



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Ana Rita Peixoto Panazzolo

**Aplicação da espectroscopia vibracional em pacientes com câncer de
endométrio**

Florianópolis
2024

Ana Rita Peixoto Panazzolo

Aplicação da espectroscopia vibracional em pacientes com câncer de endométrio

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho, Dr.

Coorientador: Prof. Klester dos Santos Souza, Dr.

Florianópolis

2024

Peixoto Panazzolo, Ana Rita

Aplicação da espectroscopia vibracional em pacientes com câncer de endométrio / Ana Rita Peixoto Panazzolo ; orientador, Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho, coorientador, Klester dos Santos Souza, 2024.

89 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Médicas. 2. câncer de endométrio. 3. espectroscopia vibracional. 4. FTIR. 5. acurácia diagnóstica. I. Rodrigues de Oliveira Filho, Getúlio . II. dos Santos Souza, Klester . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. IV. Título.

Ana Rita Peixoto Panazzolo

Aplicação da espectroscopia vibracional em pacientes com câncer de endométrio

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 22 de agosto de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina (membro interno)

Profa. Erica Elaine Traebert Simezo, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina (membro interno)

Prof. Otto Henrique May Feuerschuette, Dr.
Universidade do Sul de Santa Catarina - Unidade Tubarão (membro externo)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

Prof. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2024.

Dedico esta tese ao meu marido
Marcelo e às minhas filhas Ana Luiza e Ana Carolina.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa surgiu com o objetivo de reduzir as filas de histeroscopia do Sistema Único de Saúde, pois não me conformava ao receber uma paciente que viajou 8 horas ou mais para fazer para fazer um procedimento, para investigação de sangramento e descartar um câncer. Será que não poderia vir somente o sangue?

Assim começo meus agradecimentos a todas as pacientes que participaram da pesquisa no momento que tentava deseja-lhes uma boa cirurgia, elas também me desejavam boa sorte, no fundo não para mim, mas à ciência.

Agradeço aos meus pais, meu pai Aldo, in memoriam, com muitas saudades, e a minha mãe, Áurea, que talvez eu tenha perdido de conviver nos seus últimos momentos da sua lucidez, mas tenho certeza de que os dois se orgulhariam de mim.

Agradeço ao meu marido, Marcelo, que aceitou a minha ausência e nunca deixou de incentivar e sempre me acalentou nos momentos de angústia.

Às minhas filhas Ana Luiza e Ana Carolina obrigada! Muito foi por vocês e para vocês. Também peço desculpas pela ausência, principalmente para você Carol que irá para outro país e teremos poucos dias para nos despedir.

Não poderia deixar de agradecer ao meu Professor, meu orientador, sem o Sr. Professor Dr. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho, com certeza esta tese não teria saído. Obrigada por sempre acreditar nos meus projetos e por me incentivar. Agradeço as horas de orientação, aos ensinamentos, as incansáveis revisões, as conversas e a amizade. Sentirei saudades! Serei eternamente grata!

Agradeço ao Instituto de Química da UFRGS, ao meu coorientador, Prof. Dr. Klester dos Santos Souza por acreditar no projeto, pela paciência de me ensinar desde o básico, neste mundo da química. Ao Prof. Dr. Marcos Ferrão pelo apoio e por aceitar meu projeto. Obrigada ao Instituto de Química e Física e aos demais envolvidos no projeto.

A todos os professores da pós-graduação, agradeço imensamente a dedicação e os ensinamentos.

Aos colegas patologistas do Laboratório de Anatomia Patológica Patologia do HU-EBSERH-UFSC pelas análises histopatológicas.

À equipe do laboratório de Análise Clínicas do HU-EBSERH-UFSC pelo apoio durante a preparação das amostras de sangue.

Às colegas Dra. Lia Karina Volpato, Dra. Clarisse Fontana e Dr. Rodrigo Baretta pelo auxílio na coleta de dados da pesquisa. Ao Dr. Thomas Erdmann e aos residentes da anestesiologia também pelo auxílio nas coletas de sangue.

Não esquecerei da boa vontade das residentes da ginecologia pelas entrevistas aos finais de semana e ajuda no armazenamento das amostras.

Obrigada a equipe do Laboratório de Biologia Molecular, Microbiologia e Virologia da UFSC, em especial a Profa. Dra. Maria Luiza Bazzo e ao Prof. Dr. Marcos André Schorner, por ceder espaço para o armazenamento das amostras de sangue durante a pesquisa.

Ao Serviço de enfermagem e funcionários do centro cirúrgico e da cirurgia ambulatorial.

Por fim, às minhas colegas, Adriane Pogere, Karine Da Correggio e Adriana Toledo Gieburowski pela amizade e companheirismo.

RESUMO

Introdução: o câncer de endométrio (CE) é a segunda neoplasia genital mais frequente em mulheres. Nas últimas décadas, ocorreu um aumento global da incidência. Até o momento não existe consenso na literatura de qual é o método diagnóstico padrão ou protocolo de investigação mais preciso. A espectroscopia vibracional, pelos métodos Infravermelho (IV) e Raman, são técnicas bioanalíticas capazes de avaliar amostras sanguíneas. **Objetivo:** Avaliar a acurácia da espectroscopia vibracional (IV e Raman) aliada a métodos quimiométricos em amostras de plasma sanguíneo para o diagnóstico do câncer de endométrio. **Métodos:** O estudo avaliou 56 participantes pós-menopausa, 18 no grupo neoplasia, 23 no grupo pólipos endometriais e 15 no grupo controle. As amostras analisadas pela espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram combinadas à análise discriminante linear (LDA) e algoritmos genéticos (GA) na faixa espectral de 1800 cm^{-1} e 900 cm^{-1} . A análise da espectroscopia Raman avaliou 27 das 56 participantes pós-menopausa, 8 no grupo neoplasia, 9 no grupo pólipos endometriais e 10 no grupo controle. Foram avaliados dois espectros para cada paciente. Os dados obtidos pela espectroscopia Raman foram previamente tratados e aplicado o modelo de Modelagem Independente de Classe por Analogia Suave Baseada em Dados (DD-SIMCA). Os resultados das classificações foram apresentados através da sensibilidade e especificidade. **Resultados:** As variáveis 912, 948, 1061, 1186, 1259, 1542, 1574 e 1794 cm^{-1} foram indicadas pelo método como modos vibracionais que mais apresentaram peso na classificação das amostras a partir das análises de FTIR. Nas análises do FTIR o grupo neoplasia mostrou uma sensibilidade e especificidade de 83% e 100%, respectivamente; o grupo pólipos endometriais mostrou uma sensibilidade e especificidade de 100% e 91%, respectivamente; e o grupo controle, mostrou uma sensibilidade e especificidade de 80 e 92%, respectivamente. As análises Raman demonstraram uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 87,5% ao diferenciar CE e controle. **Conclusão:** os resultados da pesquisa indicaram alta acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional no diagnóstico do câncer do endométrio no plasma sanguíneo.

Palavras-chave: câncer de endométrio; espectroscopia vibracional; FTIR; Raman; quimiometria; acurácia diagnóstica.

ABSTRACT

Introduction: Endometrial cancer is the second most common genital neoplasia in women. In recent decades, there has been a global increase in its incidence. To date, there is no consensus in the literature regarding the most accurate standard diagnostic method or investigation protocol. Vibrational spectroscopy, through Infrared and Raman methods, is a bioanalytical technique capable of evaluating blood samples. **Objective:** To evaluate the accuracy of vibrational spectroscopy (infrared and Raman) combined with chemometric methods in blood plasma samples to diagnose endometrial cancer. **Methods:** The study evaluated 56 postmenopausal participants, with 18 in the neoplasia group, 23 in the endometrial polyp group, and 15 in the control group. The samples analyzed by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy were combined with linear discriminant analysis (LDA) and genetic algorithms (GA) in the spectral range of 1800 cm^{-1} to 900 cm^{-1} . The Raman spectroscopy analysis evaluated 27 of the 56 postmenopausal participants, with 8 in the neoplasia group, 9 in the endometrial polyp group, and 10 in the control group. Two spectra were evaluated for each patient. The data obtained from the Raman spectroscopy were previously treated, and the Data-Driven Soft Independent Modeling of Class Analogy (DD-SIMCA) model was applied. The classification results were presented through sensitivity and specificity. **Results:** The variables 912 , 948 , 1061 , 1186 , 1259 , 1542 , 1574 , and 1794 cm^{-1} were indicated by the method as the vibrational modes with the highest weight in the classification of samples based on FTIR analyses. In the FTIR analyses, the neoplasia group showed a sensitivity and specificity of 83% and 100%, respectively; the endometrial polyp group showed a sensitivity and specificity of 100% and 91%, respectively; and the control group showed a sensitivity and specificity of 80% and 92%, respectively. Raman analyses demonstrated a sensitivity of 100% and a specificity of 87.5% in differentiating cancer group and control group. **Conclusion:** The research results indicate the high diagnostic accuracy of vibrational spectroscopy in diagnosing endometrial cancer in blood plasma.

Keywords: endometrial cancer; vibrational spectroscopy; FTIR; Raman; chemometrics; diagnostic accuracy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Pólipos endometriais	22
Figura 2 – Lesões precursoras	23
Figura 3 – Câncer de endométrio	24
Figura 4 – Esquema de um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier	30
Figura 5 – Fluxograma do estudo	43
Figura 6 – Espectros FTIR e atribuições gerais do pico biomolecular	48
Figura 7 – Gráfico de função discriminante do modelo GA-LDA	49
Figura 8 – Comprimentos de onda mais relevantes para o modelo GA-LDA.	50
Figura 9 – Pesos fatoriais de Fisher (Cargas de Fisher) com a seleção dos comprimentos de onda mais relevantes (cm^{-1}) para o melhor modelo GA-LDA.....	51
Figura 10 – Espectros Raman suavizados e normalizados das amostras do grupo controle, pólipo endometrial e neoplasia	53
Figura 11 – Espectros Raman médio das amostras biológicas após a aplicação da primeira derivada de SG (A), e média dos espectros centrados na média (B).....	54
Figura 12 – Análise hierárquica de agrupamentos das amostras de plasma.	56
Figura 13 – Gráfico dos escores PC1 x PC3 para os três grupos analisados	57
Figura 14 – Gráfico de aceitação do conjunto de treinamento para as amostras biológicas	58
Figura 15 – Gráfico de aceitação do conjunto de teste para as amostras biológicas.	59
Figura 16 – Gráfico de aceitação do conjunto de teste para a amostra de tecido biológico sem as amostras dos pólipos.....	60

LISTA DE SÍMBOLO

ν	Frequência vibracional
ϵ	Épsilon

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil epidemiológico das participantes	44
Tabela 2 – Características do sangramento pós-menopausa	45
Tabela 3 – Tipos histológicos das neoplasias endometriais.....	46
Tabela 4 – Histórico familiar de neoplasias	47
Tabela 5 – Atribuições das características espectrais do FTIR, derivado da literatura. ⁸⁷	52
Tabela 6 – Atribuições das bandas Raman dos componentes majoritários do sangue humano e seus respectivos modos vibracionais.	55
Tabela 7 – Número de amostras dos conjuntos de treinamento e teste utilizados no DD-SIMCA.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
AMIU	Aspiração manual intrauterina
ATR	<i>Attenuated Total Reflection</i>
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
CA 125	<i>Cancer antigen 125</i>
CCC	Carcinoma de células claras
CE	Câncer de endométrio
CEE	Carcinoma endometrial endometriode
CENTRAL	<i>Central Register of Controlled Trials</i>
cEVs	<i>Extracellular vesicles</i>
CI	Carcinoma Indiferenciado
CM	Carcinoma Misto
CS	Carcinoma Seroso
CSC	Carcinosarcoma
ctDNA	<i>Circulating tumor DNA</i>
DARE	<i>Database of Abstracts of Reviews of Effects</i>
DD-SIMCA	Data Driven Soft Independent Modelling of Class Analogy
DM	<i>Diabete Mellitus</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ER	espectroscopia Raman
ESGO	<i>European Society of Gynaecological Oncology</i>
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>
ESP	<i>European Society of Pathology</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
FIR	<i>Far-infrared region (spectroscopy)</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared (spectroscopy)</i>
GA	<i>Genetic algorithm</i>
GLOBOCAN	<i>Global Observatory Cancer</i>

HA	Hiperplasia atípica
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCA	<i>Hierarchical cluster analysis</i>
HE4	<i>Human epididymis protein 4</i>
HNPCC	<i>Hereditary non-polyposis colorectal cancer</i>
HTA	<i>Health technology assessment</i>
HU	Hospital Universitário
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IDH	Índice de desenvolvimento humano
IMC	Índice de Massa Corporal
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IR	<i>Infrared</i>
IV	Infravermelho
Kg/m ²	Quilogramas por metro quadrado
LDA	<i>Linear Discriminant Analysis</i>
LILACS	<i>Latin American and Caribbean Health Sciences Literature</i>
MC	<i>Mixed (endometrial) carcinoma</i>
microRNAs	Micro RNA
MIR	<i>Medium-infrared (spectroscopy) Região média infravermelho</i>
MMRd	<i>Mismatch repair deficient</i>
mL	mililitro
MSI	<i>Microsatellite instability</i>
NHI	<i>National Institutes of Health</i>
NIE	Neoplasia intraepitelial endometrial
NIR	<i>Near-infrared (spectroscopy) Região próximo do infravermelho</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	<i>Principal component</i>
PCA	<i>Principal Component analysis</i>
POLE	Domínio da exonuclease polimerase ϵ
ProMisE	<i>Proactive molecular risk classifier for endometrial cancer</i>
PROSPERO	<i>International prospective register of systematic reviews</i>
QDA	<i>Quadratic Discriminant Analysis</i>

RCOG	<i>Royal College of Obstetricians and Gynecologists</i>
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
rpm	Rotações por minuto
SCIELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SG	<i>Savitzky-Golay</i>
SNV	<i>Standard normal variate</i>
SPA	<i>Sucessive Projections Algorithm</i>
SPM	Sangramento uterino pós-menopausa
SUA	Sangramento uterino anormal
SUS	Sistema Único de Saúde
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UC	<i>Undifferentiated Carcinoma</i>
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
ULAP	Unidade de Laboratório de Anatomia Patológica
USTV	Ultrassonografia transvaginal
VPP	Valor preditivo positivo
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	JUSTIFICATIVA.....	20
1.2	PERGUNTA DE ESTUDO	20
1.3	OBJETIVOS.....	21
1.3.1	Objetivo Geral.....	21
1.3.2	Objetivos Específicos.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	PÓLIPO ENDOMETRIAL.....	22
2.2	LESÕES PRECURSORAS	22
2.3	CÂNCER DE ENDOMÉTRIO.....	23
2.3.1	Classificação do câncer de endométrio.....	24
2.4	RASTREAMENTO DO CÂNCER DE ENDOMÉTRIO.....	26
2.5	BIOMARCADORES	27
2.6	ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL.....	28
2.6.1	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	28
2.6.2	Espectroscopia Raman	30
2.7	ANÁLISE MULTIVARIADA – MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS.....	31
2.7.1	Pré-processamento de dados	31
2.7.2	Métodos exploratórios.....	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1	TIPO DE ESTUDO.....	37
3.2	ASPECTOS ÉTICOS	37
3.3	LOCAL DO ESTUDO	37
3.4	PARTICIPANTES.....	37
3.4.1	Critérios de inclusão.....	38
3.4.1.1	<i>Critério de inclusão e exclusão para o grupo neoplasia</i>	<i>38</i>
3.4.1.2	<i>Critério de inclusão e exclusão para o grupo pólio endometrial</i>	<i>38</i>
3.4.1.3	<i>Critérios de inclusão e exclusão do grupo controle</i>	<i>38</i>
3.4.2	Critérios de exclusão.....	38
3.5	CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL	39
3.6	QUESTIONÁRIO.....	39

3.7	TESTE DE REFERÊNCIA	39
3.8	TESTE DE ÍNDICE	39
3.8.1	Coleta de sangue e análise por espectroscopia vibracional	39
3.8.2	Análise espectral por ATR-FTIR	40
3.8.3	Análise espectral Raman.....	40
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
3.9.1	Variáveis demográficas	41
3.9.2	Processamento de dados e análise multivariada dos dados experimentais	41
3.9.3	Métodos empregados nas análises Raman.....	41
4	RESULTADOS	43
4.1	DESCRIÇÃO DA AMOSTRA	43
4.2	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA.....	43
4.3	A APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E GA-DLA NO DIAGNÓSTICO DO CE.....	47
4.4	ESTUDO EXPLORATÓRIO ALIANDO ESPECTROSCOPIA RAMAN E MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA CLASSIFICAÇÃO DE CÂNCER DE ENDOMÉTRIO.....	52
5	DISCUSSÃO.....	61
6	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	76
	APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	80
	ANEXO A – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA	83

1 INTRODUÇÃO

O câncer de endométrio (CE) é o tumor que se desenvolve na camada interna do útero, chamada de endométrio. É a segunda neoplasia genital maligna mais comum entre as mulheres em escala global.¹ A maior incidência de CE é observada nos Estados Unidos da América (EUA) (86,6/100000), seguidos pela Europa Oriental (52,5/100000) e Europa Central (21,9/100000).^{1,2} Conforme os dados do GLOBOCAN, no ano de 2022, aproximadamente 420.368 novos casos foram diagnosticados mundialmente e ocorreram 97.704 mortes relacionadas à condição.^{1,2}

No Brasil, de acordo com os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2023, registrou-se 7.840 novos casos de CE, posicionando-o como o terceiro câncer ginecológico mais prevalente entre as mulheres e o sétimo entre todas as neoplasias femininas.³ Santa Catarina apresenta uma taxa de 8,3 por 100.000.³ Nos últimos 30 anos a incidência aumentou 132%, fato atribuído principalmente ao aumento da expectativa de vida e dos fatores de risco como a obesidade, sedentarismo e redução da fertilidade.⁴⁻⁶

As mulheres com mais de 60 anos apresentam maior risco de desenvolver CE, enquanto a ocorrência abaixo dos 40 anos é menos comum.^{5,7} Embora os diagnósticos tenham aumentado em todas as faixas etárias, nos EUA tem dobrado o número abaixo dos 40 anos.² Inversamente ao número de novos casos, a mortalidade tem diminuído nos países com alto Índice de Desenvolvimento Humano (IDH). No entanto, os países com baixo e médio IDH apresentam uma mortalidade maior, o que pode estar relacionado a um diagnóstico tardio.^{2,5}

Apesar do aumento da expectativa de vida das mulheres alcançado nas últimas décadas, durante a pandemia causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, ocorreu uma diminuição da expectativa de vida, diminuindo de 80,1 anos em 2019 para menos de 79 anos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).^{8,9} No entanto, observa-se, anualmente, uma recuperação desse indicador.⁹ Outro impacto da pandemia foram os atrasos nos diagnósticos e no tratamento precoce devido à dificuldade de acesso aos serviços de saúde, resultando em um maior número de diagnósticos tardios.⁸ Mas apesar do período atípico, esses dados não podem ser plenamente corroborados.¹⁰

O excesso de peso apresenta forte associação com o CE.⁶ Em 2012, aproximadamente 31% da população mundial apresentava sobrepeso. Atualmente, a

prevalência do excesso de peso corporal no Brasil e no mundo cresceu 55,4% na população adulta e estima-se que essa tendência permanecerá nos próximos anos.¹¹ Os mecanismos que relacionam a obesidade ao CE ainda não possuem uma compreensão clara, mas possivelmente estão associados ao aumento da resistência à insulina, ao hiperestrogenismo e aos fatores inflamatórios.⁶ Raglan *et al.*,¹² demonstraram uma forte associação entre o excesso de adiposidade e o aumento da incidência e mortalidade do CE. Além disso, quando comparadas com índice de massa corporal (IMC) normal, aquelas com sobrepeso apresentam 1,43 vezes (IC de 95%, 1,30 – 1,56) maior risco, aumentando para 3,3 vezes em caso de obesidade.¹³ Contudo, o efeito não é linear, apresentando proporcionalmente maior aumento no risco a cada 5 kg/m². Assim sendo, um IMC maior que 42,27 kg/m² apresenta um risco de 9,11 vezes (IC 95%, 7,26 - 11,51).⁶

Por outro lado, mulheres previamente obesas e que reduzem o peso têm demonstrado uma redução no risco. Desse modo, a perda significativa de peso em pacientes submetidas à cirurgia bariátrica, demonstrou mudanças benéficas em biomarcadores de resistência à insulina, inflamação, hormônios reprodutivos, morfologia endometrial e vias moleculares relacionadas à carcinogênese endometrial.^{13,14}

Outros fatores de risco para o CE são aqueles associados à exposição aos estrogênios endógenos (nuliparidade, menarca precoce, menopausa tardia, infertilidade, síndrome do ovário policístico), estrogênios exógenos sem oposição de progestágenos, o uso de tamoxifeno, principalmente após a menopausa, e diabetes mellitus (DM).^{12,13}

O sangramento uterino anormal (SUA) é o sintoma inicial mais frequente do CE. Clarke *et al.*, demonstraram que o sangramento uterino pós-menopausa (SPM) está presente em 90%-94% das portadoras de CE, principalmente quando recorrente.^{15,16} Este risco aumenta com a idade e com o espessamento do eco endometrial.^{15,17} Porém, na pré-menopausa as irregularidades menstruais são naturalmente mais frequentes, dificultando e atrasando o diagnóstico. Apesar da presença do SUA recorrente na maioria das pacientes com CE, seu valor preditivo positivo (VPP) é baixo, necessitando de outros testes de triagem com alta especificidade para o diagnóstico.¹⁷

Ademais, os CEs diagnosticados nos estágios iniciais apresentam uma percentagem de cura de 95% em 5 anos, enquanto aqueles com metástases a

distância tem uma sobrevida de 17% em 5 anos.⁵

Diante da necessidade de diagnosticar precocemente o CE, da falta de testes menos invasivos e da dificuldade de identificar marcadores tumorais sanguíneos esta pesquisa tem como objetivo principal diferenciar, por meio da espectroscopia vibracional, amostras de sangue de pacientes com câncer de endométrio, pólipos endometriais e controles, pacientes com endométrio atrófico.

1.1 JUSTIFICATIVA

O CE apresenta uma alta taxa de sobrevida quando diagnosticado em fases iniciais. Sua incidência vem aumentando globalmente nos últimos anos, mas não há evidências que suportem o rastreamento populacional do CE. Em pacientes com sangramento uterino anormal, a exclusão do diagnóstico de CE faz parte da rotina de investigação diagnóstica, especialmente em mulheres pós-menopausa. Entretanto, o diagnóstico precoce do CE implica no uso de procedimentos invasivos, como a biópsia uterina, que possuem baixa acurácia diagnóstica. Conforme estabelecido pela *James Lind Alliance Priority Setting Partnership for Detecting Cancer Early*, a pesquisa de métodos menos invasivos, mais acurados e de baixos custos é uma das 10 prioridades no campo do diagnóstico de câncer em estágios iniciais.¹⁸ Neste contexto, o emprego da espectroscopia em amostras sanguíneas preenche os critérios de mínima invasão, baixo custo e acessibilidade. Entretanto, a acurácia diagnóstica da espectroscopia em amostras sanguíneas ainda não foi completamente definida. Considerando o exposto, este estudo se justifica como uma contribuição para avaliar a acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional no sangue para o diagnóstico de câncer de endométrio.

1.2 PERGUNTA DE ESTUDO

Este estudo foi baseado na seguinte construção de questão diagnóstica:

P (população): mulheres na pós-menopausa, com sangramento uterino anormal;

I (testes índice): espectroscopia vibracional (IV e Raman) no plasma;

C (comparação, teste referência): histopatologia;

O (desfecho, condição): câncer de endométrio, pólipos endometriais e controles, endométrio atrófico.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Usar espectroscopia vibracional (IV e Raman) em amostras de plasma sanguíneo em mulheres na pós-menopausa com sangramento uterino anormal para o diagnóstico diferencial de neoplasia endometrial, pólipos endometriais ou controles.

1.3.2 Objetivos Específicos

Construir um modelo multivariado para discriminação entre os grupos utilizando um modelo matemático;

Determinar os modos vibracionais que diferenciam os grupos CE, pólipos endometriais e controle.

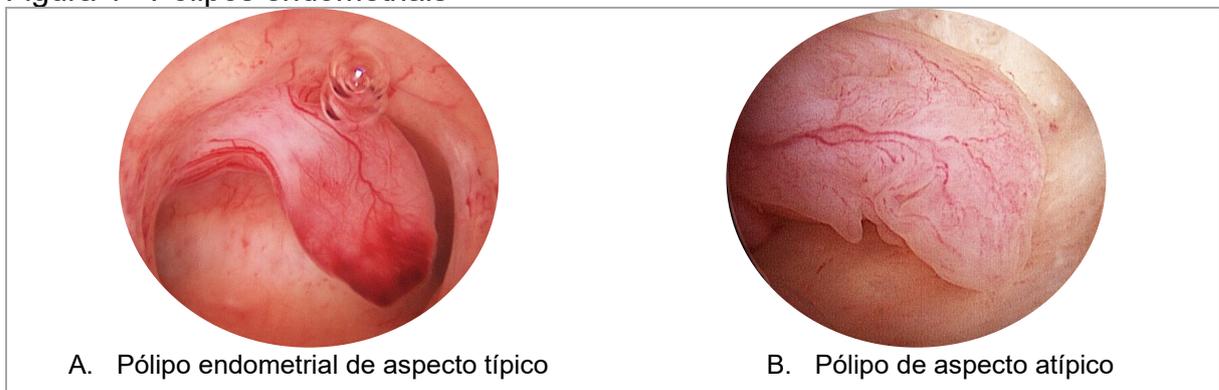
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PÓLIPO ENDOMETRIAL

Pólipos endometriais são tumorações que crescem no endométrio. Podem ser únicos ou múltiplos. Os pólipos são compostos por três elementos: glândulas, estroma e vasos. Os fatores de risco associados ao desenvolvimento são: idade avançada, obesidade, estímulo estrogênico, DM, uso de tamoxifeno, entre outros.¹⁹ Podem ser assintomáticos ou causar sintomas, sendo o sangramento uterino anormal o mais frequente.

Sua transformação maligna é rara, podendo ocorrer em 0 a 12,9%.^{19,20} Duas meta-análises demonstraram que a prevalência de lesões malignas e pré-malignas em pacientes com pólipo endometrial é de 3,4 a 4,9% após a menopausa e de 1,1 % na pré-menopausa. O risco é maior em pacientes sintomáticas quando comparadas às pacientes assintomáticas.^{19,21} Devido ao elevado risco de câncer de endométrio em pacientes com SPM está indicada histeroscopia com análise histopatológica em todas as pacientes sintomáticas na perimenopausa.^{16,21}

Figura 1– Pólipos endometriais



Fonte: acervo da autora, 2024.

2.2 LESÕES PRECURSORAS

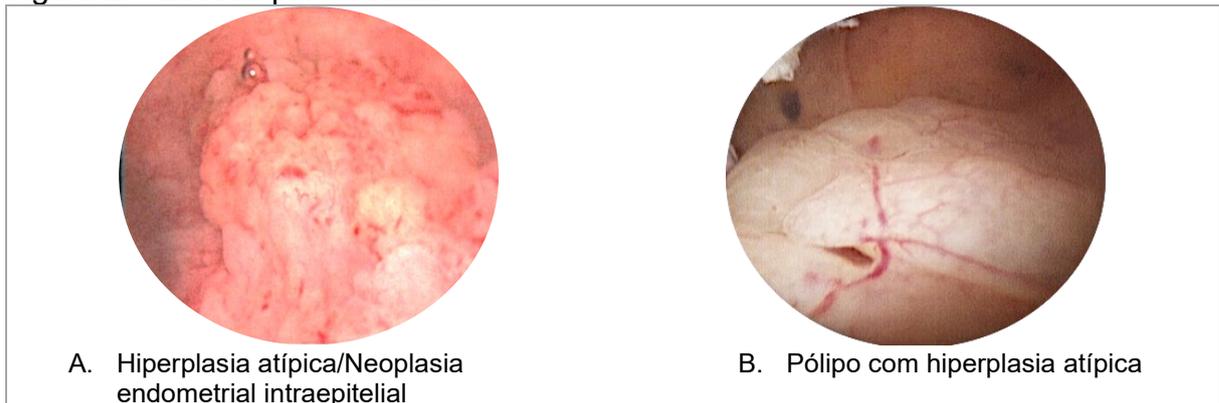
A hiperplasia endometrial é caracterizada por uma condição de proliferação com aumento da relação glândulo-estromal, quando comparado ao endométrio proliferativo, muitas vezes causada pelo estímulo estrogênico sem oposição da progesterona. Essa condição pode ser classificada em benigna ou pré-maligna,

dependendo da presença de atipias celulares, conforme os sistemas de classificação histomorfológica.²²

A Organização Mundial da Saúde (OMS), propôs um sistema em 1994, revisado em 2014, que diferencia a hiperplasia benigna da pré-maligna de acordo com a avaliação da presença de atipias celulares.²³ Já o sistema de neoplasia intraepitelial endometrial (NIE), recomendado pelo *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG), combina critérios mais objetivos, como a relação glândula/estroma, perímetro glandular e diâmetro nuclear, que podem ser avaliados subjetivamente ou objetivamente por meio de análise computadorizada.²²

Ambos os sistemas apresentam valores prognósticos semelhantes, contudo, o sistema NIE apresenta maior sensibilidade, enquanto o sistema da OMS apresenta maior especificidade.²²

Figura 2 – Lesões precursoras

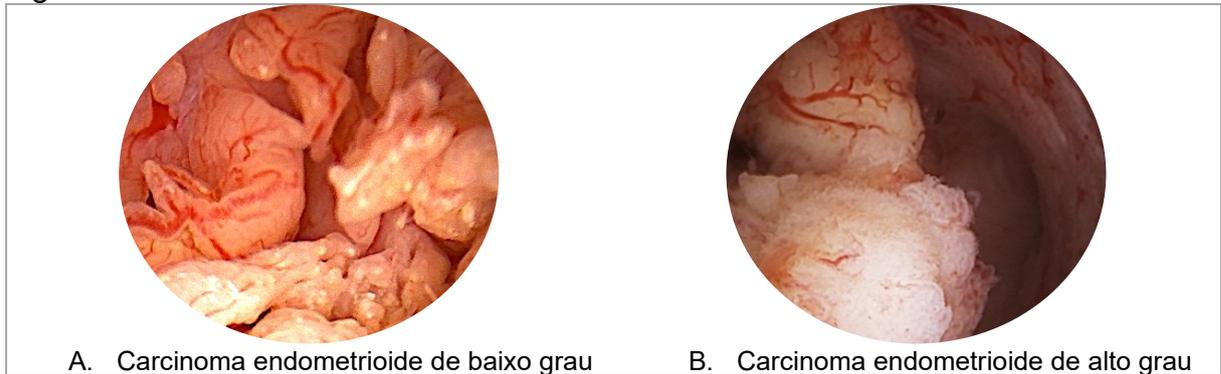


Fonte: acervo autora, 2024.

2.3 CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

A maioria dos CE é diagnosticada precocemente, devido aos sintomas de sangramento uterino anormal. No entanto, diferenças no perfil das pacientes e nas características histológicas do tumor impactam no prognóstico e na abordagem terapêutica. Segundo dados da *European Society for Medical Oncology* (ESMO) de 2016, 80% dos casos de CE são diagnosticados em estágio I, com uma sobrevida de 95% em 5 anos. Nos estágios mais avançados, quando há comprometimento regional ou metástase à distância, ocorre diminuição da sobrevida em 5 anos para 68% e 17%, respectivamente.^{24,25}

Figura 3 – Câncer de endométrio



A. Carcinoma endometriode de baixo grau

B. Carcinoma endometriode de alto grau

Fonte: acervo da autora, 2024.

2.3.1 Classificação do câncer de endométrio

O CE foi inicialmente classificado, conforme o modelo proposto por Bokhman em 1983, como tipo I e II.²⁶ O tipo I, tumor endometriode, representa 80%-90% dos casos, está associado à exposição ao estrogênio e apresenta bom prognóstico. O tipo II, tumor não endometriode, é menos comum, sendo os subtipos serosos e de células claras os mais frequentes e de pior prognóstico.^{26,27} No entanto, a classificação de Bokhman não contemplava a alta heterogeneidade morfológica e molecular do carcinoma endometrial, deixando alguns histotipos sem uma classificação clara. A classificação histopatológica, baseada na morfologia e no grau do tumor, permitiu uma estratificação prognóstica em categorias de risco distintas, orientando a terapia cirúrgica e adjuvante.

Em 1988, o Comitê da FIGO introduziu um sistema de estadiamento cirúrgico, revisado em 2009, que incluiu a extensão do tumor, a classificação histológica e o grau do tumor.^{27,28} A FIGO classifica os carcinomas endometriodes de endométrio (CEE) com base em diferentes graus de componentes sólidos. Tumores de grau 1 têm menos de 5% de crescimento glandular sólido; grau 2 tem de 6% a 50%; e grau 3 tem mais de 50%. Por outro lado, a Sociedade Internacional de Patologistas Ginecológicos recomenda um sistema de classificação binário: os graus 1 e 2 são classificados como de baixo grau, enquanto o grau 3 é agrupado com outros tipos histológicos de alto grau.^{28,29}

A última revisão da FIGO, de 2023, coloca os achados histológicos como a característica central e um importante fator prognóstico do CE.²⁹ As mudanças

incorporam novas variáveis patológicas prognósticas, mas também novos classificadores moleculares baseados em achados de sequenciamento completo do genoma do CE, o *Cancer Genoma Atlas* (TCGA).³⁰ Todos CEs devem ser classificados de acordo com a 5ª edição do Tumores do Trato Genital Feminino.^{29,31}

Os diferentes tipos histológicos são: carcinoma endometriode de baixo grau (graus 1 e 2) ou alto grau (grau 3); carcinoma seroso (CS); carcinoma de células claras (CCC); carcinoma misto (CM); carcinoma indiferenciado (CI); carcinosarcoma (CSC); e os não usuais, como o tipo mesonéfrico e o carcinoma gastrointestinal tipo mucinoso. Estes diferentes tipos histológicos apresentam diferentes características microscópicas, moleculares, lesões precursoras e história natural.²⁹

Os estudos do TCGA, em 2013, identificaram quatro subgrupos moleculares integrando uma análise de sequenciamento completo do exoma e do transcriptoma, análises do número de cópias genômicas e de matriz de proteínas, teste de estabilidade microssatélite e perfil de metilação. Classificando-os em quatro subtipos: com mutações no gene do domínio da exonuclease polimerase ϵ (POLE), fenótipo POLEmut; alto número de cópias (mutações no gene TP53), baixo número de cópias (em que os tumores não apresentam nenhuma das alterações descritas nos outros grupos tipos) e tumores com predomínio de instabilidade microssatélite (MSI).^{30,32}

Os tumores com mutação POLE apresentam bom prognóstico, independente do grau ou histologia do tumor. O grupo com alto número de cópias, impulsionado pela mutação do TP53, apresenta um prognóstico desfavorável. Enquanto os tumores caracterizados por instabilidade microssatélite (MSI), predominante devido à metilação do promotor MLH1, e aqueles sem um perfil molecular específico apresentam prognóstico intermediário.^{33–35}

Após vários estudos, o ProMisE (Classificador Proativo de Risco Molecular para Câncer de Endométrio)³³ apresentou uma classificação simplificada na análise tecidual com imuno-histoquímicos, proteínas do gene de reparo (MMR) e proteína p53, e um teste de análise para mutação patogênica POLE.²⁹ Aproximadamente 3% a 6% dos tumores apresentam mais de uma característica molecular, sendo caracterizados como múltiplos classificadores.^{29,36}

A partir 2021, a *European Society of Gynaecological Oncology* (ESGO), *European Society for Radiotherapy and Oncology* (ESTRO) e a *European Society of Pathology* (ESP) motivaram o uso da classificação molecular em todos os CE, especialmente nos tumores de alto grau.³⁷

2.4 RASTREAMENTO DO CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

Não há evidências de que o rastreamento de rotina para o CE nas pacientes assintomáticas de baixo ou de alto risco apresente benefícios para o diagnóstico precoce. Entretanto, a última revisão da ESMO/ESTRO/ESP recomenda o rastreamento a partir dos 35 anos para as mulheres com mutações genéticas associadas ao câncer colorretal hereditário não polipoide (HNPCC), Síndrome de Lynch, e para aquelas sem testes genéticos que pertencem a famílias com suspeitas de doenças autossômicas dominante para o câncer colorretal.^{24,25} O rastreamento deve ser realizado anualmente com USTV, biópsia de endométrio ou histeroscopia com biópsia.³⁷

No caso das mulheres com sangramento uterino anormal na pós-menopausa e na perimenopausa, a avaliação do espessamento endometrial por USTV é efetiva como primeira avaliação, segundo alguns protocolos.^{5,16,38} Os benefícios da USTV incluem a facilidade de acesso e o baixo custo. No entanto, o método apresenta limitações como influência da habilidade do operador na qualidade da imagem e o impacto significativo da variação entre observadores na interpretação das imagens.^{17,39} Mulheres na pós-menopausa com sangramento único e espessamento acima de 4 ou 5 mm e aquelas com sangramento de repetição devem prosseguir a investigação com histeroscopia, biópsia de endométrio ou ambas.³⁹ Uma revisão sistemática com mais de 44 estudos, incluindo 17339 mulheres, demonstrou uma sensibilidade semelhante com espessuras de cortes endometriais de ≥ 3 , ≥ 4 ou ≥ 5 mm, o espessamento ≥ 5 mm apresentou uma sensibilidade de 96,2% (IC95%, 92,3 – 89,1%), enquanto a especificidade foi de 51,5% (IC95%, 42,3 – 62,7%), reduzindo 17% o número de mulheres que necessitam procedimentos invasivos.^{5,38}

A biópsia de endométrio é indicada para pacientes sintomáticas, com espessamento ou irregularidades endometriais detectadas pela USTV e em casos de sangramento recorrente pós-menopausa.⁴⁰ Caso a biópsia de endométrio não confirme o CE, a investigação deve continuar com histeroscopia e biópsia de endométrio. A biópsia endometrial ambulatorial é um método acessível e simples, porém invasivo, com uma taxa de falha de 11% e 31% de amostras inconclusivas.⁴¹ Nos casos de falhas, resultados inconclusivos ou negativos, e persistência dos sintomas, recomenda-se a realização de histeroscopia com biópsia.^{42,43}

2.5 BIOMARCADORES

O crescimento da tecnologia molecular associada à bioinformática aumentou o número de biomarcadores que desempenham um importante papel no rastreamento, diagnóstico, prognóstico e seguimento de diversas doenças. O termo “biomarcador” conforme definido pelo Grupo de Trabalho de Biomarcadores do *Food and Drug Administration (FDA)* e *National Institutes of Health (NIH)* refere-se a “uma característica definida que é medida como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou resposta a uma exposição ou intervenção”.⁴⁴ No entanto, esta definição ampla engloba intervenções que podem derivar de características moleculares, histológicas, radiográficas ou fisiológicas.^{13,44}

Os testes sanguíneos são uma ferramenta de diagnóstico mais rápida e menos invasiva do que os marcadores teciduais. Porém, atualmente, não existem marcadores com acurácia diagnóstica e capacidade prognóstica suficientes para distinguir entre o CE e uma condição benigna.⁴⁵

O soro sanguíneo contém mais de 20.000 proteínas diferentes, além de diversas alterações químicas associadas, liberadas pelos pacientes em resposta aos tumores. Essas alterações, incluem ácidos nucleicos, carboidratos, lipídios, pequenos metabólitos, bem como parâmetros citogenéticos e citocinéticos.⁴⁶ Ademais, as biópsias líquidas, amostras de fluidos corporais como saliva, urina, bile e mesmo o sangue possibilitam a análise de novos elementos circulantes como células tumorais,⁴⁷ vesículas extracelulares (cEVs),⁴⁸ ácido desoxirribonucleico (DNA), tumoral circulante (ctDNA)⁴⁹ e micro ácido ribonucleico (microRNA).⁵⁰ Apesar de promissores para o diagnóstico, esses métodos ainda não são amplamente adotados na prática clínica devido a dificuldades técnicas e alto custo.⁵⁰

Para a análise de biomarcadores sanguíneos, a espectroscopia vibracional é capaz de fornecer informações sobre a composição química das amostras biológicas, registrando as vibrações resultantes após a exposição de uma amostra biológica à radiação eletromagnética.⁵¹ Dois dos principais métodos diagnósticos da espectroscopia vibracional incluem a espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman. Ambas não se restringem à análise de uma única molécula, mas uma gama completa de moléculas.⁵²

2.6 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

A espectroscopia avalia a interação da radiação eletromagnética com a matéria, que resulta nos fenômenos físico-químicos de absorção, emissão, reflexão e espalhamento.⁵¹ Entre estas destacamos a espectroscopia no infravermelho e a espectroscopia Raman. Embora ambas estejam relacionadas às vibrações moleculares, os mecanismos básicos destas vibrações são essencialmente distintos, sendo o IV relacionado a processos de absorção na região do IV e o Raman ao espalhamento inelástico da luz. Quando a radiação na região do IV é absorvida, as ligações covalentes das moléculas vibram com frequências e amplitudes características da natureza da ligação química e seus átomos envolvidos. A intensidade de absorção pode ser relacionada à sua concentração, enquanto o comprimento de onda e a frequência vibracional referem-se à natureza das suas ligações.⁵³ Na espectroscopia Raman, a análise depende da modificação da polarizabilidade da molécula, quando excitada por uma radiação monocromática, gerando fótons espalhados inelásticamente que trazem consigo informações vibracionais da molécula.⁵⁴ As medidas são apresentadas graficamente em formato de espectros (comprimento de onda em cm^{-1} versus intensidade) fornecendo uma "impressão digital" das moléculas.⁵⁵

A espectroscopia no IV é dividida na região próxima (*near infrared*, NIR), média (*mid infrared*, MIR) ou distante (*far infrared*, FIR), dependendo da incidência da frequência da luz incidente.⁵⁶ Tanto a espectroscopia no IV quanto Raman, na faixa 1800 a 900 cm^{-1} , encontra-se a região de frequência de várias biomoléculas de interesse para a análise de materiais biológicos, por conter os modos vibracionais importantes das biomoléculas.⁵⁵ Proteínas são conhecidas pela banda de absorção de 1750 cm^{-1} a 1650 cm^{-1} , 1550 cm^{-1} e 1310 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} correspondendo respectivamente à Amida I, Amida II e Amida II.⁵⁷ Os lipídios contribuem com a banda de 1467 cm^{-1} a 1400 cm^{-1} , carboidratos de 1173 cm^{-1} a 1023 cm^{-1} ; os ácidos nucleicos de 1250 cm^{-1} a 1220 cm^{-1} ; fosfolipídeos de 1085 cm^{-1} ; e nucleotídeos de 900 cm^{-1} a 800 cm^{-1} .⁵⁸

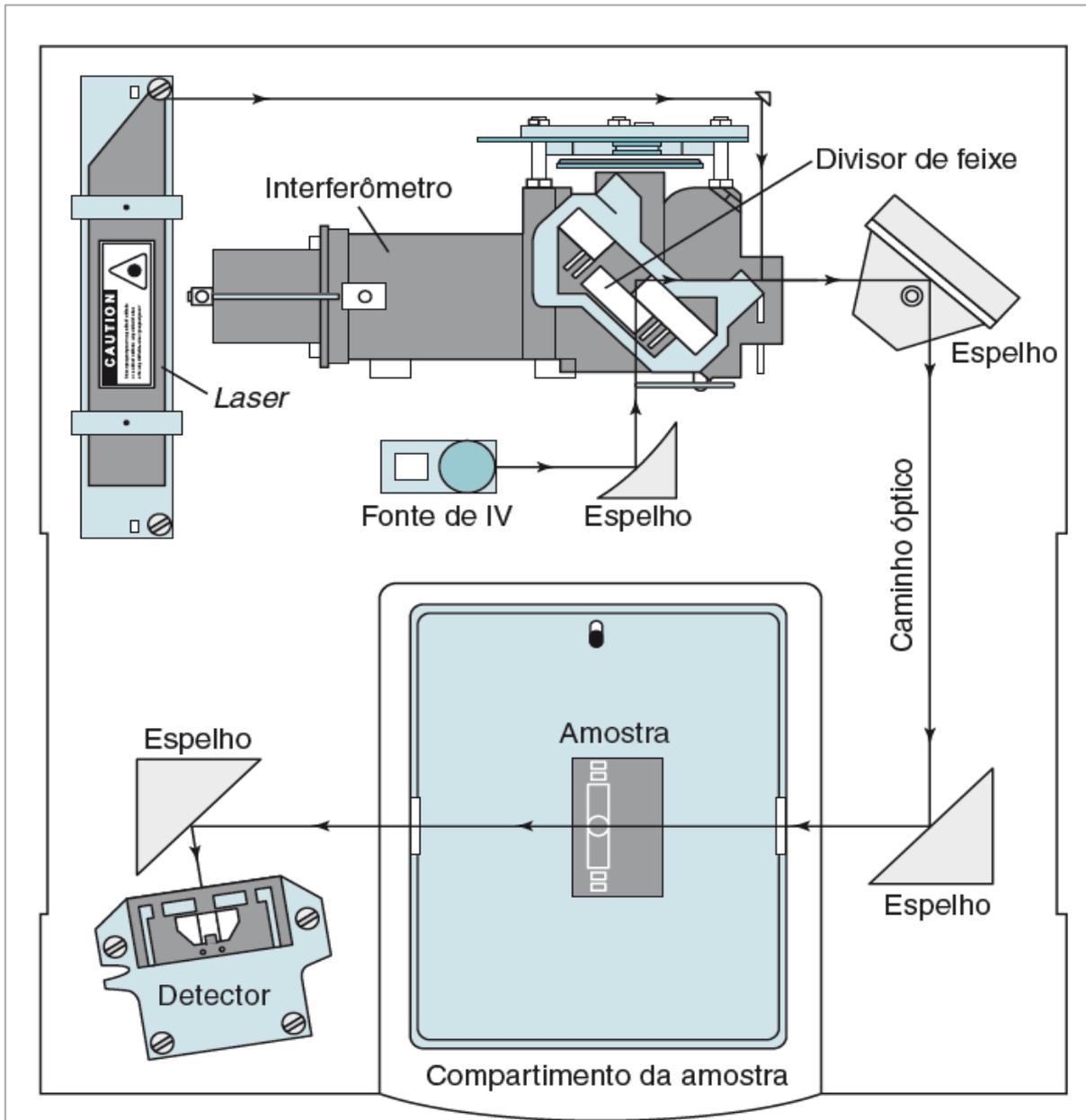
2.6.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para a obtenção dos espectros na região do IV é necessário o uso do

Infravermelho com Transformada de Fourier que, juntamente com a Refletância Total Atenuada (ATR), proporciona a técnica de FTIR-ATR. Nesta abordagem, o feixe de radiação penetra em um cristal, interage com uma fina camada da amostra, sofrendo sucessivas reflexões e posteriormente direcionada ao detector. Esse processo resulta na atenuação da radiação formando um espectro.^{46,59}

O espectrômetro é constituído por um divisor de feixes responsável em separar metade da radiação, conforme ilustrado na Figura 4. Uma metade é direcionada para um espelho fixo e volta ao divisor dos feixes, enquanto a outra metade é emitida sobre um espelho móvel. Conforme a velocidade oscila entre dois pontos, a radiação refletida pelo espelho móvel é combinada com a radiação refletida pelo espelho fixo, passa pela amostra e chega a um detector. A diferença entre as distâncias das radiações forma um interferograma, que gera um espectro, por uma equação matemática, transformada de Fourier. Essas medidas são demonstradas graficamente em formato de espectros fornecendo uma “impressão digital” das moléculas. O espectro é composto por picos ou bandas que direcionam a análise qualitativa, enquanto a área e a intensidade do pico orientam a análise quantitativa.⁶⁰

Figura 4 – Esquema de um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier



Fonte: Adaptado de Harris *et al.*⁶⁰

Ao analisar biofluidos nas regiões MIR e NIR usa-se a secagem das amostras antes da análise para evitar que a forte absorção da água interfira nos espectros obtidos. A banda de absorção da água pode ser intensa e abranger uma ampla faixa de comprimentos de onda, tornando difícil a identificação de outras características espectrais das amostras.⁵⁵

2.6.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman permite análise de materiais biológicos, medindo vibrações moleculares, produzindo um espectro vibracional, uma “impressão digital” única de uma amostra biológica correlata ao que obtemos por IV.⁶¹

Esta técnica utiliza uma luz monocromática, na região do ultravioleta visível ou do IV próximo, geralmente proveniente de uma fonte de laser. Durante essa interação, os fótons da luz apresentam um espalhamento elástico ou inelástico. O efeito inelástico de espalhamento, chamado de efeito Raman, refere-se à dispersão inelástica da luz, onde parte da energia do fóton é transferida para a amostra durante a interação. Ao passo em que, no espalhamento elástico, a luz interage com a amostra sem transferir energia significativa.^{62,63} Por meio da mudança de energia, obtém-se uma medição qualitativa ou quantitativa da composição da amostra, tendo em vista que esse espalhamento inelástico está associado a modos vibracionais da molécula à semelhança dos modos do IV.

Tipicamente, regiões do espectro Raman observados nos materiais biológicos se encontram dentro de uma faixa de 400 a 2000 cm^{-1} número de ondas. As vibrações das moléculas de proteínas na faixa de 1500 a 1700 cm^{-1} , carboidratos de 470 a 1200 cm^{-1} e grupos fosfatos do ácido desoxirribonucleico (980, 1080 e 1240 cm^{-1}).⁵⁴

A espectroscopia Raman tem alta especificidade molecular, sendo uma técnica excelente para análise de materiais e complementar ao FTIR.⁶⁴

2.7 ANÁLISE MULTIVARIADA – MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

Svante Wold e Bruce Kowalski foram os pioneiros e os criadores da Sociedade Internacional de Quimiometria em 1974.⁶⁵ Estes autores definiram a quimiometria como a aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas à química.⁶⁶ São modelos matemáticos que representam a relação entre as características físicas e químicas de uma amostra, podendo prever propriedades quantitativas ou qualitativas. Análises multivariadas são frequentemente empregadas na extração de dados espectrais.⁶⁶

2.7.1 Pré-processamento de dados

Os espectros apresentam as informações de interesse, mas também incorporam sinais indesejados, chamados de ruídos, que podem prejudicar a análise

dos dados. Diversas técnicas de pré-processamento são empregadas para a reduzir essas variáveis não controladas, aumentando a precisão das análises multivariadas subsequentes.⁶⁷ Essas interferências físicas ocorrem devido à dispersão da luz, aos diferentes tamanhos de partículas, às diferentes espessuras de amostras ou a diferentes caminhos ópticos. Entretanto, os dados espectrais de baixa qualidade não se beneficiam do pré-processamento, enfatizando a necessidade de uma coleta de amostras adequada para aumentar a precisão e a acurácia de análises exploratórias ou diagnósticas.

Os espectros vibracionais dos biofluidos podem ser corrigidos, derivados e depois normalizados.⁵⁶ A suavização é utilizada para remover grandes ruídos, enquanto preserva informações espectrais úteis. Pode ser usada em várias técnicas de espectroscopia vibracional.⁶⁸ O algoritmo mais utilizado é o de Savitzky-Golay (SG), que ajusta uma equação polinomial pelo método dos mínimos quadrados dentro de um intervalo predefinido de pontos espectrais, onde o ponto central é removido e usado como critério de ajuste.⁵⁸ Esse intervalo é então deslocado para o próximo ponto do espectro, repetindo o procedimento de ajuste. A ordem do polinômio e o tamanho da janela usada no ajuste polinomial afetam o resultado, assim, deve-se usar uma ordem polinomial adequada às características da forma espectral. O polinômio de segunda ordem é comumente usado para dados de espectroscopia vibracional.⁶⁹

As técnicas de pré-processamento apresentam o risco de gerar correlações na estrutura do ruído, prejudicando a qualidade do modelo multivariado.⁶⁸ Apesar de existirem várias técnicas, ainda não há um consenso sobre a escolha do método adequado. Em situações em que uma técnica é insuficiente, pode ser necessário a combinação de diferentes abordagens.⁶⁸

A normalização é útil quando há variações significativas nas intensidades do sinal entre diferentes amostras ou quando o mesmo material apresenta variações de intensidade de sinal, devido a momentos diferentes de registro ou as diversas configurações de equipamento. Dessa forma, a normalização contribui para tarefas que medem distâncias espectrais.^{56,70} A normalização e a variável normal padronizada (SVN) visa corrigir vieses induzidos por desvios da normalidade nos dados originalmente coletados.⁶⁹

O uso de SNV remove os efeitos de dispersão e as inconsistências na absorção da luz nos espectros. Neste método, cada espectro é primeiro centralizado pela subtração do valor médio do espectro de cada ponto de dados. A seguir, é aplicado o

escalonamento, onde cada ponto de dados centralizado é dividido pelo desvio padrão do espectro. Após esses ajustes, os espectros exibem uma média zero e um desvio padrão unitário. Cada um desses métodos possui sua própria maneira de ajustar os dados. Essas técnicas devem ser usadas somente quando necessárias, porque a normalização pode esconder bandas espectrais.⁵⁶

2.7.2 Métodos exploratórios

A análise de agrupamentos por métodos hierárquicos (*Hierarchical Clusters Analysis*, HCA) é uma técnica estatística não supervisionada usada para agrupar diferentes tipos de amostras, com base nas características espectrais, em diferentes subgrupos ou *clusters*. O resultado geralmente é apresentado em um dendrograma, um gráfico que representa as similaridades e diferenças relativas entre as amostras e suas relações de forma hierárquica em uma estrutura bidimensional.⁷¹ A HCA não cria um modelo matemático para fins de classificação, nem fornece uma significância para tais semelhanças. Embora mostre uma associação entre as respostas, ela não fornece uma medida de associação.⁷²

A análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA) é uma técnica de análise multivariada, descrita por Pearson em 1901 e desenvolvida por Hotelling em 1933.⁷¹ Consiste em um método estatístico linear que encontra os autovalores e autovetores da matriz de covariância dos dados e realiza sua redução dimensional, transformando-os em um outro conjunto de variáveis independentes, as componentes principais (*Principal components*, PC).⁷³ Antes da classificação estatística, as amostras podem ser representadas graficamente, tornando possível identificar visualmente semelhanças e diferenças e determinar se podem ser agrupadas.⁷⁴ Para análise visual, geralmente é construída uma projeção bidimensional ou tridimensional das amostras, tendo as PCs como eixos. As PCs são combinações lineares que não apresentam correlações entre si e são ortogonais umas às outras. Isso significa que cada PC contém informações únicas. A primeira componente principal (PC1) é a mais representativa, oferecendo maior quantidade de informação.⁷⁴ As PCs calculadas de maneira sequencial retêm o máximo possível de variação do conjunto de dados original, de modo que a primeira explica maior porcentagem da variância dos dados do que a segunda, que explica maior porcentagem de variância dos dados do que a terceira e assim sucessivamente.⁷¹ A

PCA, somente diferencia as variáveis quando existe grande variabilidade entre eles, o que pode não ocorrer em conjunto de dados espectrais.⁷⁵ Durante as análises fatoriais, as amostras com valores discrepantes (*outliers*) identificadas no gráfico de controle de T^2 de *Hotelling* são removidas uma de cada vez, para evitar influências espúrias no modelo.⁷⁵ Os pesos fatoriais (*factor loadings*), análogos aos coeficientes de correlação, elevados ao quadrado indicam a quantidade da variância explicada. Isto é, quanto uma variável contribui para a respectiva componente principal, oferecendo uma estrutura clara da contribuição de cada variável no conjunto de dados. Um sinal positivo implica que a variável e a componente principal estão positivamente relacionadas, movendo-se na mesma direção. Por outro lado, um sinal negativo indica uma relação inversa, em que um aumento ocorre à medida em que o outro diminui. No modelo matemático da PCA, os pesos fatoriais estão conectados aos autovetores da matriz de covariância ou correlação dos dados.⁵⁶

A análise discriminante linear (*Linear Discriminant Analysis*, LDA), proposta por Fisher em 1936, utiliza a distância de Mahalanobis entre as amostras de cada classe.^{76,77} O método emprega a matriz de variância e covariância agrupada no cálculo da distância, ponderando-a entre uma amostra de teste e um centroide de classe de acordo com a variância global de cada variável espectral. Esse procedimento é especialmente útil quando as classes têm estruturas de variância semelhantes ou quando o tamanho da amostra é pequeno.⁷⁷ A LDA é um método paramétrico. Embora os dados espectrais geralmente não sigam uma distribuição normal, a LDA é robusta para tratar estatisticamente os dados gerados pela espectroscopia. Os problemas relacionados à natureza dos dados podem ser resolvidos pela aplicação da técnica da PCA antes da LDA, como no algoritmo PCA-LDA, onde a LDA é aplicada aos escores da PCA.⁷⁸

O algoritmo combinado PCA-LDA é comumente usado em estudos de diagnóstico de câncer. Ambas as técnicas são modelos lineares e supervisionados que geram novas variáveis chamadas fatores que são combinações lineares da soma do peso dos comprimentos de onda.⁷⁵ A PCA é inicialmente utilizada para reduzir a dimensão dos dados, preservando o máximo de variância explicada. O algoritmo PCA-LDA apresenta a vantagem de construir um modelo preditivo que pode ser utilizado para classificação de dados de vários grupos, reduzindo um conjunto de dados específico, embora demandando um método para calcular o número ótimo das componentes principais.⁵⁶

A análise discriminante quadrática (QDA) consiste em um algoritmo classificador, paramétrico, não linear, que assume classes de diferentes estruturas de variância. A QDA usa as matrizes de variância-covariância intraclases para o cálculo. O algoritmo assume que as variâncias intraclases são menores que as variâncias interclasses.⁷⁷

Já o algoritmo das projeções sucessivas (*Successive Projections Algorithm*, SPA) é uma técnica progressiva de seleção de variáveis, formando subconjuntos.⁷⁹ Começa com um comprimento de onda, ao qual é adicionado um novo comprimento de onda a cada interação, até que um número ótimo de comprimentos de onda seja atingido com a máxima diminuição da multicolinearidade.⁸⁰ Dessa forma, cada variável que representa um vetor durante a SPA possui uma projeção em um espaço ortogonal. As variáveis com as maiores projeções e menor colinearidade são selecionadas.⁸¹ Porém, o SPA pode selecionar variáveis com ruídos, por apresentarem uma correlação fraca, podendo resultar em um modelo com capacidades preditivas inadequadas. Entretanto, os picos não alteram significativamente quando uma pré-seleção ocorre. Diferentemente da PCA, o SPA não modifica o espaço de dados originais. Para solução de problemas de classificação o SPA tem sido associado à LDA (SPA-LDA), uma vez que ambas se propõem a solucionar problemas de classificação.⁷⁹

O algoritmo genético (*Genetic Algorithm*, GA), desenvolvido por John Holland em 1960,⁸² é uma técnica inspirada na teoria da evolução de Darwin. Nessa analogia, cada indivíduo representa uma possível solução, enquanto as variáveis assumem o papel de “genes” que formam um “cromossomo”. Esse cromossomo é avaliado quanto a sua viabilidade, essencialmente quanto a sua capacidade de gerar previsões ótimas. O algoritmo abrange várias etapas fundamentais: avaliação, seleção, recombinação, mutação e reinserção compondo uma simulação do conceito de mutação genética.⁸² Os cromossomos representam subconjuntos de variáveis.⁸³ No processo de seleção, cada variável é avaliada por meio de uma função matemática, chamada de função de aptidão, que determinará se uma variável de maior valor será copiada e a de menor valor será eliminada. Após a etapa de seleção, operadores genéticos são aplicados probabilisticamente. No momento da mutação, uma variável não selecionada pode tornar-se selecionada e vice-versa e na etapa de cruzamento ocorrem novas combinações. No final o subconjunto com melhores variáveis é selecionado.^{56,75}

Semelhante à SPA, o GA também não modifica o espaço dos dados originais. É um método robusto, para a redução da dimensionalidade, com a capacidade de encontrar as variáveis que contribuem mais para o desenvolvimento dos modelos. O GA pode ser aplicado em modelos de regressão, desempenhando o papel de seleção de variáveis. Além disso, pode ser utilizado como uma ferramenta para a seleção de variáveis para classificação com a LDA, conhecida como GA-LDA.^{56,84} Ademais, o LDA melhora o resultado quando opera em conjunto com outras técnicas que reduzem o tamanho dos dados.⁸⁰

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo caso-controle de acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional para o diagnóstico do câncer de endométrio.

3.2 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob o parecer n. 5.189.427, em 29 de dezembro de 2021, CAAE – 53034321.0.0000.0121 (Anexo A).

Após a aprovação, as participantes que concordaram em participar do estudo foram informadas sobre os objetivos da pesquisa e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) em obediência à Resolução CNS n. 466/12 (Apêndice A).

3.3 LOCAL DO ESTUDO

Os dados foram coletados no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU/EBSERH-UFSC) e as análises espectroscópicas foram analisadas no Instituto de Química, no Departamento de Química Inorgânica e no Instituto de Física da Universidade Federal do Rio grande do Sul (UFRGS).

3.4 PARTICIPANTES

O estudo incluiu uma amostra consecutiva de pacientes encaminhadas para tratamento cirúrgico de câncer de endométrio, para a ressecção histeroscópica de pólipos endometriais e para histerectomia por prolapso uterino.

As pacientes foram convidadas pela autora principal para participar do estudo no dia da admissão para a realização de seus respectivos procedimentos. As pacientes que concordaram em participar do estudo, segundo o TCLE, foram incluídas na amostra do estudo.

A coleta foi realizada no período entre fevereiro de 2022 a setembro de 2023.

3.4.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram: pacientes pós-menopausa, com idade superior ou igual a 55 anos.

Não foram incluídas as pacientes que realizaram tratamento clínico, cirúrgico, radioterápico ou quimioterápico para neoplasia endometrial ou outros tumores nos últimos 10 anos; aquelas que realizaram transfusão sanguínea prévia; e pacientes imunossuprimidas.

3.4.1.1 Critério de inclusão e exclusão para o grupo neoplasia

O grupo foi composto por mulheres que apresentavam diagnóstico confirmado, por estudo histopatológico, de CE ou HA/NIE. Foi reavaliada a histopatologia da peça cirúrgica de cada participante. Caso não confirmada a lesão, a paciente foi excluída do estudo.

3.4.1.2 Critério de inclusão e exclusão para o grupo pólipos endometrial

Mulheres com presença de pólipo endometrial na avaliação histeroscópica e biópsia da lesão, foram incluídas neste grupo. Após a ressecção do pólipo, a amostra foi analisada por estudo histopatológico. No caso de diagnóstico de NIE ou CE, a paciente foi alocada no grupo neoplasia.

3.4.1.3 Critérios de inclusão e exclusão do grupo controle

Participantes do ambulatório de uroginecologia do HU/EBSERH-UFSC com indicação de histerectomia por prolapso genital. As pacientes estavam na pós-menopausa e não apresentavam sangramento uterino anormal. Todas realizaram USGTV com eco endometrial menor ou igual a 4mm e a histologia das peças cirúrgicas confirmaram atrofia endometrial.

3.4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas as participantes que apresentaram as seguintes alterações no estudo anatomopatológico: presença de outros tumores, como cervicais e ovarianos, diagnosticados na análise histopatológica da peça cirúrgica; diagnóstico prévio de HA/NIE com a lesão totalmente ressecada no procedimento cirúrgico prévio, não sendo possível confirmar no estudo histopatológico do útero na época da coleta da amostra sanguínea.

3.5 CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

O cálculo do tamanho amostral foi realizado para a comparação de duas amostras (casos e controles), considerando um risco relativo de 7,93,⁷ um erro tipo I de 5% e um poder de 80%. Com base nesses critérios, a amostra estabelecida foi de 17 indivíduos em cada grupo.

3.6 QUESTIONÁRIO

As participantes responderam a um questionário durante uma entrevista presencial conduzida por um médico do Serviço de Ginecologia do HU/EBSERH-UFSC (Apêndice B). O questionário incluiu dados demográficos, características do sangramento e fatores de risco e proteção para o CE: idade, IMC, idade da menarca e menopausa, hipertensão arterial sistêmica (HAS), DM, dislipidemia, tabagismo, uso de terapia hormonal (estrogênio, progestágeno e formulações combinadas) e histórico familiar de câncer.

3.7 TESTE DE REFERÊNCIA

O teste de referência utilizado foi o estudo histopatológico do endométrio.

3.8 TESTE DE ÍNDICE

3.8.1 Coleta de sangue e análise por espectroscopia vibracional

Duas amostras de 8 mililitros (mL) de sangue foram coletadas por punção de veia em membro superior em tubos contendo o anticoagulante ácido

etilenodiaminotetracético (*ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA). As amostras foram coletadas antes da indução anestésica e imediatamente centrifugadas a 2000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos. O plasma foi dividido em 10 alíquotas de 1mL e armazenado em 10 tubos *Eppendorf*® (aproximadamente 1 mL cada tubo). As amostras foram mantidas a menos 80°C até a análise. Os tubos foram transportados para o Instituto de Química da UFRGS por empresa especializada em transporte de material biológico a fim de manter a temperatura estável até a análise.

3.8.2 Análise espectral por ATR-FTIR

Os dados espectrais foram coletados com um espectrofotômetro modelo Cary 630 FTIR, equipado com uma célula de ATR com cristal de diamante da *Agilent Technologies* (Santa Clara, CA, EUA) e laser de hélio/neônio. As amostras foram descongeladas à temperatura ambiente por 30-40 min antes do início dos testes. Os espectros foram gerados em uma faixa entre 800 e 1900 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras. Após a aquisição de um lote de amostras, o cristal de diamante foi limpo usando hexano e ácido propílico, e, em seguida, seco. Além disso, um espectro de fundo foi obtido após a análise de cada amostra para levar em conta quaisquer mudanças nas condições de fundo.⁵⁶

3.8.3 Análise espectral Raman

As análises de espectroscopia Raman foram obtidas no LabRAM HR Evolution (*Horiba Scientific*). Para a obtenção dos espectros uma alíquota de 50 microlitro (μL) da amostra foi depositada sobre papel alumínio e as análises foram obtidas focalizando a objetiva sobre a gota. Foi utilizada uma lente objetiva 10x com abertura numérica 0,25 e fonte de excitação 532 nm (potência na amostra de 15 mW). Os espectros foram obtidos com 2s de aquisição e 15 acumulações por espectro obtidos numa faixa de 800 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} , tendo em vista não haver sinal Raman espectral fora desta faixa espectral. Para cada paciente dois espectros foram obtidos em diferentes alíquotas da amostra.⁶²

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.9.1 Variáveis demográficas

Foram realizadas estatísticas descritivas para sumarizar as variáveis das características epidemiológicas das pacientes.

3.9.2 Processamento de dados e análise multivariada dos dados experimentais

Os cálculos quimiométricos foram realizados no ambiente MATLAB® versão 7.1.0 (The MathWorks Inc., MA, EUA). Os modelos de classificação LDA, com seleção de variáveis através do algoritmo GA, foram desenvolvidos usando a VS TOOLBOX, uma caixa de ferramentas caseira desenvolvida pelo grupo do Instituto de Química da UFRGS.⁸⁵ A divisão das amostras para a construção dos modelos foi realizada pelo algoritmo Kennard–Stone.⁸⁶ As amostras foram selecionadas para o conjunto de treinamento (10 controles, 12 neoplasias e 16 pólipos endometriais) e 18 amostras foram selecionadas para o conjunto de teste (5 controles, 6 neoplasias e 7 pólipos endometriais).

Para construir os modelos LDA, os dados foram centralizados pela média. A centralização pela média envolve subtrair o espectro médio de cada espectro individual, resultando em espectros centrados em torno de zero. A centralização pela média ajuda a remover deslocamentos de base e a focar nas variações dos dados.

Os modelos LDA para discriminação e seleção das variáveis mais significativas foram realizados pelo algoritmo GA. As configurações utilizadas para construir os diferentes modelos GA-LDA foram as seguintes: população de 100, 150 e 200; número de gerações de 200, 300 e 400; taxa de mutação de 10%; número máximo de variáveis selecionadas de 10; e taxa de cruzamento de 60%.

3.9.3 Métodos empregados nas análises Raman

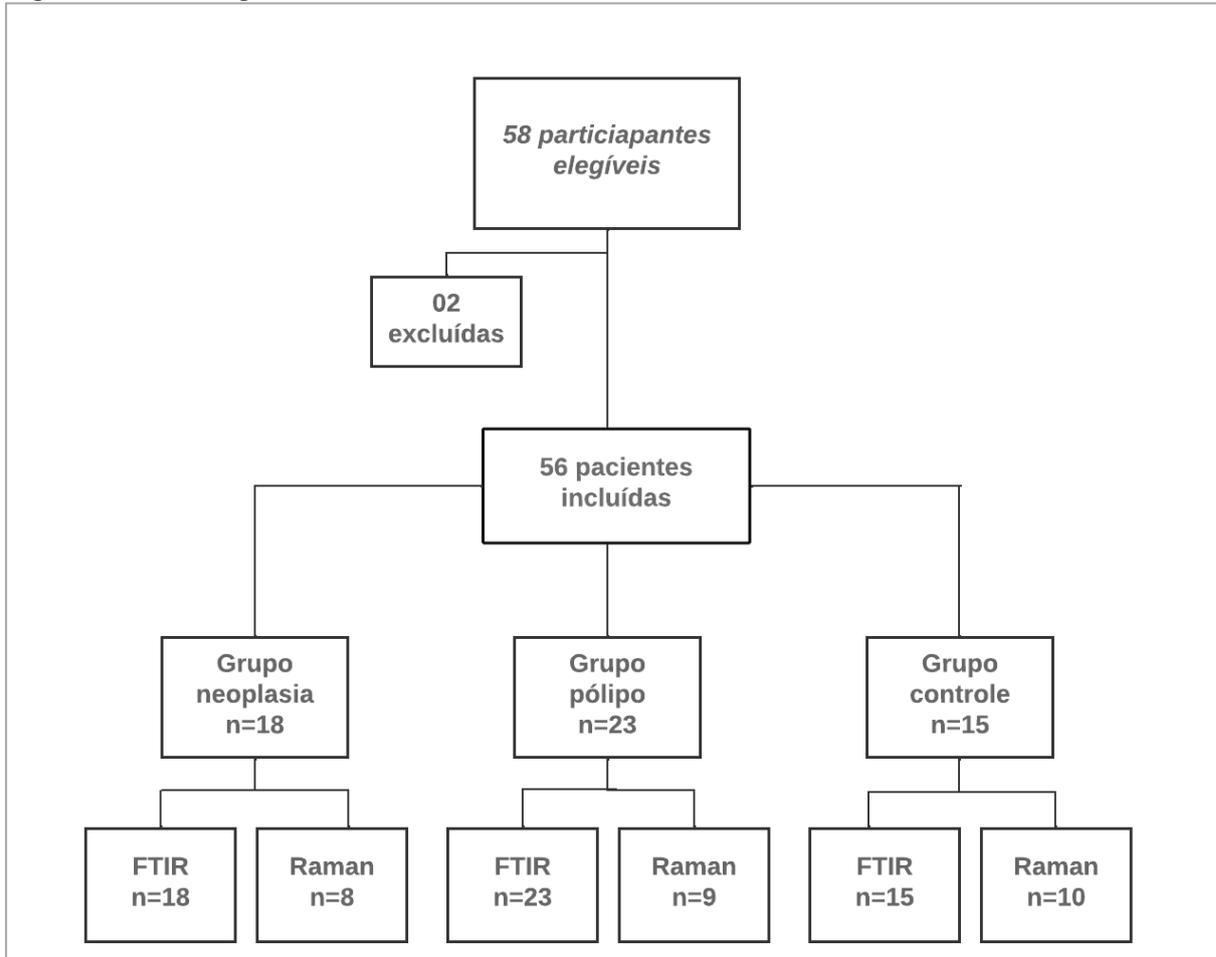
Para agrupar os diferentes grupos de amostras, foi usado o HCA. O PCA foi utilizado para plotar as amostras e avaliar visualmente as diferenças e semelhanças entre os grupos.

Para a aplicação do DD-SIMCA, os dados espectrais previamente tratados foram divididos em conjuntos de treinamento e teste utilizando o algoritmo Kennard-Stone.⁸⁶ O modelo DD-SIMCA, construído utilizando toolbox em ambiente MATLAB.⁸⁷

4 RESULTADOS

4.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Figura 5 – Fluxograma do estudo



Fonte: autora, 2024.

Nota: FTIR: espectroscopia no FTIR; Raman: espectroscopia Raman.

Foram excluídas duas pacientes com diagnóstico de HA/NIE no procedimento prévio e que o diagnóstico não foi confirmado na peça da histerectomia.

4.2 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Análise descritiva do perfil epidemiológico das participantes está demonstrada na Tabela 1.

Tabela 1 – Perfil epidemiológico das participantes

	Grupo		
	Neoplasia (n = 18)	Controle (n = 15)	Pólipo (n = 23)
Idade (anos) ^a	65,9 (5,7)	66,3 (5,1)	65,8 (5,2)
Idade da menarca (anos) ^b	12,0 (11,0 – 13,8)	12,0 (11,0 – 13,5)	13,0 (12,0 – 14,3)
Idade da menopausa (anos) ^b	50,5 (45,5 – 53,0)	50,0 (46,5 – 50,5)	50,0 (48,8 – 52,0)
Escolaridade (anos de estudo) ^b	4,0 (4,0 – 9,5)	6,5 (4,0 – 10,3)	8,0 (4,0 – 9,5)
IMC (Kg/m ²) ^b	34,4 (30,7 – 40,0)	30,1 (26,9 – 33,3)	31,2 (26,4 – 35,8)
	n (%)		
IMC Classes			
Eutrofia	1 (1,7)	3 (5,4)	2 (3,6)
Pré-obesidade	3 (5,4)	4 (7,1)	8 (14,3)
Obesidade classe 1	6 (10,7)	6 (10,7)	7 (12,5)
Obesidade classe 2	3 (5,4)	2 (3,6)	4 (7,1)
Obesidade classe 3	5 (8,9)	0 (0,0)	2 (3,6)
Cor			
Preta	5 (8,9)	1 (1,8)	0 (0,0)
Branca	12 (21,4)	12 (21,4)	20 (35,7)
Parda	1 (1,8)	2 (3,6)	3 (5,4)
Comorbidades			
HAS			
Sim	13 (23,2)	7 (12,5)	22 (39,3)
Não	5 (8,9)	8 (14,3)	1 (1,8)
DM			
Sim	7 (12,5)	2 (3,6)	9 (16,1)
Não	11 (19,6)	13 (23,2)	14 (25,0)
Tabagismo			

Sim	2 (3,6)	5 (8,9)	2 (3,6)
Não	16 (28,6)	10 (17,9)	21 (37,5)

Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Nota: ^avalores expressos em média e desvio padrão; ^bvalores expressos em mediana e intervalo interquartil (P₂₅₋₇₅).

Abreviaturas: IMC = índice de massa corporal; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM = diabetes mellitus.

As características do sangramento uterino pós-menopausa das participantes estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 – Características do sangramento pós-menopausa

Sangramento pós-menopausa	Neoplasia (n = 18)	Pólipo (n = 23)	Controle (n = 15)
Recorrente	18 (32,1)	13 (23,2)	0 (0,0)
Único	0 (0,0)	10 (17,9)	0 (0,0)
Sem sangramento	0 (0,0)	0 (0,0)	15 (26,8)

Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Nota: valores expressos em frequência absoluta e relativa.

A análise descritiva dos achados histopatológicos das peças cirúrgicas das participantes com neoplasia endometrial é demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Tipos histológicos das neoplasias endometriais

Histologia*	n (%)
Endometrióide baixo grau	11(61,1)
Endometrióide de alto grau	4 (22,2)
Carcinoma seroso	1 (5,5)
HA/NIE	2 (11,1)
Grau (tumoral)*	
Graus 1 ou 2	11 (61,1)
Grau 3*	5 (27,8)
NA	2 (16,6)
Estádio	
IA	7 (38,9)
IB	3 (16,6)
IIB	1 (5,5)
IIIA	2 (11,1)
IIIB	2 (11,1)
IVB	1 (5,5)
Não aplicável	2 (11,1)

Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Nota: valores expressos em frequência absoluta (n) e relativa (%).

* Grau III: Carcinoma endometrióide grau 3 e carcinoma seroso.

Abreviaturas: HA = hiperplasia atípica; NIE = neoplasia intraepitelial endometrial; NA = não aplicável.

Os dados sobre o histórico familiar de outras neoplasias são visualizados na Tabela 4.

Tabela 4 – Histórico familiar de neoplasias

Variáveis	Grupo		
	Neoplasia (n = 18)	Pólipo (n = 23)	Controle (n = 15)
CA Mama			
Sim	4 (7,1)	2 (3,6)	2 (3,6)
Não	14 (25,0)	21 (37,5)	13 (23,2)
CA Rim			
Sim	2 (3,6)	0 (0,0)	1 (1,7)
Não	16 (28,6)	23 (41,1)	14 (25,0)
CA Estômago			
Sim	2 (3,5)	1 (1,8)	1 (1,8)
Não	16 (28,6)	22 (39,3)	14 (25,0)
CA Intestino			
Sim	2 (3,6)	5 (8,9)	0 (0,0)
Não	16 (28,6)	18 (32,1)	15 (26,8)
CA Endométrio			
Sim	0 (0,0)	3 (5,4)	0 (0,0)
Não	18 (32,1)	20 (35,7)	15 (26,8)

Fonte: elaborada pela autora, 2024.

Nota: valores expressos em frequência absoluta e relativa.

Abreviatura: CA = Câncer.

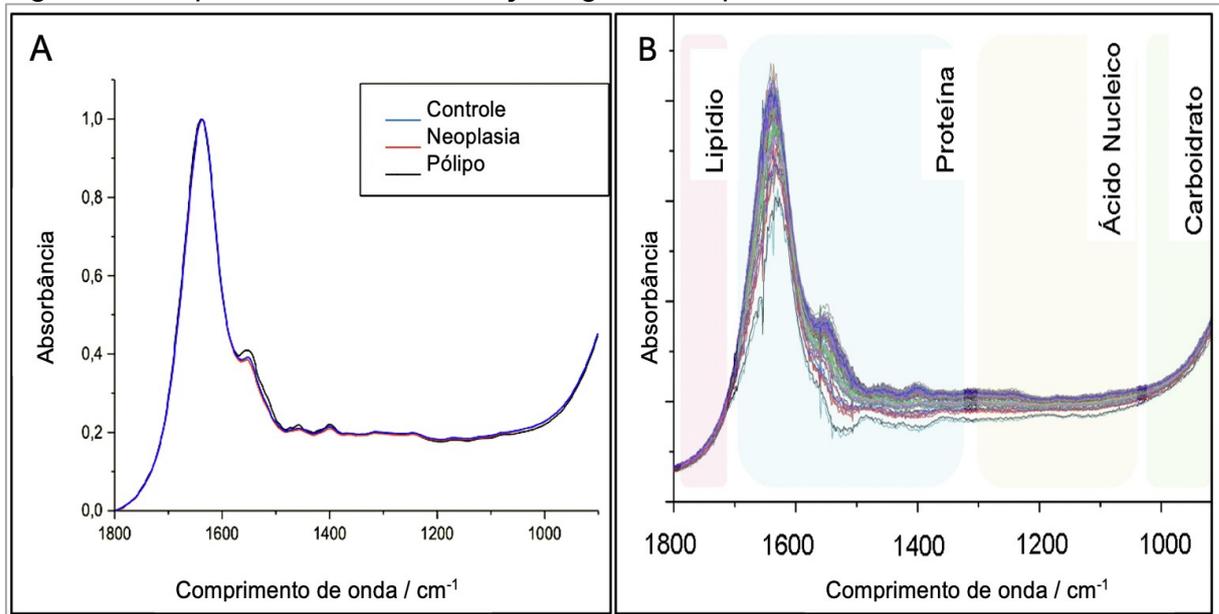
4.3 A APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E GA-DLA NO DIAGNÓSTICO DO CE.

O estudo utilizou a técnica da espectroscopia FTIR para examinar e diferenciar as variações espectrais entre as três classes de amostras.

A Figura 6 apresenta os espectros infravermelhos médios correspondentes a cada grupo de amostras (A) e o conjunto de espectro sem tratamento (B). A Figura 6 também apresenta de modo geral as atribuições por faixa espectral esperadas para as amostras analisadas. A faixa espectral de 1300 a 900 cm^{-1} corresponde às oscilações de grupos funcionais como PO_2^- , CH_2 , C-O e C-C, presentes em proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e carboidratos. Já a faixa espectral entre 1800 e 1500 cm^{-1}

inclui a amida I, amida II e lipídios, fornecendo principalmente informações sobre o conteúdo proteico e suas estruturas secundárias, conforme a Figura 6 B.

Figura 6 – Espectros FTIR e atribuições gerais do pico biomolecular



Fonte: autora, 2024.

Abreviaturas: FTIR = infravermelho por transformada de Fourier.

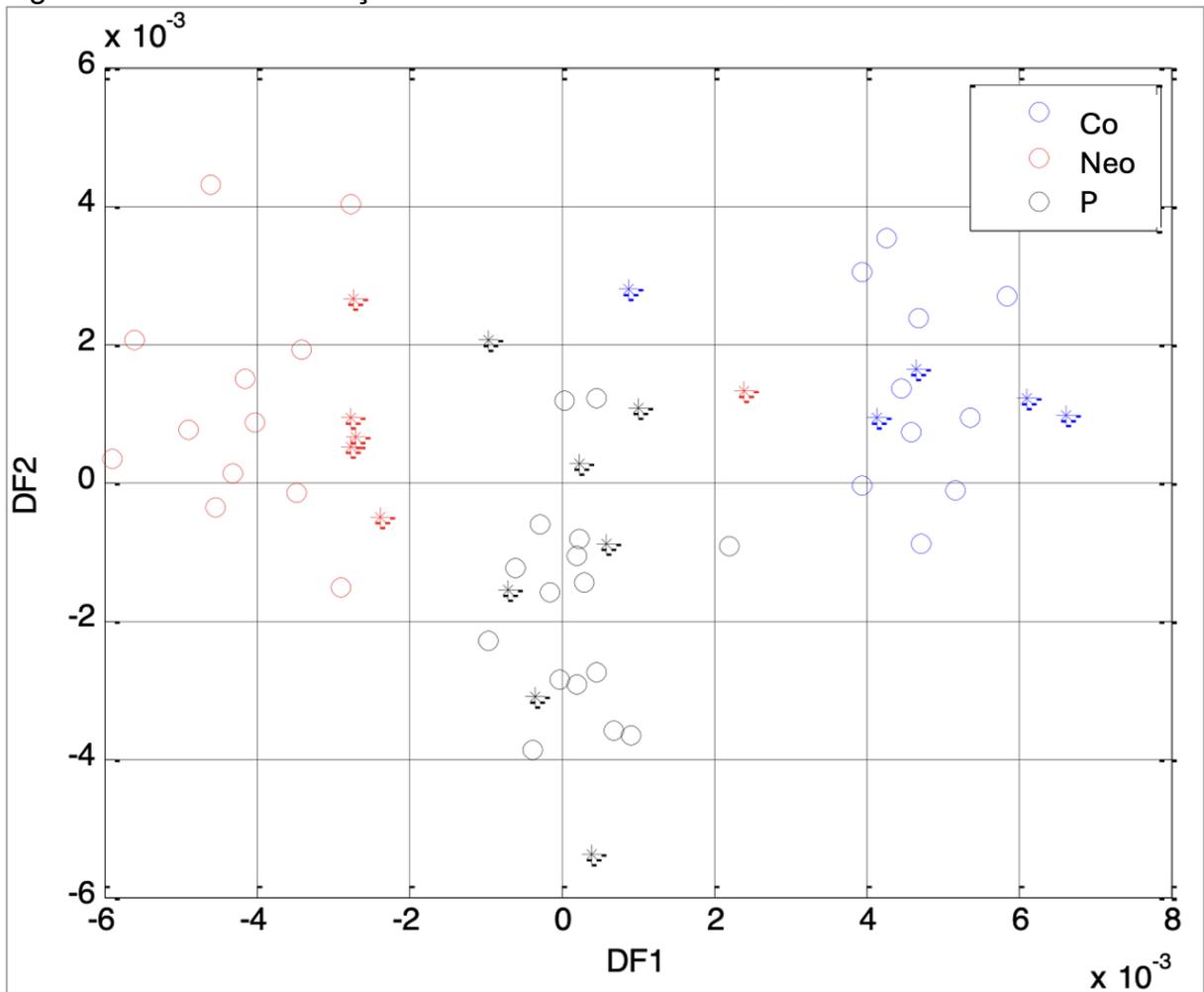
Nota: A = espectros médios; B = espectros brutos.

Tanto o grupo controle quanto o grupo CE exibem alterações semelhantes dentro de uma faixa compartilhada em seus espectros de IV. As variações no espectro de IV entre os grupos são quase idênticas, não permitindo discernir diferenças por uma simples inspeção dos espectros.

O emprego do modelo GA-LDA, melhor modelo selecionado, utilizou os seguintes parâmetros: 100 populações, 300 gerações, máximo de 10 variáveis e taxas de mutações e cruzamento de 10% e 60 %, respectivamente.

O modelo GA-LDA exibe funções discriminantes demonstradas no gráfico (Figura 7). A função discriminante 1 (DF 1) foi a mais importante na separação de classes, com as amostras do controle localizadas na direita (valores DF 1 positivo), as amostras da neoplasia localizadas na esquerda (valores DF1 negativos) e do pólo endometrial no centro. Quanto à função discriminante 2 (DF 2), as classes controles e neoplasias estão presentes no topo (valores DF 2 positivo), enquanto a classe pólo está presente na base (valores DF 2 mais negativo).

Figura 7 – Gráfico de função discriminante do modelo GA-LDA



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: GA = algorítmico genético; LDA = análise discriminante linear; DF = função discriminante; Co = controle; Neo = neoplasia; P = pólipo endometrial.

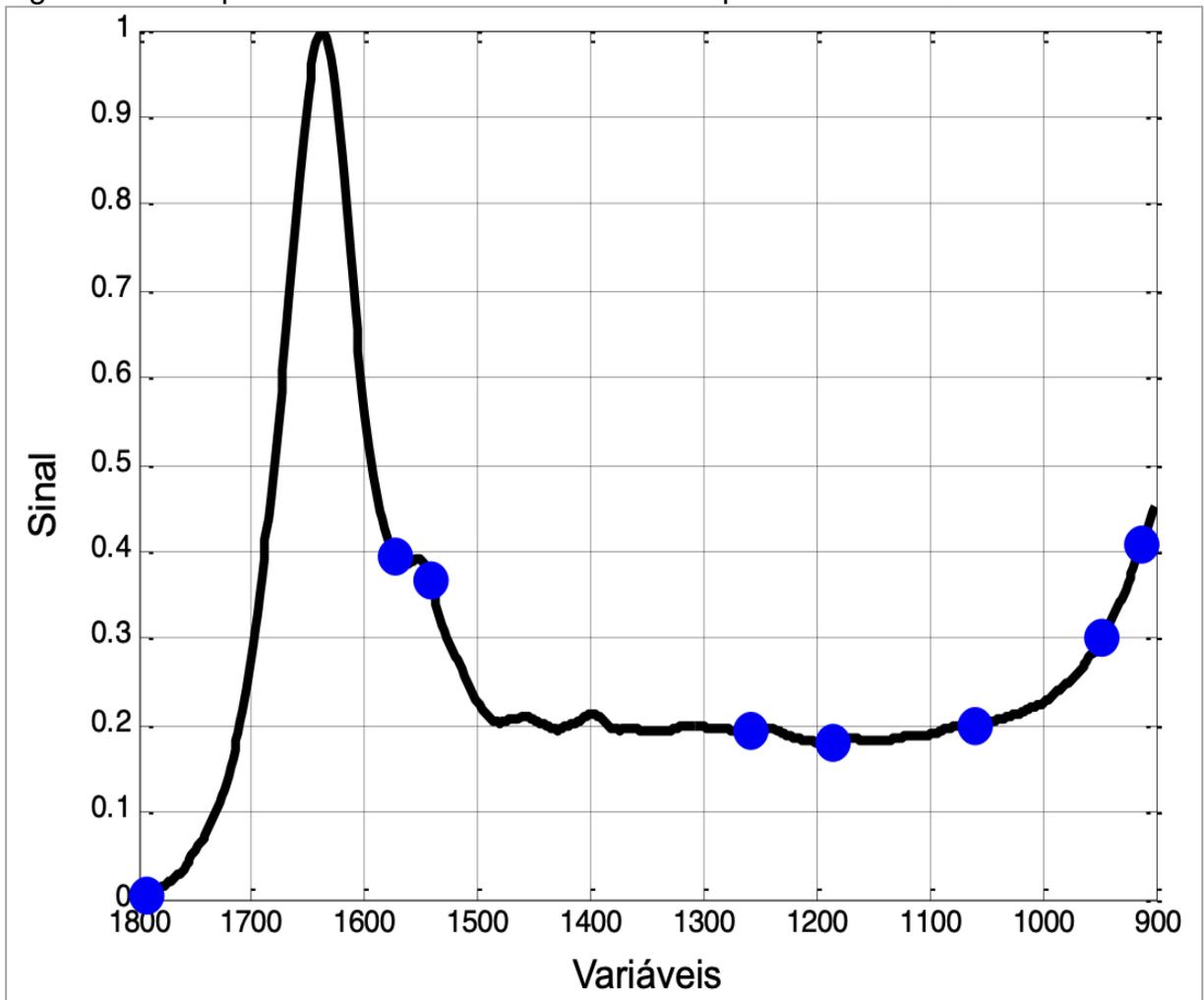
Nota: círculos representam amostras de treinamento; estrelas representam testes.

Quanto as métricas para validação e validação cruzada na construção do modelo quando calculadas, os valores de acurácia, sensibilidade e especificidade foram todos 100%. Para as amostras de teste, o geral da acurácia foi de 91%. A classe controle apresentou uma sensibilidade e especificidade de 80% e 92%, respectivamente. A classe neoplasia apresentou uma sensibilidade e especificidade de 83% e 100%, respectivamente. Enquanto a classe pólipo endometrial apresentou uma sensibilidade e especificidade de 100% e 91%, respectivamente.

Na construção do modelo GA-LDA foram selecionadas 8 variáveis (1794, 1542, 1259, 1186, 1061, 948, 912 cm^{-1}) demonstradas na Figura 8. Conforme apresentado nos gráficos de Fischer, considerando os pesos que estes modos apresentam na classificação de amostras (Figura 9A e 9B), pode-se observar que as

variáveis 1794, 1259 e 912 cm^{-1} foram responsáveis pela separação das amostras dos controles, enquanto as variáveis 1186, 1061 e 948 cm^{-1} foram representativos para as amostras das neoplasias. As variáveis mais significantes no grupo pólipó são 1794, 1259, 1186 e 948 cm^{-1} .

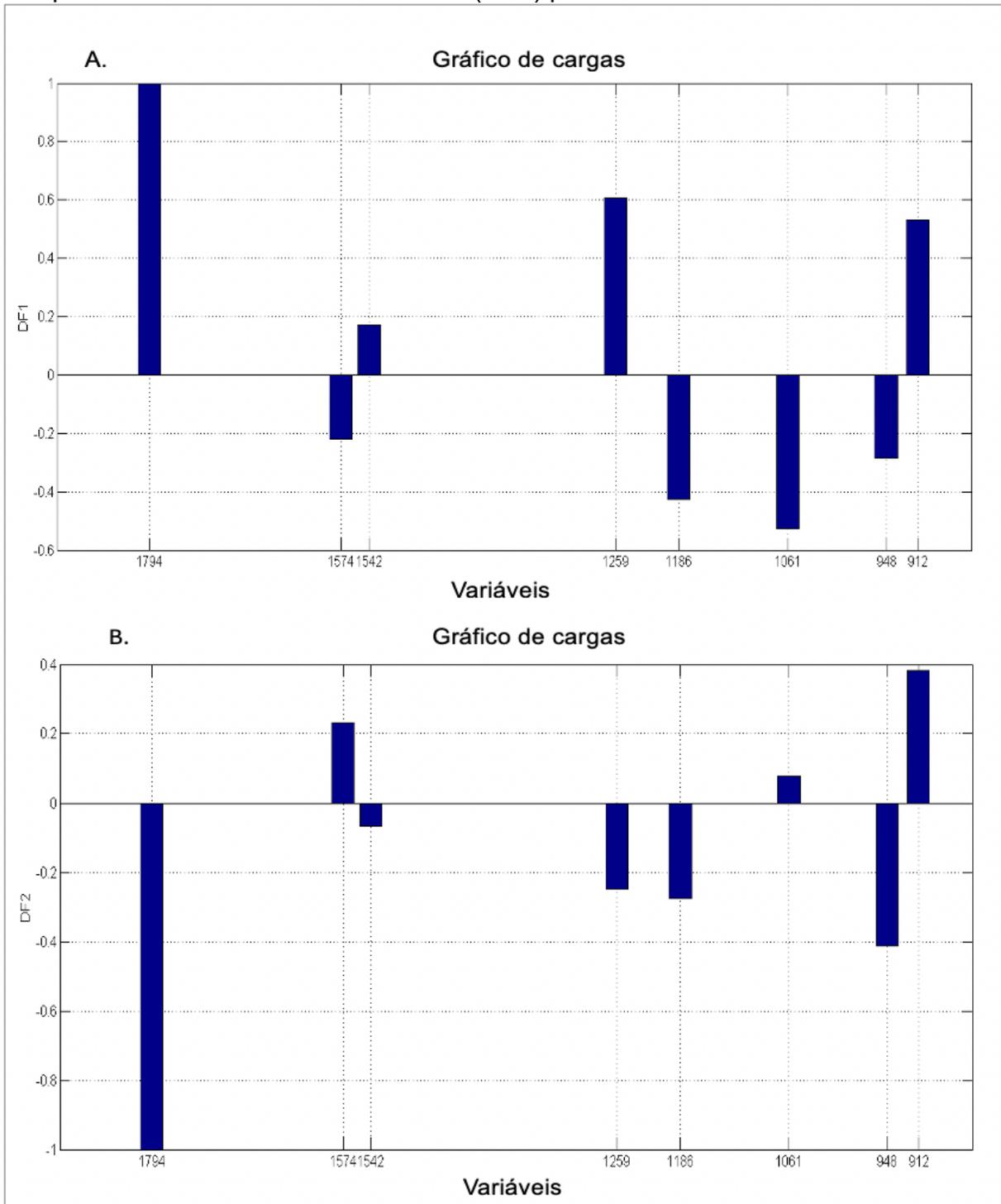
Figura 8 – Comprimentos de onda mais relevantes para o modelo GA-LDA.



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: GA= algorítmico genético; LDA=análise discriminante linear.

Figura 9 – Pesos fatoriais de Fisher (Cargas de Fisher) com a seleção dos comprimentos de onda mais relevantes (cm^{-1}) para o melhor modelo GA-LDA.



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: GA= algorítmico genético; LDA=análise discriminante linear; DF=função discriminante.

Nota: A. Função discriminante 1; B. Função discriminante 2.

Buscando entender a resposta do algoritmo nas classificações dos grupos relacionados a composição química das amostras, a Tabela 5 apresenta atribuições

para os modos vibracionais identificados pelo GA-LDA como os mais relevantes para diferenciar as amostras entre aquelas com e sem câncer.

Tabela 5 – Atribuições das características espectrais do FTIR, derivado da literatura.⁸⁸

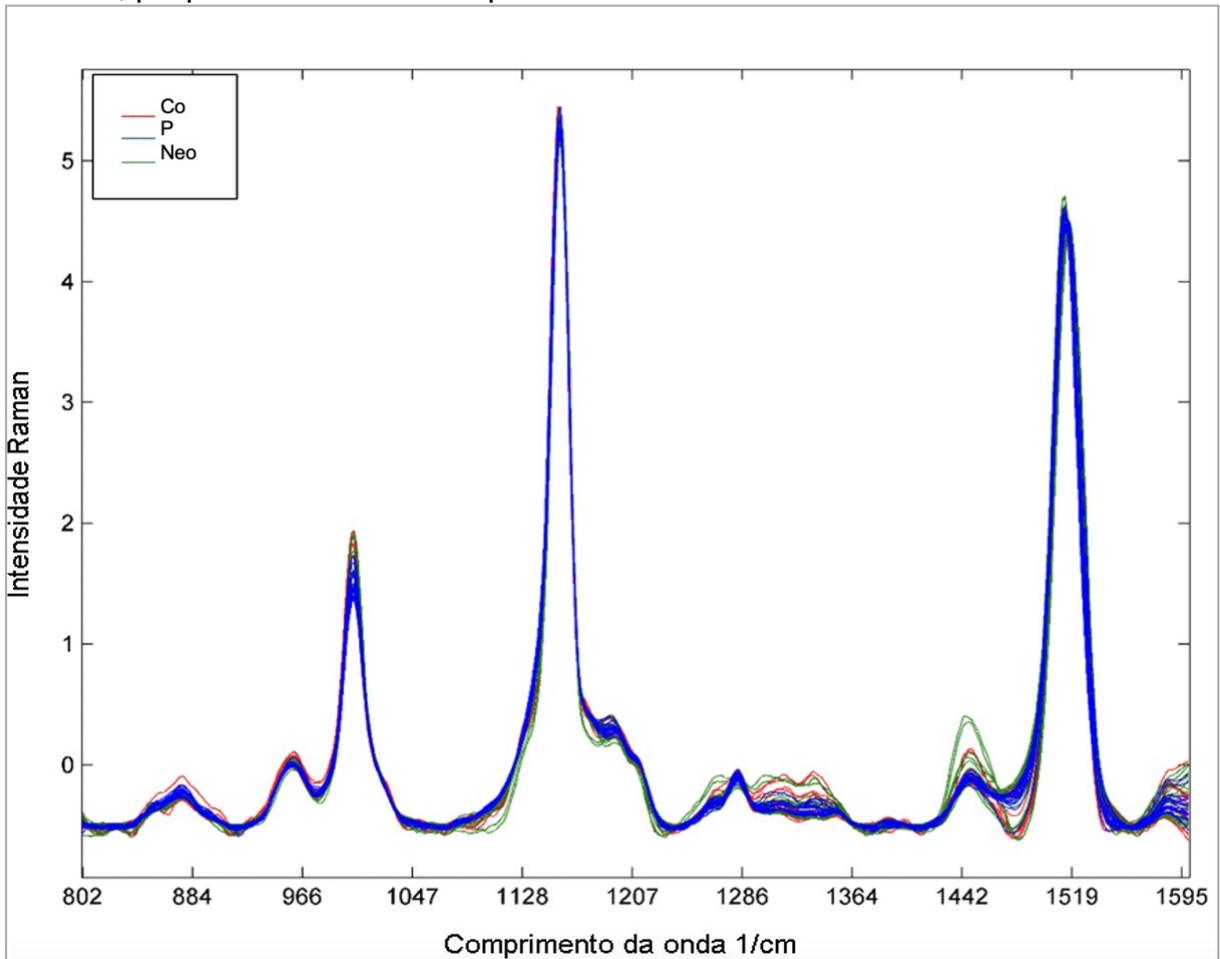
Pico	Atribuições
912 cm ⁻¹	Região de bandas de estiramento de fosfodiéster (para absorbâncias devido a colágeno e glicogênio)
948 cm ⁻¹	Carotenoides
1061 cm ⁻¹	Estiramento simétrico de PO ₂ ⁻ em ácidos nucleicos
1186 cm ⁻¹	CH ₂ , Desoxirribose
1259 cm ⁻¹	PO ₂ ⁻ Estiramento assimétrico em ácidos nucleicos
1542 cm ⁻¹	Absorção de Amida II (principalmente uma curva de N-H acoplada a um modo vibracional de estiramento C-N)
1574 cm ⁻¹	C=N adenina
1794 cm ⁻¹	(C=C) estiramento dos lipídeos

Fonte: adaptado pela autora, 2024.

4.4 ESTUDO EXPLORATÓRIO ALIANDO ESPECTROSCOPIA RAMAN E MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA CLASSIFICAÇÃO DE CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

Os dados obtidos pela espectroscopia Raman foram inicialmente suavizados com filtro Savitzky-Golay e normalizados por SNV. A Figura 10 apresenta os espectros Raman suavizados e normalizados das amostras.

Figura 10 – Espectros Raman suavizados e normalizados das amostras do grupo controle, pólipos endometriais e neoplasia

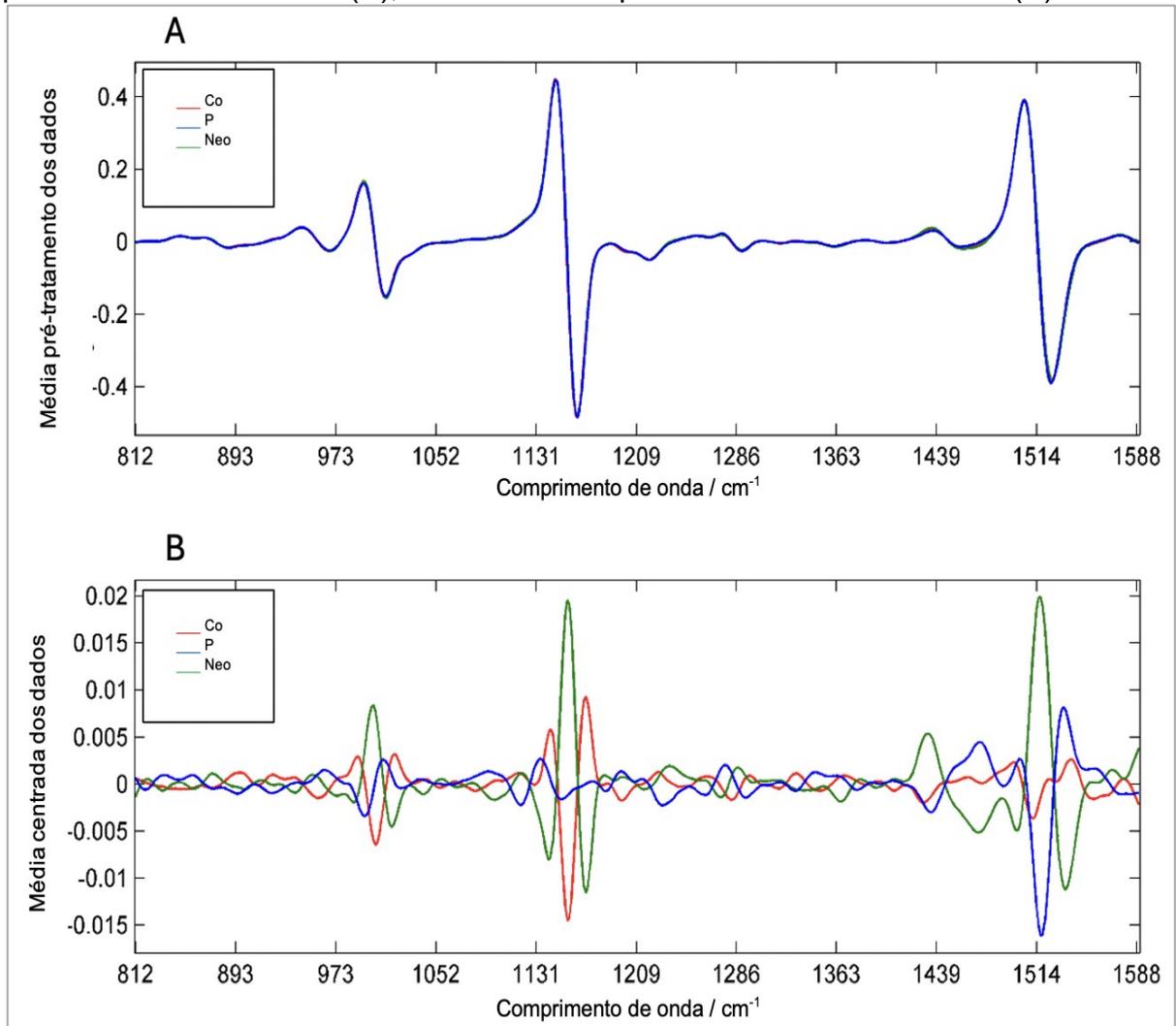


Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: Co = controle; P = pólipo; Neo = neoplasia.

A primeira derivada de Savitzky-Golay foi aplicada (polinômio de 2ª ordem, janela de 13 pontos) e os dados foram posteriormente centrados na média. O espectro médio das amostras, tratados, podem ser visualizados na Figura 11 (11A e 11B).

Figura 11 – Espectros Raman médio das amostras biológicas após a aplicação da primeira derivada de SG (A), e média dos espectros centrados na média (B).



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: Co = controle; P = pólipo; Neo = neoplasia.

A Tabela 6 demonstra as correlações das atribuições das bandas Raman e seus respectivos modos vibracionais, correlacionando-os aos dados da literatura.⁸⁹

Tabela 6 – Atribuições das bandas Raman dos componentes majoritários do sangue humano e seus respectivos modos vibracionais.

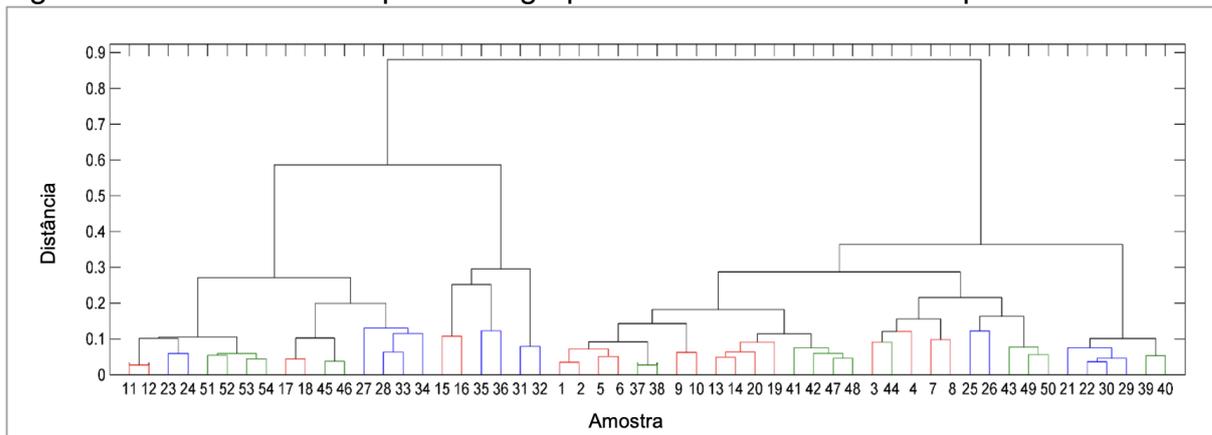
Número de onda	Modo Vibracional	Componente
1003	Respiração do anel aromático	Fenilalanina
1076	Vibração (C–O)	Ácido láctico
1124	CH ₃ <i>rocking</i> , vibração (C-O), estiramento assimétrico (C-O-C)	Lactato, polissacarídeos, grupo heme
1170	Estiramento (C-C)	Hemoglobina
1225	Rotação de spin (Fe), β-folha, vibração da ligação no plano C _m -H	Hemoglobina
1248	Amida III	Fibrina, Guanina, Citosina
1340	Ligação (C-H)	Triptofano
1374	Estiramento simétrico (CH ₃)	Grupo heme
1399	Estiramento assimétrico (C=N)	Grupo heme
1449	Ligação (CH ₂ ,CH ₃)	Triptofano
1563	Estiramento e vibração do anel pirrólico, vibração (C _β C _β)	Hemoglobina
1580	Estiramento (C=C)	Grupo heme
1583	Ligação (C-H)	Hemoglobina

Fonte: adaptado pela autora, 2024.

Nota: subscritos β, representam os átomos de carbono na posição alfa, beta da porfirina.⁸⁹

Nos resultados da HCA (Figura 12) nota-se a formação de dois grupos principais: o primeiro grupo é formado majoritariamente por amostras do grupo neoplasia (verde) e grupo pólipó endometrial (azul) e um segundo agrupamento formado por amostras do grupo controle (vermelho). Ainda assim, observa-se a presença do grupo controle, cor vermelha, dispersa entre todos os grupos indicando que este modelo não está conseguindo uma boa classificação entre as amostras. Para isto passamos a utilizar a PCA para classificação inicial dos dados.

Figura 12 – Análise hierárquica de agrupamentos das amostras de plasma.

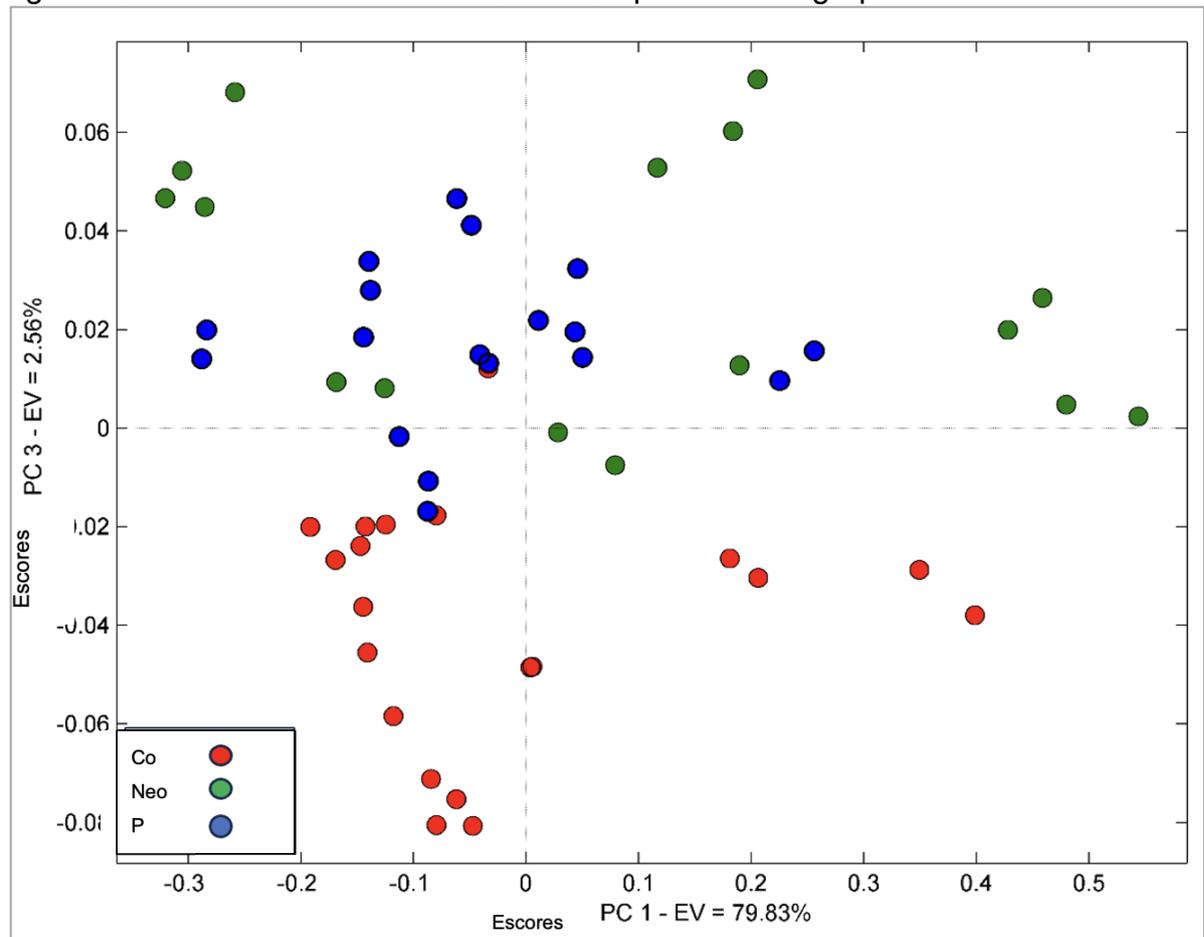


Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Nota: Em vermelho, amostras plasmáticas do grupo controle (vermelho), grupo neoplasia (verde) e o grupo pólio endometrial (azul).

Na Análise de Componentes Principais (PCA), as 3 primeiras componentes principais (PC) explicaram 95,08% da variância total dos dados. A Figura 13 apresenta o gráfico de escores da PC1 x PC3, no modelo cada ponto corresponde a uma amostra, ou seja, o espectro médio das três medidas obtidas. Observa-se que há uma tendência de separação das amostras controle na parte negativa das PC3, com somente uma amostra (ponto vermelho) no quadrante positivo. As amostras do grupo neoplasia e pólio endometrial ocupam o quadrante oposto indicando que o modelo não foi capaz de distinguir entre as amostras deste grupo.

Figura 13 – Gráfico dos escores PC1 x PC3 para os três grupos analisados



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: Co = grupo controle (vermelho); Neo = grupo neoplasia (verde); P = grupo pólipos (azul).

Para a aplicação do DD-SIMCA, os dados espectrais previamente tratados pela PCA foram divididos em conjuntos de treinamento e teste utilizando o algoritmo Kennard-Stone,⁸⁶ sendo que o conjunto de treinamento possui apenas amostras do grupo controle (AC). Já o conjunto de teste apresenta amostras dos demais grupos (pólipos, AP, e neoplasia, AN). A Tabela 7 apresenta o número de amostras em cada um dos grupos.

Tabela 7 – Número de amostras dos conjuntos de treinamento e teste utilizados no DD-SIMCA.

	Controle (AC)	Pólipos endometrial (AP)	Neoplasia (AN)	Total
Treinamento	15	-	-	15
Teste	5	18	16	39

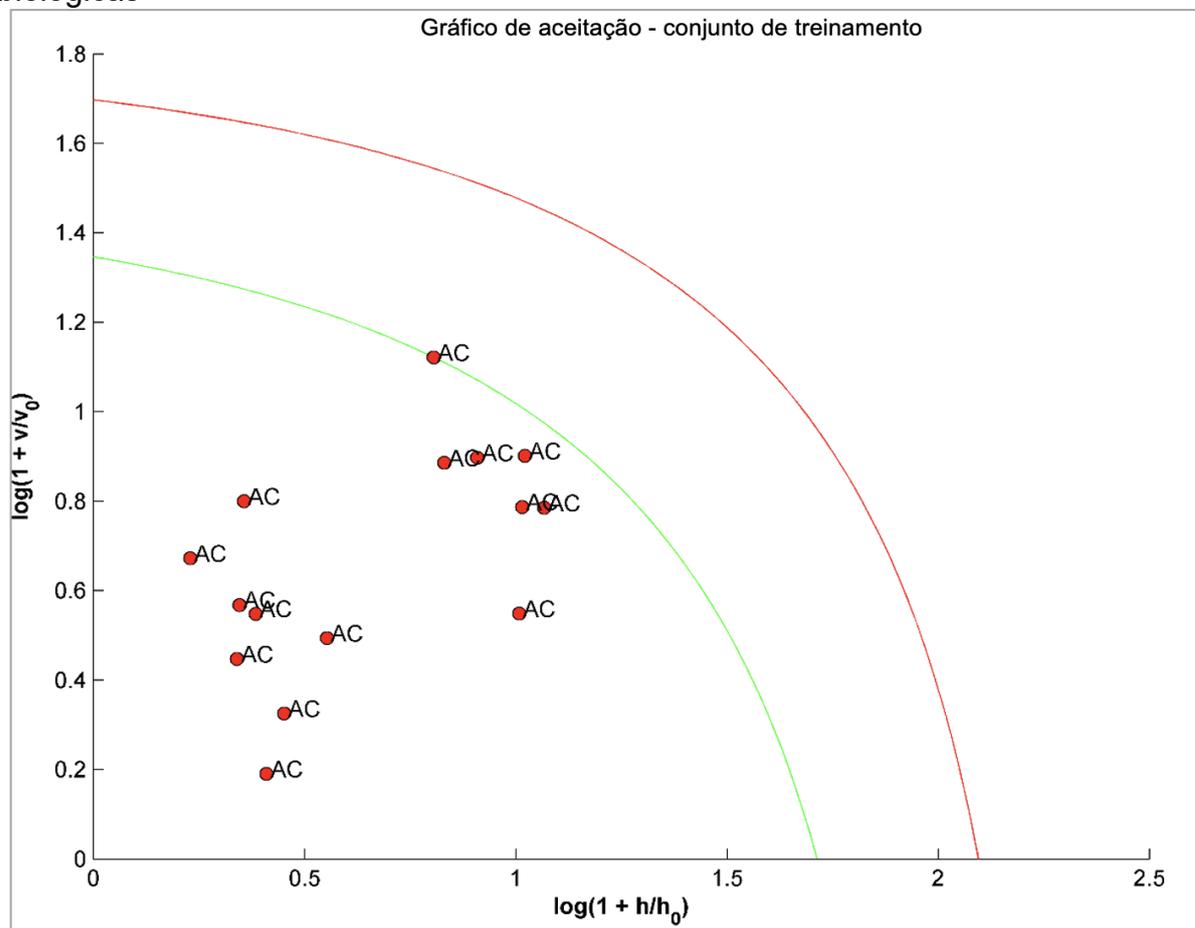
Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Abreviaturas: AC = amostras controle; AP = amostras pólipos; NA = amostras neoplasia.

O modelo DD-SIMCA, construído utilizando toolbox em ambiente MATLAB, considerando 4 componentes principais está ilustrado nas Figuras 14 (treinamento) e 15 (teste). Os resultados da classificação por DD-SIMCA são apresentados através da sensibilidade e especificidade.

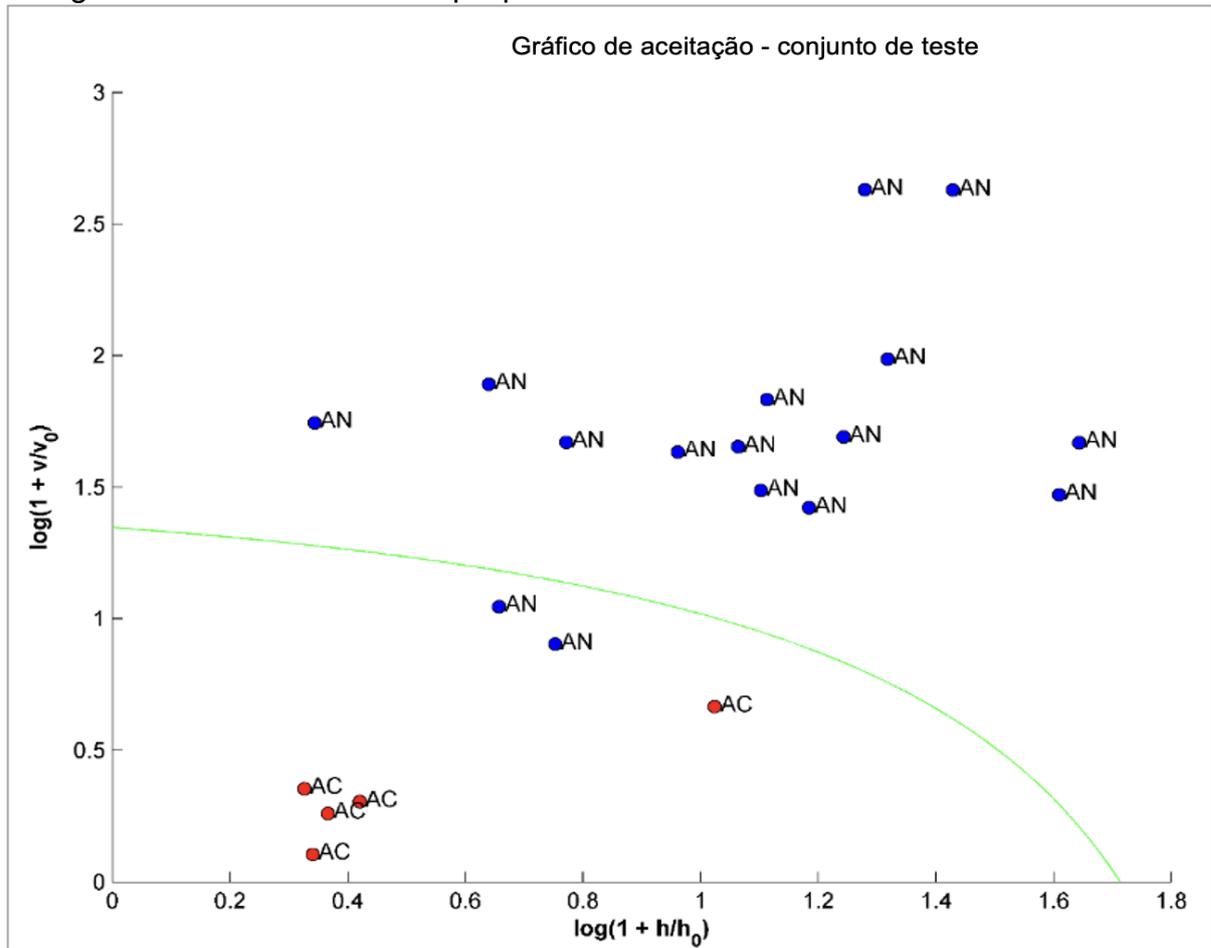
Tanto para o conjunto de treinamento quanto para o de teste, o modelo apresentou sensibilidade de 100%, reconhecendo todas as amostras do grupo controle (AC). Em relação a especificidade (Figura 15), observa-se o modelo classificou os grupos controle (AC) e pólipo (AP), separando-os do grupo neoplasia (AN).

Figura 14 – Gráfico de aceitação do conjunto de treinamento para as amostras biológicas



Fonte: elaborado pela autora, 2024.
Abreviatura: AC = Amostra controle.

Figura 16 – Gráfico de aceitação do conjunto de teste para a amostra de tecido biológico sem as amostras dos pólipos.



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Nota: Círculo vermelho - amostras controle; círculo azul: amostras neoplasia.

Abreviaturas: AC = amostra controle; NA = amostra neoplasia.

5 DISCUSSÃO

A espectroscopia vibracional aliada a métodos quimiométricos diferenciou o perfil bioquímico do plasma sanguíneo das pacientes com sangramento uterino anormal com neoplasias, pólipos endometriais e controles, abrangendo variáveis e modos vibracionais atribuídas as proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e carboidratos, ao invés de focar apenas em uma única proteína como biomarcador.

As características clínicas das pacientes e os fatores de risco foram registradas prospectivamente nos três grupos, a fim de evitar vieses e assegurar que as diferenças espectrais fossem atribuídas à neoplasia ou ao pólipo, e não a associações, como obesidade, DM e outros fatores de risco. Sabe-se que as proteínas e os mediadores inflamatórios desempenham importantes funções no organismo, capazes de sinalizar e potencializar o diagnóstico bioquímico de várias doenças.⁹⁰

O estudo mostrou que a análise por espectroscopia vibracional no IV associada ao modelo matemático GA-LDA identificou as variáveis espectrais que apresentaram um alto peso em diferenciar o perfil entre o grupo neoplasia e o controle, com sensibilidade de 80-83% e especificidade de 92 a 100% na classificação do grupo câncer. Ainda, como observado no gráfico de funções discriminantes foi possível distinguir efetivamente os grupos tendo o grupo pólipo numa posição intermediária entre os grupos controle e CE. Ao observarmos as variáveis mais relevantes do grupo pólipo, vimos que duas variáveis são também representativas do grupo neoplasia, 1186 e 948 cm^{-1} , atribuídos à CH_2 , desoxirribose, e aos carotenoides. Assim como, as outras duas são representativas do grupo controle, 1794 cm^{-1} e 1259 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento dos lipídios ($\text{C}=\text{C}$) e ao estiramento assimétrico em ácidos nucleicos (PO_2^-). Como pressuposto, o pólipo endometrial apresenta características biológicas de um estímulo proliferativo, não maligno, comum às pacientes com os mesmos fatores de risco.⁹¹

O modo 1794 cm^{-1} característica de $\nu(\text{C}=\text{O})$, relacionada à frequência de estiramento da ligação carbono-oxigênio dos lipídios, é representativo dos grupos controle e pólipo, mas não do grupo neoplasia. Alterações na morfologia dos lipídios podem ser a causa deste comportamento, sugerindo que as amostras de neoplasia podem apresentar alguma variação morfológica. A análise das bandas amida I (1700-1600 cm^{-1}), amida II (1542 cm^{-1}), diferente da banda amida III, 1259 cm^{-1} (~1260 cm^{-1}), parece não demonstrar diferença entre os grupos, sugerindo que o comportamento

das proteínas não contribuiu para diferenciá-los.^{92,93} A heterogeneidade do CE pode ser a causa desse comportamento, confirmando a complexidade morfológica e molecular dos subtipos da doença.²⁹ Diferentemente, outros estudos que comparam grupos de cânceres mais agressivos, como o estágio IV da neoplasia de mama.⁹⁴ e do câncer de endométrio de alto grau (tipo II),⁹⁵ demonstraram na classe dos canceres, picos nas bandas Amida I e II.

Os picos vibracionais em 1259 cm^{-1} (PO_2^- , estiramento assimétrico de ácidos nucleicos) no grupo controle e 1061 cm^{-1} (PO_2^- , estiramento simétrico de ácidos nucleicos) no grupo CE, diferenciaram as amostras. A banda Amida III, que geralmente aparece na região de $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ no espectro de infravermelho, mais precisamente 1260 cm^{-1} , está associada a modos de vibração envolvendo principalmente deformações N-H e alongamentos C-N. Entretanto, o estiramento assimétrico do grupo fosfato (PO_2^-) em ácidos nucleicos também pode ocorrer nesta região, tornando possível a sobreposição de bandas. Donald C. Malins *et al.*,⁸⁸ que a mudança na vibração de alongamento do PO_2^- pode ser responsável por danos ao DNA no contexto do câncer de mama. No estudo de Paraskevaïdi *et al.*,⁹⁵ foi demonstrado uma diminuição do pico de absorbância nas variáveis de 1080 e 1057 cm^{-1} , correspondendo ao estiramento do PO_2^- simétrico dos ácidos nucleicos, observado também ao comparar os controles com estágios IA e NIE em estudos anteriores. Verifica-se uma distinção entre alongamento simétrico e assimétrico do PO_2^- quando se comparam diferentes grupos. As bandas 1261 e 1234 cm^{-1} diferenciaram o estágio I e o NIE do grupo controle, mas não diferenciaram o câncer mais avançado ou mais agressivo, entre os outros tipos histológicos menos agressivos.^{57,95}

Quanto a acurácia, sensibilidade e especificidade do modelo a amostra teste apresentou uma taxa de acurácia global de 91%, exibindo níveis de sensibilidade e especificidade superiores a 80%. Estes resultados, foram semelhantes ao observado no estudo que analisou a urina das pacientes com CE pela espectroscopia FTIR associado ao modelo matemático GA-LDA.⁹⁶ A LDA beneficia as classes que têm estruturas de variância semelhantes, o que geralmente acontece em ambientes biológicos complexos, ou quando o tamanho da amostra é limitado. Também, a LDA melhora os resultados quando associado a uma técnica que reduz o tamanho dos dados, como o GA.⁵⁶

Durante a fase de teste do modelo na análise Raman, o estudo apresentou uma baixa especificidade tendo em vista incluir parte do grupo pólipos com o grupo controle. No entanto, ao retirar o grupo pólipos a especificidade do modelo aumentou para 87,5%. Nesta análise, o estudo obteve uma melhor acurácia ao diferenciar os grupos câncer e o grupo controle, podendo no futuro beneficiar o diagnóstico diferencial de pacientes com CE. Porém, em se tratando da diferenciação entre CE e pólipos endometrial o modelo não foi capaz de realizar esta diferenciação. Alguns motivos podem ser levantados tanto quanto a limitação do modelo na classificação dos dados de espectros Raman obtidos, quanto a uma natureza mais complexa dos espectros Raman, que geralmente contêm picos amplos devido a um efeito conjunto, com contribuições decorrentes de todas as moléculas presentes na amostra, também explicando a maior especificidade.⁵⁴

Os aspectos positivos deste estudo foram: testar a espectroscopia vibracional pelos dois métodos mais usados no diagnóstico em biofluidos, FTIR e Raman; além disso, os diagnósticos dos grupos neoplasia e pólipos foram confirmados pela histeroscopia e biópsia orientada, seguidas por uma segunda análise histopatológica da peça cirúrgica; no grupo controle, todas as histerectomias confirmaram atrofia endometrial, assim como, nos casos de discordância histopatológica foi solicitada revisão de lâmina; e por fim, a amostra foi composta por uma corte de pacientes de risco, todas na pós-menopausa e com pacientes com sangramento pós-menopausa.

Este estudo apresentou algumas limitações como: o pequeno número de participantes; e não avaliar as amostras do tecido endometrial com a espectroscopia vibracional. Esta última fez parte do projeto inicial, porém não foi possível viabilizar devido às dificuldades técnicas. A análise espectroscópica do tecido endometrial também poderá contribuir com o diagnóstico precoce nas pacientes com câncer inicial, não invasivo e em pacientes com desejo de gestar, ajudando na ressecção da área tecidual afetada pela neoplasia preservando o tecido sadio.

Pesquisas futuras devem levar em consideração a concatenação entre os dados de espectroscopia no IV e da espectroscopia Raman para aumentar a acurácia diagnóstica do câncer de endométrio. Uma vez que as vibrações que são ativas no Raman, podem não ser ativas no IV e vice-versa. Essa diferença na sensibilidade pode influenciar a capacidade de fornecer informações detalhadas sobre grupos funcionais e ligações das moléculas em uma amostra.⁶⁴ Devido à baixa prevalência da doença, estudos multicêntricos são necessários para investigar possíveis

componentes relacionados às diferentes variáveis da espectroscopia no IV e aos modos vibracionais da espectroscopia Raman e por fim identificar biomoléculas associadas ao CE. É importante também destacar que os algoritmos e métodos quimiométricos geralmente se tornam mais robustos à medida que a quantidade e a diversidade das informações inseridas no modelo aumentam. Isso ocorre porque esses algoritmos aprendem e se ajustam melhor com o incremento da diversidade das amostras utilizadas como base para o modelo. Dessa forma, sua aplicação em contextos clínicos pode ser particularmente favorecida, uma vez que o modelo se tornará mais preciso e confiável com o tempo, beneficiando-se da ampliação contínua do banco de dados amostral.

6 CONCLUSÃO

A técnica de FTIR/GA-LDA identificou com alta sensibilidade e especificidade oito frequências vibracionais chaves que podem servir como potenciais biomarcadores. As frequências vibracionais 912, 948, 1061, 1186, 1259 e 1794 cm^{-1} apresentaram importante papel na diferenciação entre os grupos. O modelo forneceu alta sensibilidade e especificidade.

O estudo preliminar a partir das análises por espectroscopia Raman, através do método DD-SIMCA, foi possível fazer a distinção entre os grupos neoplasias e controle, mas não foi suficiente para uma boa distinção entre os três grupos quando juntos. De forma geral, o método proposto é uma alternativa para a triagem de amostras, visto que ele é bastante sensível para amostras de neoplasias, embora não tenham apresentado a mesma robustez que os modelos utilizados para os espectros FTIR.

FTIR e Raman apresentam grande potencial na aplicação de algoritmos diagnósticos aliados a prática clínica, oferecendo um diagnóstico sanguíneo, barato e pouco invasivo para o diagnóstico precoce do CE.

REFERÊNCIAS

1. International Agency for Cancer research. Global Observatory of Cancer [Internet]. World Health Organization; 2024 [cited 2024 Feb 26]. Available from: <https://gco.iarc.who.int/en>
2. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer Statistics, 2023. *CA A Cancer J Clinicians*. 2023; 73(1):17-48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tábuas Completas de Mortalidade [Internet]. [cited 2024 Feb 26]. Available from: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9126-tabuas-completas-de-mortalidade.html?=&t=notas-tecnicas>
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA A Cancer J Clinicians*. 2022; 72(1):7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
5. Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, Mukhopadhyay A, Powell ME, et al. Endometrial cancer. *Lancet*. 2022;399(10333):1412-1428. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00323-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00323-3)
6. Agnew H, Kitson S, Crosbie EJ. Interventions for weight reduction in obesity to improve survival in women with endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023;3(3):CD012513. Published 2023 Mar 27. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012513.pub3>
7. Clarke MA, Long BJ, Sherman ME, Lemens MA, Podratz KC, Hopkins MR, et al. A prospective clinical cohort study of women at increased risk for endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2020;156(1):169-177. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.09.014>
8. Suh-Burgmann EJ, Alavi M, Schmittziel J. Endometrial Cancer Detection During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *Obstet Gynecol*. 2020;136(4):842-843. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004087>
9. dos Reis FJC. Impact of COVID-19 Pandemic on Gynecologic Oncology Surgery in Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2021;43(11):803-804. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1741121>
10. COVIDSurg Collaborative. Elective surgery cancellations due to the COVID-19 pandemic: global predictive modelling to inform surgical recovery plans. *Br J Surg*. 2020;107(11):1440-1449. <https://doi.org/10.1002/bjs.11746>
11. da Silva RCF, Bahia LR, da Rosa MQM, Malhão TA, Mendonça EDP, Rosa RS, et al. Costs of cancer attributable to excess body weight in the Brazilian public health system in 2018. *PLoS One*. 2021; 16(3):e0247983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247983>

12. Raglan O, Kalliala I, Markozannes G, Cividini S, Gunter MJ, Nautiyal J, et al. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature. *Int J Cancer*. 2019;145(7):1719-1730. <https://doi.org/10.1002/ijc.31961>
13. Gentry-Maharaj A, Karpinskyj C. Current and future approaches to screening for endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2020;65:79-97. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.12.006>
14. MacKintosh ML, Derbyshire AE, McVey RJ, Bolton J, Nickkho-Amiry M, Higgins CL, et al. The impact of obesity and bariatric surgery on circulating and tissue biomarkers of endometrial cancer risk. *Int J Cancer*. 2019;144(3):641-650. <https://doi.org/10.1002/ijc.31913>
15. Clarke MA, Long BJ, Del Mar Morillo A, Arbyn M, Bakkum-Gamez JN, Wentzensen N. Association of Endometrial Cancer Risk With Postmenopausal Bleeding in Women: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2018;178(9):1210-1222. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2018.2820>
16. Clarke MA, Long BJ, Sherman ME, Lemens MA, Podratz KC, Hopkins MR, et al. Risk assessment of endometrial cancer and endometrial intraepithelial neoplasia in women with abnormal bleeding and implications for clinical management algorithms. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(4):549.e1-549.e13. . <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.03.032>
17. Epstein E, Fischerova D, Valentin L, Testa AC, Franchi D, Sladkevicius P, et al. Ultrasound characteristics of endometrial cancer as defined by International Endometrial Tumor Analysis (IETA) consensus nomenclature: prospective multicenter study [published correction appears in *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;52(5):684. <https://doi.org/10.1002/uog.20133>. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(6):818-828. <https://doi.org/10.1002/uog.18909>
18. Badrick E, Cresswell K, Ellis P, Crosbie P, Hall PS, O'Flynn H, et al. Top ten research priorities for detecting cancer early. *Lancet Public Health*. 2019;4(11):e551. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(19\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(19)30185-9)
19. Uglietti A, Buggio L, Farella M, Chiaffarino F, Dridi D, Vercellini P, et al. The risk of malignancy in uterine polyps: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;237:48–56. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.04.009>
20. Ghoubara A, Price MJ, Fahmy MSED, Ait-Allah AS, Ewies A. Prevalence of hyperplasia and cancer in endometrial polyps in women with postmenopausal bleeding: A systematic review and meta-analysis. *Post Reprod Health*. 2019;25(2):86–94. <https://doi.org/10.1177/2053369119833583>
21. Sasaki LMP, Andrade KRC, Figueiredo ACMG, Wanderley MDS, Pereira MG. Factors Associated with Malignancy in Hysteroscopically Resected Endometrial

Polyps: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Minim Invasive Gynecol.* 2018;25(5):777-785. <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2018.02.004>

22. Travaglino A, Raffone A, Saccone G, Mollo A, De Placido G, Insabato L, et al. Endometrial hyperplasia and the risk of coexistent cancer: WHO versus EIN criteria. *Histopathology.* 2019;74(5):676-687. <https://doi.org/10.1111/his.13776>

23. Emons G, Beckmann MW, Schmidt D, Mallmann P; Uterus commission of the Gynecological Oncology Working Group (AGO). New WHO Classification of Endometrial Hyperplasias. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2015;75(2):135-136. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1396256>

24. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol.* 2015;117(3):559-581 <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2015.11.013>

25. Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL, Giordelli G, Harter P, Joly F, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2022;33(9):860-877. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.05.009>

26. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983;15(1):10-17. [https://doi.org/10.1016/0090-8258\(83\)90111-7](https://doi.org/10.1016/0090-8258(83)90111-7)

27. Haltia UM, Bützow R, Leminen A, Loukovaara M. FIGO 1988 versus 2009 staging for endometrial carcinoma: a comparative study on prediction of survival and stage distribution according to histologic subtype. *J Gynecol Oncol.* 2014; 25(1):30-5. <https://doi.org/10.3802/jgo.2014.25.1.30>

28. Koskas M, Amant F, Mirza MR, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri: 2021 update. *Int J Gynaecol Obstet.* 2021;155 Suppl 1(Suppl 1):45-60. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13866>

29. Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C, Fotopoulou C, Gaffney D, Kehoe S, et al. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *Int J Gynaecol Obstet.* 2023;162(2):383-394. <https://doi.org/10.1002/ijgo.14923>

30. Levine DA. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013; 497(7447):67-73. <https://doi.org/10.1038/nature12113>

31. World Health Organization. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. [Internet]. [cited 2024 Apr 9]. Available from: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Female-Reproductive-Organs-2014>

32. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, Mileschkin LR, Mackay HJ, Leary A, et al. Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol*. 2020;38(29):3388-3397. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.00549>
33. alhouk A, McConechy MK, Leung S, Yang W, Lum A, Senz J, et al. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer: Molecular Classification of EC. *Cancer*. 2017;123(5):802-813. <https://doi.org/10.1002/cncr.30496>
34. Bartley AN, Mills AM, Konnick E, Overman M, Ventura CB, Souter L, et al. Mismatch Repair and Microsatellite Instability Testing for Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: Guideline From the College of American Pathologists in Collaboration With the Association for Molecular Pathology and Fight Colorectal Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2022;146(10):1194-1210. <https://doi.org/10.5858/arpa.2021-0632-CP>
35. Yang Y, Wu SF, Bao W. Molecular subtypes of endometrial cancer: Implications for adjuvant treatment strategies. *Int J Gynaecol Obstet*. 2024;164(2):436-459. <https://doi.org/10.1002/ijgo.14969>
36. Galant N, Krawczyk P, Monist M, Obara A, Gajek Ł, Grenda A, et al. Molecular Classification of Endometrial Cancer and Its Impact on Therapy Selection. *Int J Mol Sci*. 2024;25(11):5893. <https://doi.org/10.3390/ijms25115893>
37. Santoro A, Angelico G, Travaglino A, et al. New Pathological and Clinical Insights in Endometrial Cancer in View of the Updated ESGO/ESTRO/ESP Guidelines. *Cancers (Basel)*. 2021;13(11):2623. <https://doi.org/10.3390/cancers13112623>
38. Morrison J, Balega J, Buckley L, et al. British Gynaecological Cancer Society (BGCS) uterine cancer guidelines: Recommendations for practice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2022;270:50-89. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.11.423>
39. Heremans R, Van Den Bosch T, Valentin L, Wynants L, Pascual MA, Fruscio R, et al. Ultrasound features of endometrial pathology in women without abnormal uterine bleeding: results from the International Endometrial Tumor Analysis study (IETA3). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2022;60(2):243-255. <https://doi.org/10.1002/uog.24910>
40. Ferrando CA, Lintel MK, Bradley LD. Comparing endometrial biopsy results with hysteroscopic pathology in women presenting with abnormal and postmenopausal uterine bleeding. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2023;52(10):102685. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2023.102685>

41. Di Spiezio Sardo A, Saccone G, Carugno J, Pacheco LA, Zizolfi B, Haimovich S, et al. Endometrial biopsy under direct hysteroscopic visualisation versus blind endometrial sampling for the diagnosis of endometrial hyperplasia and cancer: Systematic review and meta-analysis. *Facts Views Vis Obgyn.* 2022;14(2):103-110. <https://doi.org/10.52054/FVVO.14.2.023>
42. Vitale SG, Buzzaccarini G, Riemma G, Pacheco LA, Di Spiezio Sardo A, Carugno J, et al. Endometrial biopsy: Indications, techniques and recommendations. An evidence-based guideline for clinical practice. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2023;52(6):102588. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2023.102588>. Epub 2023 Apr 13
43. Giampaolino P, Della Corte L, Di Filippo C, Mercurio A, Vitale SG, Bifulco G. Office hysteroscopy in the management of women with postmenopausal bleeding. *Climacteric.* 2020;23(4):369-375. <https://doi.org/10.1080/13697137.2020.1754389>
44. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood).* 2018;243(3):213-221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
45. Behrouzi R, Barr CE, Crosbie EJ. HE4 as a Biomarker for Endometrial Cancer. *Cancers (Basel).* 2021;13(19):4764. <https://doi.org/10.3390/cancers13194764>
46. Sala A, Anderson D, Brennan P, Butler H, Cameron J, Jenkinson M, et al. Biofluid diagnostics by FTIR spectroscopy: A platform technology for cancer detection. *Cancer Lett.* 2020;477:122-130. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.020>
47. Li L, Zhai H, Zhang Q, et al. Research on the Guiding Effect of CTCs on Postoperative Adjuvant Therapy for Patients with Early Stage Endometrial Cancer. *J Oncol.* 2022;2022:4327977. <https://doi.org/10.1155/2022/4327977>
48. Herrero C, de la Fuente A, Casas-Arozamena C, et al. Extracellular Vesicles-Based Biomarkers Represent a Promising Liquid Biopsy in Endometrial Cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(12):2000. <https://doi.org/10.3390/cancers11122000>
49. Zaman FY, Subramaniam A, Afroz A, Samoon Z, Gough D, Arulananda S, et al. Circulating Tumour DNA (ctDNA) as a Predictor of Clinical Outcome in Non-Small Cell Lung Cancer Undergoing Targeted Therapies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel).* 2023;15(9):2425. <https://doi.org/10.3390/cancers15092425>
50. Bloomfield J, Sabbah M, Castela M, Mehats C, Uzan C, Canlorbe G. Clinical Value and Molecular Function of Circulating MicroRNAs in Endometrial Cancer Regulation: A Systematic Review. *Cells.* 2022;11(11):1836. <https://doi.org/10.3390/cells11111836>

51. Schiemer R, Furniss D, Phang S, Seddon AB, Atiomo W, Gajjar KB. Vibrational Biospectroscopy: An Alternative Approach to Endometrial Cancer Diagnosis and Screening. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):4859. <https://doi.org/10.3390/ijms23094859>
52. Baker MJ, Hussain SR, Lovergne L, Untereiner V, Hughes C, Lukaszewski RA, et al. Developing and understanding biofluid vibrational spectroscopy: a critical review. *Chem Soc Rev.* 2016; 45(7):1803–18. <https://doi.org/10.1039/c5cs00585j>
53. Su KY, Lee WL. Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Cancer Screening and Diagnostic Tool: A Review and Prospects. *Cancers (Basel).* 2020;12(1):115. <https://doi.org/10.3390/cancers12010115>
54. Auner GW, Koya SK, Huang C, Broadbent B, Trexler M, Auner Z, et al. Applications of Raman spectroscopy in cancer diagnosis. *Cancer Metastasis Rev.* 2018;37(4):691-717. <https://doi.org/10.1007/s10555-018-9770-9>
55. Kendall C, Isabelle M, Bazant-Hegemark F, Hutchings J, Orr L, Babrah J, et al. Vibrational spectroscopy: a clinical tool for cancer diagnostics. *Analyst.* 2009;134(6):1029-45. <https://doi.org/10.1039/b822130h>
56. Morais CLM, Lima KMG, Singh M, Martin FL. Tutorial: multivariate classification for vibrational spectroscopy in biological samples. *Nat Protoc.* 2020;15(7):2143-2162. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0322-8>
57. Mabwa D, Gajjar K, Furniss D, Schiemer R, Crane R, Fallaize C, et al. Mid-infrared spectral classification of endometrial cancer compared to benign controls in serum or plasma samples. *Analyst.* 2021;146(18):5631-5642. <https://doi.org/10.1039/d1an00833a>
58. Baker MJ, Trevisan J, Bassan P, Bhargava R, Butler HJ, Dorling KM, et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat Protoc.* 2014;9(8):1771-1791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>
59. Movasaghi Z, Rehman S, ur Rehman I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Appl Spectrosc Rev.* 2008; 43(2):134-79. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
60. Harris DC, Charles AL. Análise química quantitativa. tradução Júlio Carlos Afonso, Oswaldo Esteves Barcia. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2017. 898 p.
61. Aitekenov S, Sultangaziyev A, Abdirova P, Yussupova L, Gaipov A, Utegulov Z, et al. Raman, Infrared and Brillouin Spectroscopies of Biofluids for Medical Diagnostics and for Detection of Biomarkers. *Crit Rev Anal Chem.* 2023;53(7):1561-1590. <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2036941>

62. Butler HJ, Ashton L, Bird B, Cinque G, Curtis K, Dorney J, et al. Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. *Nat Protoc.* 2016;11(4):664-87. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.036>
63. Souza KS. Junções moleculares e agregados de nanobastões de ouro: um estudo SERS [dissertation]. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2015. 143 p.
64. Barnas E, Skret-Magierlo J, Skret A, Kaznowska E, Depciuch J, Szmuc K, et al. Simultaneous FTIR and Raman Spectroscopy in Endometrial Atypical Hyperplasia and Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(14):4828. <https://doi.org/10.3390/ijms21144828>
65. Hibbert DB. Vocabulary of concepts and terms in chemometrics (IUPAC Recommendations 2016). *Pure and Applied Chemistry.* [Internet]. 2016 [cited 2024 Jan 25]; 88(4):407-43. Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/pac-2015-0605/html>
66. Beebe KR, Pell RJ, Seasholtz MB. *Chemometrics: a practical guide.* New York: Wiley; 1998. 348 p.
67. Zhao LT, Xiang YH, Dai YM, Zhang ZY. [Study of near infrared spectral preprocessing and wavelength selection methods for endometrial cancer tissue]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi.* 2010;30(4):901-5. Chinese.
68. Mokari A, Guo S, Bocklitz T. Exploring the Steps of Infrared (IR) Spectral Analysis: Pre-Processing, (Classical) Data Modelling, and Deep Learning. *Molecules.* 2023;28(19):6886. <https://doi.org/10.3390/molecules28196886>
69. Butler HJ, Smith BR, Fritsch R, Radhakrishnan P, Palmer DS, Baker MJ. Optimised spectral pre-processing for discrimination of biofluids via ATR-FTIR spectroscopy. *Analyst.* 2018;143(24):6121-6134. <https://doi.org/10.1039/c8an01384e>
70. Liu J, Jin WY, Cai MZ, Wang H, Cheng CG. Discrimination of normal myometrial tissues, hystero myoma and endometrial carcinoma with HATR-FTIR spectroscopy. In 2009 Asia Communications and Photonics conference and Exhibition (ACP), Shanghai, China, 2009, pp. 1-2.
71. Granato D, Santos JS, Escher GB, Ferreira BL, Maggio RM. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology.* 2018; 72:83–90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.006>
72. Draisma HH, Reijmers TH, Meulman JJ, Van Der Greef J, Hankemeier T, Boomsma DI. Hierarchical clustering analysis of blood plasma lipidomics profiles

from mono- and dizygotic twin families. *Eur J Hum Genet.* 2013; 21(1):95-101. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.110>

73. Ringnér M. What is principal component analysis? *Nat Biotechnol.* 2008;26(3):303-4. <https://doi.org/10.1038/nbt0308-303>

74. John DK. Potencialidades da espectrometria no infravermelho e quimiometria para caracterização de perfis de medicamentos apreendidos. [master's thesis on the Internet]. Porto Alegre, Rio Grande do Sul; 2020 [cited 2024 Aug 6]; Available from: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/218037>

75. Siqueira LFS, Lima KMG. MIR-biospectroscopy coupled with chemometrics in cancer studies. *Analyst.* 2016;141(16):4833-47. <https://doi.org/10.1039/c6an01247g>

76. Fisher RA. The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Annals of Eugenics* [Internet]. 1936 [cited 2024 Jan 24];7(2):179-88. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-1809.1936.tb02137.x>

77. Dixon SJ, Brereton RG. Comparison of performance of five common classifiers represented as boundary methods: Euclidean Distance to Centroids, Linear Discriminant Analysis, Quadratic Discriminant Analysis, Learning Vector Quantization and Support Vector Machines, as dependent on data structure. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* [Internet]. 2009 [cited 2024 Jan 24];95(1):1-17. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169743908001494>

78. Jolliffe IT, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 2016;374(2065):20150202. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>

79. Theophilou G, Morais CLM, Halliwell DE, Lima KMG, Drury J, Martin-Hirsch PL, et al. synchrotron- and focal plane array-based Fourier-transform infrared spectroscopy differentiates the basalis and functionalis epithelial endometrial regions and identifies putative stem cell regions of human endometrial glands. *Anal Bioanal Chem.* 2018;410(18):4541-4554. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1111-x>

80. Santos MCD, Morais CLM, Nascimento YM, Araujo JMG, Lima KMG. Spectroscopy with computational analysis in virological studies: A decade (2006-2016). *Trends Analyt Chem.* 2017;97:244-256. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.015>

81. Araújo MCU, Saldanha TCB, Galvão RKH, Yoneyama T, Chame HC, Visani V. The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* [Internet]. 2001 [cited 2024 Aug 6];57(2):65-73. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169743901001198>

82. Mitchell M. L.D. Davis, handbook of genetic algorithms. Artificial Intelligence [Internet]. 1998 [cited 2024 Jan 27];100(1-2):325-30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0004370298000162>
83. Leardi R. Genetic algorithms in chemometrics and chemistry: a review. *J Chemom.* 2001; 15(7): 559-569 <https://doi.org/10.1002/cem.651>
84. Junges CH, Guerra CC, Canedo-Reis NAP, Gomes AA, Ferrão MF. Discrimination of whole grape juice using fluorescence spectroscopy data with linear discriminant analysis coupled to genetic and ant colony optimisation algorithms. *Anal Methods.* 2023;15(2):187-195. <https://doi.org/10.1039/d2ay01636b>
85. Junges CH, Guerra CC, Gomes AA, Ferrão MF. Green analytical methodology for grape juice classification using FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *Talanta Open.* 2022; 6:100168. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2022.100168>
86. Kennard RW, Stone LA. Computer Aided Design of Experiments. *Technometrics.* 1969; 11(1):137-48. <https://doi.org/10.1080/00401706.1969.10490666>
87. Zontov YV, Rodionova OYe, Kucheryavskiy SV, Pomerantsev AL. DD-SIMCA – A MATLAB GUI tool for data driven SIMCA approach. *Chemometr Intell Lab Syst.* 2017; 167:23-8. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2017.05.010>
88. Malins DC, Polissar NL, Nishikida K, Holmes EH, Gardner HS, Gonselman SJ. The etiology and prediction of breast cancer. Fourier transform-infrared spectroscopy reveals progressive alterations in breast DNA leading to a cancer-like phenotype in a high proportion of normal women. *Cancer.* 1995;75(2):503-17. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19950115\)75:2<503::aid-cncr2820750213>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950115)75:2<503::aid-cncr2820750213>3.0.co;2-0)
89. Rios CA. Estudo de manchas de sangue: uma abordagem forense empregando espectroscopia Raman, imagens digitais e ferramentas quimiométricas. [dissertation]. Belo Horizonte, Minas Gerais; 2018. 145 p.
90. Silva EBO. Análise de plasma sanguíneo por espectroscopia ATR-FTIR: identificação de biomoléculas em mulheres com diabetes mellitus gestacional e suas implicações em desfechos adversos neonatais. [dissertation]. Natal, Rio Grande do Norte; 2020. 72 p.
91. Rotenberg O, Doulaveris G, Fridman D, Renz M, Kaplan J, Xie X, et al. Risk of endometrial polyp and surgical intervention in postmenopausal women with proliferative endometrium. *Maturitas.* 2023;178:107847. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2023.107847>
92. Gajjar K, Trevisan J, Owens G, Keating PJ, Wood NJ, Stringfellow HF, et al. Fourier-transform infrared spectroscopy coupled with a classification machine for the

analysis of blood plasma or serum: a novel diagnostic approach for ovarian cancer. *Analyst*. 2013;138(14):3917-26. <https://doi.org/10.1039/c3an36654e>

93. Martin FL, Kelly JG, Llabjani V, Martin-Hirsch PL, Patel II, Trevisan J, et al. Distinguishing cell types or populations based on the computational analysis of their infrared spectra. *Nat Protoc*. 2010; 5(11):1748-60. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.133>

94. Freitas DLD, Câmara IM, Silva PP, Wanderley NRS, Alves MBC, Morais CLM, et al. Spectrochemical analysis of liquid biopsy harnessed to multivariate analysis towards breast cancer screening. *Sci Rep*. 2020;10(1):12818. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69800-7>

95. Paraskevaïdi M, Morais CLM, Ashton KM, Stringfellow HF, McVey RJ, Ryan NAJ, et al. Detecting Endometrial Cancer by Blood Spectroscopy: A Diagnostic Cross-Sectional Study. *Cancers (Basel)*. 2020;12(5):1256. <https://doi.org/10.3390/cancers12051256>

96. Paraskevaïdi M, Morais CLM, Lima KMG, Ashton KM, Stringfellow HF, Martin-Hirsch PL, et al. Potential of mid-infrared spectroscopy as a non-invasive diagnostic test in urine for endometrial or ovarian cancer. *Analyst*. 2018;143(13):3156-63. <https://doi.org/10.1039/c8an00027a>

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

**Universidade Federal de Santa Catarina
Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas**

Pesquisa: Estudo de acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional em pacientes com patologia endometrial

A Sra. está sendo convidada a participar de uma pesquisa sobre o "Estudo de acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional em pacientes com patologia endometrial". Esta pesquisa está associada ao projeto de doutorado da aluna Ana Rita Peixoto Panazzolo que é médica ginecologista do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU) e aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina, sob orientação do Prof. Dr. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho.

Objetivo e justificativa da pesquisa

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar as substâncias que compõem o sangue, por meio de uma técnica chamada espectroscopia vibracional. As substâncias do sangue das mulheres com câncer de endométrio, com lesões pré-malignas, ou pólipos uterinos serão comparadas com as substâncias do sangue das mulheres que não apresentam alterações dentro do útero.

O motivo que nos levou a esse estudo é o aumento crescente do câncer de endométrio (camada que reveste o útero por dentro) no Brasil e no mundo. Atualmente o diagnóstico do câncer de endométrio é realizado através da biópsia do endométrio guiado ou não pela histeroscopia (exame de endoscopia que avalia o útero por dentro). A histeroscopia é um exame caro e invasivo e que apresenta longas filas de espera no Sistema Único de Saúde (SUS). Até o momento, não existe um teste sanguíneo eficaz para o diagnóstico do câncer de endométrio. Testar uma técnica barata e menos invasiva por meio da análise do sangue contribuirá para um diagnóstico mais rápido e acessível.

Procedimentos do estudo e local da pesquisa

A pesquisa será realizada no HU, no Serviço de Tocoginecologia. As mulheres que comparecerem com diagnóstico de câncer de endométrio, lesões pré-malignas e pólipos endometriais serão convidadas a participar do estudo. Assim como, serão convidadas as mulheres sem doenças intrauterinas, que comparecerão ao HU para realizar a retirada do útero por prolapso uterino (quando o útero está baixo), ou para realizar histeroscopia e o exame não apresentar anormalidades.

Para o desenvolvimento da pesquisa você será entrevistada pela pesquisadora Ana Rita Peixoto Panazzolo, sobre seus fatores de risco e de proteção para o câncer de endométrio. A entrevista durará em média 10 minutos e as informações coletadas serão as seguintes:

- Idade, naturalidade, procedência, grau de instrução, cor;
- Número de filhos (partos, cesáreas e abortos);
- Peso e altura;

- Data da primeira e da última menstruação;
- Como era a sua menstruação;
- Características e frequência do sangramento pós-menopausa.
- Uso de hormônios ao longo da vida;
- Tabagismo, exercícios físicos;
- Histórico familiar de cânceres.

Também será colhida uma amostra de sangue da veia do seu braço. A coleta de sangue será realizada por um técnico de enfermagem ou do laboratório quando pegarem a sua veia para colocar o soro, caso você for encaminhada para cirurgia de prolapso uterino, ou no momento de fazer a histeroscopia, na sala de procedimentos. O laboratório do Hospital Universitário preparará o sangue para separar as células vermelhas (os glóbulos vermelhos). O restante do sangue será armazenado em pequenos tubos, identificado com um número e será refrigerado em freezer a -80°C até a análise.

Será usado na pesquisa um pequeno fragmento, de aproximadamente 1 cm de diâmetro, do material da biópsia de endométrio, ou da lesão intrauterina. Este fragmento não interferirá no resultado da sua biópsia. Caso, os médicos que examinarão o material concluírem que o fragmento é pequeno para dar o resultado da sua doença, você será excluído da pesquisa e o material da biópsia será usado **somente** para o seu diagnóstico **e não para pesquisa**.

É importante ressaltar que a entrevista e a biópsia são realizadas rotineiramente em todas as mulheres que vem ao HU para realizar histeroscopia, assim como, as biópsias dos úteros que são retirados nas cirurgias quando o útero está baixo, mesmo não fazendo parte da pesquisa.

Riscos e desconfortos

Durante a entrevista podem ocorrer lembranças desagradáveis como perdas gestacionais, ou históricos de familiares com cânceres. Se você sentir necessidade de interromper a entrevista, seu desejo será prontamente atendido.

Na coleta de sangue poderá ocorrer algum desconforto ou poderá ficar um pouco roxo o local. Caso isso aconteça será colocado uma compressa de gelo e se você sentir alguma indisposição você será atendido por uma equipe médica.

Se apresentar algum problema relacionado à investigação de doenças do útero, como sangramentos ou infecções, você será atendida pela médica pesquisadora, que está apta a tratar problemas relacionados a patologias uterinas e a explicar todas as etapas da investigação e do tratamento, esclarecendo que a pesquisa não interferirá nos resultados da sua investigação ou do seu tratamento. Caso ocorra outros problemas clínicos ou psicológicos, você será atendida por uma equipe médica especializada ou por uma equipe da psicologia do HU.

Os riscos relacionados à pesquisa serão mínimos, mas caso ocorra algum problema clínico, ou psicológico, ou quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional, você será prontamente atendida. Os pesquisadores declaram que cumprirão as exigências contidas na Resolução CNS 466/2012 (especialmente os itens IV.3 e IV.4), que o sigilo/privacidade dos participantes será garantido durante todas as etapas da pesquisa, inclusive na divulgação dos resultados, que os participantes terão direito ao ressarcimento de eventuais despesas e indenizações diante de eventuais danos produzidos pela pesquisa. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas que mostrarão apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, ou qualquer informação relacionada a sua privacidade. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada.

A sua participação na pesquisa é voluntária e a qualquer momento, você terá a liberdade de retirar seu consentimento informado, sem ter que apresentar qualquer justificativa, e se retirar da pesquisa sem que haja qualquer prejuízo à sua investigação diagnóstica e ao tratamento no serviço

de ginecologia do HU. Ressalto que as participantes não terão benefícios sobre as mulheres não participantes, não passando na frente na fila de espera da regulação do estado de Santa Catarina, para realização de procedimentos diagnósticos, cirúrgicos e terapêuticos.

A sua participação no estudo é isenta de despesas (não trará custos) e você não receberá nenhum pagamento pela sua participação, a legislação brasileira não permite que você tenha qualquer compensação financeira pela sua participação em pesquisas, mas você será ressarcido por despesas previstas ou imprevista comprovadamente decorrentes da pesquisa. Caso você tenha alguma despesa de transporte e alimentação por participar da pesquisa, essas despesas serão integralmente ressarcidas pelos pesquisadores. É garantido o direito à indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa (Item IV.3.h, da Resolução CNS nº 466 de 2012). Salientamos que haverá assistência integral e gratuita a participante da pesquisa, pelo tempo que for necessário, tanto devido aos eventuais danos recorrentes de sua participação, mesmo que sejam os riscos mínimos citados anteriormente, como para potenciais questionamentos sobre a pesquisa em questão. Durante os procedimentos da pesquisa você estará sempre acompanhada da pesquisadora Ana Rita Peixoto Panazzolo que lhe prestará toda a assistência necessária, caso tenha alguma dúvida sobre os procedimentos ou projeto. Você poderá entrar em contato com a pesquisadora a qualquer momento.

Benefícios

Os benefícios aos participantes serão indiretos, auxiliando para que a pesquisa identifique um perfil metabólico para o diagnóstico do câncer de endométrio, por meio da análise sanguínea, auxiliando políticas públicas para o diagnóstico mais rápido e menos invasivo do câncer de endométrio, diminuindo as filas de espera para a realização de histeroscopias.

Caso você fique com alguma dúvida em relação ao projeto poderá entrar em contato com os pesquisadores, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC - CEP SH-UFSC. O CEP SH é um órgão colegiado interdisciplinar, deliberativo, consultivo e educativo, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina, mas independente na tomada de decisões, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Endereço do CEP SH-UFSC: Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400. Contato: (48) 3721-6094, cep.propesq@contato.ufsc.br.

Horário de funcionamento do CEP SH-UFSC:

Segunda à sexta-feira, atendimento das 8h às 12h e das 14h às 18h.

Contatos telefônicos dos responsáveis pela pesquisa:

****Prof. Dr. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho: (48) 3721-9150**

Endereço Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Hospital Universitário, HU/UFSC, Centro de Ciências da Saúde – CCS, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, CEP: 88040-970, e-mail ppgcm@contato.ufsc.br.

Horário para contato: 7h – 13h.

**** Ana Rita Peixoto Panazzolo: (48) 996164858**

Ana Rita Peixoto Panazzolo, com endereço Rua Vereador Osni Ortiga, 2991, casa 12, Lagoa da Conceição, CEP 88062 451, telefone 48 32326187, e-mail anaritapanazzolo@gmail.com

A pesquisadora Ana Rita Peixoto Panazzolo estará disposição para esclarecer quaisquer dúvidas, qualquer dia da semana, 24 horas por dia.

Este TCLE foi elaborado em duas vias, conforme orientado pela Resolução nº 466/12. As duas vias deverão ser assinadas por você e pelo pesquisador responsável, sendo que uma guia deverá ser arquivada pelo pesquisador e a outra via guardada cuidadosamente por você, pois é um documento com informações importantes de contato e garante seus direitos como participante da pesquisa.

Li este documento (ou tive este documento lido para mim por uma pessoa de confiança) e obtive dos pesquisadores todas as informações que julguei necessárias para me sentir esclarecido. Entendo que minha participação é totalmente voluntária e que posso desistir a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na condução da investigação da minha doença ou do meu tratamento.

Participante da pesquisa:

Nome (em letra de forma)

Assinatura

Florianópolis, ____ de _____ de _____.

Pesquisadores:

Prof. Dr. Getúlio R. de Oliveira Filho

Assinatura

Ana Rita Peixoto Panazzolo

Assinatura

Florianópolis, ____ de _____ de _____.

APÊNDICE B – Instrumento de Coleta de Dados



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Instrumento de coleta de dados

Estudo de acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional em pacientes com patologia endometrial

Identificação

Casos: N - _____ I -

Controle: Co - _____ H-

Número de prontuário:

Nome:

Idade:

Cor:

Procedência:

Naturalidade:

Serviço de origem:

Escolaridade: Fundamental () anos; Médio () anos;

Superior: Completo () Incompleto () anos

Número de gestações: Partos: Cesáreas: Abortos:

Caso não tenha filhos, Teve dificuldade para engravidar?

Fez algum tratamento para engravidar?

Data da primeira gestação ao termo:

Data da última gestação ao termo:

Menarca:

Como eram seus ciclos menstruais enquanto a Sra. menstruava?

Os Ciclos eram regulares () irregulares () ao longo da vida;

Sua menstruação era aumentada? () Sim () Não

Usou pílula ao longo da sua vida? () Sim () Não Lembra o nome?

() menos de 5 anos; () de 5 a 10 anos; () mais de 10 anos;

Menopausa:

Após a menopausa a Sra. apresentou algum sangramento?

Episódio único ou recorrente?

Quando?

Como é o seu sangramento?

No último mês quantas vezes você sangrou?

No último ano quantas vezes você sangrou?

Quanto tempo a Sra. aguardou na fila para investigar o sangramento uterino?

Você faz ou fez terapia hormonal após a menopausa?

Se sim, há quanto tempo?

Você usa tamoxifeno?

Qual é o seu peso?

Qual é a sua altura?

IMC:

Há quanto tempo você tem este peso?

Ao longo da vida você teve alguma dificuldade para perder peso?

Ao longo da vida vc apresentou sobrepeso ou obesidade?

Você faz exercícios?

Qual o tipo de exercício?

Quantas vezes por semana?

Você fuma? Sim () Não () Quantos cigarros por dia?**Você tem algum problema de saúde?**

Quais?

Quais os tipos de medicamentos que você usa?**Você tem diabetes?** Sim () Não () Se sim, quais medicamentos você usa?**Você tem hipertensão?** Sim () Não () Se sim, quais medicamentos você usa?**Apresenta alteração de colesterol?** Sim () Não () - Faz tratamento?**Apresenta alteração de triglicérides?** Sim () Não () - Faz tratamento?**Você já teve câncer?** Qual?**Tem alguém com câncer na família?**

Câncer endométrio:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer de ovário:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer de mama:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer de intestino:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer de reto:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer de estômago:

Antes ou depois dos 50 anos?

Câncer do aparelho urinário:

Antes ou depois dos 50 anos?

Outros tipos:

Antes ou depois dos 50 anos?
São parentes de 1 grau?

USG TV:

Espessamento: _____

Outros exames:

Estadiamento:

AP:

IHQ: IM () NÃO () – Resultado:

ANEXO A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo de acurácia diagnóstica da espectroscopia vibracional em pacientes com patologia endometrial

Pesquisador: Getúlio Rodrigues de oliveira Filho

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53034321.0.0000.0121

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.189.427

Apresentação do Projeto:

As informações que seguem e as elencadas nos campos "Objetivo da pesquisa" e "Avaliação dos riscos e benefícios" foram retiradas do arquivo PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1828221.pdf, de 28/11/2021, preenchido pelos pesquisadores.

Segundo os pesquisadores:

RESUMO

O câncer de endométrio (CE) é a segunda neoplasia genital mais frequente em mulheres em países em desenvolvimento. Nas últimas décadas, ocorreu um aumento da incidência no mundo. Não existe consenso na literatura de qual é o método diagnóstico padrão ou protocolo de investigação mais preciso. Até o momento, não existem testes diagnósticos sanguíneos, pouco invasivos, para a detecção do CE. **Objetivo:** Avaliar a acurácia da espectroscopia vibracional no infravermelho por transformação de Fourier e da espectroscopia Raman em amostras sanguíneas e tecido endometrial para o diagnóstico do câncer de endométrio, da neoplasia intraepitelial endometrial e do polipo endometrial. **Participantes e Métodos:** Estudo caso- controle, avaliaram 75 pacientes. Amostra consecutiva de mulheres com diagnóstico histológico de neoplasia endometrial ou polipo endometrial que chegaram aos ambulatórios de histeroscopia, ou oncologia farão parte do grupo "casos". A amostra consecutiva de mulheres, sem câncer, que serão submetidas a cirurgia de

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vítor Lima, nº 222, sala 401

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-400

UF: SC

Município: FLORIANÓPOLIS

Telefone: (48)3721-6094

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.189.427

prolapso uterino ou que serao submetidas a histeroscopia com diagnostico de atrofia endometrial farao parte do grupo "controle". As pacientes serao convidadas a participar da pesquisa e apos concordarem assinarao um termo de consentimento informado livre e esclarecido (TCLE). As pacientes coletarao uma amostra de sangue periferico, para realizacao da espectroscopia vibracional por infravermelho e Raman, que serao comparadas com os resultados da espectroscopia Raman e histologia no tecido endometrial. Os resultados do grupo casos serao comparados aos resultados do grupo controle. Serao avaliados os dados demograficos, sensibilidade, especificidade. O teste de Kappa sera utilizado para avaliar o grau de concordancia da sensibilidade e especificidade entre a espectroscopia vibracional e a histologia. Regressao logistica para quantificar a contribuicao de cada variavel para a predicao do desfecho.

METODOLOGIA

Aspectos eticos O estudo sera submetido ao Comite de Etica em Pesquisa para Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. As participantes serao convidadas a fazer parte da pesquisa e assinarao um termo de consentimento livre e esclarecido.

Desenho do estudo - Estudo caso controle para acuracia diagnostica da espectroscopia vibracional no diagnostico do cancer de endometrio. Farao parte do estudo uma amostra consecutiva de pacientes que ja apresentam diagnostico de cancer, hiperplasia endometrial e polipo endometrial, grupo dos casos, e uma amostra consecutiva de pacientes que compoem a lista de espera para cirurgia de prolapso uterino, ou que apresentam endometrio atrofico na histeroscopia, grupo dos controles. O plasma de todas as participantes (grupo dos casos e grupo dos controles) sera analisado pela espectroscopia vibracional pelo metodo de ATR-FTIR e Raman. O espectro de um fragmento de tecido endometrial sera comparado ao espectro do plasma sanguineo pelo metodo de Raman. Todos os resultados das analises espectrais serao comparados ao estudo histologico do tecido endometrial, teste referencia. A analise histologica do endometrio sera analisada por dois patologistas de forma independente. As coletas de tecido endometrial e sangue periferico serao realizadas no mesmo dia ou em um intervalo de no maximo 60 dias. O periodo do estudo sera de novembro de 2021 a julho de 2023. Local do estudo: Os dados serao coletados no Hospital Universitario Professor Polydoro Ernani de Sao Thiago. Tamanho amostral: O calculo do tamanho amostral realizado para a comparacao de duas amostras (casos e controles), considerando um risco relativo de 7,93, um erro tipo I de 0,5 e um poder de 0,8 foi de 17 individuos em cada grupo. 5. Populacao do estudo - O estudo incluira 25 participantes com cancer de endometrio, 25 pacientes com polipo endometrial e 25 participantes sem cancer de endometrio, conforme os

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-400

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3721-6094

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.189.427

critérios de inclusão e exclusão abaixo.

CRITERIOS DE INCLUSAO

(1) Grupo dos Casos : Mulheres acima de 50 anos, pos-menopausa e com diagnostico confirmado de CE ou polipo endometrial ha menos de 60 dias que chegaram ao Hospital Universitario Professor Polydoro Ernani de Sao Thiago.

(2) Grupo dos Controle: Mulheres acima de 50 anos, pos-menopausa, com indicacao de hysterectomia por prolapso uterino, com endometrio atrofico confirmado no estudo anatomo-patologico. Mulheres acima de 50 anos, pos-menopausa, com diagnostico de atrofia endometrial nas histeroscopias com biopsias.

CRITERIOS DE EXCLUSAO

(1) Grupo dos Casos:

- Mulheres em uso de terapia hormonal;
- Mulheres em uso tamoxifeno;
- Mulheres com tumores em outros orgaos, mesmo que ja tratadas;
- Mulheres em uso de terapia imunossupressora;
- Mulheres com cancer de colo uterino ou endocervical;
- Mulheres que ja iniciaram o tratamento clinico ou cirurgico para CE.

(2) Grupo dos controles:

- Mulheres em uso de terapia hormonal.
- Mulheres em uso tamoxifeno.
- Mulheres com tumores em outros orgaos, mesmo que ja tratadas.
- Mulheres em uso de terapia imunossupressora.
- Mulheres com polipos endometriais ou outras patologias benignas de endometrio.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primario:

Avaliar a acuracia diagnostica da espectroscopia vibracional no diagnostico do cancer de

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.189.427

endometrio em pacientes pos-menopausa.

Objetivos Secundários:

- Comparar a acuracia diagnostica da espectroscopia ATR-FTIR e Raman na analise do plasma sanguineo em pacientes com cancer de endometrio, polipo endometrial e endometrio atrofico (controle).
- Comparar a acuracia diagnostica da espectroscopia Raman no tecido endometrial e no plasma em pacientes pos-menopausa com cancer de endometrio, polipo endometrial e endometrio atrofico.
- Avaliar a acuracia diagnostica da espectroscopia ATR-TFIR e Raman nas pacientes com outras lesoes benignas do endometrio como polipos endometriais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores:

RISCOS

Riscos diretos para o voluntario: os riscos sao minimos, podera ocorrer um hematoma no local da coleta de sangue. Caso isso aconteca voce sera encaminhada para uma sala de procedimentos onde colocaremos uma compressa de gelo. O seu nome, registro e as informacoes coletadas serao mantidas em sigilo pelos pesquisadores que realizarao a entrevista em um espaco reservado.

(Obs.: O risco de quebra de sigilo consta do TCLE).

BENEFÍCIOS

Benefícios sera de auxiliar para que as pesquisas identifiquem um perfil metabolico sanguineo para o diagnostico do cancer de endometrio, por meio da analise sanguinea, auxiliando politicas publicas para o diagnostico mais rapido e menos invasivo do cancer de endometrio, diminuindo as filas de espera para a realizacao de histeroscopias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Informacoes retiradas primariamente do formulario com informacoes basicas sobre a pesquisa gerado pela Plataforma Brasil e/ou do projeto de pesquisa e demais documentos postados, conforme lista de documentos e datas no final deste parecer.

Projeto de pesquisa de Getulio Rodrigues de Oliveira Filho, tendo como assistente de pesquisa Ana

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 5.189.427

Rita Peixoto Panazzolo. Em carta resposta, foi esclarecido que a pesquisa está vinculada a tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

Estudo nacional e unicentrico, prospectivo.

Financiamento proprio, no valor de R\$ 1.877,80.

Pais de origem: Brasil

Numero de participantes no Brasil: 75

Previsao de inicio do estudo (conforme formulário padrão): 31/01/2022

Previsao de termino do estudo: 29/03/2024

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A folha de rosto vem assinada pelo pesquisador responsavel e pela Coordenadora do Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas da UFSC.

Consta carta de anuencia do HU/UFSC/EBSERH assinada pela Gerente de Ensino e Pesquisa, declarando ciencia do conteudo do projeto e existencia de infraestrutura, autorizando a sua execucao.

Consta projeto de pesquisa.

Constam orcamento e cronograma.

Consta TCLE.

Recomendações:

Este CEP aceita documentos assinados escaneados e documentos com assinatura digital sem questionar ou verificar a sua autenticidade. Isso pressupoe que o pesquisador responsavel (ou seu delegado), que carregou o documento na Plataforma Brasil ao fazer o acesso com nome de usuario e senha, responsabiliza -se pela sua autenticidade e por eventuais consequencias decorrentes dessa situacao. Recomendamos aos pesquisadores que, para fins de eventual verificacao, guardem

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.189.427

em seus arquivos todos os documentos originais assinados manual ou digitalmente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Da análise das pendências apontadas em parecer anterior:

(1) Em carta-resposta, os pesquisadores esclareceram que a abordagem aos participantes ainda não teve início, e apresentaram o cronograma atualizado.

(2) Foi esclarecido também que a pesquisa está vinculada à tese de doutorado de Ana Rita Peixoto Panazzolo, sob orientação do Prof. Dr. Getúlio Rodrigues de Oliveira Filho, e a folha de rosto está assinada pela Coordenação do respectivo programa de pós-graduação.

(3) O TCLE foi adequado nos pontos solicitados.

(4) Os benefícios às participantes foram adequados no TCLE.

(5) A análise de riscos foi ampliada no TCLE, sendo considerada adequada.

(6) O endereço dos pesquisadores foi detalhado.

(7) O TCLE foi paginado conforme recomendação da CONEP.

Tendo sido resolvidas todas as pendências, o parecer é pela aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 466/12, o CEP/SH/UFSC deverá receber, por meio de notificação, os relatórios parciais sobre o andamento da pesquisa e o relatório completo ao final do estudo.

Qualquer alteração nos documentos apresentados deve ser encaminhada para avaliação do CEP/SH. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e as suas justificativas. Informamos, ainda, que a versão do TCLE a ser utilizada deverá obrigatoriamente corresponder na íntegra à versão vigente aprovada.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-400

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3721-6094

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC**



Continuação do Parecer: 5.189.427

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1828221.pdf	28/11/2021 19:18:29		Aceito
Outros	Carta_resposta.docx	28/11/2021 18:59:06	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_revisado.docx	28/11/2021 18:55:38	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_FINAL.docx	22/10/2021 19:10:46	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	22/10/2021 19:08:58	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	22/10/2021 19:05:54	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao_pesquisadores.pdf	22/10/2021 19:04:23	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_anuencia.pdf	22/10/2021 19:02:48	ANA RITA PEIXOTO PANAZZOLO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 29 de Dezembro de 2021

**Assinado por:
Nelson Canzian da Silva
(Coordenador(a))**

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-400

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3721-6094

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br