al. Metabolômica: Definições, estado-da-arte e aplicações representativas.. *Quim Nova*. 2018;41(1):75–91.
13. Cheng S, Shah SH, Corwin EJ, Fiehn O, Fitzgerald RL, Gerszten RE, et al. AHA Scientific Statement e1 Potential Impact and Study Considerations of Metabolomics in

- Cardiovascular Health and Disease A Scientific Statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Clinical Cardiology; and Stroke Council. 2017.
14. Wishart DS. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. Vol. 19, Trends in Food Science and Technology. Elsevier; 2008. p. 482–93.
  15. Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, Vázquez-Fresno R, et al. HMDB 4.0: The human metabolome database for 2018. Nucleic Acids Research. 2018 Jan 1;46(D1): D608–17.
  16. Freedman-Cass D, Shead DA, Schaeffer E, ω C, Antonarakis ES, Armstrong AJ, et al. NCCN Guidelines Panel Disclosures NCCN Guidelines Version 3.2020 Prostate Cancer. 2020.
  17. Sweeney CJ, Chen Y-H, Carducci M, Liu G, Jarrard DF, Eisenberger M, et al. Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. New England Journal of Medicine. 2015 Aug 20;373(8):737–46.
  18. Fizazi K, Tran N, Fein L, Matsubara N, Rodriguez-Antolin A, Alekseev BY, et al. Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. New England Journal of Medicine. 2017 Jul 27;377(4):352–60.
  19. Armstrong AJ, Szmulewitz RZ, Petrylak DP, Holzbeierlein J, Villers A, Azad A, et al. Arches: A randomized, phase III study of androgen deprivation therapy with enzalutamide or placebo in men with metastatic hormone-sensitive prostate cancer. Journal of Clinical Oncology. 2019;37(32):2974–86.
  20. Chi KN, Agarwal N, Bjartell A, Chung BH, Pereira de Santana Gomes AJ, Given R, et al. Apalutamide for Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. New England Journal of Medicine. 2019 Jul 4;381(1):13–24.
  21. Burdett S, Boevé LM, Ingleby FC, Fisher DJ, Rydzewska LH, Vale CL, et al. Prostate Radiotherapy for Metastatic Hormone-sensitive Prostate Cancer: A STOPCAP Systematic Review and Meta-analysis. European Urology. 2019 Jul 1 ;76(1):115–24.
  22. Huggins C, Hodges C. Studies on prostatic cancer: the effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. Cancer Research. 1941;1(4):293–7.
  23. Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F. Systematic functional analysis of the yeast genome. Trends in Biotechnology. 1998 Sep 1;16(9):373–8.
  24. Kell DB, Oliver SG. The metabolome 18 years on: a concept comes of age. Metabolomics. 12.
  25. Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. “Metabonomics”: Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. Vol. 29, Xenobiotica. Taylor and Francis Ltd; 1999. p. 1181–9.

26. Dunn WB, Ellis DI. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2005 Apr 1;24(4):285–94.
27. Sheedy JR. Metabolite analysis of biological fluids and tissues by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Methods in Molecular Biology*. 2013; 1055:81–97.
28. Ashrafiyan H, Sounderajah V, Glen R, Ebbels T, Blaise B, Kalra D, et al. Metabolomics-the Stethoscope for the 21st Century.
29. Godoy MMG, Lopes EPA, Silva RO, Hallwass F, Koury LCA, Moura IM, et al. Hepatitis C virus infection diagnosis using metabolomics. *Journal of Viral Hepatitis*. 2010 Dec;17(12):854–8.
30. Araújo L, Pinto F, Costa T, Silva R, Lima S, Silva R. Diagnosis of Urological Cancer by <sup>1</sup>H NMR Based Metabolomics Urinalysis: A Pilot Study. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 2017 Jan 10;19(3):1–8.
31. Neto FTL, Marques RA, de Freitas Cavalcanti Filho A, Araujo LCN, Lima SVC, Pinto L, et al. <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics for infertility diagnosis in men with varicocele. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020 Sep 1;37(9):2233–47.
32. Sumner LW, Amberg A, Barrett D, Beale MH, Beger R, Daykin CA, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics*. 2007 Sep;3(3):211–21.
33. Sansone SA, Fan T, Goodacre R, Griffin JL, Hardy NW, Kaddurah-Daouk R, et al. The Metabolomics Standards Initiative [3]. Vol. 25, *Nature Biotechnology*. *Nat Biotechnol*; 2007. p. 846–8.
34. Nuclear magnetic resonance (NMR) | Metabolomics. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/training-beta/online/courses/metabolomics-introduction/designing-a-metabolomics-study/nuclear-magnetic-resonance-nmr/>
35. Gupta A, Bansal N, Houston B. Metabolomics of urinary tract infection: A new uroscope in town. Vol. 12, *Expert Review of Molecular Diagnostics*. *Expert Rev Mol Diagn*; 2012. p. 361–9.
36. Mayr M. Metabolomics: ready for the prime time? Vol. 1, *Circulation. Cardiovascular genetics*. *Circ Cardiovasc Genet*; 2008. p. 58–65.
37. Weinreb JC, Barentsz JO, Choyke PL, Cornud F, Haider MA, Macura KJ, et al. PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *European Urology*. 2016 Jan 1;69(1):16–40.
38. Ahmed HU, El-Shater Bosaily A, Brown LC, Gabe R, Kaplan R, Parmar MK, et al. Diagnostic accuracy of multi-parametric MRI and TRUS biopsy in prostate cancer (PROMIS): a paired validating confirmatory study. *The Lancet*. 2017 Feb 25;389(10071):815–22.

39. Zhen L, Liu X, Yegang C, Yongjiao Y, Yawei X, Jiaqi K, et al. Accuracy of multiparametric magnetic resonance imaging for diagnosing prostate Cancer: A systematic review and meta-analysis. Vol. 19, *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd.; 2019.
40. Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG, Wei JT, Klee GG, Bangma CH, et al. A multicenter study of [-2]pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *Journal of Urology*. 2011 May ;185(5):1650–5.
41. White J, Shenoy BV, Tutrone RF, Karsh LI, Saltzstein DR, Harmon WJ, et al. Clinical utility of the Prostate Health Index (phi) for biopsy decision management in a large group urology practice setting. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 2018 Apr 1 ;21(1):78–84.
42. Russo GI, Regis F, Castelli T, Favilla V, Privitera S, Giardina R, et al. A Systematic Review and Meta-analysis of the Diagnostic Accuracy of Prostate Health Index and 4-Kallikrein Panel Score in Predicting Overall and High-grade Prostate Cancer. Vol. 15, *Clinical Genitourinary Cancer*. Elsevier Inc.; 2017. p. 429-439.e1.
43. Nicholson A, Mahon J, Boland A, Beale S, Dwan K, Fleeman N, et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of the PROGENSA® prostate cancer antigen 3 assay and the prostate health index in the diagnosis of prostate cancer: A systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment*. 2015 Oct 1;19(87):1–191.
44. van Neste L, Hendriks RJ, Dijkstra S, Trooskens G, Cornel EB, Jannink SA, et al. Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker–Based Risk Score. *European Urology*. 2016 ;70(5):740–8.
45. Lamy PJ, Allory Y, Gauchez AS, Asselain B, Beuzeboc P, de Cremoux P, et al. Prognostic Biomarkers Used for Localised Prostate Cancer Management: A Systematic Review. Vol. 4, *European Urology Focus*. Elsevier B.V.; 2018. p. 790–803.
46. Nyberg T, Frost D, Barrowdale D, Evans DG, Bancroft E, Adlard J, et al. Prostate Cancer Risks for Male BRCA1[Formula presented] and BRCA2 Mutation Carriers: A Prospective Cohort Study. *European Urology*. 2020 Jan 1;77(1):24–35.
47. Page EC, Bancroft EK, Brook MN, Assel M, Hassan Al Battat M, Thomas S, et al. Interim Results from the IMPACT Study: Evidence for Prostate-specific Antigen Screening in BRCA2 Mutation Carriers. *European Urology*. 2019 Dec 1 ;76(6):831–42.
48. Cheng HH, Pritchard CC, Montgomery B, Lin DW, Nelson PS. Prostate Cancer Screening in a New Era of Genetics. Vol. 15, *Clinical Genitourinary Cancer*. Elsevier Inc.; 2017. p. 625–8.
49. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Vol. 100, *Cell*. Cell; 2000. p. 57–70.

50. Armitage EG, Ciborowski M. Applications of metabolomics in cancer studies. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York LLC; 2017. p. 209–34.
51. Abreu P, Ferreira R, Mineli V, Ribeiro MA, Ferreira FG, de Mello Vianna RM, et al. Alternative Biomarkers to Predict Tumor Biology in Hepatocellular Carcinoma. Vol. 40, *Anticancer research*. NLM (Medline); 2020. p. 6573–784.
52. Tian J, Xue W, Yin H, Zhang N, Zhou J, Long Z, et al. Differential metabolic alterations and biomarkers between gastric cancer and colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *OncoTargets and Therapy*. 2020; 13:6093–108.
53. Khatami F, Payab M, Sarvari M, Gilany K, Larijani B, Arjmand B, et al. Oncometabolites as biomarkers in thyroid cancer: A systematic review. Vol. 11, *Cancer Management and Research*. Dove Medical Press Ltd; 2019. p. 1829–41.
54. Lee KB, Ang L, Yau WP, Seow WJ. Association between metabolites and the risk of lung cancer: A systematic literature review and meta-analysis of observational studies. Vol. 10, *Metabolites*. MDPI AG; 2020. p. 1–30.
55. Mondul AM, Moore SC, Weinstein SJ, Männistö S, Sampson JN, Albanes D. 1-Stearoylglycerol is associated with risk of prostate cancer: Results from a serum metabolomic profiling analysis. *Metabolomics*. 2014;10(5):1036–41.
56. Mondul AM, Moore SC, Weinstein SJ, Karoly ED, Sampson JN, Albanes D. Metabolomic analysis of prostate cancer risk in a prospective cohort: The alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention (ATBC) study. *International Journal of Cancer*. 2015 Nov 1; 137(9):2124–32.
57. Dakubo GD, Parr RL, Costello LC, Franklin RB, Thayer RE. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. Vol. 59, *Journal of Clinical Pathology*. J Clin Pathol; 2006. p. 10–6.
58. Madhu B, Shaw GL, Warren AY, Neal DE, Griffiths JR. Response of degarelix treatment in human prostate cancer monitored by HR-MAS 1H NMR spectroscopy. *Metabolomics*. 2016;12(7).
59. Kumar D, Gupta A, Nath K. NMR-based metabolomics of prostate cancer: a protagonist in clinical diagnostics. Vol. 16, *Expert Review of Molecular Diagnostics*. Taylor and Francis Ltd; 2016. p. 651–61.
60. Sharma U, Jagannathan NR. Metabolism of prostate cancer by magnetic resonance spectroscopy (MRS). Vol. 12, *Biophysical Reviews*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2020. p. 1163–73.
61. MacKinnon N, Ge W, Han P, et al. NMR-Based Metabolomic Profiling of Urine: Evaluation for Application in Prostate Cancer Detection. *Natural Product Communications*. May 2019.

62. Yang, B.; Zhang, C.; Cheng, S.; Li, G.; Griebel, J.; Neuhaus, J. Novel Metabolic Signatures of Prostate Cancer Revealed by <sup>1</sup>H-NMR Metabolomics of Urine. *Diagnostics* 2021, *11*, 149.
63. Kumar D, Gupta A, Mandhani A, Sankhwar SN. NMR spectroscopy of filtered serum of prostate cancer: A new frontier in metabolomics. *Prostate*. 2016 Sep 1;76(12):1106–19.
64. Giskeødegård GF, Hansen AF, Bertilsson H, Gonzalez SV, Kristiansen KA, Bruheim P, et al. Metabolic markers in blood can separate prostate cancer from benign prostatic hyperplasia. *British Journal of Cancer*. 2015 Dec 22;113(12):1712–9.
65. Rossi SH, Hsu R, Blick C, Goh V, Nathan P, Nicol D, et al. Meta-analysis of the prevalence of renal cancer detected by abdominal ultrasonography. Vol. 104, *British Journal of Surgery*. John Wiley and Sons Ltd; 2017. p. 648–59.
66. Tomizawa M, Shinozaki F, Hasegawa R, Fugo K, Shirai Y, Ichiki N, et al. Screening ultrasonography is useful for the diagnosis of gastric and colorectal cancer. *Hepato-Gastroenterology*. 2013 May;60(123):517–21.
67. El-Galley R, Abo-Kamil R, Burns JR, Phillips J, Kolettis PN. Practical use of investigations in patients with hematuria. *Journal of Endourology*. 2008 Jan 1 ;22(1):51–5.
68. Kirkpatrick WG. Hematuria. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Butterworths; 1990.
69. Lee YR, Im E, Kim H, Lew BL, Sim WY, Lee J, et al. Untargeted metabolomics and steroid signatures in urine of male pattern baldness patients after finasteride treatment for a year. *Metabolites*. 2020 Apr 1;10(4).
70. Huang G, Liu X, Jiao L, Xu C, Zhang Z, Wang L, et al. Metabolomic evaluation of the response to endocrine therapy in patients with prostate cancer. *European Journal of Pharmacology*. 2014 Apr 15;729(1):132–7.
71. Pettersson A, Robinson D, Garmo H, Holmberg L, Stattin P. Age at diagnosis and prostate cancer treatment and prognosis: A population-based cohort study. *Annals of Oncology*. 2018 Feb 1;29(2):377–85.
72. Gustafsson O, Mansour E, Norming U, Carlsson A, Törnblom M, Nyman CR. Prostate-specific antigen (PSA), PSA density and age-adjusted PSA reference values in screening for prostate cancer: A study of a randomly selected population of 2,400 men. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 1998;32(6):373–7.
73. Darst BF, Kosciak RL, Hogan KJ, Johnson SC, Engelman CD. Longitudinal plasma metabolomics of aging and sex. *Aging*. 2019 ;11(4):1262–82.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARCIDO

### HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – HC/UFPE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES

#### (PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA QUE SERÃO SUBMETIDOS A PROSTATECTOMIA RADICAL)

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr.(a) \_\_\_\_\_ para participar como voluntário (a) da pesquisa AVALIAÇÃO METABONÔMICA EM AMOSTRAS DE URINA E SANGUE DE PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA, que está sob a responsabilidade do pesquisador MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO, endereço Av. Prof. Moraes Rego, SN– Cidade Universitária, Recife – PE – CEP: 50670-901, telefone (81) 2126-3649 (ambulatório de urologia, quinto andar do Hospital das Clínicas da UFPE), email: [moacircavalcante@hotmail.com](mailto:moacircavalcante@hotmail.com) e dos pesquisadores assistentes:

- Thiago Siqueira Leite, telefone: 2126-3649
- Ricardo Oliveira da Silva
- Salvador Vilar Correia Lima, telefone: 2126-3649

Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o senhor não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa a quem está lhe entrevistando, para que o senhor esteja bem esclarecido sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir, caso aceite fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, o Sr. não será penalizado de forma alguma. Também garantimos que o Senhor tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade. Ressaltamos ainda que as amostras sanguíneas não serão utilizadas para realização de qualquer agente viral como por exemplo os vírus das hepatites, nem do vírus da imunodeficiência adquirida.

#### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Essa pesquisa vai avaliar se pacientes com Câncer de Próstata apresentam alteração nos espectros gerados por ressonância magnética de <sup>1</sup>H. Hoje em dia, há preocupação em saber a agressividade do Câncer de Próstata para que seja definida a melhor opção de tratamento (cirurgia, radioterapia ou acompanhamento). O senhor já tem diagnóstico de Câncer de Próstata e concordou em ser submetido a tratamento cirúrgico (prostatectomia radical – retirada completa da próstata e vesículas seminais e dos linfonodos pélvicos, se necessário) em consulta ambulatorial. Um dia antes da cirurgia, quando já estiver internado, serão coletadas amostras de sangue e urina e que serão enviados para o departamento de química, onde será feita a análise. Após a cirurgia, o senhor será acompanhado em consultas regulares (1, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 24 meses após a cirurgia).

- O senhor estará participando da pesquisa a partir do momento em que concordar em assinar esse termo. Se em algum momento não desejar mais participar do estudo, será permitida sua saída sem qualquer forma de constrangimento.

- As possíveis complicações são decorrentes da cirurgia a qual o senhor será submetido (prostatectomia radical) e são: incontinência urinária (perda de urina sem desejo próprio), disfunção erétil (perda da ereção), estenose da anastomose (estreitamento do canal uretral), infecção da ferida operatória, hérnia incisional, trombose nas pernas e infarto agudo do miocárdio. Caso ocorra algum desses problemas, o (a) senhor (a) pode entrar em contato com qualquer um dos pesquisadores, através dos contatos acima ou vir ao serviço de pronto atendimento (SPA) ou ao Ambulatório de Urologia do Hospital das Clínicas para que sejam tomadas as devidas providências. Além disso, como já informado, o senhor será acompanhado regularmente no ambulatório de urologia após a cirurgia, onde essas possíveis complicações poderão ser tratadas.

- Sobre a coleta dos materiais para análise, as complicações são praticamente inexistentes ou pouco graves, podendo ocorrer hematomas no local onde a agulha foi inserida para retirada de sangue e/ou flebite (inflamação da veia onde a agulha foi inserida) que geralmente regredem espontaneamente ou com uso de anti-inflamatórios.

- As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa através de análise de prontuário ficarão armazenados em computador de uso pessoal sob a responsabilidade dos pesquisadores e do orientador, no endereço (acima informado), pelo período de (5 anos).

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: [cepccs@ufpe.br](mailto:cepccs@ufpe.br)).

Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto – Pesquisador responsável

Thiago Siqueira Leite – Pesquisador assistente

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – HC/UFPE  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES**

**(PACIENTES SEM EVIDÊNCIAS DE CÂNCER DE PRÓSTATA)**

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o Sr. \_\_\_\_\_ para participar como voluntário da pesquisa AVALIAÇÃO METABONÔMICA EM AMOSTRAS DE URINA E SANGUE DE PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA, que está sob a responsabilidade do pesquisador MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO, endereço Av. Prof. Moraes Rego, SN– Cidade Universitária, Recife – PE – CEP: 50670-901, telefone (81) 2126-3649 (ambulatório de urologia, quinto andar do Hospital das Clínicas da UFPE), email: [moacircavalcante@hotmail.com](mailto:moacircavalcante@hotmail.com) e dos pesquisadores assistentes:

- Thiago Siqueira Leite, telefone: 2126-3649
- Ricardo Oliveira da Silva
- Salvador Vilar Correia Lima, telefone: 2126-3649

Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o senhor não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa a quem está lhe entrevistando, para que o senhor esteja bem esclarecido sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir, caso aceite fazer parte do estudo, rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, o senhor não será penalizado de forma alguma. Também garantimos que o Senhor tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade. Ressaltamos ainda que as amostras sanguíneas não serão utilizadas para realização de qualquer agente viral como por exemplo os vírus das hepatites, nem do vírus da imunodeficiência adquirida.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

- Essa pesquisa vai avaliar se pacientes com Câncer de Próstata apresentam alteração nos espectros gerados por ressonância magnética de <sup>1</sup>H. Hoje em dia, há preocupação em saber a agressividade do Câncer de Próstata para que seja definida a melhor opção de tratamento (cirurgia, radioterapia ou acompanhamento). O senhor não tem evidências de câncer de próstata e seu exames serão comparados com os dos pacientes com câncer de próstata.

- O senhor deverá realizar os seguintes exames: PSA (exame de sangue) e toque retal para avaliar a possibilidade de ter câncer de próstata, ultrassonografia do abdome total para avaliar a possibilidade de alguma câncer em outros órgãos e sumário de urina para avaliar a presença de sangue na urina.

- O senhor estará participando da pesquisa a partir do momento em que concordar em assinar esse termo. Se em algum momento não desejar mais participar do estudo, será permitida sua saída sem qualquer forma de constrangimento.

- As possíveis complicações são raras e improváveis, podendo ocorrer hematomas no local onde a agulha foi inserida para retirada de sangue e/ou flebite (inflamação da veia onde a agulha foi inserida) que geralmente regredem espontaneamente ou com uso de anti-inflamatórios. Caso ocorra algum desses problemas, o (a) senhor (a) pode entrar em contato com qualquer um dos pesquisadores, através dos contatos acima ou vir ao serviço de pronto atendimento (SPA) ou ao Ambulatório de Urologia do Hospital das Clínicas para que sejam tomadas as devidas providências.

- As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa através de análise de prontuário ficarão armazenados em computador de uso pessoal sob a responsabilidade dos pesquisadores e do orientador, no endereço (acima informado), pelo período de (5 anos).

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: [cepccs@ufpe.br](mailto:cepccs@ufpe.br)).

\_\_\_\_\_  
Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto – Pesquisador responsável  
Thiago Siqueira Leite – Pesquisador assistente

## CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO

Eu, \_\_\_\_\_  
, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável ou assistente, concordo em participar do estudo AVALIAÇÃO METABONÔMICA EM AMOSTRAS DE URINA E SANGUE DE PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA, como voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Impressão digital (Opcional) \_\_\_\_\_

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.

(02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:

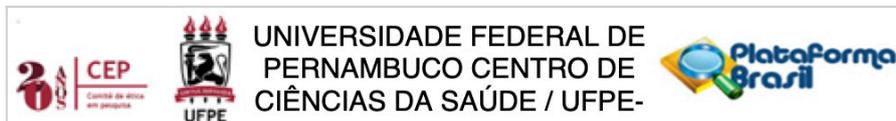
Nome:

Assinatura:

Assinatura:



## ANEXO A – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UFPE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação metabonômica em amostras de urina e sangue de pacientes com câncer de próstata.

**Pesquisador:** Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 96214618.3.0000.5208

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

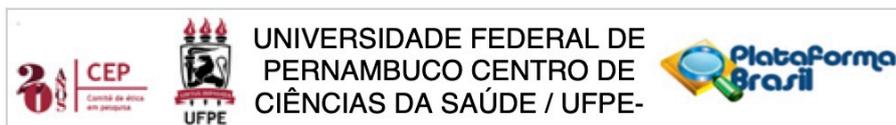
#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.937.472

#### **Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de tese do estudante MOACIR CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE NETO sob a orientação do Professor SALVADOR VILAR CORREIA LIMA, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O projeto será realizado no Ambulatório de Urologia e Setor de Cirurgia do Hospital das Clínicas da UFPE, e na Central Analítica no Departamento de Química Fundamental da UFPE. A proposta consiste basicamente na análise da hipótese: Os espectros de ressonância nuclear magnética (RNM) do soro e urina dos pacientes com câncer de próstata são diferentes dos pacientes sem câncer de Próstata. Para este fim realizar-se-á um estudo com pacientes provenientes do ambulatório de urologia do Hospital das Clínicas da UFPE, com diagnóstico de câncer de próstata, bem como voluntários saudáveis, sem evidência de câncer de próstata. Serão incluídos no estudo, pacientes do sexo masculino entre 40 e 75 anos de idade, com diagnóstico de câncer de próstata que serão submetidos a prostatectomia radical (Grupo A, 30 pacientes) e pacientes sem evidências de câncer de próstata (Grupo B, 30 pacientes). De todos os pacientes serão coletadas amostras de urina e sangue para serem analisadas por ressonância nuclear magnética (RNM) no Departamento de Química Fundamental. Os espectros serão determinados para o Grupo A e para o Grupo B. Os espectros do Grupo A serão estratificados, após a análise histológica da peça operatória, de acordo com Escore de Gleason / ISUP (6 ou > 7 / 1 ou > 2) e com a classificação de risco da Associação Européia de Urologia – EAU (baixo risco, risco intermediário e alto risco). Ainda, os pacientes do Grupo A terão

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.937.472

amostras de urina e sangue colhidas para avaliação do espectro 1 e 3 meses após a cirurgia. Para avaliar recorrência bioquímica, será dosado PSA sérico 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 meses após a cirurgia. Adicionalmente todos os dados serão armazenados por um período de 5 anos, sob a responsabilidade do pesquisador principal.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo primário:

Avaliar se há diferença entre os espectros de RNM de 1H obtidos da urina e do soro de pacientes com câncer de próstata e de pacientes sem evidências de câncer de próstata.

Objetivo secundário:

Avaliar se os espectros de RNM de 1H obtidos da urina e do soro podem prever o risco de recorrência da doença pós-prostatectomia radical.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

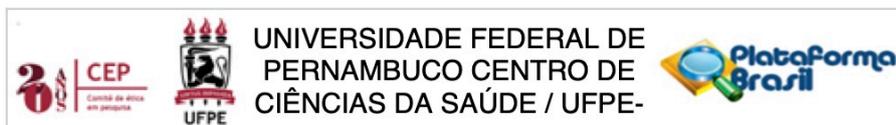
Os riscos e benefícios estão explicitamente delineados no projeto de pesquisa e no termo de consentimento livre esclarecido. Os riscos aos pacientes incluídos na pesquisa são: GRUPO A: As possíveis complicações são decorrentes do procedimento que foi indicado para tratar o câncer de próstata (prostatectomia radical): incontinência urinária, disfunção erétil, estenose da anastomose, infecção da ferida operatória, hérnia incisional, trombose menos profunda e infarto agudo do miocárdio. Sobre a coleta dos materiais para análise, as complicações são praticamente inexistentes ou pouco graves, podendo ocorrer hematomas no local onde a agulha foi inserida para retirada de sangue e/ou flebite que geralmente regredem espontaneamente ou com uso de anti-inflamatórios. GRUPO B: Os riscos são devidos à coleta de material para análise e são semelhantes ao do GRUPO A. Todos os procedimentos serão realizados em ambiente hospitalar adequado e por profissionais experientes.

Os possíveis benefícios são a possibilidade de desenvolver um marcador preciso para câncer de próstata que tenha boa sensibilidade e alta especificidade a fim de evitar biópsias prostáticas desnecessárias, além de determinar a agressividade da doença e o risco de recorrência pós-prostatectomia radical.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma temática atual e interessante para comunidade médica e aos pacientes portadores de câncer de próstata e homens saudáveis, pois, a pesquisa visa o desenvolvimento de novas estratégias de diagnóstico.

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.937.472

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

As cartas de anuências, termo de confidencialidade, currículos e termo de consentimento livre e esclarecido estão devidamente anexados. A folha de rosto esta devidamente assinada e carimbada pela Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFPE e também pela Chefia da Unidade de Gerenciamento da produção científica do HC-UFPE. O orçamento de aproximadamente 200,00 reais será de responsabilidade do pesquisador principal. O cronograma é compatível para a execução do projeto e consta que a coleta de dados só começará após aprovação pelo comitê de ética.

**Recomendações:**

Revisar a ortografia no projeto de pesquisa, pois, constam:

- página 2, linha 5, ESPRADOS;
- página 3, linha 8, MALIGNAS MAIS DE MAIOR.

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

Nenhuma

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

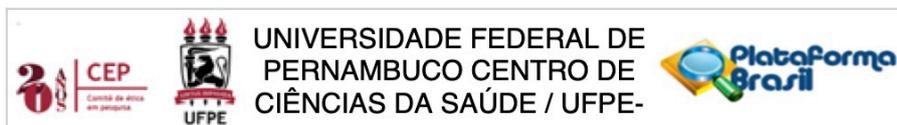
Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS N° 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS N° 466/12).

O CEP/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS N° 466/12). É papel do/a pesquisador/a

**Endereço:** Av. da Engenharia s/n° - 1° andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.937.472

assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

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

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1098560.pdf	20/08/2018 08:48:23		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOPARAPLATAFORMABRASIL.doc	15/08/2018 19:01:38	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEsemCAP.docx	15/08/2018 18:47:01	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLComCAP.docx	15/08/2018 18:46:51	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderostoassinada.pdf	15/08/2018 10:17:08	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	COMPROMISSOCONFIDENCIALIDADE.PDF	09/08/2018 19:24:51	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	ANUENCIAURO.pdf	09/08/2018 18:33:24	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	HISTORICOESCOLAR.jpg	08/08/2018 16:13:04	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	LattesSalvador.pdf	08/08/2018 16:05:16	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	LattesRicardo.pdf	08/08/2018 16:04:14	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	LattesLeslie.pdf	08/08/2018 16:02:11	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	LATTESTiago.pdf	08/08/2018 16:01:08	Moacir Cavalcante de Albuquerque	Aceito

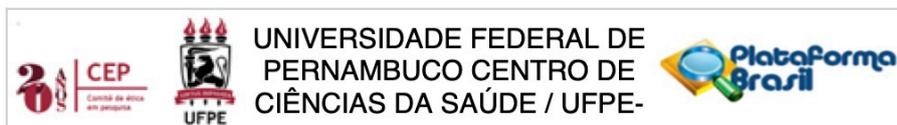
**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde

**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

**UF:** PE **Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588

**E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.937.472

Outros	LATTESThiago.pdf	08/08/2018 16:01:08	Neto	Aceito
Outros	LATTESMoacir.pdf	08/08/2018 16:00:41	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito
Outros	ANUENCIADQF.pdf	08/08/2018 15:13:16	Moacir Cavalcante de Albuquerque Neto	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 04 de Outubro de 2018

---

**Assinado por:**  
**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. da Engenharia s/n° - 1° andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br