

Alexandre Cesar Santos

**AVALIAÇÃO DO TESTE PARA O GENE 3 DO CÂNCER DE PRÓSTATA (PCA3) PARA MELHOR
INDICAÇÃO DE REBIÓPSIAS EM PACIENTES SUSPEITOS DESTE TUMOR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Eliney Ferreira Faria

Barretos, SP

2015

S237a Santos, Alexandre Cesar
Avaliação do teste para o gene 3 do câncer de próstata (PCA3) para
melhor indicação de rebiópsias em pacientes suspeitos deste tumor /
Alexandre Cesar Santos, 2015.
53 f.

Orientador: Eliney Ferreira Faria

Dissertação (Mestrado) – Hospital de Câncer de Barretos – Pós-
Graduação. Instituto de Ensino e Pesquisa, Barretos, 2015.

1. Neoplasias da Próstata. 2. Testes Genéticos. 3. Biópsia. 4. Diagnóstico. 5.
Urina. 6. Antígeno Prostático Específico.

CDD 616.9

FICHA CATALOGRÁFICA

Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

FOLHA DE APROVAÇÃO

Alexandre Cesar Santos

Avaliação do teste para o gene 3 do câncer de próstata (PCA3) para melhor indicação de rebiópsias em pacientes suspeitos deste tumor

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Oncologia

Data da aprovação: 14/09/2015

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Gustavo Franco Carvalhal

Instituição: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina – PUC/RS

Prof. Dr. Cristovam Scapulatempo Neto

Instituição: Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

Prof. Dr. Eliney Ferreira Faria

Orientador

Prof. Dr. Rui Manuel Vieira Reis

Presidente da Banca

SUPORTE À PESQUISA POR AGÊNCIA DE FOMENTO

Este trabalho recebeu apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através de Auxílio à Pesquisa – Regular (processo número 2014/24536-0).

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da FAPESP

Esta dissertação foi elaborada e está apresentada de acordo com as normas da Pós-Graduação do Hospital de Câncer de Barretos - Fundação Pio XII, baseando-se no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Oncologia e no Manual de Apresentação de Dissertações e Teses do Hospital de Câncer de Barretos. Os pesquisadores declaram ainda que este trabalho foi realizado em concordância com o Código de Boas Práticas Científicas (FAPESP), não havendo nada em seu conteúdo que possa ser considerado como plágio, fabricação ou falsificação dos dados. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos.

Embora o Núcleo de Apoio ao Pesquisador do Hospital de Câncer de Barretos tenha realizado as análises estatísticas e orientado sua interpretação, a descrição da metodologia estatística, a apresentação dos resultados e suas conclusões são de inteira responsabilidade dos pesquisadores envolvidos.

CONFLITOS DE INTERESSE: Esse estudo teve suporte financeiro da Hologic, através da doação dos Kits para o teste PROGENSA PCA3® para o Hospital de Câncer de Barretos e pela análise posterior das amostras de urina em sua sede em San Diego, Califórnia, Estados Unidos. Esse estudo teve suporte financeiro da Handle Comércio de Equipamentos Médicos LTDA, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, através da importação, exportação e distribuição dos insumos do estudo e do custeio dos equipamentos utilizados no mesmo.

Dedico esse trabalho a minha esposa Juliana pela compreensão e paciência nos momentos de distância familiar dedicados a esse projeto, por ser uma excelente esposa e uma mãe melhor ainda

Dedico esse trabalho a minha filha Júlia pela sua ternura e toque de amor nas muitas vezes que pediu para estudar junto do papai ao longo dessa dissertação

Dedico esse trabalho a minha filha Helena que pelo seu abraço apertado e beijo carinhoso "recarrega" todos os dias minhas baterias e me dá a força necessária para seguir em frente

Dedico esse trabalho ao meu pai João e à minha mãe Célia que sempre me ensinaram a valorizar a simplicidade, a honestidade e o esforço próprio como forma de crescimento pessoal

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Eliney Ferreira Faria pelas oportunidades que tem me dado desde a indicação a compor a Equipe da Uro-oncologia do Hospital de Câncer de Barretos até o suporte intelectual na realização desse projeto.

Ao Enfermeiro Luciano Pereira da Silva por todo seu empenho e competência no trato com os participantes dessa pesquisa. Pelo seu apoio irrestrito e imensurável na logística desse projeto.

Aos Professores Doutores Gustavo Franco Cavalhal e André Lopes de Carvalho, membros das bancas de acompanhamento e qualificação pelas orientações e lições fazendo com a dissertação tomasse corpo aos poucos e de forma muito natural.

Ao Professor Doutor Rui Manoel Vieira Reis pelo apoio intelectual e pelo suporte oferecido no CPOM.

À MS. Adriana Cruvinel Carloni pela prestatividade e pelo apoio técnico no laboratório do CPOM.

Ao Professor Doutor Jacó Saraiva de Castro Mattos pelo apoio no projeto através do Departamento de Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos.

À médica Uro-patologista Dra. Mariana Morini pela sua contribuição no projeto na análise patológica.

Ao escritório de projetos do Instituto de pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos, em especial à funcionária Joyce Silva Pinto sem a qual esse projeto não teria acontecido no prazo estabelecido.

À Handle através de Anamaria Gaetani, Marco Rossi, Marcelo Solon, Marcelo Baptistucci e Camila Celini que estiveram envolvidos nesse projeto pelo suporte financeiro e logístico.

À Hologic através de Wagner Miyaura, Daniel Corrales, Jonh Day, Jack Groskopf e Petrea Hodges pelo apoio financeiro e técnico nesse projeto.

Aos funcionários do Departamento de Radiologia e em especial à enfermeira Valdirene Maria dos Santos e ao Doutor Fabiano Luchesi pelo apoio logístico nesse projeto.

Aos meus colegas de trabalho Roberto Dias Machado, Wesley Justino Magnabosco, Fernando Gonçalves Zapparoli e Roberto Lodeiro Muller pelo suporte nos ambulatórios e cirurgias.

Às funcionárias do Workstation da Urologia Elaine Cristina Braga Xavier e Rosemeire Souza Sineão pelo apoio logístico.

Aos funcionários do Núcleo de Apoio ao pesquisador em especial aos estatísticos Cleyton Zanardo de Oliveira, Marco Antônio de Oliveira e Anderson Paulo Scorsato na programação e análises estatísticas do estudo.

Às funcionárias da Pós-graduação Brenda Honda e Silvana Rodrigues pelo apoio.

Ao Hospital de Câncer de Barretos pelo suporte financeiro e disponibilidade de tempo oferecido para que esse projeto pudesse ser realizado.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

E principalmente aos homens participantes dessa pesquisa sem a compreensão dos quais esse projeto não aconteceria. Agradeço aos que de muito longe vieram realizar prevenção de câncer de próstata e se doaram em prol dessa pesquisa.

"O importante é vencer, tudo e sempre"

Ayrton Senna da Silva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	
1.1	Epidemiologia do câncer de próstata	1
1.2	Rastreamento e diagnóstico do câncer de próstata	1
1.3	Rebiópsias de Próstata	2
1.4	<i>Prostate Cancer Antigen 3 (PCA3)</i>	3
2	OBJETIVOS	
2.1	Objetivo primário	5
2.2	Objetivos secundários	5
3	MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1	Desenho do estudo	6
3.2	População do estudo	6
3.3	Critérios de inclusão no estudo	6
3.4	Critérios de exclusão do estudo	7
3.5	Aspectos éticos	7
3.6	Diagrama do estudo	8
3.7	Análise bioquímica	8
3.8	Coleta de urina de primeiro jato e análise do PCA3	8
3.9	Princípios do ensaio PROGENSA PCA3®	9
3.10	Rebiópsia de Próstata	10
3.11	Análise anatomopatológica	11
3.12	Análises estatísticas	12
4	RESULTADOS	
4.1	Índice informativo do teste PROGENSA PCA3®	13
4.2	Características clínicas e sócio-demográficas	13
4.3	PCA3 <i>score</i> e sua associação com a idade e com o volume prostático	16
4.4	Achados patológicos e performance do teste PROGENSA PCA3®	17
4.5	PCA3 <i>score</i> e sua associação com a positividade da rebiópsia	23
4.6	Regressão logística univariada	24
4.7	Regressão logística múltipla	25
4.8	Benefício do uso do PCA3 <i>score</i> e da densidade de PSA	26
4.9	Número de rebiópsias desnecessárias	28
5	DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÕES	36
	REFERÊNCIAS	37
	ANEXOS	
ANEXO A	Ficha de Coleta de Dados	43
ANEXO B	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	46
ANEXO C	Carta de Aprovação do CEP	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Diagrama do estudo.	8
Figura 2 -	Método de massagem prostática.	8
Figura 3 -	Correlação do PCA3 <i>score</i> com a idade.	16
Figura 4 -	Correlação do PCA3 <i>score</i> com o volume prostático ao ultrassom transretal.	16
Figura 5 -	Curva ROC do PCA3 <i>score</i> .	21
Figura 6 -	Curva ROC da densidade de PSA.	22
Figura 7 -	Porcentagem de detecção de CAP na rebiópsia quanto ao PCA3 <i>score</i> categorizados.	24
Figura 8 -	Curvas ROC combinando variáveis clínicas com o PCA3 <i>score</i> e/ou com a densidade de PSA.	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados sócio-demográficos.	13
Tabela 2 -	Antecedentes clínicos e patológicos.	14
Tabela 3 -	Achados clínicos e radiológicos.	15
Tabela 4 -	Resultados da rebiópsia de próstata (<i>Gold standart</i>).	17
Tabela 5 -	Associação de ASAP e PIN de alto grau em biópsias prévias com o resultado da rebiópsia.	18
Tabela 6 -	Associação de achados clínicos e do teste PCA3 com o resultado da rebiópsia.	19
Tabela 7 -	Detecção de câncer de próstata entre as rebiópsias que retiraram 16 fragmentos comparado às que retiraram mais de 16 fragmentos.	19
Tabela 8 -	Associação do PCA3 <i>score</i> e da densidade de PSA quanto ao número de fragmentos retirados na rebiópsia.	20
Tabela 9 -	Associação entre o PCA3 <i>score</i> e a classificação de Gleason nas rebiópsias positivas.	20
Tabela 10 -	Frequência de CAP na rebiópsia utilizando o PCA3 <i>score</i> com ponto de corte de 25.	21
Tabela 11 -	Performance do teste PROGENSA PCA3 [®] utilizando-se o ponto de corte de 25.	22
Tabela 12 -	Performance da densidade de PSA com o ponto de corte de 0,11 ng/ml/cm ³ .	23
Tabela 13 -	Resultados das análises das curvas ROC das variáveis clínicas e do PCA3 <i>score</i> .	23
Tabela 14 -	Modelo de regressão logística univariada das variáveis clínicas e do PCA3 <i>score</i> para a ocorrência de uma rebiópsia negativa para CAP.	24

Tabela 15 -	Modelo de regressão logística múltipla ajustado para as variáveis clínicas e PCA3 para a ocorrência de uma rebiópsia negativa para CAP.	25
Tabela 16 -	Resultado das curvas ROC do modelo com variáveis clínicas isolado ou associado com o PCA3 e/ou com a densidade de PSA.	27
Tabela 17 -	Comparação emparelhada das curvas ROC.	28
Tabela 18 -	Frequência de ocorrência de CAP na rebiópsia por PCA3 <i>score</i> e densidade de PSA categorizados.	28
Tabela 19 -	Performance do PCA3 nos principais estudos de homens com biópsias prévias negativas.	32

LISTA DE ABREVIATURAS

34βE-12	Anticorpo anti-citoqueratina 34βE-12
9q21-22	Primeira banda da segunda região e segunda banda da segunda região do braço longo do cromossomo 9
Acu	Acurácia
AUC	Área sobre a curva
ASAP	<i>Atypical small acinar proliferation</i> ou proliferação atípica de pequenos ácinos
CAP	Câncer de próstata
cm ³	Centímetros cúbicos
CPOM	Centro de Pesquisas em Oncologia Molecular
DD3	<i>Differential Display code 3</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
E	Especificidade
EDR	Exame digital do reto
<i>et al</i>	E outros
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
HCB	Hospital de Câncer de Barretos
HPA	<i>Hybridization Protection Assay</i> ou Ensaio de proteção de hibridização
HPB	Hiperplasia prostática benigna
MMLV	Vírus da leucemia murínica de Moloney
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IC	Intervalo de confiança
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ISUP	<i>International Society of Urological Pathology</i> ou Sociedade Internacional de Patologia Urológica
ITU	Infecção do trato urinário
Kg	Quilogramas
LUTS	<i>Lower Urinary tract Systems</i> ou Sintomas urinários do trato baixo

mg	Miligramas
ml	mililitros
MVC	Modelo com variáveis clínicas
NASBA	<i>Nucleic acid sequence-based amplification</i>
n	número
NAAT	<i>Nucleic acid amplified testing</i> ou teste de amplificação de ácido nucléico
ND	Não disponível
ng	nanogramas
OR	<i>Odds ratio</i>
P504-S	Anticorpo anti-alfametilacil coenzima A racemase
p63	Imunohistoquímica com anticorpos anti-células basais p63
PCA3	<i>Prostate Cancer Antigen 3</i> ou Gene 3 do câncer de Próstata
PIN	<i>Prostatic intraepithelial neoplasia</i> ou neoplasia intraepitelial prostática
PSA	<i>Prostate specific antigen</i> ou Antígeno prostático específico
PSAd	Densidade de PSA que é o valor do PSA dividido pelo volume da próstata pelo ultrassom transretal
PSAdt	Tempo de duplicação do PSA
PSAt	Valor total do antígeno prostático específico
PSAv	Velocidade de PSA
qRT-PCR	Teste quantitativo de reação em cadeia da polimerase com a enzima transcriptase reversa
REDUCE	Estudo multicêntrico <i>Reduction by dutasteride of prostate cancer events</i>
Rel. PSA l/t	Relação de PSA livre sobre total
RNA	Ácido ribonucléico
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i> ou Curva ROC
S	Sensibilidade
SISNEP	Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa
SPSS	<i>Software Statistical Package for Social Sciences</i>
T2b	Estadiamento de tumor de próstata com tumor acometendo mais da metade de um lobo prostático

T4	Estadiamento de tumor de próstata com tumor acometendo órgãos adjacentes
T7	Enzima RNA polimerase T7
TC	<i>Target Capture</i> ou Captura de alvo
TCS	<i>Target Capture System</i> ou Sistema de captura de alvo
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TMA	<i>Transcription Mediated Amplification</i> ou amplificação mediada por transcrição
TMPRSS2-ERG ou T2-ERG	Fusão genética do gene endócrino relacionado com o gene protease sérica transmembrana
US	Ultrassom
Vol	Volume
VPP	Valor preditivo positivo
VPN	Valor preditivo negativo
vs	Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
≤	Menor ou igual
/	Divisão
>	Maior
®	Marca registrada
≥	Maior ou igual
<	Menor
-	Menos
*	Significância estatística
+	Um valor ignorado excluído da análise
†	52 Valores ignorados excluídos da análise
°C	Graus Celsius
±	Mais ou menos
=	igual
&	Versus
+	Mais

RESUMO

Santos AC. Avaliação do teste para o gene 3 do câncer de próstata (PCA3) para melhor indicação de rebiópsias em pacientes suspeitos deste tumor. **Dissertação (Mestrado)**. Barretos: Hospital de Câncer de Barretos; 2015.

JUSTIFICATIVA: O PCA3 é um gene altamente expresso em tecidos tumorais prostáticos do que nos tecidos benignos. No teste PROGENSA PCA3®, o mRNA do PCA3 é captado na urina de primeiro jato após um exame digital do reto (EDR), amplificado, hibridizado e detectado gerando um *score* diretamente proporcional a positividade de câncer de próstata (CAP) nas rebiópsias. Apesar de ter sido amplamente estudado nos Estados Unidos e Europa, carecem estudos com o PCA3 na população latino-americana, sobretudo no Brasil. **OBJETIVOS:** Avaliar o PCA3 como ferramenta de aconselhamento de rebiópsias em homens suspeitos de CAP com pelo menos uma biópsia prévia negativa e sua associação com as ferramentas clínicas habitualmente utilizadas no diagnóstico além de sua associação com os achados patológicos. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Trata-se de um estudo prospectivo de validação de teste diagnóstico de 144 homens, com pelo menos uma biópsia de próstata prévia negativa e que tenham indicação de rebiópsia por alterações no PSA, em suas variações (densidade de PSA, relação PSA livre/total, velocidade de PSA e tempo de duplicação de PSA) ou pelo EDR alterado. Foram coletados dados clínicos, PSA total e livre, urina de primeiro jato após um EDR (para o cálculo do PCA3 *score*) e, a seguir, os homens realizaram rebiópsias de próstata com 16 ou mais fragmentos. Foram calculadas as curvas ROC das variáveis clínicas e do PCA3 e, dos que tiveram significância estatística foram calculadas a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e acurácia. Foi verificada a associação do PCA3 com os achados patológicos e criados modelos de regressão logísticos univariados e múltiplos. Por último foi calculado o número de rebiópsias desnecessárias frente ao uso do PCA3. **RESULTADOS:** A incidência de CAP foi de 14,6%. As curvas ROC que obtiveram significância estatística foram a do PCA3 ($p = 0,004$ e $AUC = 0,69$) e a da densidade de PSA - PSAd - ($p = 0,045$ e $AUC = 0,64$). Os pontos de corte de melhor acurácia foram o de 25 para o PCA3 *score* e o de $0,11 \text{ ng/ml/cm}^3$ para a PSAd. Utilizando esses pontos de corte, o PCA3 e a densidade de PSA apresentaram valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos

positivo e negativo de, respectivamente de 71,4%, 58,6%, 22,7% e 92,3% e de 60%, 70,7%, 25% e 91,6%. Não houve associação do PCA3 com a idade ($p = 0,666$), com o volume prostático ($p = 0,130$) e nem com a escore de Gleason 6 ou 7 ($p = 0,481$). Houve maior frequência de CAP na rebiópsia no grupo de homens com PCA3 *score* ≥ 25 e maior frequência de casos negativos no grupo com PCA3 *score* < 25 ($p = 0,011$). Na regressão logística univariada homens com PCA3 *score* < 25 tiveram um *odds ratio* de 3,529 vezes ($p = 0,015$) de apresentar uma rebiópsia negativa para CAP do que homens com PCA3 ≥ 25 . Homens com PSA_d $< 0,11$ ng/ml/cm³ tiveram um *odds ratio* de 3,625 vezes ($p = 0,010$) de apresentar uma rebiópsia negativa para CAP do que homens com densidade de PSA $\geq 0,11$ ng/ml/cm³. No modelo de regressão logística múltipla, ajustado para as demais variáveis clínicas, tanto o PCA3 *score* < 25 quanto a densidade de PSA $< 0,11$ ng/ml/cm³ se mostraram preditores independentes do resultado de rebiópsias (p valor respectivos de 0,043 e 0,016). Foram criadas curvas ROC a partir de um modelo com variáveis clínicas (PSA total, relação de PSA livre/total, velocidade de PSA, EDR suspeito, antecedente familiar positivo de CAP, idade, raça e número de biópsias prévias realizadas) sozinho ou em combinação com PCA3 *score* e/ou a densidade de PSA. A maior AUC foi a que utilizou o modelo com variáveis clínicas somado ao PCA3 e a densidade de PSA com AUC de 0,774 ($p < 0,001$). Além disso, houve um incremento significativo ($p = 0,023$) na AUC quando o PCA3 e a densidade de PSA foram adicionados ao modelo com variáveis clínicas comparada ao modelo isolado. O PCA3 *score* com ponto de corte de 25 foi capaz de evitar 50% das rebiópsias com perda de 4,2% de casos de CAP de baixo risco. Incorporando a densidade de PSA $< 0,11$ ng/ml/cm³ ao PCA3 *score* < 25 evitaríamos 35,7% de rebiópsias com apenas 2,1% de casos perdidos, todos eles também de baixo risco. **CONCLUSÃO:** O presente estudo mostrou que o PCA3 tem boa utilidade no aconselhamento de homens com PSA persistentemente elevado, especificamente na população de homens com biópsias prévias negativas, podendo evitar 50% de rebiópsias desnecessárias com o ponto de corte 25. Dentre as ferramentas clínicas comumente utilizadas na indicação de biópsias de próstata, a densidade de PSA foi a única que se apresentou como variável independente do resultado da rebiópsia e somada ao PCA3 pode diminuir a ocorrência de casos perdidos.

PALAVRAS CHAVE: Neoplasias da próstata; Próstata; Biópsia; Diagnóstico; Urina; Genética; Testes genéticos; Antígeno prostático específico.

ABSTRACT

Santos AC. Evaluation for prostate cancer antigen 3 (PCA3) assay to improve the rebiopsies indications in patients suspected of this tumor. **Dissertation (Master's degree)**. Barretos: Barretos Cancer Hospital; 2015.

BACKGROUND: PCA3 is a highly expressed gene in prostate cancer comparing to benign tissues. In the PROGENSA PCA3[®] assay, the PCA3 mRNA in a post-digital rectal examination (DRE) first catch urine is captured, amplified, hybridized and detected providing a score as greater as the prostate cancer (PCa) finding in rebiopsies. Despite being widely studied in the United States and Europe, there are few studies with PCA3 in the Latin American population especially in Brazil. **AIM:** Evaluate the PCA3 assay as a rebiopsies advisor tool in PCa suspicious men with at least one prior negative biopsy and its association with clinical tools used in the diagnosis as well as its association with pathologic findings. **MATERIALS AND METHODS:** This is a prospective diagnosis study of 144 men with at least one prior PCa negative biopsy, with rebiopsy indication by abnormalities in PSA, in its variations (PSA density, free/total PSA ratio, PSA velocity and PSA doubling time) or DRE abnormal. Clinical data, total and free PSA and post-DRE first catch urine (to determine PCA3 score) were collected and, after that, prostate rebiopsies were performed with 16 or more cores. ROC curves of the clinical variables and PCA3 were calculated and, of those who had statistical significance, were calculated sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and accuracy. The association of PCA3 with pathologic findings was verified and, after that, univariate and multiple logistic regression models were created. Finally, we calculated the number of unnecessary rebiopsies using PCA3. **RESULTS:** The incidence of PCa was 14.6%. There were statistical significance in ROC curves for PCA3 ($p = 0.004$ and $AUC = 0.69$) and PSA density - PSAd - ($p = 0.045$ and $AUC = 0.64$). The most accurate cutoff points were 25 for the PCA3 score and 0.11 ng/ml/cm^3 for PSAd. Using these cutoffs points, the PCA3 and PSAd showed sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive values of 71.4%, 58.6%, 22.7% and 92.3% and 60%, 70.7%, 25% and 91.6% respectively. There was no association between PCA3 with age ($p = 0.666$), with prostate volume ($p = 0.130$), nor with the Gleason score 6 or 7 ($p = 0.481$). There was a higher frequency of PCa in rebiopsy in the group of men with PCA3 score ≥ 25 and higher frequency of negative cases in the group with

PCA3 score < 25 ($p = 0.011$). In univariate logistic regression model men with PCA3 score < 25 had an odds ratio of 3.529 times to present a negative PCa rebiopsy ($p = 0.015$) than men with PCA3 ≥ 25 . Men with PSA_d < 0.11 ng/ml/cm³ had an odds ratio of 3.625 times to present a negative PCa rebiopsy ($p = 0.010$) than men with PSA_d ≥ 0.11 ng/ml/cm³. In multiple logistic regression model, adjusting for the other clinical variables, both PCA3 score < 25 as PSA_d < 0.11 ng/ml/cm³ were independent predictors of the rebiopsies outcome, with respective p value of 0.043 and 0.016. ROC curves were created from a model with clinical variables (total PSA, free/total PSA ratio, PSA velocity, DRE abnormal, PCa positive family history, age, race and number of prior biopsies) alone or in combination with PCA3 score and/or PSA density. The largest AUC was in the model that used clinical variables added to the PCA3 and PSA density with AUC of 0.774 ($p < 0.001$). Furthermore, there was a significant increase in the AUC ($p = 0.023$) when PCA3 and PSA density were added to the model with clinical variables compared to isolated model. The PCA3 score cutoff point of 25 was able to prevent 50% of rebiopsies with 4.2% of missing cases, all of them, low risk PCa cases. Using PSA density < 0.11 ng/ml/cm³ and PCA3 score < 25, 35.7% of rebiopsies would be avoided with only 2.1% of missing cases, all of them, low risk PCa cases. **CONCLUSION:** This study showed PCA3 as a good counseling tool in men with persistently elevated PSA, specifically in the population of men with prior negative biopsies, preventing 50% of unnecessary rebiopsies using the cutoff point 25. Among the clinical tools commonly used in the indication of prostate biopsies, PSA density was the one who showed itself as an independent variable in the result of rebiopsy and added to the PCA3 could reduce the incidence of missed cases.

KEYWORDS: prostatic neoplasms; Prostate; Biopsy; Diagnosis; Urine; Genetics; Genetic testing; Prostate specific antigen.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia do câncer de próstata

Aproximadamente 16% dos homens nascidos nos países ocidentais têm probabilidade de desenvolver Câncer de Próstata (CAP) no decorrer da vida. Ou seja, aproximadamente 1 em cada 6 terá esta neoplasia¹. Dados da *International Agency for Research on Cancer* (IARC) através do projeto GLOBOCAN 2012 - mostraram uma incidência mundial de 1.1 milhões de novos casos de CAP com aproximadamente 307.000 mortes². Estatísticas americanas estimam aproximadamente 220.800 novos casos de CAP com 27.540 mortes para o ano de 2015¹. No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), ocorreram mais de 68.800 casos novos de CAP em 2014³.

1.2 Rastreamento e diagnóstico do câncer de próstata

O antígeno prostático específico (PSA) juntamente com o exame digital do reto (EDR) permanecem como pedras angulares na detecção precoce do CAP até os dias atuais. Admita-se que na presença de qualquer alteração de um dos dois o paciente deva realizar uma biópsia transretal de próstata.

Entretanto, este tipo de rastreamento é muito imperfeito e passível de inúmeras críticas. Primeiramente porque o PSA é um marcador específico da próstata, porém não de CAP. Isso significa que na presença de CAP é possível que ele esteja alterado. Porém, muitas outras afecções elevam os valores de PSA sendo, pois, pouco específico de CAP. Causam o aumento do PSA a hiperplasia prostática benigna (HPB), doenças inflamatórias e infecciosas da próstata e manipulação diagnóstica e cirúrgica do trato urinário masculino baixo. Em segundo lugar, mesmo valores baixos de PSA não excluem a presença de CAP, conforme demonstrou Thompson *et al*, que relataram prevalência de 15% de CAP em 2.950 homens com $PSA \leq 4,0$ ng/ml. Além disso, um percentual de tumores mais agressivos (classificação de Gleason 8, 9 ou 10) também pode ser observado em homens que fizeram biópsia de próstata com níveis baixos de PSA⁴.

Apesar de amplamente disponível e de baixo custo, o PSA tem baixa acurácia na detecção do CAP. Com ele, muitos casos de tumores sem potencial biológico de agressividade são detectados gerando *overtreatment*, ou seja, muitos pacientes recebem tratamento para uma doença que não teria repercussão clínica. Inclusive, baseado nisso, o

U.S. Preventive Services Task Force adotou em 2012 um posicionamento contrário ao rastreamento populacional baseado no PSA com nível de evidência "D" de recomendação⁵.

Em relação ao EDR, este exame é bastante subjetivo e tem variabilidade interpessoal entre examinadores. A existência de doenças prostáticas associadas como a HPB, prostatite, biópsias ou cirurgias prévias podem tornar o exame menos conclusivo. Todos esses fatores levam a uma variação individual e interpessoal do EDR, mantendo especificidade em torno de 20 - 25% na maioria dos estudos^{4, 6, 7}. Em um estudo brasileiro onde mais de 17.500 homens foram rastreados para CAP, o EDR apresentou valor preditivo positivo (VPP) de apenas 21% para homens com PSA > 4,0 ng/ml, mostrando ser pouco preciso no rastreamento⁸.

Controvérsias à parte, no que se refere às recomendações do rastreamento baseado no PSA, esse, juntamente com o EDR constituem ainda nos dias de hoje, as principais ferramentas utilizadas no diagnóstico do CAP.

Como reflexo da baixa acurácia do PSA e do EDR no diagnóstico do CAP, as taxas de detecção de CAP na primeira biópsia variam de 22 a 40%⁹⁻¹¹. O maior estudo brasileiro de rastreamento de CAP mostrou uma taxa de detecção de CAP de 39,6% onde 84,7% dos homens foram diagnosticados na primeira biópsia⁸. Isso significa que mais de 60% dos homens suspeitos de CAP pelo EDR ou por PSA alterado, terão um diagnóstico negativo na primeira biópsia^{12, 13}.

1.3 Rebiópsias de próstata

Esses pacientes com PSA e/ou EDR alterado e com primeira biópsia negativa para CAP constituem um grupo peculiar de pacientes em que o manejo clínico pode causar muita ansiedade e preocupação. Esses pacientes tenderão a continuar o seguimento clínico com o urologista e rebiópsias futuras não de ser consideradas, levando-se em conta a possibilidade de falsos negativos na primeira biópsia. Quando se persiste na investigação desses pacientes com rebiópsias as taxas de detecção caem para 10 - 19% na segunda biópsia e 5 - 14% na terceira biópsia^{9, 10, 14, 15}. Ou seja, se o PSA já tem baixa acurácia na detecção de CAP na primeira biópsia, ele é pior ainda nos pacientes que realizam a segunda ou terceira biópsias, pois na maioria, também não são confirmados como portadores de CAP e realizam rebiópsias desnecessariamente.

Além disso, mesmo com a evolução da técnica de biópsia de próstata utilizando-se do ultrassom e transdutor “*end fire*” com agulha, esse procedimento ainda continua sendo invasivo, doloroso, constrangedor, que gera ansiedade no paciente e com custos elevados para o sistema de saúde privado ou público. Realiza-se um número elevado de punções, tanto maior principalmente nas indicações de rebiópsias, faz-se profilaxia antimicrobiana prévia, preparo intestinal e sedação. Além do desgaste pessoal e do custo financeiro, são complicações da biópsia prostática: sangramento retal, hematúria, episódios vaso - vagais, febre, hematospermia, disúria persistente, infecção urinária, prostatite aguda, retenção urinária aguda e uro-sepse o que leva a novas consultas médicas, períodos de internação e necessidade de intervenções terapêuticas diversas. Os prejuízos psicológico, financeiros e os riscos de complicações se potencializam quando há a indicação de rebiópsias. Entretanto, apesar das complicações mencionadas acima, é preciso repetir biópsias de próstata com frequência em pacientes com níveis persistentemente elevados de PSA após a primeira biópsia negativa^{9, 16-19}.

Diante dessa população particular de pacientes, com uma biópsia prévia negativa para CAP, porém com suspeita clínica persistente, tanto o PSA quanto o EDR, ferramentas contestadas de rastreamento, tem valor ainda menor e livram poucos pacientes da indicação de rebiópsias.

1.4 Prostate Cancer Antigen 3 (PCA3)

Em 1999, Bussemakers *et al.* identificaram um gene altamente expresso em pacientes com CAP chamado inicialmente de DD3 (*Differential Display code 3*), atualmente conhecido como *Prostate Cancer Antigen 3* (PCA3). O gene PCA3 está localizado no cromossomo 9q21-22. A alta frequência de *stop codons* em sua estrutura sustenta a hipótese de que esse gene seja um gene não-codificante e não-traduzido²⁰. Acredita-se que os RNAs do PCA3 participem da regulação gênica em vários níveis²¹. Diversos estudos confirmaram a expressão elevada do RNA mensageiro (mRNA) do PCA3 em tecidos tumorais prostáticos em detrimento dos tecidos benignos. A expressão gênica do PCA3 foi 66 - 100 vezes maior no tecido tumoral do que no tecido prostático normal e 140 vezes superior ao tecido com hiperplasia prostática^{20, 22-24}.

Em 2006, Groskopf *et al.* descreveram o teste de detecção do mRNA do PCA3 em amostras de urina de homens após uma massagem prostática. O teste demonstrou

sensibilidade de 69%, especificidade de 79% e área sobre a curva (AUC) de 0,746 (95% intervalo de confiança: 0,574-0,918)²⁵. A partir disso, muitos estudos foram feitos avaliando-se o uso do PCA3. O achado crucial comum desses estudos foi a observação da associação diretamente proporcional de altos valores do PCA3 *score* com a ocorrência de rebiópsias positivas para CAP²⁶⁻²⁹. Devido aos resultados consistentes desses estudos, em Fevereiro de 2012 o *Food and Drugs Administration* (FDA) dos Estados Unidos registrou o PCA3 como ferramenta de auxílio na indicação de rebiópsias e diagnóstico do CAP em homens com biópsias prévias negativas³⁰.

Através de um teste de amplificação de ácidos nucléicos *in vitro* (NAAT - *Nucleic acid amplified testing*) comercializado como ensaio ProgenSA PCA3[®], moléculas de mRNA do Gene 3 do CAP são capturadas, posteriormente amplificadas, hibridizadas e detectadas, resultando em um *score* final diretamente proporcional à possibilidade de detecção de CAP nas rebiópsias³¹.

Apesar de amplamente utilizado e estudado nos Estados Unidos e Europa, carecem estudos sobre o PCA3 em homens suspeitos de CAP com biópsias prévias negativas no aconselhamento de rebiópsias em países latino-americanos, incluindo o Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

O objetivo desse estudo é avaliar a aplicabilidade do PCA3 como ferramenta de indicação de rebiópsias em homens suspeitos de CAP com pelo menos uma biópsia prévia negativa.

2.2 Objetivos secundários

- Verificar a associação do PCA3 com as ferramentas utilizadas na prática clínica para indicação de rebiópsias, tais como o PSA total, a relação de PSA livre/total, densidade de PSA, velocidade de PSA, tempo de duplicação do PSA, EDR suspeito e antecedente familiar positivo de CAP.

- Verificar a associação do PCA3 *score* com achados histológicos tais como a classificação de Gleason, a ocorrência de proliferação atípica de pequenos ácinos (ASAP) e de neoplasia intra-epitelial (PIN) de alto grau.

- Verificar a associação do PCA3 com a idade e com o volume prostático.

- Calcular o número de biópsias desnecessárias com o uso do PCA3.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de validação de teste diagnóstico, com coleta prospectiva de dados.

3.2 População do estudo

O Hospital de Câncer de Barretos (HCB) possui um programa de rastreamento de tumores (câncer de mama, colo de útero, pele e próstata) há vários anos, que se utiliza de unidades móveis (carretas), que rastreiam homens com suspeita de CAP com a dosagem de PSA e pelo EDR em diferentes regiões do Brasil. Os homens suspeitos são encaminhados para o departamento de prevenção do HCB. Para este estudo foram coletados dados prospectivos de homens que participam do programa de rastreamento de CAP feito pelas unidades móveis, pelo departamento de prevenção e pelos pacientes que realizam rastreamento de CAP nos ambulatórios de urologia do HCB.

Entre Janeiro de 2014 e Janeiro de 2015, cento e setenta e sete (177) homens foram entrevistados. As entrevistas foram feitas após as consultas médicas de rotina. Foi utilizada uma ficha de coleta de dados clínicos e demográficos (ANEXO A).

3.3 Critérios de inclusão no estudo

- Idade entre 45 - 75 anos
- Níveis de PSA entre 2,5 - 10 ng/ml
- Ter realizado previamente ao menos uma biópsia, todas negativas para CAP
- Ter indicação clínica de rebiópsia por um ou mais dos seguintes critérios:
 - $PSA \geq 2,5$ ng/ml
 - Velocidade de PSA maior que $0,75$ ng/ml/ano³²
 - Densidade de $PSA \geq 0,15$ ¹²
 - EDR suspeito para neoplasia
 - Achado de proliferação atípica de pequenos ácinos (ASAP) em biópsia prévia confirmado por imunohistoquímica³³
- Ter a capacidade de compreender o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

3.4 Critérios de exclusão do estudo

- Histórico de tratamento cirúrgico prévio (< 6 meses) para hiperplasia prostática benigna
- Histórico do uso de medicações que possam interferir na conduta, nos resultados e na conclusão do estudo, tais como o uso de inibidores da enzima 5-alfa redutase (por exemplo, finasterida® e dutasterida®) e reposição de testosterona por hipogonadismo primário ou distúrbio androgênico do envelhecimento masculino
- Participante não ofereceu a amostra de urina e/ou não realizou a rebiópsia de próstata
- As amostras de urina dos participantes não foram coletadas, armazenadas e/ou processadas da forma devida
- Participante decidiu voluntariamente se retirar do estudo.

3.5 Aspectos éticos

Em respeito à Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, o projeto de pesquisa está cadastrado no Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (SISNEP) por meio do qual foi direcionado ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Hospital do Câncer de Barretos - Fundação Pio XII e aprovado em reunião do dia 14 de julho de 2011, com número 524/2011.

Como parte da documentação prevista na legislação, foi elaborado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aos homens convidados a participar do estudo, em linguagem clara e objetiva, com informações sobre os objetivos da pesquisa, os procedimentos de risco, desconfortos e benefícios, garantia do anonimato e respeito ao desejo de participar ou recusar. Após a discussão do TCLE, foi solicitada anuência, mediante assinatura, daquelas que concordaram em participar.

3.6 Diagrama do estudo

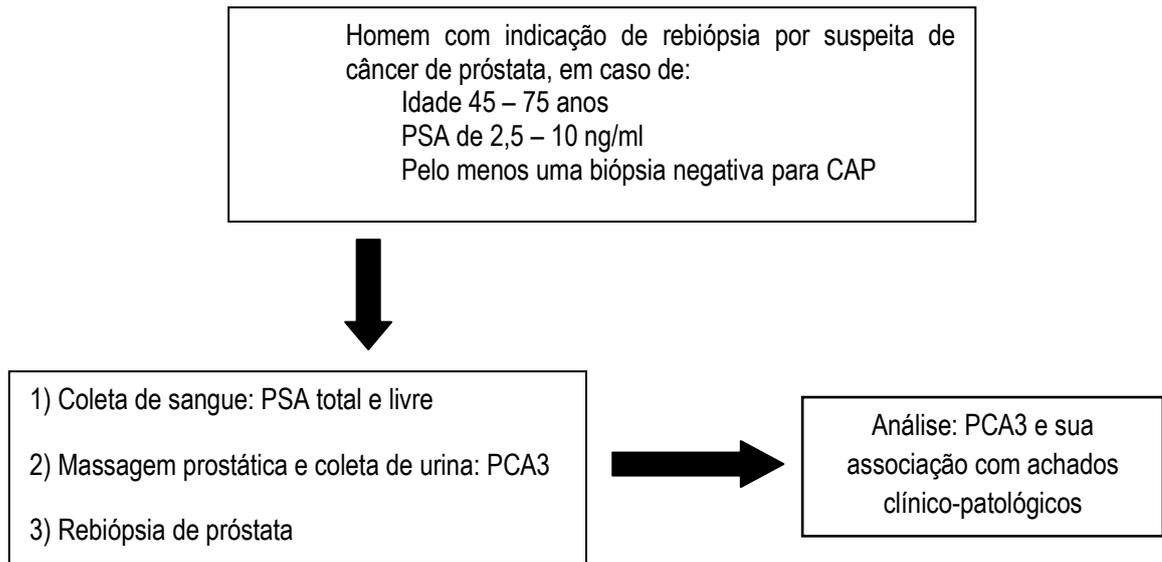


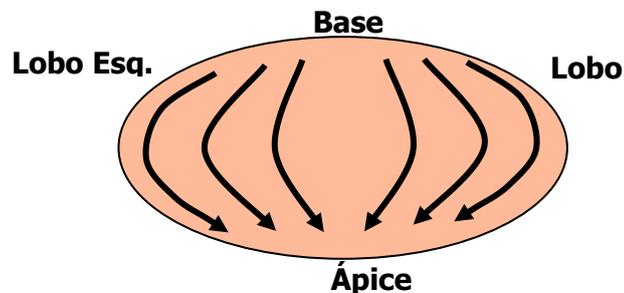
Figura 1 - Diagrama do estudo

3.7 Análise bioquímica

Foram coletadas amostras de sangue para análise do PSA total e livre pela técnica de eletroquimioluminescência. Da mesma amostra sérica realizaram-se exames de hemograma e coagulograma (tempo de tromboplastina parcial ativado e tempo de protrombina) como parte do protocolo do serviço para realização de biópsias de próstata. Os exames foram todos realizados no Laboratório de Análises Clínicas do HCB.

3.8 Coleta de urina de primeiro jato e análise do PCA3

Momentos antes da realização da rebiópsia de próstata, realizou-se a massagem prostática nos pacientes conforme ilustrado abaixo na figura 2.



Fonte: Gen-Probe³¹

Figura 2 -Método de massagem prostática.

A massagem prostática foi realizada através de uma pressão firme a partir da base em direção ao ápice da próstata e a partir da lateral para a linha média de cada lobo prostático, levando a leve compressão da superfície prostática. Cada lobo foi massageado 3 vezes consecutivas. A seguir foi solicitado aos homens que urinassem em um frasco coletor estéril com coleta da urina do primeiro jato.

Após a coleta de 20 - 30 ml de urina de primeiro jato, separou-se 2,3 ml no frasco de transporte e armazenamento próprio do kit PROGENSA PCA3[®] seguido de sua imediata refrigeração à temperaturas inferiores a - 20 °C e estocagem no Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular (CPOM) do HCB. Esse frasco de transporte e armazenamento contém uma solução tampão que promove a lise celular e estabiliza o mRNA. De acordo com as recomendações do fabricante, o armazenamento em temperaturas entre - 35 °C e - 15 °C permite a estocagem das amostras por até 11 meses. A urina excedente foi encaminhada para o Setor de Patologia do HCB para realização de citologia urinária, centrifugação e armazenamento no biobanco local com a anuência do Comitê de Ética em Pesquisa.

Os espécimes de urina foram enviados refrigerados para os Laboratórios da Hologic em San Diego, Califórnia, Estados Unidos, aonde foram analisados (Petrea Hodge).

3.9 Princípios do ensaio PROGENSA PCA3[®]

O ensaio PROGENSA PCA3[®] é constituído por dois testes quantitativos de amplificação de ácido nucléico. O ensaio combina as tecnologias de captura de alvo (TC, *Target Capture*), amplificação mediada pela transcrição (TMA, *Transcription Mediated Amplification*) e ensaio de proteção de hibridização (HPA, *Hybridization Protection Assay*) para, respectivamente, otimizar o processamento do espécime de urina, amplificar o mRNA alvo e detectar o *amplicon*.

No ensaio PROGENSA PCA3[®] as moléculas do mRNA alvo são isoladas dos espécimes de urina por captura de alvo. Oligonucleotídeos complementares às sequências de regiões específicas são hibridizados aos alvos no espécime de urina. Um oligonucleotídeo de captura separado é usado para cada alvo (PCA3 e PSA). O alvo hibridizado é, então, capturado por micro partículas magnéticas e submetido à lavagem para a remoção de debris celulares no tubo de reação. Os passos de separação magnética e lavagem são realizados com um sistema de captura de alvo (TCS - *Target Capture System*).

Em seguida, o híbrido é amplificado através da TMA, um método de amplificação de ácido nucléico baseado em transcrição reversa pelo uso de duas enzimas, a transcriptase reversa do vírus da leucemia murínica de Moloney (MMLV) e a RNA polimerase T7. A transcriptase reversa é utilizada para gerar uma cópia de ácido desoxirribonucleico (DNA) contendo uma sequência de ativação para a RNA polimerase T7 da sequência alvo. A RNA polimerase T7 produz múltiplas cópias do *amplicon de RNA* a partir do modelo da cópia do DNA.

Após a amplificação, sondas específicas (*probes*) e complementares de fita simples marcadas com acridinium ester, uma molécula quimioluminescente, são adicionadas às amostras promovendo a hibridização aos *amplicons* específicos. Por fim, um reagente de seleção faz a diferenciação entre *probes* hibridizadas e não hibridizadas e o sinal de quimioluminescência produzido pela *probe* hibridizada é medido em um luminômetro, sendo então registrado como unidade de luz relativa.

Com o objetivo de normalizar o sinal do PCA3, medidas de mRNA do PSA são feitas para confirmar que o rendimento de RNA específico da próstata é suficiente para gerar um resultado válido. Além disso, a mensuração do mRNA do PSA diminui a variação que pode existir na quantidade de células prostáticas liberadas na urina.

Calibradores contendo quantidades conhecidas de transcripto RNA de PCA3 ou de PSA são incluídos em cada corrida do teste e usados para gerar uma curva padrão. Os controles PCA3 e PSA são também incluídos para verificar a acurácia dos resultados extrapolados a partir da curva padrão. Os mRNAs de PCA3 e PSA são quantificados em tubos separados e o PCA3 *score* é calculado através da relação de cópias de mRNA do PCA3 e de mRNA do PSA multiplicado por 1000³¹.

3.10 Rebiópsia de próstata

Profilaxia antimicrobiana com ciprofloxacino foi iniciada na véspera da biópsia de próstata e continuada até sete dias. Após a realização do EDR para massagem de próstata e coleta da urina de primeiro jato para a análise do PCA3 os pacientes realizaram um *fleet* enema para esvaziamento da ampola retal e foram encaminhados para a rebiópsia de próstata guiada por aparelho de ultrassom (US) com transdutor transretal. De acordo com o desejo do paciente e/ou indicações clínicas os exames foram feitos de duas formas: 1) sem sedação com bloqueio anestésico local com xylocaína 2% ou 2) com sedação na presença do

médico anestesista com o uso de propofol na dose de 0,5 mg a 1 mg/kg intravenoso, administrado durante 1 a 5 minutos com dose de manutenção da sedação entre 1,5 mg a 4,5 mg/kg. Adicionalmente 10 mg a 20 mg, administrados por infusão, se fosse necessária uma sedação complementar. Biópsias de próstata de 16 ou mais fragmentos (até 24) foram realizadas em conformidade com o protocolo do departamento de radiologia do HCB. Biópsias sextantes com 12 fragmentos foram retirados da zona periférica prostática e adicionalmente outros 4 fragmentos foram retirados da zona centro-transicional. Cores adicionais eram retirados dos homens com achados de nódulos hipocogênicos ao US ou pela indicação de áreas suspeitas pela ressonância magnética multiparamétrica realizada previamente. Os espécimes de próstata extraídos foram encaminhados em frascos devidamente identificados e separados. Após a biópsia os homens permaneciam no setor de radiologia em observação até completa recuperação e em seguida eram liberados para casa. Eles recebiam orientação para os sintomas de sangramento persistentes e sintomas infecciosos. Consulta médica de retorno e com o pesquisador principal eram agendadas em 15 dias após a biópsia para relatar os achados.

3.11 Análise anatomopatológica

Os espécimes de próstata foram analisados pela mesma médica uro-patologista do departamento de patologia do HCB (Mariana Morini). Os achados histológicos considerados relevantes foram: (1) adenocarcinoma acinar usual, (2) neoplasia intra-epitelial (PIN) de alto grau, (3) proliferação atípica de pequenos ácinos (ASAP), (4) prostatite crônica ou (5) prostatite crônica agudizada. Todos os demais achados benignos foram classificados como (6) tecido prostático sem particularidades histológicas. Os achados de adenocarcinoma acinar usual foram classificados de acordo com a classificação de Gleason e o laudo patológico feito baseado no consenso da *International Society of Urological Pathology* (ISUP) de 2005. Os achados de ASAP foram enviados para estudo imunohistoquímico para a confirmação diagnóstica da existência ou não de carcinoma. Foram utilizados os marcadores p63, 34βE-12 e racemase (P504-S).

3.12 Análises estatísticas

A determinação do tamanho amostral se deu por conveniência. Foi feita uma análise descritiva dos dados (média, desvio padrão, mínimo, máximo e quartis) para as variáveis quantitativas e tabelas de frequência para as variáveis qualitativas.

Foi feita a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) do PCA3 e identificou-se o *cutoff* de melhor acurácia. A partir desse, o PCA3 foi analisado em duas categorias: (1) negativo, quando o PCA3 *score* foi menor que o *cutoff* e (2) positivo, quando o PCA3 *score* foi maior ou igual ao *cutoff* de melhor acurácia. Assim, foi verificada a incidência de CAP entre os grupos e posteriormente comparadas através do teste de qui-quadrado (ou teste exato de Fisher) ou teste de Mann-Whitney. Foram calculados a sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e a acurácia (A) do PCA3 e das demais variáveis com relevância estatística.

Posteriormente, foi feita a verificação da associação do PCA3 com as variáveis clínicas e sócio-demográficos de acordo com o achado de CAP nas rebiópsias.

As variáveis clínicas e o PCA3 *score* foram analisadas em modelos de regressão logística univariada e múltiplas.

Foi criado um modelo com variáveis clínicas de indicação de rebiópsias e analisados em combinação com o PCA3 *score* para avaliar se houve benefício (aumento da AUC) com uso dessa última ferramenta na indicação de rebiópsias.

Foi adotado o *software* SPSS 21.0 (*Statistical Package for Social Sciences*) para a análise estatística. Para o cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia foi utilizado o *software* Medcalc. As medidas de velocidade de PSA e tempo de duplicação de PSA foram calculadas através do site <https://www.mskcc.org/nomograms/prostate/psa-doubling-time>. As análises estatísticas foram realizadas com nível de 5% de significância.

4. RESULTADOS

4.1 Índice informativo do teste PROGENSA PCA3®

Dos 177 homens selecionados para o estudo, 33 desistiram de participar ou foram excluídos (15 homens foram excluídos por uso de finasterida, 5 desistiram de participar, 1 homem não conseguiu colher urina após massagem prostática, 1 foi excluído por ter infartado pouco antes da biópsia de próstata, 1 homem foi excluído por achado de tumor de cólon em uma ressonância magnética e 10 homens foram excluídos pois não tiveram volume de urina suficiente para a análise do PCA3 por razões técnicas). Todos os espécimes de urina analisados com volume adequado produziram um resultado válido o que nos dá um índice informativo do teste de 100%. Ao todo, 144 homens tiveram um PCA3 *score*, coletaram PSA e realizaram rebiópsia de próstata, sendo, portanto, incluídos na análise.

4.2 Características clínicas e sócio-demográficas

Os dados sócio-demográficos dos pacientes se encontram na tabela 1.

Tabela 1 - Dados sócio-demográficos.

Variável	Categoria	n	(%)
Cor	Branco	104	(72,2)
	Não-brancos	40	(27,8)
Estado Civil	Solteiro	9	(6,3)
	Casado/União Estável	117	(81,2)
	Divorciado/Separado	13	(9,0)
	Viúvo	5	(3,5)
Escolaridade	Analfabeto	19	(13,2)
	Sabe Ler e Escreve	12	(8,3)
	Ensino Fundamental Incompleto	89	(61,8)
	Ensino Fundamental Completo	6	(4,2)
	Ensino Médio Incompleto	2	(1,4)
	Ensino Médio Completo	10	(6,9)
	Ensino Superior	6	(4,2)

Continua na próxima página...

Tabela 1 (continuação) - Dados sócio-demográficos.

Variável	Categoria	n	%
Região de Origem	Sudeste	91	(63,2)
	Centro-oeste	52	(36,1)
	Norte	1	(0,7)

Os homens eram na maioria da cor branca (72,2%), casados ou de união estável (81,2%) com ensino fundamental incompleto (61,8%) e oriundos de 3 das 5 regiões do Brasil (Sudeste, Norte e Centro-oeste). A idade média dos pacientes foi de $65 \pm 6,27$ anos (mediana - 65,09; 1º quartil - 60,15; 3º quartil - 70,28).

Os antecedentes clínicos e patológicos estão sumarizados na tabela 2.

Tabela 2 - Antecedentes clínicos e patológicos.

Variável		n	(%)
Histórico familiar de câncer de próstata	Sim	35	(24,3)
	Não	109	(75,7)
Sintomas de obstrução do trato urinário baixo (LUTS)	Sim	97	(67,4)
	Não	47	(32,6)
História prévia de infecção do trato urinário (ITU)	Sim	47	(32,6)
	Não	97	(67,4)
Número prévio de biópsias realizadas	1	117	(81,2)
	2	26	(18,1)
	3	1	(0,7)
Ocorrência prévia de proliferação atípica de pequenos ácinos (ASAP)	Sim	9	(6,2)
	Não	135	(93,8)
Ocorrência prévia de neoplasia intra-epitelial (PIN) de alto Grau	Sim	9	(6,2)
	Não	135	(93,8)

Trinta e cinco homens (24,3%) relataram antecedente familiar de CAP. Noventa e sete (67,4%) homens relataram sintomas do trato urinário baixo (LUTS). Referiram antecedente de infecções do trato urinário 47 (32,6%) homens. A grande maioria dos pacientes, 143 (99,3%) já havia realizado uma ou duas biópsias prévias e apenas 1 (0,7%) homem já havia realizado 3 biópsias. A ocorrência prévia de ASAP e de PIN de alto grau foi de 9 pacientes (6,2%), respectivamente. Dezoito homens (12,5%) apresentaram EDR suspeito para neoplasia.

Os valores de PSA total, relação de PSA livre/total, volume prostático ao US transretal, densidade de PSA, velocidade de PSA, número de fragmentos retirados na rebiópsia, tempo de duplicação do PSA e PCA3 score são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Achados clínicos e radiológicos.

Variável	Média	Desvio padrão	Mínimo	1º quartil	Mediana	3º quartil	Máximo
PSAt (ng/ml)	6,20	2,12	2,53	4,60	5,92	7,84	10,00
Rel. PSA l/t (%)	0,18	0,07	0,04	0,13	0,17	0,21	0,42
Vol (cm ³) ⁺	68,24	29,43	13,00	46,00	64,00	85,00	149,00
PSAd (ng/ml/cm ³) ⁺	0,11	0,06	0,02	0,07	0,09	0,13	0,42
PSAv (ng/ml/ano) [†]	0,93	1,01	0,03	0,38	0,64	1,20	7,62
Número de fragmentos retirados na rebiópsia	16,50	1,51	16	16	16	16	24
PSAdt (meses) [†]	139,83	237,65	1,70	30,10	70,50	102,60	1362,40
PCA3 score	37	51	2	9	23	47	405

PSAt - PSA total; Rel. PSA l/t - relação PSA livre/total; Vol - volume prostático ao ultrassom transretal; PSAd - densidade de PSA; PSAv - velocidade de PSA; PSAdt - tempo de duplicação do PSA.

(⁺) um valor ignorado excluído da análise

([†]) 52 valores ignorados excluídos da análise

4.3 PCA3 score e sua associação com a idade e com o volume prostático.

Quando associamos o PCA3 score através do teste de Mann-Whitney com a idade (categorizada em < 65 anos e \geq 65 anos) encontramos não haver diferença entre os grupos ($p=0,666$) conforme mostra a figura 3.

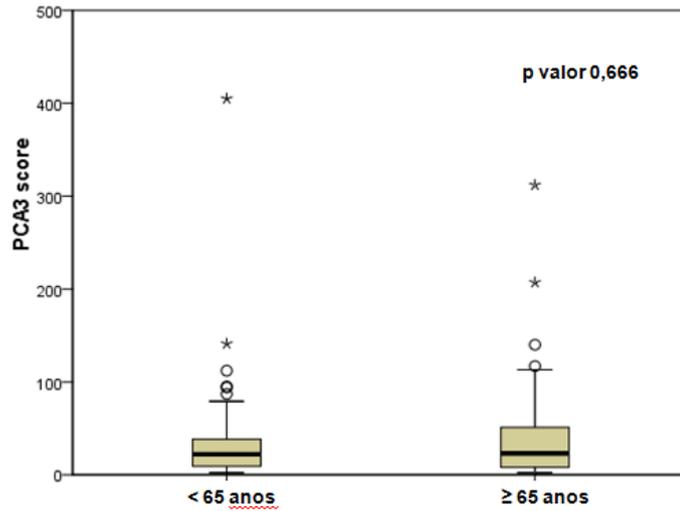


Figura 3. Correlação do PCA3 score com a idade.

Quando verificamos a associação entre o PCA3 score com o volume prostático (categorizado em < 30 cm³, entre 30 e 59 cm³ e \geq 60 cm³) através do teste de Kruskal-Wallis, não encontramos diferença estatística do PCA3 score entre os grupos ($p=0,130$), conforme a figura 4.

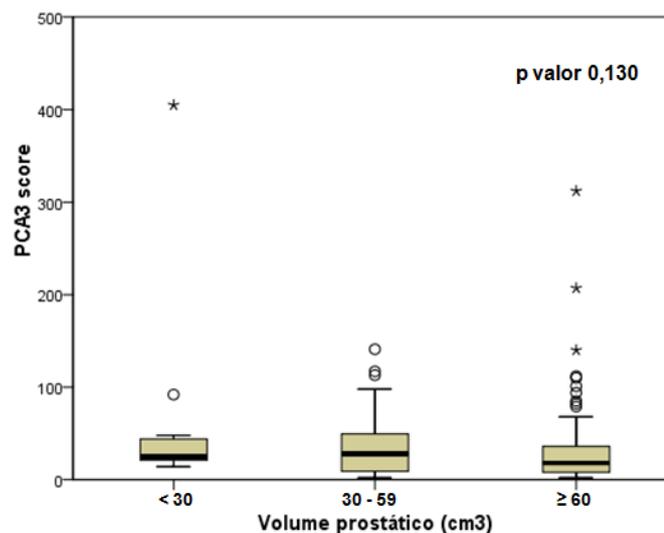


Figura 4. Correlação do PCA3 score com o volume prostático ao ultrassom transretal.

4.4 Achados patológicos e performance do teste PROGENSA PCA3®.

A incidência de CAP na rebiópsia foi de 21 em 144 homens (14,6%). Os demais achados da rebiópsia estão sumarizados na tabela 4. Os tumores encontrados na rebiópsia tiveram classificação de Gleason total de 6 e 7 não sendo diagnosticados tumores de alto risco (Gleason 8 - 10) de acordo com a estratificação de risco de D'Amico³⁴.

Tabela 4 - Resultados da rebiópsia de próstata (*Gold standart*).

Resultado da rebiópsia	n	(%)
CAP Gleason 6	18	(12,5)
CAP Gleason 7	3	(2,1)
PIN de alto grau	3	(2,1)
ASAP	3	(2,1)
Prostatite crônica ou crônica agudizada	49	(34,0)
Tecido prostático sem alterações patológicas	68	(47,2)

ASAP - Proliferação atípica de pequenos ácinos
PIN - Neoplasia intra-epitelial

Homens com antecedente de ASAP ou PIN de alto grau não tiveram taxas de detecção de CAP maiores que os pacientes que não apresentaram esse achado, conforme a tabela 5.

Tabela 5 - Associação de ASAP e PIN de alto grau em biópsias prévias com o resultado da rebiópsia.

Variável	Categoria	Rebiópsia positiva para CAP		Rebiópsia negativa para CAP		p valor
		n	(%)	n	(%)	
Ocorrência prévia de ASAP	Sim	3	(33,3)	6	(66,7)	0,100
	Não	18	(13,3)	117	(86,7)	
Ocorrência prévia de PIN de alto grau	Sim	0	(0,0)	9	(100)	0,200
	Não	21	(15,5)	114	(84,5)	

Teste de qui-quadrado

ASAP - Proliferação atípica de pequenos ácinos; PIN - Neoplasia intra-epitelial

Também não houve diferença estatística entre o grupo com rebiópsia positiva do grupo com rebiópsia negativa quanto ao antecedente familiar positivo de CAP ($p=0,297$) bem como do EDR suspeito pelo teste de qui-quadrado ($p=0,655$).

O EDR suspeito apresentou sensibilidade de 19,05%, especificidade de 87%, valor preditivo positivo de 20%, valor preditivo negativo de 86,29% e acurácia de 77,08%.

No teste de Mann-Whitney, os homens com rebiópsia positiva tiveram valores de PCA3 *score* significativamente maiores que os homens com rebiópsia negativa ($p=0,004$). Além disso, homens com rebiópsia positiva tiveram valores de densidade de PSA significativamente maiores que os homens com rebiópsia negativa ($p=0,045$). Não houve diferença nos valores de PSA total, livre, da relação entre PSA livre/total, velocidade de PSA e do tempo de duplicação do PSA entre os grupos conforme mostra a tabela 6.

Tabela 6 - Associação de achados clínicos e do teste PCA3 com o resultado da rebiópsia.

Variável	Rebiópsia positiva para CAP	Rebiópsia negativa para CAP	P valor
PSA total (ng/ml)	6,13 [5,20-6,40]	5,77 [4,39-7,98]	0,483
PSA livre (ng/ml)	0,81 [0,65-1,21]	0,97 [0,72-1,38]	0,293
Relação PSA livre/total (%)	0,15 [0,11-0,20]	0,18 [0,13-0,21]	0,128
Velocidade do PSA (ng/ml/ano)†	0,86 [0,47-1,53]	0,62 [0,32-1,13]	0,267
Tempo de duplicação do PSA (meses)†	35,90 [20,80-74,50]	66,00 [27,60-102,60]	0,208
Densidade de PSA (ng/ml/cm ³)†	0,12 [0,08-0,22]	0,09 [0,07-0,13]	0,045*
PCA3 score	39 [24-64]	18 [8-38]	0,004*

Teste Mann-Whitney - mediana [1º Quartil - 3º Quartil]

(*) significância estatística

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

Não houve diferença na detecção de CAP entre as rebiópsias que retiraram 16 fragmentos quando comparado àquelas que retiraram mais de 16 fragmentos ($p=0,240$) conforme a tabela 7.

Tabela 7 - Detecção de câncer de próstata entre as rebiópsias que retiraram 16 fragmentos comparado às que retiraram mais de 16 fragmentos.

Resultado	16 fragmentos		> 16 fragmentos		p valor
	n	(%)	n	(%)	
Rebiópsia positiva	16	(76,1)	5	(23,9)	0,240
Rebiópsia negativa	106	(86,1)	17	(13,9)	

Teste de qui-quadrado

Não houve diferença estatística quanto ao PCA3 score e quanto a densidade de PSA entre os grupos que retiraram 16 fragmentos na rebiópsia quando comparados ao grupo que retirou mais de 16 fragmentos, pelo teste de Mann-Whitney, conforme tabela 8.

Tabela 8 - Associação do PCA3 *score* e da densidade de PSA quanto ao número de fragmentos retirados na rebiópsia.

Variável	16 fragmentos	> 16 fragmentos	p valor
PCA3 <i>score</i>	23 [9-45]	18 [8-61]	0,790
PSAd [†]	0,12 [0,08-0,22]	0,10 [0,07-0,14]	0,654

Teste Mann-Whitney: mediana [1º Quartil - 3º Quartil]

PSAd - Densidade de PSA

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

Não houve diferença entre os valores do PCA3 *score* entre os homens com CAP classificação de Gleason total 6 quando comparados aos com CAP classificação de Gleason total 7 (p=0,481) conforme a tabela 9.

Tabela 9 - Associação entre o PCA3 *score* e a classificação de Gleason nas rebiópsias positivas.

	CAP Gleason 6	CAP Gleason 7	p valor
PCA3 <i>score</i>	34 [21-64]	60 [28-64]	0,481

Teste Mann-Whitney: mediana [1º Quartil - 3º Quartil]

CAP - câncer de próstata

Não foi possível verificar a associação do PCA3 *score* com os achados de ASAP e PIN de alto grau nas rebiópsias devido ao pequeno número de casos encontrados (3 homens com ASAP e 3 homens com PIN de alto grau).

A curva ROC do PCA3 *score* se encontra na figura 5. De acordo com a curva, o ponto de corte de maior acurácia corresponde ao *score* 25. A área sobre a curva (AUC) do PCA3 *score* foi de 0,69 (95% IC: 0,59 - 0,80).

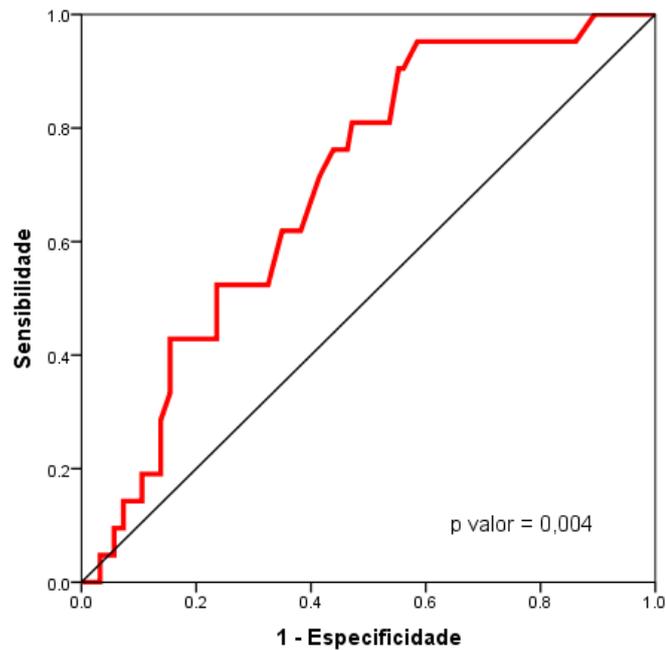


Figura 5. Curva ROC do PCA3 score

Adotando-se o ponto de corte de 25 para o PCA3 score (PCA3 score < 25 - considerados negativos e PCA3 score \geq 25 - considerados positivos), encontramos diferença estatística ($p = 0,011$) na frequência de homens com rebiópsia positiva no grupo com PCA3 score \geq 25. O inverso também foi verificado, com uma maior frequência de homens com rebiópsia negativa no grupo com PCA3 score menor que 25, conforme a tabela 10.

Tabela 10 - Frequência de CAP na rebiópsia utilizando o PCA3 score com ponto de corte de 25.

PCA3 score	Rebiópsia positiva		Rebiópsia negativa		Total	p valor
	n	(%)	n	(%)		
≥ 25	15	(22,7)	51	(77,3)	66	0,011*
< 25	6	(7,7)	72	(92,3)	78	

Teste de qui-quadrado

(*) Significância estatística

Os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia do PCA3 score estão descritos na tabela 11.

Tabela 11 - Performance do teste PROGENSA PCA3® utilizando-se o ponto de corte de 25.

	(%)	95% IC
Sensibilidade	(71,43)	47,82% - 88,72%
Especificidade	(58,54)	49,31% - 67,35%
Valor Preditivo Positivo	(22,73)	13,31% - 34,70%
Valor Preditivo Negativo	(92,31)	84,01% - 97,12%
Acurácia	(60,41)	-----

A curva ROC da densidade do PSA se encontra representada na figura 6. O ponto de corte de maior acurácia foi o de 0,11 ng/ml/cm³. A AUC da densidade do PSA foi de 0,64 (0,49 - 0,78).

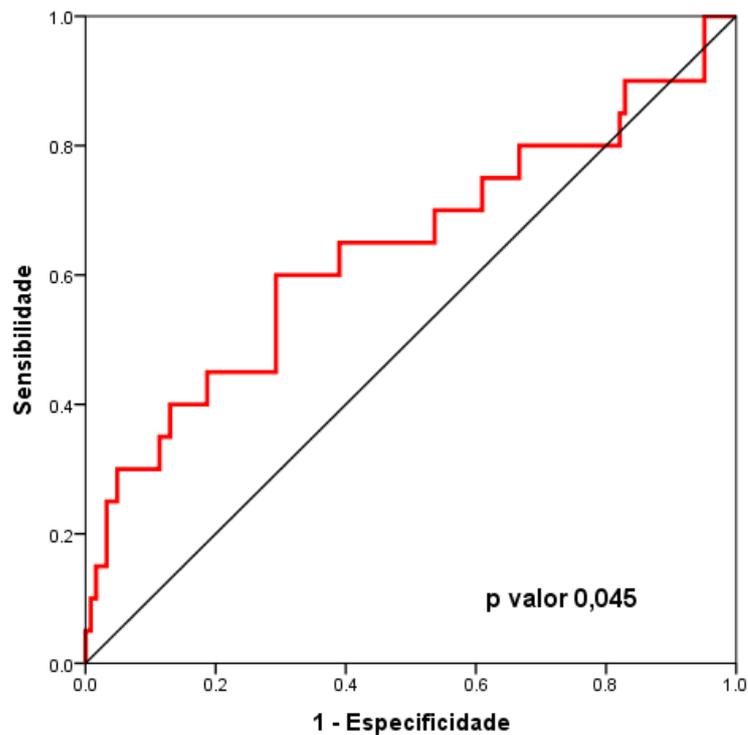


Figura 6. Curva ROC da densidade de PSA

Utilizando-se o ponto de corte de 0,11 ng/ml/cm³ para a densidade de PSA foram calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia, descritos na tabela 12.

Tabela 12 - Performance da densidade do PSA com o ponto de corte de 0,11 ng/ml/cm³.

	(%)	95% IC
Sensibilidade	(60,00)	36,05% - 80,88%
Especificidade	(70,73)	61,85% - 78,59%
Valor Preditivo Positivo	(25,00)	13,64% - 39,60%
Valor Preditivo Negativo	(91,58)	84,08% - 96,29%
Acurácia	(69,23)	-----

Não houve segmentação das curvas ROC para as variáveis, PSA total, relação de PSA livre/total e velocidade de PSA conforme a tabela 13.

Tabela 13 - Resultados das análises das curvas ROC das variáveis clínicas e do PCA3 score.

Variável	AUC	95% IC	p valor
PSA total	0,548	0,438 - 0,658	0,483
Rel. PSAI/t	0,393	0,259 - 0,527	0,128
PSAv†	0,590	0,440 - 0,741	0,267
PSAd†	0,640	0,490 - 0,789	0,045*
PCA3 score	0,696	0,590 - 0,803	0,004*

Rel. PSAI/t - Relação de PSA livre/total; PSAv - velocidade de PSA; PSAd - densidade de PSA; IC: Intervalo de confiança

(*) significância estatística

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

4.5 PCA3 score e sua associação com a positividade da rebiópsia.

Quando se categorizou o PCA3 em três grupos (PCA3 score < 10, PCA3 score 10-24 e PCA3 score ≥ 25) verificamos que quanto maior o valor do PCA3 score, maior a positividade das rebiópsias para CAP, conforme mostra a figura 7.

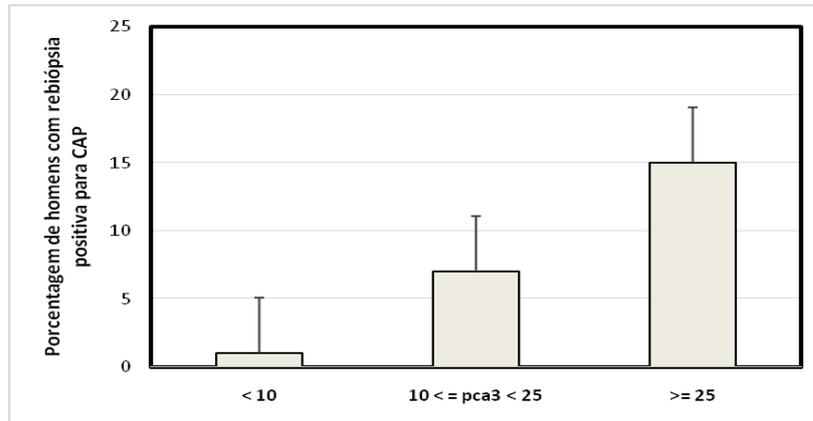


Figura 7. Porcentagem de detecção de CAP na rebiópsia quanto ao PCA3 score categorizados.

4.6 Regressão logística univariada.

Fixando-se como resposta a **ausência** de CAP na rebiópsia, foram verificados os *odds ratio* das variáveis clínicas conforme a tabela 14.

Tabela 14 - Modelo de regressão logística univariada das variáveis clínicas e do PCA3 score para a ocorrência de uma rebiópsia **negativa** para CAP.

Variável	OR (95% IC)	p valor
Idade (contínua)	0,958 (0,889 - 1,033)	0,266
Antecedente familiar positivo de CAP (não & sim)	1,696 (0,624 - 4,613)	0,300
Toque retal suspeito (não & sim)	1,574 (0,470 - 5,273)	0,462
Raça (não-brancos & brancos)	0,571 (0,217 - 1,505)	0,257
Número de biópsias prévias (1 & mais de 2)	0,688 (0,187 - 2,525)	0,572
PSA total (contínua)	0,955 (0,769 - 1,187)	0,679
Relação PSA livre/total (contínua)	1,064 (0,994 - 1,140)	0,074
PSAdt (contínua)†	1,001 (0,998 - 1,004)	0,562
PCA3 score (< 25 & ≥ 25)	3,529 (1,282 - 9,714)	0,015*
Densidade de PSA (< 0,11 & ≥ 0,11)†	3,625 (1,367 - 9,613)	0,010*

(*) significância estatística

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

Tanto o PCA3 *score* quanto a densidade de PSA tiveram significância estatística. Isso indica que homens com densidade de PSA < 0,11 tem 3,625 vezes a razão de chance de apresentar uma rebiópsia negativa do que homens com densidade de PSA ≥ 0,11 (p = 0,010). Da mesma forma, homens com PCA3 *score* < 25 tem 3,529 vezes a razão de chance de apresentar uma biópsia negativa do que homens com PCA3 *score* ≥ 25 (p = 0,015). As demais variáveis não tiveram associação estatística significativa.

4.7 Regressão logística múltipla

Fixando-se como resposta a **ausência** de câncer de próstata na rebiópsia, foi testado um modelo de regressão logística múltipla ajustado para todas as variáveis clínicas, mesmo as que não tenham dado significância estatística no modelo univariado. Os resultados se encontram na tabela 15.

Tabela 15 - Modelo de regressão logística múltipla ajustado para as variáveis clínicas e PCA3 para a ocorrência de uma rebiópsia **negativa** para CAP.

Variável	OR (95% IC)	p valor
Idade (contínua)	0,931 (0,847 - 1,023)	0,135
Antecedente familiar positivo de CAP (não & sim)	2,720 (0,830 - 8,955)	0,098
Toque retal suspeito (não & sim)	1,323 (0,300 - 5,840)	0,711
Raça (não-brancos & brancos)	0,991 (0,305 - 3,215)	0,988
Número de biópsias prévias (1 & mais de 2)	0,739 (0,175 - 3,117)	0,681
PSA total (contínua)	1,122 (0,835 - 1,509)	0,445
Relação PSA livre/total (contínua)	1,062 (0,968 - 1,165)	0,201
PCA3 <i>score</i> (< 25 & ≥ 25)	3,150 (1,036 - 9,579)	0,043*
Densidade de PSA (< 0,11 & ≥ 0,11)†	4,659 (1,331 - 16,311)	0,016*

(*) significância estatística

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

A análise multivariada mostra que tanto a densidade de PSA (p = 0,016) quanto o PCA3 *score* (p = 0,043) são preditores independentes do resultado das rebiópsias e que esse poder não foi atenuado frente a outras variáveis clínicas. Nenhuma outra variável atingiu

significância estatística. Houve uma tendência de homens com antecedente familiar negativo de CAP apresentar uma rebiópsia negativa ($p=0,098$).

4.8 Benefício do uso do PCA3 score e da densidade de PSA.

Foram criadas curvas ROC dos modelos com variáveis clínicas (PSA total, relação de PSA livre/total, velocidade de PSA, EDR suspeito, antecedente familiar positivo de CAP, idade, raça e número de biópsias prévias realizadas) sozinho ou em combinação com PCA3 score e/ou a densidade de PSA, conforme a figura 8.

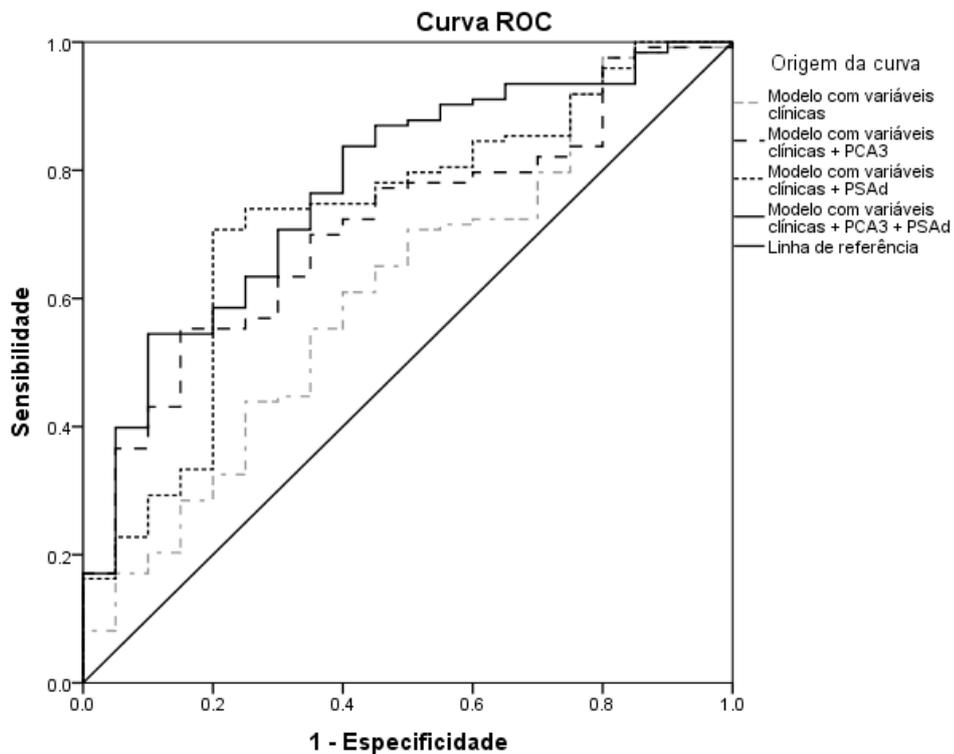


Figura 8. Curvas ROC combinando variáveis clínicas com o PCA3 score e/ou com a densidade de PSA.

A tabela 16 mostra os resultados das respectivas AUC dos 4 modelos testados.

Tabela 16 - Resultado das curvas ROC do modelo com variáveis clínicas isolado ou associado com o PCA3 e/ou com a densidade de PSA.

Variáveis†	AUC	95% IC	p valor
Modelo com variáveis clínicas	0,615	0,480 - 0,749	0,101
Modelo com variáveis clínicas + PCA3	0,712	0,603 - 0,820	0,002*
Modelo com variáveis clínicas + PSAd	0,726	0,605 - 0,846	0,001*
Modelo com variáveis clínicas + PCA3 + PSAd	0,774	0,667 - 0,880	< 0,001*

AUC - Área sobre a curva; IC - intervalo de confiança; PSAd - densidade de PSA

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

(*) significância estatística

O modelo com variáveis clínicas associados ao PCA3 e a densidade de PSA foi o que apresentou a maior AUC, de 0,774 ($p < 0,001$). Ainda, incorporando-se cada uma dessas variáveis isoladamente ao modelo com variáveis clínicas, a AUC foi de 0,712 ($p = 0,002$) para a associação com o PCA3 e de 0,726 ($p = 0,001$) para a associação com a densidade de PSA, todas com significância estatística.

Através do teste de Hanley & McNeil, foi feita uma comparação emparelhada das curvas ROC conforme a tabela 17. Houve aumento significativo na diferença das AUC do modelo com variáveis clínicas incluindo o PCA3 e a densidade de PSA em relação ao modelo com variáveis clínicas isoladas ($p = 0,023$).

Tabela 17 - Comparação emparelhada das curvas ROC.

Comparação†	Diferença entre as		
	AUC	z estatístico	p valor
MVC versus MVC + PCA3	0,097	1,774	0,076
MVC versus MVC + PSAd	0,111	1,682	0,093
MVC + PCA3 versus MVC + PSAd	0,013	0,210	0,833
MVC + PCA3 versus MVC + PCA3 + PSAd	0,061	1,288	0,198
MVC + PSAd versus MVC + PCA3 + PSAd	0,048	1,373	0,170
MVC versus MVC + PCA3 + PSAd	0,159	2,267	0,023*

Teste de Henley & McNeil

AUC - área sobre a curva; MVC - Modelo com variáveis clínicas; PSAd - densidade de PSA

(†) valores ignorados foram excluídos da análise

(*) significância estatística

4.9 Número de rebiópsias desnecessárias

A tabela 18 mostra a frequência de ocorrências de CAP na rebiópsia categorizadas de acordo com o PCA3 score (< 25 ou ≥ 25) e com a PSAd ($< 0,11$ ou $\geq 0,11$).

Tabela 18 - Frequência de ocorrência de CAP na rebiópsia por PCA3 score e densidade de PSA categorizados.

Categorias	Rebiópsia positiva	Rebiópsia negativa
	n (%)	n (%)
PCA3 ≥ 25 e PSAd⁺ $\geq 0,11$	9 (37,5)	15 (62,5)
PCA3 ≥ 25 e PSAd⁺ $< 0,11$	5 (12,2)	36 (87,8)
PCA3 < 25 e PSAd⁺ $\geq 0,11$	3 (12,5)	21 (87,5)
PCA3 < 25 e PSAd⁺ $< 0,11$	3 (5,5)	51 (94,5)

(*) Um caso com valor ignorado foi excluído da análise

PCA3 - Gene 3 do câncer de próstata

PSAd - densidade de PSA

Conforme a tabela 18, utilizando-se o PCA3 score < 25 , 78 homens deixariam de ser rebiopsiados. Desses, 72 evitariam rebiópsias desnecessárias. Deixaríamos de diagnosticar

CAP em 6 homens, todos eles com classificação de Gleason 6 e estadiamento clínico I. Portanto, teríamos evitado corretamente 50% de rebiópsias com 4,2% de casos que seriam perdidos com tumores de próstata de baixo risco.

Ainda de acordo com a tabela acima, se incorporarmos a densidade de PSA nesse subgrupo de pacientes (PSAd < 0,11), 54 homens deixariam de ser rebiópsiados à custa de 3 casos de CAP (Gleason 6) que seriam perdidos o que nos dá uma taxa de 35,7% de rebiópsias realmente desnecessárias com 2,1% de casos de tumores de baixo risco que seriam perdidos.

Todos os 3 casos de CAP classificação de Gleason 7 tiveram PCA3 *score* maior que 25 (28, 60 e 64 respectivamente) e todos tiveram densidade de PSA \geq 0,11 (0,32, 0,16 e 0,14 respectivamente).

5. DISCUSSÃO

O PSA e o EDR têm baixo custo e ampla disponibilidade sendo por isso, as principais ferramentas utilizadas no rastreamento de homens suspeitos para CAP. Entretanto, eles têm muitas limitações e possuem baixa acurácia na detecção do CAP. Nos pacientes com uma biópsia de próstata prévia negativa, quando existe suspeita de CAP por PSA persistentemente elevado ou pelas suas variações (relação PSA livre/total, velocidade de PSA, tempo de duplicação de PSA e densidade de PSA) essas ferramentas perdem ainda mais seu valor resultando em um número maior de rebiópsias desnecessárias^{9, 35}. No presente estudo, 144 homens realizaram a segunda, terceira ou quarta rebiópsias, com taxa global de detecção de CAP de 14,6% (21 homens). Faria *et al*, em um estudo brasileiro de rastreamento com mais de 17.500 homens, encontrou 15,3% de CAP detectados na segunda, terceira ou quarta biópsias⁸. Isso corrobora a baixa acurácia de detecção de CAP com base no uso do PSA, de suas derivações e do EDR nesse grupo específico de pacientes, com biópsias prévias negativas.

A razão da estratificação do PSA entre 2,5 - 10 ng/ml nesse estudo é devido ao fato desse intervalo conhecido como "zona cinzenta" do PSA abranger o maior número de indivíduos com biópsias evitáveis, ou seja, é o intervalo de PSA onde há mais equívocos no diagnóstico de CAP nas biópsias. As taxas de detecção de CAP de acordo com o PSA são menores que 2% para homens com PSA < 2,5 ng/ml e acima de 60 - 80% para indivíduos com PSA > 10 ng/ml^{36, 37}.

O PCA3 foi extensamente estudado quanto a sua maior expressão genética em tecidos tumorais prostáticos em detrimentos de outros tecidos prostáticos (hiperplasia prostática, tecido prostático não tumoral, prostatite crônica e agudizada) e não prostáticos (pulmão, mama e fígado)^{20, 22, 23}. Entretanto os estudos em tecido prostáticos dificultam sua aceitação na prática clínica, pois demandam biópsias.

Buscando melhorar esse cenário, foram estudadas no passado 3 gerações de testes de detecção do mRNA do PCA3 na urina dos homens após um EDR. O primeiro teste, foi um teste quantitativo de reação em cadeia da polimerase com a enzima transcriptase reversa (qRT-PCR) com a detecção do mRNA no sedimento urinário²³. A segunda geração foi do teste chamada NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*) também detectado no sedimento urinário^{38, 39}. Mais recentemente, o teste ProgenSA PCA3[®] permitiu através da

amplificação mediada por transcrição a difusão do método pela sua facilidade de análise. É um teste comercializado nos Estados Unidos e Europa, acessível, semi-automatizado, que otimiza a detecção do mRNA do PCA3 na urina de primeiro jato após um EDR.

Os estudos iniciais com PCA3 mostram índices informativos do teste que variaram de 79 - 92%³⁸⁻⁴⁰. Estudos mais recentes com o uso do teste ProgenSA PCA3[®] mostraram taxas de 98,7 - 100%^{41, 42}. Nosso estudo obteve um índice informativo do teste de 100% o que confirma a eficácia técnica do teste em gerar um resultado válido.

O PCA3 tem sido pesquisado como ferramenta de diagnóstico e de aconselhamento em alguns cenários clínicos. Ploussard *et al* estudaram o PCA3 como preditor de volume tumoral e CAP dito significativo (classificação de Gleason > 6, PSA > 10 ng/ml e doença de estadió clínico T2b - T4) em peças de prostatectomia radical. Eles encontraram em um modelo de regressão logística múltipla um risco relativo de 12,74 vezes de um homem com PCA3 score ≥ 25 apresentar CAP significativo do que homens com PCA3 score menor que 25 ($p = 0,003$). Encontraram também um risco relativo de 5,37 vezes de um homem com PCA3 ≥ 25 apresentar um volume tumoral acima de 0,5 cm³ ($p = 0,010$). Com base nesses achados os autores propuseram o uso do PCA3 como ferramenta de aconselhamento de homens que realizam vigilância ativa para CAP⁴³. Da mesma maneira, Nakanishi *et al*, sugeriram o PCA3 como ferramenta de aconselhamento de homens em vigilância ativa com base em seus resultados de análise de espécimes de prostatectomia radical com correlação significativa do PCA3 com CAP significativo ($p = 0,007$) e de CAP gleason > 7 ($p = 0,005$)⁴⁴. Whitman *et al*⁴⁵ não encontraram correlação do PCA3 com o escore de Gleason. Entretanto, o PCA3 foi fator preditivo independente de extensão tumoral extra-capsular. No presente estudo não foi possível verificar a associação do PCA3 com o escore de Gleason pois 18 homens (85,7%) foram diagnosticados com CAP gleason 6 e 3 homens (14,3%) com CAP gleason 7. Não houve nenhum caso de gleason 8, 9 ou 10. O teste de Mann-Whitney não mostrou diferença estatística do PCA3 entre os grupos com CAP Gleason 6 e CAP Gleason 7 ($p = 0,481$).

No entanto, o cenário clínico em que o PCA3 se mostra mais útil é no aconselhamento de rebiópsias em homens com PSA persistentemente elevado. A tabela 19 resume a performance do PCA3 nos principais estudos feitos em homens com biópsia prévia negativa em diferentes populações.

Tabela 19 - Performance do PCA3 nos principais estudos de homens com biópsias prévias negativas.

Autor	População	n	Cutoff	AUC	S	E	VPP	VPN	Acu
Tinzl³⁸ (2004)	Áustria	42	35	0,87	75%	ND	ND	ND	ND
Fradet³⁹ (2004)	Canadá (multicêntrico)	91	35	0,86	74%	87%	74%	87%	ND
Haese²⁷ (2008)	Europa (multicêntrico)	463	35	0,66	47%	72%	39%	78%	65%
Deras²⁹ (2008)	EUA (multicêntrico)	303	35	0,69	54	74	ND	ND	ND
Ramos⁴⁶ (2012)	Chile	15	35	0,77	52%	87%	72%	74%	ND
Ochiai⁴⁷ (2013)	Japão	158	35	0,74	66,5%	71,6%	58,1%	78,3%	69,7%
Gittelman⁴¹ (2013)	EUA (multicêntrico)	466	25	0,71	77,5%	57,1%	33,6%	90%	ND
Santos* (2015)	Brasil	144	25	0,69	71,5%	58,6%	22,7%	92,3%	60,4%

AUC - área sobre a curva; S - sensibilidade; E - especificidade; VPP - valor preditivo positivo; VPN - valor preditivo negativo; Acu - Acurária; ND - Não disponível

(*) Dados não publicados

Apesar da variabilidade genética que pode existir entre as populações, o PCA3 apresentou no nosso estudo resultados comparáveis aos principais estudos já realizados. De acordo com a tabela 19, os resultados de AUC, sensibilidade, especificidade, VPP e VPN do PCA3 do nosso grupo amostral de 144 homens brasileiros foi muito próximo aos resultados do estudo multicêntrico de Gittelman *et al*⁴¹ com uma população de 466 homens oriundos de diversas regiões geográficas dos Estados Unidos e, portanto, representativa da população americana.

Yong *et al*⁴⁸ através de revisão sistemática da literatura e meta análise de 24 estudos, encontraram sensibilidade agrupada de 59,4% (95% IC: 46,9 - 82,3%) e especificidade agrupada de 72,3% (95% IC: 55 - 92%). O valor preditivo positivo variou de 39 - 86%. O melhor resultado foi em relação ao valor preditivo negativo que em todos os estudos foi acima de 60% (61 - 89,7%). A AUC agrupada foi de 0,77 o que caracteriza o PCA3 como um teste diagnóstico bem aceitável. A razão de verossimilhança negativa agrupada foi de 0,508 o que significa que com o uso do PCA3, mais da metade das biópsias podem ser evitadas. A razão de verossimilhança positiva agrupada foi de 2,388, o que significa que um homem com PCA3 positivo tem aproximadamente, duas vezes e meia mais chance de apresentar uma biópsia com CAP do que um homem com PCA3 negativo. Além disso o *odds ratio* diagnóstico foi de 4,89 (95% IC 3,94 - 6,06). Entretanto, é importante se ressaltar que os 24 estudos incluídos nessa meta análise eram heterogêneos em relação aos critérios de inclusão dos homens (o PCA3 foi analisado tanto como ferramenta inicial de diagnóstico quanto em homens submetidos a rebiópsias), heterogêneos quanto a técnica do PCA3 (3 gerações de testes mencionadas acima), quanto a blindagem dos autores em relação aos resultados e quanto a informações sobre os casos perdidos.

O que o PCA3 traz de mais relevante é o seu elevado valor preditivo negativo, muito útil quando se quer evitar biópsias desnecessárias. No nosso estudo, encontramos um valor preditivo negativo de 92,3%, o que significa uma proporção imensa de homens verdadeiros negativos entre a soma de verdadeiros negativos com falso negativos, sendo pois, uma ótima ferramenta para o aconselhamento de rebiópsias. Além disso, encontramos um OR de 3,150 vezes de um homem com PCA3 < 25 apresentar uma biópsia negativa do que um homem com PCA3 > 25 independente da influência de outras variáveis clínicas.

Da mesma forma que foi descrito em outros artigos, nosso estudo não mostrou influência da idade e nem do volume prostático no valores do PCA3 *score*^{27, 29, 41}, sendo essa mais uma vantagem em relação ao PSA no diagnóstico de CAP.

Não foi possível verificar a associação dos achados de PIN de alto grau e de ASAP na rebiópsia com o PCA3 *score* devido à ocorrência de apenas 3 casos, respectivamente. Entretanto, Haese *et al* e Deras *et al* em 2008, demonstraram médias de PCA3 *score* significativamente maiores nos homens com esses achados do que em homens com achados patológicos benignos^{27, 29}.

A ocorrência de ASAP em uma biópsia leva a um risco entre 35 - 55% de detecção de CAP em rebiópsias futuras³³. Apesar de não ter havido significância estatística ($p = 0,100$) encontramos 33,3% de ocorrências de CAP em homens com biópsia prévia com achado de ASAP. Isso pode ser justificado pelo pequeno número amostral. Nenhum homem com PIN de alto grau progridiu apresentou CAP na rebiópsia.

Nosso estudo mostrou não haver diferença estatística ($p = 0,240$) na detecção de CAP na rebiópsia quando se retirou 16 fragmentos ou mais (até 24). Da mesma maneira não houve diferença estatística entre os valores de PCA3 e de densidade de PSA nos dois grupos.

No presente estudo, o ponto de corte de melhor acurácia do PCA3 score foi o de 25, coincidente com os estudos mais recentes que recomendam a utilização desse ponto de corte na prática clínica pois é o melhor ponto de corte que se evita biópsias desnecessárias ao mesmo tempo em que ocorre uma taxa segura de casos de CAP significantes que serão deixados de diagnosticar ("*missing*"). Haese *et al* encontraram 67% de biópsias desnecessárias utilizando-se o *cutoff* de 35 com 6% de casos de CAP perdidos. Com o *cutoff* de 25 houve 44% de biópsias desnecessárias com 3% de casos de CAP deixados de diagnosticar²⁷. Pepe *et al* encontraram 22,9% de biópsias desnecessárias com 9,4% de casos perdidos com o *cutoff* de 20 versus 38,1% de biópsias desnecessárias com 28% de casos perdidos com o uso do *cutoff* de 35⁴⁹. Pode-se concluir desses estudos que o *cutoff* de 35 é o que oferece as maiores taxas de biópsias desnecessárias, entretanto, quando se baixa o *cutoff* para 25, perdemos um pouco na taxas de biópsias desnecessárias mas reduzimos pelo menos na metade o número de casos perdidos, o que é altamente recomendado para um exames de aconselhamento. No presente estudo, com o *cutoff* de 25, tivemos taxa de 50% de biópsias desnecessárias com 4,2% de casos com CAP que seriam perdidos, sendo todos eles de CAP de baixo risco (Gleason 6 e estadio clínico T1c).

Dentre todas as variáveis clínicas estudadas (PSA total, livre, relação de PSA livre/total, velocidade de PSA, densidade de PSA, tempo de duplicação do PSA, EDR) e analisadas em associação com o PCA3, a densidade de PSA foi a que apresentou melhor desempenho. A AUC da densidade de PSA foi de 0,640 ($p=0,045$) e o ponto de corte de melhor acurácia foi o de 0,11 ng/ml/cm³. Wu *et al* em 2012, baseados em análise multivariada, criaram um modelo de probabilidade de CAP nas rebiópsias aonde o PCA3 e a densidade de PSA (*cutoff* de 0,15 ng/ml/cm³) foram as variáveis que mais contribuíram com incremento do risco de CAP. Eles ainda descreveram um modelo baseado em análise multivariada contendo PSA

total, EDR, PCA3, densidade de PSA e achados de USG transretal com o sendo o que apresentou maior área sobre a curva (AUC: 0,82)⁵⁰. Assim como o PCA3, a densidade de PSA mostrou-se nesse estudo como variável preditiva independente do resultado da rebiópsia no modelo de regressão logística multivariado. Incorporando a densidade de PSA < 0,11 ao PCA3 *score* < 25, teríamos ainda uma taxa bem razoável de biópsias desnecessárias de 35,7% com apenas 2,1% de casos que seriam perdidos.

No nosso modelo de regressão logística univariada, o PCA3 apresentou um OR de 3,529 ($p=0,015$) vezes a chance de um homem apresentar uma rebiópsias negativa com PCA3 < 25 do que em homens com PCA3 ≥ 25 . Na análise multivariada, o OR foi de 3,150 ($p=0,043$) indicando que o PCA3 foi uma variável preditora independente do resultado de rebiópsias. Nossos achados vão de encontro com os achados de Gittelman *et al* que encontraram OR de 4,58 (95% IC: 2,75 - 7,62) na análise univariada e de 4,56 (95% IC: 2,65 - 7,83) na análise multivariada com p valor < 0,0001⁴¹.

No braço placebo do REDUCE, um estudo feito para se estudar a quimioprevenção de CAP pela dutasterida, 1140 homens forneceram amostras de urina para o PCA3 e realizaram biópsias no ano 2 e no ano 4. Os resultados do PCA3 com *cutoff* de 35 foram similares aos estudos prévios realizados com sensibilidade de 48% e especificidade de 79% e com AUC melhor que a do PSA (0,693 vs 0,612) com p valor de 0,008. Entretanto, um achado notável desse estudo foi o de que o PCA3 *score* da biópsia do ano 2 foi preditivo do resultado da biópsia do ano 4 com AUC de 0,632 ($p = 0,0002$). Esses dados sugerem que os casos de CAP perdidos na biópsia do ano 2 com suposto resultado falso positivo do PCA3, foram de fato detectados pelo PCA3 e só vistos como positivos na biópsia do ano 4⁵¹⁻⁵³.

Estudos mais recentes vem combinando o uso de marcadores moleculares para melhorar o diagnóstico e o prognóstico do CAP. O PCA3 tem sido estudado em conjunto com a fusão dos genes TMPRSS2-ERG ou T2-ERG com resultados promissores de diagnóstico e prognóstico do CAP⁵⁴⁻⁵⁶. Além disso, a evolução nos exames de imagem tais como a da ressonância nuclear magnética multiparamétrica de próstata associadas ao PCA3 podem no futuro ajudar ainda mais no aconselhamento desses homens⁵⁷.

Nosso estudo possui como limitações o número amostral. A maioria das publicações com maior amostragem são multicêntricas. Com um número amostral maior, além dos resultados encontrados, talvez fosse possível verificar alguma associação entre o PCA3 com a classificação de Gleason ou com a ocorrência de ASAP ou PIN de alto grau.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou que o PCA3 tem boa utilidade no aconselhamento de homens com PSA persistentemente elevado, especificamente na população de homens com biópsias prévias negativas, podendo evitar 50% de rebiópsias desnecessárias com o *cutoff* 25. Dentre as ferramentas clínicas comumente utilizadas na indicação de biópsias de próstata, a densidade de PSA foi a única que se apresentou como variável independente do resultado da rebiópsia e somada ao PCA3 pode diminuir a ocorrência de casos perdidos. Não encontramos associação do PCA3 com os achados histológicos de ASAP, PIN de alto grau e classificação de Gleason. Diferente do que ocorre com o PSA, o PCA3 não sofreu alteração com a idade dos homens e nem com o volume da próstata.

REFERÊNCIAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. *Cancer statistics, 2015*. **CA Cancer J Clin**. 2015;65(1):5-29.
2. IARC. *GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidency, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. [Internet] 2012; Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
3. Silva INdCJAGd. *Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil*. **Rio de Janeiro**2014.
4. 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 < or =4.0 ng per milliliter*. **N Engl J Med**. 2004;350(22):2239-46.
5. Moyer VA. *Screening for prostate cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement*. **Ann Intern Med**. 2012;157(2):120-34.
6. Etzioni R, Gulati R, Falcon S, Penson DF. *Impact of PSA screening on the incidence of advanced stage prostate cancer in the United States: a surveillance modeling approach*. **Med Decis Making**. 2008;28(3):323-31.
7. Schroder FH, van der Maas P, Beemsterboer P, Kruger AB, Hoedemaeker R, Rietbergen J, et al. *Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer. Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer*. **J Natl Cancer Inst**. 1998;90(23):1817-23.
8. Faria EF, Carvalhal GF, Vieira RA, Silva TB, Mauad EC, Carvalho AL. *Program for prostate cancer screening using a mobile unit: results from Brazil*. **Urology**. 2010;76(5):1052-7.
9. Djavan B, Ravery V, Zlotta A, Dobronski P, Dobrovits M, Fakhari M, et al. *Prospective evaluation of prostate cancer detected on biopsies 1, 2, 3 and 4: when should we stop?* **J Urol**. 2001;166(5):1679-83.
10. Keetch DW, Catalona WJ, Smith DS. *Serial prostatic biopsies in men with persistently elevated serum prostate specific antigen values*. **J Urol**. 1994;151(6):1571-4.
11. Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, Ward AM, Patnick J, Price CP, et al. *Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis*. **Eur Urol**. 2005;48(3):386-99; discussion 98-9.

12. Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, Ahmann FR, Ratliff TL, Dalkin BL, et al. *Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves.* **J Urol.** 1994;152(6 Pt 1):2031-6.
13. Grubb RL, 3rd, Pinsky PF, Greenlee RT, Izmirlian G, Miller AB, Hickey TP, et al. *Prostate cancer screening in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian cancer screening trial: update on findings from the initial four rounds of screening in a randomized trial.* **BJU Int.** 2008;102(11):1524-30.
14. Castello-Porcar A, Garcia-Morata F, Martinez-Jabaloyas JM. *Prostate cancer detection rate at second and third biopsy. Predictive factors and risk groups for cancer diagnosis.* **Arch Esp Urol.** 2014;67(7):605-14.
15. Roehl KA, Antenor JA, Catalona WJ. *Serial biopsy results in prostate cancer screening study.* **J Urol.** 2002;167(6):2435-9.
16. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. *Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate.* **J Urol.** 1989;142(1):71-4; discussion 4-5.
17. Terris MK, McNeal JE, Stamey TA. *Detection of clinically significant prostate cancer by transrectal ultrasound-guided systematic biopsies.* **J Urol.** 1992;148(3):829-32.
18. Durkan GC, Sheikh N, Johnson P, Hildreth AJ, Greene DR. *Improving prostate cancer detection with an extended-core transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy protocol.* **BJU Int.** 2002;89(1):33-9.
19. . *Diretrizes em Uro-oncologia 2005.* In: 2005. 10/01/2010. III:175-88.
20. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, et al. *DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer.* **Cancer Res.** 1999;59(23):5975-9.
21. Mattick JS, Makunin IV. *Non-coding RNA.* **Hum Mol Genet.** 2006;15 Spec No 1:R17-29.
22. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW, Hessels D, Kiemeny LA, Aalders TW, et al. *DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors.* **Cancer Res.** 2002;62(9):2695-8.

23. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B, et al. *DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer*. **Eur Urol**. 2003;44(1):8-15; discussion -6.
24. Landers KA, Burger MJ, Tebay MA, Purdie DM, Scells B, Samaratunga H, et al. *Use of multiple biomarkers for a molecular diagnosis of prostate cancer*. **Int J Cancer**. 2005;114(6):950-6.
25. Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, Blase A, Bodrug S, Clark C, et al. *APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer*. **Clin Chem**. 2006;52(6):1089-95.
26. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, et al. *PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy*. **Urology**. 2007;69(3):532-5.
27. Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, et al. *Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy*. **Eur Urol**. 2008;54(5):1081-8.
28. Tombal B, Ameye F, de la Taille A, de Reijke T, Gontero P, Haese A, et al. *Biopsy and treatment decisions in the initial management of prostate cancer and the role of PCA3; a systematic analysis of expert opinion*. **World J Urol**. 2012;30(2):251-6.
29. Deras IL, Aubin SM, Blase A, Day JR, Koo S, Partin AW, et al. *PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome*. **J Urol**. 2008;179(4):1587-92.
30. Sartori DA, Chan DW. *Biomarkers in prostate cancer: what's new?* **Curr Opin Oncol**. 2014;26(3):259-64.
31. Gen-Probe. *PROGENSA PCA3 ASSAY Training Manual*. **San Diego: Gen-Probe**; 2011. 77 p.
32. Carter HB, Morrell CH, Pearson JD, Brant LJ, Plato CC, Metter EJ, et al. *Estimation of prostatic growth using serial prostate-specific antigen measurements in men with and without prostate disease*. **Cancer Res**. 1992;52(12):3323-8.
33. Scattoni V, Raber M, Capitanio U, Abdollah F, Roscigno M, Angiolilli D, et al. *The optimal rebiopsy prostatic scheme depends on patient clinical characteristics: results of a recursive partitioning analysis based on a 24-core systematic scheme*. **Eur Urol**. 2011;60(4):834-41.

34. D'Amico A, Altschuler M, Whittington R, Kao G, Malkowicz SB, Wein A. *The use of clinical parameters in an interactive statistical package to predict pathological features associated with local failure after radical prostatectomy for prostate cancer.* **Clin Perform Qual Health Care.** 1993;1(4):219-22.
35. Djavan B, Zlotta A, Remzi M, Ghawidel K, Basharkhah A, Schulman CC, et al. *Optimal predictors of prostate cancer on repeat prostate biopsy: a prospective study of 1,051 men.* **J Urol.** 2000;163(4):1144-8; discussion 8-9.
36. Catalona WJ, Smith DS. *5-year tumor recurrence rates after anatomical radical retropubic prostatectomy for prostate cancer.* **J Urol.** 1994;152(5 Pt 2):1837-42.
37. Catalona WJ, Hudson MA, Scardino PT, Richie JP, Ahmann FR, Flanigan RC, et al. *Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves.* **J Urol.** 1994;152(6 Pt 1):2037-42.
38. Tinzi M, Marberger M, Horvath S, Chypre C. *DD3PCA3 RNA analysis in urine--a new perspective for detecting prostate cancer.* **Eur Urol.** 2004;46(2):182-6; discussion 7.
39. Fradet Y, Saad F, Aprikian A, Dessureault J, Elhilali M, Trudel C, et al. *uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer.* **Urology.** 2004;64(2):311-5; discussion 5-6.
40. van Gils MP, Hessels D, van Hooij O, Jannink SA, Peelen WP, Hanssen SL, et al. *The time-resolved fluorescence-based PCA3 test on urinary sediments after digital rectal examination; a Dutch multicenter validation of the diagnostic performance.* **Clin Cancer Res.** 2007;13(3):939-43.
41. Gittelman MC, Hertzman B, Bailen J, Williams T, Koziol I, Henderson RJ, et al. *PCA3 molecular urine test as a predictor of repeat prostate biopsy outcome in men with previous negative biopsies: a prospective multicenter clinical study.* **J Urol.** 2013;190(1):64-9.
42. van Gils MP, Cornel EB, Hessels D, Peelen WP, Witjes JA, Mulders PF, et al. *Molecular PCA3 diagnostics on prostatic fluid.* **Prostate.** 2007;67(8):881-7.
43. Ploussard G, Durand X, Xylinas E, Moutereau S, Radulescu C, Forgue A, et al. *Prostate cancer antigen 3 score accurately predicts tumour volume and might help in selecting prostate cancer patients for active surveillance.* **Eur Urol.** 2011;59(3):422-9.
44. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, et al. *PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance.* **J Urol.** 2008;179(5):1804-9; discussion 9-10.

45. Whitman EJ, Groskopf J, Ali A, Chen Y, Blase A, Furusato B, et al. *PCA3 score before radical prostatectomy predicts extracapsular extension and tumor volume.* **J Urol.** 2008;180(5):1975-8; discussion 8-9.
46. Ramos CG, Valdevenito R, Vergara I, Anabalon P, Sanchez C, Fulla J. *PCA3 sensitivity and specificity for prostate cancer detection in patients with abnormal PSA and/or suspicious digital rectal examination. First Latin American experience.* **Urol Oncol.** 2013;31(8):1522-6.
47. Ochiai A, Okihara K, Kamoi K, Oikawa T, Shimazui T, Murayama S, et al. *Clinical utility of the prostate cancer gene 3 (PCA3) urine assay in Japanese men undergoing prostate biopsy.* **BJU Int.** 2013;111(6):928-33.
48. Yong L. *Prostate cancer antigen 3 test for prostate biopsy decision: a systematic review and meta analysis.* **Chinese Medical Journal.** 2014;127(9):1768-74.
49. Pepe P, Fraggetta F, Galia A, Skonieczny G, Aragona F. *PCA3 score and prostate cancer diagnosis at repeated saturation biopsy. Which cut-off: 20 or 35?* **Int Braz J Urol.** 2012;38(4):489-95.
50. Wu AK, Reese AC, Cooperberg MR, Sadetsky N, Shinohara K. *Utility of PCA3 in patients undergoing repeat biopsy for prostate cancer.* **Prostate Cancer Prostatic Dis.** 2012;15(1):100-5.
51. Andriole G, Bostwick D, Brawley O, Gomella L, Marberger M, Tindall D, et al. *Chemoprevention of prostate cancer in men at high risk: rationale and design of the reduction by dutasteride of prostate cancer events (REDUCE) trial.* **J Urol.** 2004;172(4 Pt 1):1314-7.
52. Aubin SM, Reid J, Sarno MJ, Blase A, Aussie J, Rittenhouse H, et al. *PCA3 molecular urine test for predicting repeat prostate biopsy outcome in populations at risk: validation in the placebo arm of the dutasteride REDUCE trial.* **J Urol.** 2010;184(5):1947-52.
53. Day JR, Jost M, Reynolds MA, Groskopf J, Rittenhouse H. *PCA3: from basic molecular science to the clinical lab.* **Cancer Lett.** 2011;301(1):1-6.
54. Salami SS, Schmidt F, Laxman B, Regan MM, Rickman DS, Scherr D, et al. *Combining urinary detection of TMPRSS2:ERG and PCA3 with serum PSA to predict diagnosis of prostate cancer.* **Urol Oncol.** 2013;31(5):566-71.
55. Cornu JN, Cancel-Tassin G, Egrot C, Gaffory C, Haab F, Cussenot O. *Urine TMPRSS2:ERG fusion transcript integrated with PCA3 score, genotyping, and biological features are correlated to the results of prostatic biopsies in men at risk of prostate cancer.* **Prostate.** 2013;73(3):242-9.

56. Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, Smit FP, de Jong H, Cornel EB, et al. *Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer.* **Eur Urol.** 2014;65(3):534-42.
57. Leyten GH, Wierenga EA, Sedelaar JP, van Oort IM, Futterer JJ, Barentsz JO, et al. *Value of PCA3 to predict biopsy outcome and its potential role in selecting patients for multiparametric MRI.* **Int J Mol Sci.** 2013;14(6):11347-55.

ANEXO A - Ficha de Coleta de Dados

Avaliação do teste para o gene 3 do câncer da próstata (pca3) como estratégia para melhorar a especificidade das biópsias em homens com suspeita deste tumor - P.I. Alexandre Cesar Santos			
DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS			
1	Identificação	1	
2	Nome	2	
3	Registro hospitalar	3	
4	Data de Nascimento	4	___/___/_____
5	Cor	5	
			1- Branco; 2- Pardo; 3- Negro
6	Estado civil	6	
			1- Solteiro; 2- Casado / União estável; 3- Divorciado / Separado; 4- Viúvo
7	Cidade	7	
			Descrever; 99- Ignorado
8	Estado	8	
			Descrever; 99- Ignorado
9	Escolaridade	9	
			0- Analfabeto; 1- Sabe ler e escrever; 2- Ensino fundamental incompleto; 3- Ensino fundamental completo; 4- Ensino médio incompleto; 5- Ensino médio completo; 6- Ensino superior incompleto; 7- Ensino superior completo
10	Anos estudados	10	
			Em anos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
11	Profissão	11	
			Descrever; 99- Ignorado
12	Filhos?	12	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
13	Se sim, quantos?	13	
			Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
14	Possui casa própria?	14	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
15	Quantas pessoas moram na casa?	15	
			Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
16	Renda familiar mensal?	16	
			Em R\$;99- Ignorado
HISTÓRIA PREGRESSA			
17	Histórico familiar de câncer de próstata	17	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
18	Histórico familiar de câncer de próstata – Pai	18	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
19	Histórico familiar de câncer de próstata – Irmãos	19	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
20	Sintomas do trato urinário sugestivos de Hiperplasia Prostática Benigna (STU/HPB)	20	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
21	História de prostatite	21	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
22	História de infecção no trato urinário (ITU)	22	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
23	Cirurgia de próstata (nos últimos 6 meses - RTV/PTV)	23	
			0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
24	Descrição da cirurgia de próstata	24	
			1- RTU; 2- PTV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
25	Data em que realizou o primeiro exame de próstata	25	___/___/_____
			DD/MM/AAAA
26	Total de fragmentos na primeira biópsia	26	
			Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
27	Resultado da primeira biópsia	27	
			0- Ausência de neoplasia; 1- Atrofia glandular; 2- Hiperplasia; 3- Prostatite cônica inespecífica; 4- PIN; 5- Asap
28	Total de fragmentos positivos primeira biópsia	28	
			Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
29	Data em que realizou o segundo exame de próstata	29	___/___/_____
			DD/MM/AAAA
30	Total de fragmentos segunda biópsia	30	
			Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
31	Resultado da segunda biópsia	31	
			0- Ausência de neoplasia; 1- Atrofia glandular; 2- Hiperplasia; 3- Prostatite cônica inespecífica; 4- PIN; 5- Asap

32	Total de fragmentos positivos segunda biopsia Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	32	
33	Data em que realizou o terceiro exame de próstata DD/MM/AAAA	33	___/___/_____
34	Total de fragmentos terceira biopsia Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	34	
35	Resultado da terceira biopsia 0- Ausência de neoplasia; 1- Atrofia glandular; 2- Hiperplasia; 3- Prostatite cônica inespecífica; 4- PIN; 5- Asap	35	
36	Total de fragmentos positivos terceira biopsia Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	36	
37	Número prévio de biópsias realizadas (antes da gold standard) Número; 99- Ignorado	37	
38	Ocorreu ASAP? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	38	
39	Qual Biopsia ocorre ASAP 1- Primeira; 2- Segunda; 3- Terceira; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	39	
40	Ocorreu PIN de Alto Grau? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	40	
41	Qual Biopsia ocorre PIN de Alto Grau 1- Primeira; 2- Segunda; 3- Terceira; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	41	
42	Data em que realizou o exame digital retal na seleção DD/MM/AAAA	42	___/___/_____
43	Data PSA pré - consulta DD/MM/AAAA	43	
44	PSA total pré - consulta ng/mL	44	
45	PSA livre pré – consulta ng/mL	45	
46	Tamanho da próstata ao EDR Em mm; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	46	
47	Característica da próstata 1- Fibro elástica sem nódulo; 2- Endurecida ápice D; 3- Endurecida ápice E; 4- Endurecida ápice base; 5- Fibro elástica com nódulo ápice D; 6- Fibro elástica com nódulo ápice E; 7- Nódulo ápice base; 8- Endurecida base D; 9- Endurecida base E; 10- Endurecido lobo D; 11- Endurecido lobo E; 12- Nódulo suspeito bilateral; 13- Consistência; 14- Comprometimento com lobo D e E sem nódulos; 15- Nódulo lobo D; 99- Ignorado	47	
48	Toque retal suspeito 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	48	
49	Data PSA anterior - 1 DD/MM/AAAA	49	___/___/_____
50	PSA total anterior – 1 ng/mL	50	
51	PSA livre anterior – 1 ng/mL	51	
52	Data PSA anterior – 2 DD/MM/AAAA	52	___/___/_____
53	PSA total anterior – 2 ng/mL	53	
54	PSA livre anterior – 2 ng/mL	54	
55	Data PSA anterior – 3 DD/MM/AAAA	55	___/___/_____
56	PSA total anterior – 3 ng/mL	56	
57	PSA livre anterior – 3 ng/mL	57	
58	Cinética de PSA Valor; 99- Ignorado	58	
MEDICAÇÕES			
59	Uso de Inibidor 5- α redutase (Finasterida, Dutasterida) 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	59	
60	Uso de α -bloqueador (Doxazosina, Tansulosina) 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	60	
61	Reposição de testosterona /esteróides 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	61	
62	Faz uso contínuo de medicação 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	62	
63	Doença Crônica: Hipertenso 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	63	
64	Doença Crônica: Diabético 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	64	
65	Outras medicações (AAS, Clopidogrel, Marevan, Enoxaparina) Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	65	

PSA NA COLETA				
66	Data da coleta de sangue para PSA	DD/MM/AAAA	66	___/___/____
67	PSA Total	ng/mL	67	
68	PSA Livre	ng/mL	68	
69	Relação PSA livre/total	Valor; 99- Ignorado	69	
EXAME DIGITAL RETAL NA COLETA				
70	Data do exame digital retal	DD/MM/AAAA	70	___/___/____
71	Exame digital retal realizado antes da coleta de urina PCA3	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	71	
72	Toque retal suspeito	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	72	
COLETA DE URINA				
73	Data de coleta da amostra de urina para calcular a pontuação do PCA3	DD/MM/AAAA	73	___/___/____
74	Volume de urina coletado	mL	74	
BIÓPSIA DA PRÓSTATA				
75	Data da biópsia	DD/MM/AAAA	75	___/___/____
76	Volume da próstata (USGTR/RNM)	CC; 99- Ignorado	76	
77	Número total de fragmentos	Valor; 99- Ignorado	77	
78	Número de fragmentos positivos	Valor; 99- Ignorado	78	
79	PIN de Alto grau	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	79	
80	Se sim, número de fragmentos com PIN de alto grau	Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	80	
81	ASAP/atípico (confirmado por IHQ)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	81	
82	Número de Fragmentos ASAP	Número; 88- Não se aplica	82	
83	Inflamação	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	83	
84	Se sim, característica da inflamação:	1- Aguda; 2- Crônica; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	84	
85	Escala Gleason - Primário (grau dominante)	Valor; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	85	
86	Escala Gleason - Secundário (grau não dominante)	Valor; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	86	
87	Escala Gleason - total	Valor; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	87	
88	Câncer positivo	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	88	
89	Estágio clínico	1- T1c; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4; 8 Sem Tumor	89	
90	Data coleta Citopatologia Urinária	DD/MM/AAAA	90	___/___/____
91	Diagnóstico citopatologia Urinária	Descrever	91	

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

“Avaliação do teste para o gene 3 do Câncer de Próstata (PCA3) como estratégia para melhorar a especificidade das biópsia em homens com suspeita deste tumor”

Pesquisador: Dr. Alexandre Cesar Santos

Hospital de Câncer de Barretos, Brasil

Identificação do participante

Número do prontuário médico

Você está sendo convidado a participar deste estudo que será realizado no Hospital de Câncer de Barretos - Fundação Pio XII.

Este Termo de Consentimento explica porque este estudo está sendo realizado e qual será a sua participação, caso você aceite o convite. Este documento também descreve os possíveis riscos e benefícios se você quiser participar. Após analisar as informações com a pessoa que explica este Termo de Consentimento, e esclarecer suas dúvidas, você deverá ter o conhecimento necessário para tomar uma decisão esclarecida sobre sua participação ou não neste estudo.

JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

Esse estudo quer melhorar o diagnóstico do Câncer de próstata em Homens que já fizeram uma biópsia no passado (Assim como o senhor). Sabe-se que entre 25-30% dos homens com primeira biópsia negativa (Sem Câncer) poderão apresentar Câncer de próstata em uma segunda biópsia.

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é avaliar a utilidade clínica do PCA3 e da Ressonância Nuclear Magnética Multiparamétrica de Próstata, para evitar biópsias desnecessárias em homens em que se suspeita de câncer de próstata devido aumento de PSA ou toque retal alterado.

O PCA3 é um exame feito na urina do paciente colhida depois de um exame de toque retal que ajuda muito no diagnóstico do Câncer de Próstata. Tem seu valor aumentado quando há Câncer. É melhor que o exame convencional (PSA) pois não se altera em casos de inflamação ou aumento benigno da próstata. Esse exame é muito usado nos Estados unidos e Europa e tem aprovação de uso no Brasil pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

A Ressonância Magnética é um exame Radiológico indolor em que você é colocado dentro de um aparelho em forma de túnel que produzirá "fotos" de dentro do seu corpo (Região da bacia e próstata) através de um computador. Esse exame permite achar sinais de Câncer na próstata.

PROCEDIMENTOS

O Senhor será avaliado em uma primeira consulta onde o médico e o enfermeiro farão uma entrevista com preenchimento de um questionário e o examinarão. Após a leitura desse termo o senhor será convidado a participar da Pesquisa. Nesse dia, será coletado 30ml de sangue por uma picada em um dos braços para os exames de sangue (PSA, Hemograma, Coagulograma, Uréia e Creatinina e armazenamento para pesquisas científicas no futuro). Na segunda vez em que vier ao Hospital, será realizada a massagem prostática, que significa um exame de toque retal para exame da próstata, além da coleta de 50 ml de urina depois que o senhor urinar. Ainda nesse dia será realizada a Ressonância Magnética de Pelve, exame que demora de 30 a 40 minutos. Na terceira vinda sua ao Hospital será realizada a biópsia de próstata guiada por ultrassom, exame esse já realizado previamente pelo senhor, em que através de um aparelho de ultrassom um médico treinado irá retirar 12 ou mais

pequenos pedaços de próstata que serão depois estudados para saber se há ou não Câncer. Na quarta vez, o senhor receberá o resultado de todos os exames.

RISCOS E DESCONFORTOS PARA OS PARTICIPANTES

A coleta de urina não implica em riscos. O exame de toque retal pode causar desconforto ou eventualmente dor. O examinador fará o exame da forma mais gentil possível para amenizar o desconforto e com o uso de pomada anestésica. A injeção para retirar o sangue pode levar a dor no local da picada e posterior formação de rouidão na pele com duração temporária (entre 2 a 3 semanas). A biópsia de próstata pode causar dor e desconforto no momento do exame, aparecimento de sangue na urina, sangue no sêmen, possibilidade de Infecção depois da biópsia e urina presa (impossibilidade de urinar). Todas essas complicações ocorrem em frequência pequena, tem curta duração e tratamento. Você poderá voltar ao Hospital a qualquer momento se estiver sentido qualquer um desses sintomas e todo o tratamento será feito gratuitamente nesse Hospital. Estão PROIBIDOS de realizar a biópsia de próstata pacientes que fazem uso contínuo de medicamentos anticoagulantes (Heparina, Varfarina) ou antiagregantes plaquetários (AAS, clopidogrel, ticlide) QUE NÃO PARARAM O USO ANTES DO PROCEDIMENTO. Ficam PROIBIDOS de realizar a Ressonância Magnética, pacientes que tenham Marcapasso Cardíaco, próteses metálicas ou mal-estar em lugares fechados. Em relação às complicações da Ressonância Magnética, o risco de alergia em função do uso do contraste é pequeno (menos que 2 em cada 100 pacientes), sendo a grande maioria das reações classificadas como leves, mas reações graves, incluindo óbito podem ocorrer muito raramente (1 paciente para cada 100.000 exames realizados). Os pacientes com maior risco para alergias são aqueles com reação prévia ao gadolínio (contraste), com asma brônquica e outras alergias medicamentosas. O exame tem duração entre 30 e 40 minutos sendo necessário ficar em repouso dentro do aparelho em forma de túnel o que pode levar a desconforto pelo local fechado. O exame é barulhento e um técnico conversará com você durante toda a realização do exame. Não recomendamos a realização da Ressonância para pacientes que tem medo de locais fechados tais como elevadores ou salas pequenas, pois o aparelho em forma de tubo pode levá-lo a sentir esses sintomas. Caso apresente esses sintomas, por favor, nos avise. Se houver proibição da realização da Ressonância o senhor poderá realizar o exame de PCA3 e a biópsia se for de seu desejo.

BENEFÍCIOS ESPERADOS

Esse estudo pode ajudá-lo a detectar um tumor de próstata que não foi detectado na primeira biópsia (risco de 25-30%) bem como possibilitar seu tratamento o mais rápido possível. Pode ainda afastar a suspeita da doença, o que pode evitar que o senhor precise no futuro de outras biópsias. Além do mais, as informações que ele gerar, poderão trazer benefícios a muitos outros pacientes como o Senhor.

PROCEDIMENTOS OU TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Não existe outro método de diagnóstico mais eficiente do que a biópsia de próstata na detecção do câncer de próstata (Melhor exame), sendo que o emprego da Ressonância Magnética ou do PCA3 isoladamente não trariam informações totalmente confiáveis. Se acaso o Senhor não desejar participar da pesquisa, será oferecido a biópsia de qualquer forma por ser o exame mais importante na suspeita persistente de câncer.

INTERRUPÇÃO DO ESTUDO

Este estudo poderá ser encerrado antes do prazo se houver dúvidas relativas a sua segurança ou por razões administrativas. Qualquer que seja o motivo, o estudo somente será interrompido depois da avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos que o aprovou, a não ser que existam razões de segurança que exijam a interrupção imediata do estudo.

LIBERDADE DE RECUSA

A sua participação neste estudo é voluntária e não é obrigatória. Você pode aceitar participar do estudo e depois desistir a qualquer momento. Isto não tirará nenhum direito do seu tratamento e assistência neste hospital. Você também poderá pedir a qualquer momento que as suas informações sejam excluídas completamente deste estudo e que elas não sejam usadas para mais nada.

GARANTIA DE SIGILO

O pesquisador tomará todas as medidas para manter suas informações pessoais (como nome, endereço e outras) em sigilo. Durante todo o estudo e mesmo depois que terminar, quando os resultados deste estudo forem publicados em revistas científicas ou

apresentados em congressos ou reuniões, a sua identidade será guardada em segredo, não sendo revelada qualquer informação a seu respeito que possa identificar você publicamente. Contudo, durante o estudo, algumas pessoas do Hospital de Câncer de Barretos envolvidas diretamente na pesquisa poderão ter acesso aos seus dados. Mesmo assim, os seus dados serão preservados e não serão divulgados publicamente.

CUSTOS, REMUNERAÇÃO E INDENIZAÇÃO

A participação neste estudo não terá custos para você. Os custos relacionados diretamente com o estudo serão pagos pelo Hospital de Câncer de Barretos. Também não haverá qualquer tipo de pagamento devido à sua participação (mesmo que haja patentes ou descobertas). Se você sofrer algum dano a sua saúde como resultado da sua participação nesse estudo nesta instituição, o Hospital de Câncer de Barretos será responsável por lhe dar todo o tratamento necessário e de forma gratuita. Ao assinar este Termo de Consentimento, você não perderá nenhum direito, inclusive o de obter indenização por dano a sua saúde se isto acontecer.

DESTINO DOS MATERIAIS BIOLÓGICOS

Os materiais biológicos, sangue, urina, fragmentos de biópsia de próstata e os dados obtidos durante o estudo não serão utilizados para outros fins além daqueles explicados neste Termo de Consentimento. As amostras não terão seus dados pessoais, apenas códigos de identificação, para manter o seu sigilo. Depois de todas as análises terem sido realizadas, o material biológico que restar será adequadamente armazenado no Hospital de Câncer de Barretos. Parte do sangue (10 ml) será armazenada no Centro de Estudos em Oncologia Molecular na forma de Biobanco. Se houver necessidade de fazer novas análises com seu material e/ou outras pesquisas, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB) avaliará esse novo uso. Sem a autorização deste comitê, novas pesquisas com o seu material não poderão ser realizadas. Apesar deste material biológico ficar guardado no Hospital de Câncer de Barretos, ele pertence a você. A qualquer momento, durante ou após este estudo, você poderá retirar este material do hospital ou pedir que seja destruído. Isto não tirará nenhum direito do seu tratamento neste hospital. Ao final deste termo você poderá decidir se autoriza o uso de seu material em pesquisas futuras

(aprovadas pelo CEP-HCB) ou se prefere ser avisado em cada situação em que seu material seja utilizado em novos estudos para que você autorize ou não este uso.

ESCLARECIMENTOS ADICIONAIS, CRÍTICAS, SUGESTÕES E RECLAMAÇÕES

Você poderá tirar qualquer dúvida sobre o estudo, fazer críticas, sugestões e reclamações diretamente com o pesquisador no Hospital de Câncer de Barretos, Dr. Alexandre Cesar Santos, no telefone (17) 3321-6600, (ramal 6989) ou com Enfermeiro Luciano Pereira da Silva (ramal 6905). Você também poderá entrar em contato com o coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB), Dr. Sérgio Serrano localizado na Rua Antenor Duarte Vilela, 1331 – telefone (17) 3321-6600, ramal 6894 – e-mail: cep@hcancerbarretos.com.br

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Entendi o estudo. Tive a oportunidade de ler o Termo de Consentimento ou alguém o leu para mim. Tive a oportunidade de pensar, fazer perguntas e falar a respeito do documento com outras pessoas quando precisei. Autorizo a minha inclusão neste estudo. Ao assinar este Termo de Consentimento, não renuncio a nenhum dos meus direitos legais. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

MANIFESTAÇÃO DE USO FUTURO DE MATERIAL BIOLÓGICO APÓS O TÉRMINO DA PESQUISA.

Após o término deste estudo, todo o material biológico retirado de você (sangue, urina e amostras de próstata) será armazenado no Hospital de Câncer de Barretos. No futuro, este material também poderá servir para outros estudos. Se isso ocorrer você poderá ou não autorizar o uso deste material novamente. Esta decisão é sua. Por favor, assinale uma das alternativas abaixo sobre o seu desejo em relação ao uso material biológico em outras pesquisas no futuro:

| | SIM, autorizo o uso de meu material biológico em novas pesquisas, que possam ser realizadas futuramente no Hospital de Câncer de Barretos, desde que sejam aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB).

| | NÃO autorizo o uso de meu material biológico em novas pesquisas que possam ser realizadas futuramente. Desejo ser informado em cada situação em que meu material será utilizado em novos estudos para que eu possa autorizar ou não este uso.

_____ Nome por extenso do participante da pesquisa ou do representante legal	_____ Data	_____ Assinatura
---	---------------	---------------------

_____ Nome por extenso do responsável que explicou e obteve o Termo de Consentimento	_____ Data	_____ Assinatura
--	---------------	---------------------

_____ Nome por extenso da testemunha imparcial (para casos de analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)	_____ Data	_____ Assinatura
---	---------------	---------------------

ANEXO C - Carta de Aprovação do CEP

**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Eliney Ferreira Faria

De: Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 03/10/2011

Projeto de Pesquisa: **524/2011**

Prezado (a) Senhor (a),

Vimos, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou as respostas às pendências do projeto de pesquisa **524/2011 “Avaliação do teste para o Gene 3 do Câncer da Próstata (PCA3) como estratégia para melhorar a especificidade das biópsias em homens com suspeita deste tumor”**, decidindo que o mesmo encontra-se: **“Aprovado”**.

Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP, relatórios semestrais e final, bem como possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo a fim de se fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

*Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos*

Rua Antenor Duarte Villela, 1331 – B. Dr. Paulo Prata – Barretos – SP CEP 14784-400 – CNPJ 49.150.352/0001-12

Tel. 17 33216600 R. 6894 – cep@hcancerbarretos.com.br