

REF 7900001
Kit de 16 testes

Cell Search[®]

**Circulating Tumor Cell Kit
(Epiteliais)**

IVD

janssen 

UTILIZAÇÃO

Para diagnóstico *in vitro*.

O CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit destina-se à quantificação de células tumorais circulantes (CTC) de origem epitelial (CD45-, EpCAM+ e citoqueratinas 8, 18+ e/ou 19+) em sangue total.

A presença de CTC no sangue periférico, conforme detectado pelo kit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, está associada à redução da sobrevivência livre de progressão e à redução da sobrevivência global em doentes tratados com cancro da mama, colorectal ou da próstata* metastático. O teste destina-se a ser utilizado como um auxiliar na monitorização de doentes com cancro da mama, colorectal ou da próstata metastático. Os testes realizados em série para CTC devem ser utilizados em conjunto com outros métodos clínicos para a monitorização do cancro da mama, colorectal e da próstata metastático. A avaliação de CTC, em qualquer altura, durante o curso da doença permite avaliar o prognóstico do doente e é indicador de uma sobrevivência livre de progressão e sobrevivência global.

** Os doentes com cancro da próstata metastático que participaram neste estudo foram definidos como apresentando dois aumentos consecutivos no marcador sérico PSA, acima do nível de referência, apesar do tratamento hormonal padrão. Estes doentes são, frequentemente, descritos como doentes com cancro da próstata independente de androgénio, hormono-resistente ou resistente à castração.*

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A metástase cancerígena ocorre quando as células se soltam de um tumor primário ou metastático, entram na circulação e começam a desenvolver-se em locais do organismo distantes. Os carcinomas derivam das células epiteliais que normalmente não se encontram na circulação¹. O sistema CELLTRACKS® AUTOPREP® System foi concebido para padronizar e automatizar o protocolo de preparação das amostras para utilização com o CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH® CTC Kit). A análise e quantificação de CTC são realizadas utilizando o CELLTRACKS ANALYZER II®, que consiste num microscópio de fluorescência semi-automatizado. O ensaio enumera apenas as células que expressam a molécula de adesão de células epiteliais (EpCAM) e citoqueratinas (CK) 8, 18 e/ou 19.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit contém um reagente de captura à base de ferrofluido e reagentes imunofluorescentes. O reagente de ferrofluido é composto por partículas com um núcleo magnético rodeado por uma camada polimérica revestida com anticorpos contra o antígeno EpCAM para a captura de CTC. Após a captura imunomagnética e enriquecimento, os reagentes fluorescentes são adicionados para fins de identificação e quantificação de CTC. Os reagentes fluorescentes incluem o seguinte: anti-CK-Phycocerythrin (PE) específico para a citoqueratina das proteínas intracelulares (característica das células epiteliais), DAPI que cora o núcleo das células e anti-CD45-Allophycocyanin (APC) que é específico para os leucócitos.

A mistura de reagente/amostra é dispensada pelo CELLTRACKS® AUTOPREP® System num cartucho que é inserido num suporte de cartuchos MAGNEST. O forte campo magnético do suporte de cartuchos MAGNEST Cartridge Holder atrai as células magneticamente marcadas para a superfície do cartucho. O CELLTRACKS ANALYZER II® lê automaticamente toda a superfície do cartucho, adquire as imagens e apresenta ao utilizador qualquer caso em que exista uma co-localização de CK-PE e fluorescência DAPI. As imagens são apresentadas ao utilizador num formato de galeria para a classificação final. Um "caso" é classificado como uma célula tumoral quando as suas características morfológicas são consistentes com as de uma célula tumoral e quando exhibe o fenótipo EpCAM+, CK+, DAPI+ e CD45-.

MATERIAL FORNECIDO

- Instruções de Utilização
- **3,0 mL de Ferrofluido Anti-EpCAM:** Contém uma suspensão de 0,022% de partículas magnéticas conjugadas com um anticorpo monoclonal de rato específico para o marcador de superfície celular EpCAM presente nas células epiteliais, num tampão contendo 0,03% de albumina sérica bovina (BSA) e 0,05% de ProClin® 300 como conservante. (tampa castanha)
- **3,0 mL de Reagente de Coloração:** Contém 0,0006% de anticorpos monoclonais de rato específicos para citoqueratinas conjugadas com ficoeritrina (PE); 0,0012% de anticorpo monoclonal de rato anti-CD45 conjugado com alofocianina (APC) em tampão contendo 0,5% de BSA e 0,1% de azida de sódio. (tampa branca)
- **3,0 mL de Corante de Ácido Nucleico:** Contém 0,005% de 4', 6-diamidino-2-fenilindol, dicloridrato (DAPI) e 0,05% de ProClin® 300. (tampa azul)
- **3,0 mL de Reagente de Intensificação da Captura:** Contém 0,02% de reagente patenteado para agregação controlada de ferrofluido, 0,5% de BSA e 0,1% de azida de sódio em tampão. (tampa transparente)
- **3,0 mL de Reagente de Permeabilização:** Contém 0,011% de reagente de permeabilização patenteado e 0,1% de azida de sódio em tampão. (tampa verde)
- **3,0 mL de Agente de Fixação Celular:** Contém 25% de ingredientes de fixação patenteados, 0,1% de BSA e 0,1% de azida de sódio em tampão. (tampa vermelha)

- **2 x 110 mL, frasco de Tampão de Diluição:** Contém tampão com 0,1% de azida de sódio.
- **16 Tubos cónicos para centrífuga CELLSEARCH® (15 mL) e tampas para tubos cónicos**
- **16 Cartuchos e Tampões de Cartuchos**

MATERIAL NECESSÁRIO, NÃO FORNECIDO

- CellSave Preservative Tubes (N.º de catálogo 7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® System (N.º de catálogo 9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® (N.º de catálogo 9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (N.º de catálogo 7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® Instrument Buffer (N.º de catálogo 7901003)
- Centrífuga com rotor oscilante horizontal (isto é, balde basculante) com capacidade para 800 x g
- Suportes de tubos de ensaio
- Micro-pipetadores calibrados e pontas
- Agitador tipo vortex

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. Para diagnóstico *in vitro*.
2. Ler o conteúdo destas Instruções de Utilização na íntegra antes de testar as amostras.
3. Cuidado: A colheita de sangue só deve ser efectuada num tubo CellSave Preservative Tube. As CTC são frágeis e têm que ser conservadas para garantir uma análise precisa.
4. Cuidado: Todo o pessoal deverá seguir as precauções universais e utilizar equipamento de segurança de laboratório (ou seja, óculos de protecção, bata, luvas).
5. Cuidado: A contaminação microbiana dos reagentes pode provocar resultados erróneos e deverá ser evitada.
6. Cuidado: Alguns dos reagentes contêm azida de sódio como conservante. Em caso de ingestão, consultar imediatamente um médico. Manter fora do alcance das crianças. Conservar longe de alimentos e bebidas. Usar vestuário de protecção adequado. O contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. Os compostos de azida deverão ser irrigados com água abundante durante a eliminação para evitar a acumulação de depósitos nas canalizações de chumbo ou cobre, onde poderão ocorrer condições explosivas.
7. **Aviso:** Todas as amostras biológicas, cartuchos e outros materiais que entrem em contacto com a(s) amostra(s) são considerados materiais de risco biológico. Devem ser tratados como se fossem capazes de transmitir infecção. Tratar e eliminar os resíduos com as precauções adequadas e de acordo com as regulamentações locais, estatais e federais. Nunca pipetar com a boca.
8. **Aviso:** Alguns dos reagentes contêm ProClin® 300 como conservante.
9. O operador deverá receber formação para realizar o procedimento de teste.

DE SEGUIDA DESCREVEM-SE AS ADVERTÊNCIAS DE PERIGO E DE PRUDÊNCIA:

H317 Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

Prevenção:

- P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.
- P272 A roupa de trabalho contaminada não deverá sair do local de trabalho.
- P280 Usar luvas de protecção.

Resposta:

- P333 + P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
- P362 + P364 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Eliminação:

- P501 Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de tratamento de resíduos aprovada.

Para obter mais informações consulte a Ficha de Segurança que está disponível em www.cellsearchctc.com

ARMAZENAMENTO E MANUSEAMENTO DOS REAGENTES

- Os reagentes são fornecidos prontos a serem utilizados. Armazene fechado a uma temperatura entre 2 e 8 °C.
- Após a abertura, os reagentes na embalagem de reagentes devem ser armazenados durante, no máximo, 30 dias a uma temperatura entre 2 e 8 °C. Para o armazenamento, os reagentes abertos **têm que** ser novamente tapados com as suas tampas de cor exclusiva, utilizando as cores indicadas nos rótulos do tabuleiro de reagentes como orientação. Tal destina-se a garantir que não ocorre contaminação cruzada dos reagentes.
- **NOTA:** Após a abertura, o frasco de tampão de diluição, que não pertence à embalagem de reagentes, tem que ser armazenado à temperatura ambiente, no máximo durante 30 dias.
- Proteja os reagentes contra calor excessivo de 35 °C. Não congele.

- Estabilize à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) antes de utilizar.
- Inspeccione visualmente a embalagem de reagentes para a colocação correcta dos reagentes. Confirme que todos os reagentes se encontram no local correcto, fazendo corresponder a sua tampa de cor exclusiva com as cores indicadas no rótulo. Consulte a fotografia para a colocação adequada. Caso verifique que os reagentes estão colocados incorrectamente ou caso estejam presentes frascos em duplicado, não utilize a embalagem de reagentes e notifique os Serviços de Assistência ao Cliente para providenciar uma substituição.
- Proteja os reagentes da exposição à luz solar.
- Quando devidamente armazenados, os reagentes permanecem estáveis até à data de validade impressa no recipiente de reagente ou embalagem do kit. Não utilize reagentes fora do prazo de validade.
- Os componentes do kit são fabricados e testados como um lote principal. **Não** misture nem faça corresponder reagentes de kits diferentes.



PROCEDIMENTO DE TESTE

Colheita e Preparação da Amostra

Colheita de sangue total em CellSave Preservative Tubes

1. Proceda à colheita de amostras iniciais antes de iniciar um regime de terapêutica. É possível realizar a colheita de amostras subsequentes após o início de um regime de terapêutica, normalmente com intervalos de 3 a 4 semanas, de modo a seguir os níveis de CTC durante a terapêutica. Se o doente estiver a receber terapêutica com doxorubicina, aguarde, pelo menos, 7 dias após a administração de uma dose de doxorubicina antes de realizar uma colheita de sangue.
2. Proceda à colheita de sangue total através de técnica asséptica por venipunctura ou a partir de uma porta de acesso venoso apenas para um CellSave Preservative Tube.
3. Encha o tubo até que o fluxo sanguíneo pare para garantir a proporção correcta de amostra em relação ao anticoagulante e conservante. Proceda de imediato à homogeneização, invertendo suavemente o tubo oito vezes. A inversão do tubo impede a coagulação. Uma homogeneização inadequada ou retardada poderá resultar em resultados de testes não exactos.
4. As amostras de sangue podem ser conservadas ou transportadas em tubos CellSave Preservative Tubes. Consulte as Instruções de Utilização do CellSave Preservative Tube para obter mais instruções de processamento, conservação e manuseamento. Não refrigere as amostras.

CUIDADO: Inspeccione visualmente cada amostra quanto à existência de coagulação antes de proceder ao respectivo processamento no CELLTRACKS® AUTOPREP® System. As amostras coaguladas devem ser eliminadas.

Processamento com o CELLTRACKS® AUTOPREP® System

1. Misture o sangue no CellSave Preservative Tube invertendo manualmente cinco vezes. Em seguida, retire a tampa de borracha.
2. Utilizando uma pipeta nova, transfira 7,5 mL de sangue do CellSave Preservative Tube para um Tubo Cónico para Centrifuga CELLSEARCH® de 15 mL rotulado em conformidade, o qual é fornecido com o CELLSEARCH® CTC Kit.
3. Utilizando uma pipeta nova, adicione 6,5 mL de tampão de diluição.
4. Tape o Tubo Cónico para Centrifuga CELLSEARCH® e proceda à homogeneização invertendo cinco vezes.
5. Centrifugue a amostra a 800 × g durante um total integral de 10 minutos com o travão desactivado utilizando a centrífuga de balde basculante. Os 10 minutos de tempo de centrifugação não têm em consideração o tempo necessário para obter 800 x g. Desactive o travão da centrífuga ou, se a centrífuga apresentar uma função de travagem variável, coloque o travão da definição de travagem mais reduzida. Centrifugue à temperatura ambiente utilizando uma centrífuga capaz de funcionar à temperatura ambiente. Após a centrifugação da amostra, inspeccione visualmente cada tubo da amostra para visualizar a separação do plasma e glóbulos vermelhos.
6. Inicie o processamento no CELLTRACKS® AUTOPREP® System **no espaço de 1 hora** após a preparação da amostra acima descrita. Consulte o Guia do Utilizador do CELLTRACKS® AUTOPREP® System para obter as instruções completas.

Análise com CELLTRACKS ANALYZER II®

O CELLTRACKS® AUTOPREP® System dispensa a amostra processada num cartucho pronto para análise utilizando o CELLTRACKS ANALYZER II®. O cartucho cheio dentro do suporte de cartuchos MAGNEST deve ser submetido a incubação no escuro durante, no mínimo, 20 minutos e analisado no espaço de 24 horas. Consulte o Guia do Utilizador do CELLTRACKS ANALYZER II® para obter instruções sobre a análise de amostras e revisão de dados.

CONTROLO DE QUALIDADE

O CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (N.º de catálogo 7900003) verifica o desempenho global do sistema, incluindo instrumento, reagentes e técnica do operador. Deve ser processado um controlo de células tumorais circulantes todos os dias em que são realizados testes aos doentes ou sempre que se utiliza um lote novo do CELLSEARCH® CTC Kit. Consulte as Instruções de Utilização do CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit e valores esperados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados são apresentados como o número de CTC / 7,5 mL de sangue.

Cancro da Mama Metastásico (MBC)

Uma contagem de CTC de **5** ou mais por 7,5 mL de sangue em qualquer altura durante o curso da doença está associada a um prognóstico deficiente e é indicador de uma sobrevivência livre de progressão e sobrevivência global mais curtas.

Cancro Colorectal Metastásico (MCRC)

Uma contagem de CTC de **3** ou mais por 7,5 mL de sangue em qualquer altura durante o curso da doença está associada a um prognóstico deficiente e é indicador de uma sobrevivência livre de progressão e sobrevivência global mais curtas.

Cancro da Próstata Metastásico (MPC)

Uma contagem de CTC de **5** ou mais por 7,5 mL de sangue em qualquer altura durante o curso da doença está associada a um prognóstico deficiente e é indicador de uma sobrevivência livre de progressão e sobrevivência global mais curtas.

Precaução

A contaminação de uma amostra de contagem de CTC com um CTC **igual ou superior a 5000** por 7,5 mL de sangue pode afectar as amostras subsequentemente processadas no CELLTRACKS® AUTOPREP® System, incluindo o lote subsequente. Se as células forem transportadas para amostras subsequentes, as contagens de CTC dessas amostras podem ser erroneamente superiores à verdadeira contagem de CTC do doente. **Consulte o Guia do Utilizador do CELLTRACKS® AUTOPREP® para obter mais instruções.**

LIMITAÇÕES

- Atenção: A lei federal dos EUA restringe este dispositivo para venda por ou a pedido de um médico.
- Os resultados CELLSEARCH® deverão ser utilizados em conjunto com todas as informações clínicas obtidas nos testes de diagnóstico (ou seja, imagiologia, testes laboratoriais), exame físicos e no historial médico completo, em conformidade com os procedimentos apropriados de gestão de doentes.
- Este estudo de *prognóstico* não demonstra que *qualquer* linha actual de terapêutica é mais ou menos eficaz do que qualquer outra ou nenhuma terapêutica.
- Os resultados CELLSEARCH® e os resultados de imagiologia não são equivalentes na avaliação da transição de doentes entre doença não progressiva e doença progressiva.
- Se o doente estiver a receber terapêutica com doxorubicina, aguarde, pelo menos, 7 dias após a administração de uma dose de terapêutica antes de realizar uma colheita de sangue. Os resultados de um teste CELLSEARCH® deverão ser interpretados com cuidado, caso as amostras sejam colhidas no espaço de 7 dias após a administração da terapêutica com doxorubicina.
- As CTC que não expressam EpCAM não serão detectadas pelo teste CELLSEARCH®.
- As CTC que expressam EpCAM mas não expressam citoqueratinas 8, 18 e 19 não serão detectadas pelo teste CELLSEARCH®.
- Substâncias Interferentes:
As células SK-BR-3 adicionadas às amostras de sangue foram expostas a substâncias potencialmente interferentes e comparadas com controlos não tratados. Foram testados os níveis tóxicos (5 vezes o índice terapêutico) dos seguintes fármacos contra o cancro, fármacos não sujeitos a receita médica e de outras substâncias exógenas: ciclofosfamida, Mitomycin C®, Procrit®, biotina, 5-fluorouracil, metotrexato, citrato de tamoxifeno, paclitaxel, Arimidex®, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, cafeína, dextrometorfano, Aredia®, anticorpo humano anti-ratinho (HAMA) tipo 1, HAMA tipo 2, Herceptin® e ibuprofeno. Não foram detectadas diferenças significativas nos números de células SK-BR-3, indicando que estas substâncias não interferem com o CELLSEARCH® CTC Kit.

As amostras às quais foram adicionados níveis tóxicos de doxorubicina resultaram numa coloração aberrante de leucócitos como células positivas duplas de CD45 e citoqueratina, devido ao facto de a doxorubicina ser um composto fluorescente que é incorporado nas células nucleadas. Se observado, o padrão de coloração de todas as células positivas a CD45 e a citoqueratina é óbvio e é facilmente identificado pelo operador como um perfil de coloração de interferência conhecida. Se a colheita da amostra for realizada após o período de eliminação recomendado de 7 dias, após a perfusão de doxorubicina, é pouco provável que esta interferência seja observada na prática clínica dado os níveis terapêuticos controlados e a rápida eliminação do fármaco.

A potencial interferência de lipemia foi estudada através da adição de Intralipid a amostras a uma concentração de 2,6%, o que corresponde a um valor de triglicéridos superior a 1000 mg/dl. As amostras foram lisadas para simular a hemólise total. Foram também objecto de estudo a bilirrubina a 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 e hematócrito entre 18–60%. A lipemia, hemólise, icterícia e uma vasta gama de valores de hematócrito não interferem com o teste CELLSEARCH®. HAMA 1 e HAMA 2 também não interferem, o que indica que os indivíduos que recebem Ig de ratinho por vias parentéricas podem ser testados com êxito com o teste CELLSEARCH®.

VALORES ESPERADOS

Voluntários saudáveis, doença mamária não maligna, outra doença não maligna

As análises de CTC de ponto individual (medidas apenas uma vez) foram realizadas em grupos de controlo de 145 voluntários saudáveis, 101 mulheres com doença da mama não maligna e 99 mulheres com outras doenças não malignas. Não se prevê que as células epiteliais estejam presentes no sangue periférico de indivíduos saudáveis. Das 345 amostras totais de voluntários saudáveis e mulheres com doença não maligna, apenas um indivíduo tinha mais de 5 CTC/7,5 mL. Os resultados são apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Indivíduos de Controlo

Categoria	N	Média N.º CTC	DP	N.º doentes com ≥ 5 CTC	Min.*	Max.*
Saudável	145	0,1	0,2	0	0	1
Doença da mama não maligna	101	0,2	1,2	1	0	12
Outra doença não maligna	99	0,1	0,4	0	0	3

* Ligne directrice NCCLS C28-A2³

Voluntários saudáveis, doença colorectal não maligna

A colheita de sangue foi realizada em homens e mulheres saudáveis, com idade igual ou superior a 35 anos. Estes voluntários saudáveis estavam inscritos em três centros dos Estados Unidos. No âmbito deste estudo, foram colhidos dois tubos de sangue de cada indivíduo e ambos os tubos foram avaliados quanto aos níveis de CTC. No total, existiam 150 indivíduos passíveis de avaliação com uma ou duas alíquotas separadas de 7,5 mL de sangue processado para CTC. Nem todos os indivíduos avaliáveis apresentaram resultados de CTC disponíveis de ambos os tubos. O número médio de células tumorais circulantes foi de 0,0 para ambos os grupos de indivíduos, com desvios padrão compreendidos entre 0,1 e 0,2. Das 284 amostras totais de voluntários saudáveis (homens e mulheres), zero indivíduos tinham mais de 3 CTC/7,5 mL. Os resultados são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2: Resultados do Ensaio de Células Tumorais Circulantes CELLSEARCH® em Indivíduos de Controlo

Saudável Controlos	Todos os controlos			Apenas homens			Apenas mulheres		
	Tubo 1	Tubo 2	Total	Tubo 1	Tubo 2	Total	Tubo 1	Tubo 2	Total
N	149	135	284	68	64	132	81	71	152
Intervalo de CTC	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Média de CTC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DP de CTC	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
N (%) ≥ 1 CTC	2 (1%)	4 (3%)	6 (2%)	1 (1%)	1 (2%)	2 (2%)	1 (1%)	3 (4%)	4 (3%)
N (%) ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

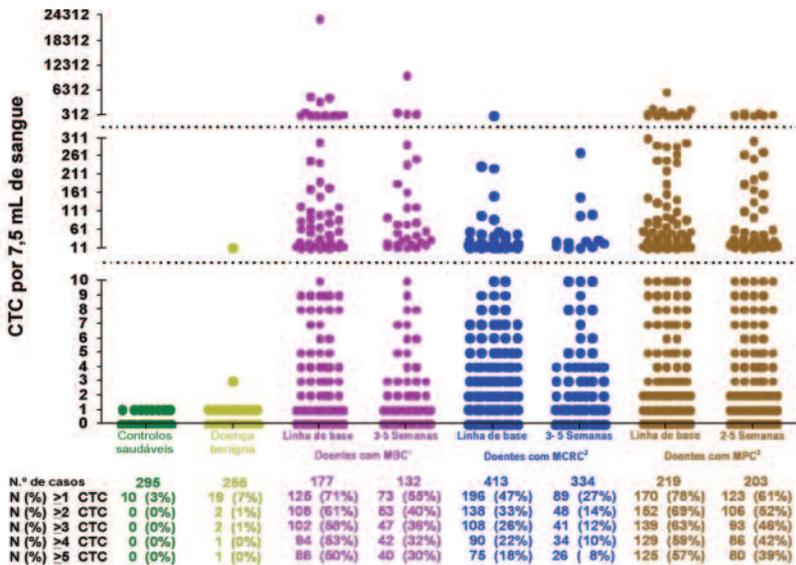
Procedeu-se à colheita de, aproximadamente, trinta mL de sangue (para aumentar a probabilidade de deteção de células) em quatro tubos CellSave separados (com, no mínimo, 7,5 mL por tubo) de indivíduos com doença benigna, submetidos a uma colonoscopia ou cirurgia. Foram avaliadas até quatro amostras de 7,5 mL de sangue, para cada indivíduo antes do procedimento. Os resultados são apresentados na **Tabela 3**. Nem todos os indivíduos avaliáveis apresentaram resultados de CTC disponíveis da totalidade dos quatro tubos. Nenhum dos doentes com doença colorectal benigna apresentou mais do que uma única célula tumoral circulante por 7,5 mL de sangue.

Tabela 3: Resultados do dosagem das células tumorais circulantes CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Assay chez les sujets atteints d'une tumeur colorectale bénigne

Doença benigna	Colheita de sangue antes do procedimento				
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Total
N	55	55	53	47	210
Intervalo	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Média	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
DP	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
% ≥ 1 CTC	3 (5%)	1 (2%)	2 (4%)	4 (9%)	10 (5%)
% ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

A Figura 1 apresenta a frequência de CTC no conjunto de indivíduos saudáveis e com doença benigna (controles) e em doentes com MBC, MCRC e MPC, antes e cerca de 1 mês depois do início da terapêutica.

Figura 1: Frequência de CTC nos Controlos (Indivíduos sem Cancro) e Doentes com Cancro da Mama Metastásico¹ (MBC), Cancro Colorectal Metastásico² (MCRC) ou Cancro da Próstata Metastásico³ (MPC) antes do Início de uma nova linha de Terapêutica (Linha de base) e aproximadamente 2 a 5 semanas Depois do Início da Terapêutica



¹ Informações sobre a população de referência com MBC – Tabela 1 das Instruções de Utilização clínicas.

² Informações sobre a população de referência com MCRC – Tabela 12 das Instruções de Utilização clínicas.

³ Informações sobre a população de referência com MPC – Tabela 22 das Instruções de Utilização clínicas

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Recuperação

As amostras de sangue de um único dador saudável foram misturadas e cinco de seis alíquotas de 7,5 mL foram enriquecidas com, aproximadamente, 1300, 325, 81, 20 e 5 células de cultura de cancro de mama (SK-BR-3). O sexto tubo consistia num pool de sangue não enriquecido e serviu como ponto zero. Estas amostras foram processadas no CELLTRACKS® AUTOPREP® System com o CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit e as contagens de CTC foram determinadas no CELLTRACKS ANALYZER II®. A experiência foi repetida para quatro dadores adicionais. As contagens de células observadas foram representadas num gráfico em relação aos resultados da contagem celular esperada. Os resultados estão resumidos na **Tabela 4**.

Tabela 4: Percentagem de Estimativas de Detecção.

Contagem esperada de células tumorais	Média observada Contagem de células tumorais	Contagem de células tumorais de recuperação
1300	1215	91 a 95%
325	308	82 a 101%
81	85	80 a 136%
20	22	95 a 140%
5	7	120 a 200%

Para determinar o ajuste global, ou de mínimos quadrados, para a comparação das contagens de células observadas e esperadas com base na totalidade dos dados, foi realizada uma análise de regressão linear. A equação de regressão para estas 30 amostras foi $Y = 0,93x + 3,87$ com $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$). Os resultados deste estudo indicam que em média, no intervalo de CTC testadas, a recuperação (conforme derivada da análise de regressão) é de 93%.

Perante a resposta linear das contagens de células tumorais, seria de esperar que o declive entre o gráfico dos valores observados em relação aos esperados seja 1,0. Contudo, o declive foi de 0,93. Isso deve-se ao facto de o CELLTRACKS® AUTOPREP® System com CELLSEARCH® CTC Kit envolver a captura e marcação fluorescente de células seguida pela respectiva detecção e quantificação pelo CELLTRACKS ANALYZER II®. A perda de células poderia, por isso, ser atribuída a uma das seguintes possibilidades; 1) a recuperação de apenas 93% das células tumorais adicionadas a 7,5 mL de sangue pelo CELLTRACKS® AUTOPREP® System, 2) a detecção de apenas 93% das células tumorais presentes na câmara da amostra pelo CELLTRACKS ANALYZER II® ou 3) uma combinação destas duas causas de erro.

Linearidade / Intervalo Reportável

Outra forma de examinar os dados anteriores é analisá-los como uma série de diluições para avaliar a linearidade do teste. Removemos a variável confusa de percentagem de recuperação, utilizando o valor observado da amostra inicial na série de diluições (ou seja, o primeiro tubo) dividido pelos factores de diluição, para determinar os valores esperados para a série de diluições de cada amostra de doente. A regressão de todos estes números de células tumorais observadas em relação aos números de células tumorais esperadas resultou num declive de 1,007, numa intercepção de 3,0 e $R^2 = 0,990$ ($R = 0,995$). Assim, assim que a percentagem de recuperação (perda celular) foi eliminada dos valores de CTC de cada uma das amostras iniciais, a análise dos dados demonstrou que a detecção de CTC foi linear no intervalo reportável de 0 a 1238 células tumorais.

Limites de Detecção

É possível detectar uma CTC por 7,5 mL com o CELLTRACKS ANALYZER II®, resultando num limite de detecção de 1 CTC num cartucho. A regressão linear demonstra que, em média, 93% das CTC presentes numa amostra de sangue de 7,5 mL são recuperadas utilizando o CELLTRACKS® AUTOPREP® System (consulte a secção **Recuperação**). A perda de, aproximadamente, 7% das CTC na amostra não é suficiente para reduzir o limite de detecção de 1 CTC.

Reprodutibilidade:

a. Reprodutibilidade do Sistema com Controlo de Células Tumorais Circulantes CELLSEARCH®

Três amostras separadas de controlo de células tumorais circulantes CELLSEARCH® foram preparadas e processadas todos os dias durante 30 dias, de acordo com o método de longo prazo da norma EP5-A2 da NCCLS. Cada frasco de amostra para uma única utilização contém uma concentração baixa e alta de células de uma linha celular fixa, que foram pré-coradas com dois fluorocromos diferentes. O resumo das estatísticas para as células de controlo alto e baixo é apresentado em baixo.

Tabela 5: Resumo das Análises de Precisão

	Baixo	Alto
N	99	99
Contagem média de células	48	969
Desvio padrão de precisão total (ST) % CV	18%	5%

b. Reprodutibilidade do Sistema com Amostras de Doentes Cancro da Mama Metastásico (MBC)

Procedeu-se à colheita de um total de 163 amostras de sangue duplicadas de 47 doentes com cancro da mama metastásico durante o estudo clínico. Estas amostras foram processadas em múltiplos locais para determinar a reprodutibilidade das medições de CTC. A equação de regressão para a comparação destas 163 amostras duplicadas foi $Y = 0,98x + 0,67$, $R^2 = 0,99$. A **Figura 2** apresenta um gráfico de dispersão dos resultados duplicados de CTC em amostras de sangue colhidas em doentes com MBC, representados numa escala logarítmica com o limiar de 5 CTC indicado pelas linhas tracejadas.

Figura 2: Reprodutibilidade de Contagens de CTC em Amostras Duplicadas de MBC (n=163) com Média de <5 ou ≥ 5 CTC por 7,5 mL de sangue.

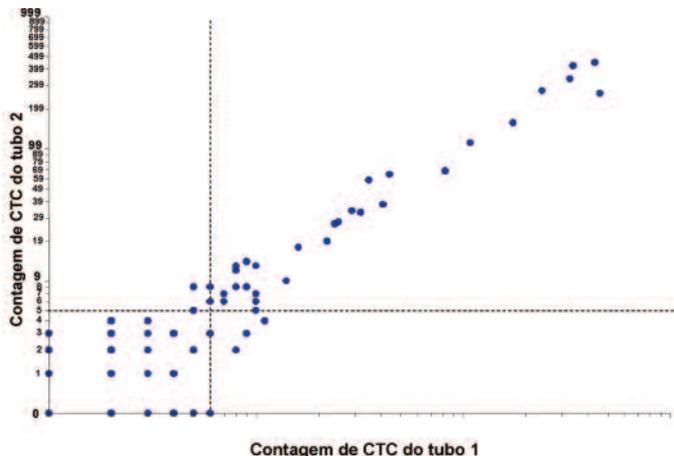


Figura 2 Nota: Pode existir mais de um ponto sobreposto por cima de outro. Neste gráfico, por exemplo, existem 50 casos (31%) em que ambos os tubos continham 0 CTC, 18 casos (11%) em que o Tubo 1 continha 0 CTC e o Tubo 2 continha 1 CTC e outros 18 casos (11%) em que o Tubo 1 continha 1 CTC e o Tubo 2 continha 0 CTC.

Cancro Colorectal Metastásico (MCRC)

Procedeu-se à colheita de um total de 1.627 amostras de sangue duplicadas de 430 doentes com MCRC durante o estudo clínico. Estas amostras foram processadas em múltiplos locais para determinar a reprodutibilidade das medições de CTC. A equação de regressão para a comparação destas 1.627 amostras duplicadas foi $Y = 0,98x + 0,18$, $R^2 = 0,96$. A **Figura 3** apresenta um gráfico de dispersão dos resultados duplicados de CTC em amostras de sangue colhidas em doentes com MCRC, representados numa escala logarítmica com o liminar de 3 CTC indicado pelas linhas tracejadas.

Figura 3: Reprodutibilidade de Contagens de CTC em Amostras Duplicadas de MCRC (n=1627) com Média de <3 ou ≥ 3 CTC por 7,5 mL de sangue.

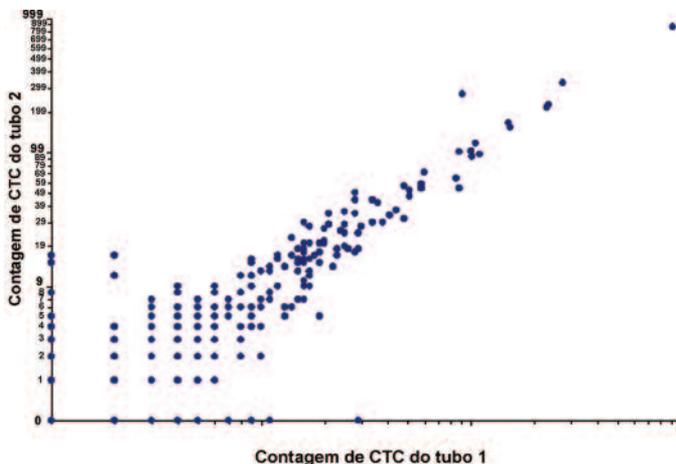


Figura 3 Nota: Pode existir mais de um ponto sobreposto por cima de outro. Neste gráfico, por exemplo, existem 975 casos (60%) em que ambos os tubos continham 0 CTC, 116 casos (7%) em que o Tubo 1 continha 0 CTC e o Tubo 2 continha 1 CTC e outras 109 casos (7%) em que o Tubo 1 continha 1 CTC e o Tubo 2 continha 0 CTC.

Avariação de tubo para tubo das contagens de CTC em amostras de sangue de doentes com cancro da mama e colorectal metastático é apresentada nas **Figura 2 e Figura 3**. A distribuição de casos raros (como, por exemplo, células tumorais) num determinado volume é aleatória e independente do tipo de célula ou doença. Este aspecto é caracterizado de forma mais adequada utilizando a distribuição de Poisson – um método matemático utilizado na modelação de sistemas, nos quais a probabilidade de ocorrência de um determinado caso é muito baixa mas o número de oportunidades para que o caso em causa ocorra é elevado⁵. Para os tubos com um número muito diminuto de CTC prostáticas, é razoável esperar uma variação nos resultados semelhante à que é ilustrada nas **Figura 2 e Figura 3**. Uma vez que os dois estudos anteriores realizados em doentes com MBC e MCRC apresentaram resultados praticamente idênticos, durante o ensaio clínico de CTC da próstata com CELLSEARCH® não foi realizada uma comparação de tubo para tubo das contagens de CTC em amostras de sangue de doentes com cancro da próstata metastático. Contudo, os resultados de um estudo independente, realizado no Memorial Sloan-Kettering Cancer Center e no qual se recorreu à tecnologia CELLSEARCH®, não demonstraram qualquer variação sistemática de local para local ou de tubo para tubo nas contagens de CTC, num intervalo de 0 a 1192 CTC por tubo em doentes com cancro da próstata metastático⁴.

BIBLIOGRAFIA

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Ruddon 1995.
2. NCCLS Approved Guideline EP5-A, “Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”.
3. NCCLS Approved Guideline C28-A2, “How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.
4. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak P, Doyle GV, Terstappen LWMM, Lijja H, Heller G, Fleisher M and Scher HI. “Circulating Tumor Cell Analysis in Patients with Progressive Castration-Resistant Prostate Cancer”, *Clinical Cancer Research*, Vol 13 No.7: 2023-2029, (2007).
5. Tibbe A.G.J, Miller C.M and Terstappen LWMM “Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells”, *Cytometry Part A* 71a:154-162 (2007).

REF 7900001
Kit de 16 testes



**Circulating Tumor Cell Kit
(Epiteliais)**

RESULTADOS DOS ENSAIOS CLÍNICOS

Índice

1 Doentes com Cancro da Mama Metastásico(MBC)	6
1.1 Frequências de CTC.....	6
1.2 Análise da Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MBC	7
1.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base	7
1.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	7
1.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS.....	8
1.3 Análise da Sobrevivência Global (OS) de Doentes com MBC.....	9
1.3.1 Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base.....	9
1.3.2 OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	10
1.3.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS	11
1.3.4 Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MBC	12
1.3.5 Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MBC	13
1.4 Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico do Cancro da Mama Metastásico	15
1.4.1 Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por imagiologia	15
1.4.2 CTC.....	15
1.4.3 Imagiologia.....	16
1.4.4 Relação entre sobrevivência, imagiologia e CTC	16
1.4.5 Concordâncias entre CTC e Monitorização Radiológica.....	18
1.4.6 CTC como um Complemento à Imagiologia	20
1.5 Variabilidade das Avaliações de CTC e Radiológicas.....	21
1.5.1 CTC.....	21
1.5.2 Imagiologia.....	21
2 Doentes com Cancro Colorectal Metastásico (MCRC)	21
2.1 Frequências de CTC.....	22
2.2 Análise da Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MCRC	23
2.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base	23
2.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	23
2.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS.....	24
2.3 Análise da Sobrevivência Global (OS) de Doentes com MCRC.....	25
2.3.1 Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base.....	25
2.3.2 OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	26
2.3.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS	27
2.3.4 Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MCRC	28
2.3.5 Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MCRC.....	28
2.4 Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico do Cancro Colorectal Metastásico.....	29
2.4.1 Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por imagiologia.....	29
2.4.2 CTC.....	30
2.4.3 Imagiologia.....	30
2.4.4 Relação entre sobrevivência, imagiologia e CTC	30
2.4.5 Concordâncias entre CTC e Monitorização Radiológica em Doentes com MCRC.....	32
2.4.6 CTC como um Complemento à Imagiologia	34
3 Doentes com Cancro da Próstata Metastásico (MPC)	34
3.1 Frequências de CTC.....	35
3.2 Análise da Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MPC.....	36
3.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base	36
3.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	37
3.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS.....	38

3.3	Análise da Sobrevivência Global (OS) de Doentes com MPC	39
3.3.1	Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base	39
3.3.2	OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento	39
3.3.3	Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS	40
3.3.4	Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MPC	41
3.3.5	Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MPC	42
3.4	Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico de Doentes com Cancro da Próstata Metastásico	44
3.4.1	Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por PSA	44
3.4.2	Concordâncias entre CTC e Alterações do PSA em Doentes com MPC	45
3.4.3	Combinação dos Níveis de CTC e Redução de PSA para Prever a OS em Doentes com MPC	47

Lista de Tabelas

Tabela 1:	Dados demográficos dos Doentes com MBC	6
Tabela 2:	Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) para doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais	8
Tabela 3:	Sobrevivência Global (OS) para doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais	11
Tabela 4:	Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MBC	13
Tabela 5:	Análise de Regressão Multivariada de Cox da Sobrevivência Livre de Progressão em Doentes com MBC	14
Tabela 6:	Análise de Regressão Multivariada de Cox da Sobrevivência Global em Doentes com MBC	15
Tabela 7:	OS de Doentes com MBC com uma avaliação de CTC, aproximadamente, um mês após o início da terapêutica e no espaço de um mês da avaliação radiológica	17
Tabela 8:	Comparação ao Nível dos Doentes com MBC de CTC e Imagiologia	19
Tabela 9:	Comparação ao Nível da Observação de MBC de CTC e Imagiologia	19
Tabela 10:	Comparação ao Nível dos Doentes com MBC de CTC e Imagiologia	20
Tabela 11:	Variabilidade das Avaliações Radiológicas e de CTC em Doentes com MBC	21
Tabela 12:	Dados demográficos dos Doentes com MCRC	22
Tabela 13:	Exclusões das Análises de Sobrevivência Livre de Progressão e Global em Doentes com MCRC	22
Tabela 14:	Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) para doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC em diferentes pontos temporais	24
Tabela 15:	Sobrevivência Global (OS) para doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC em diferentes pontos temporais	27
Tabela 16:	Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MCRC	28
Tabela 17:	Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MCRC	29
Tabela 18:	OS de Doentes com MCRC com uma avaliação de CTC, aproximadamente, um mês após o início da terapêutica e no espaço de um mês da avaliação radiológica	31
Tabela 19:	Comparação ao Nível dos Doentes com MCRC de CTC e Imagiologia	33
Tabela 20:	Comparação ao Nível da Observação de MCRC de CTC e Imagiologia	33
Tabela 21:	Comparação ao Nível dos Doentes com MCRC de CTC e Imagiologia	34
Tabela 22:	Dados demográficos dos Doentes com MPC	35
Tabela 23:	Exclusões das Análises de PFS e OS em Doentes com MPC	36
Tabela 24:	Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) para doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais	38
Tabela 25:	Sobrevivência Global (OS) para doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais	40
Tabela 26:	Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MPC	42
Tabela 27:	Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MPC	43

Tabela 28: Comparação da OS Mediana entre os Grupos Favoráveis e Desfavoráveis em termos de CTC e Redução de PSA.....	45
Tabela 29: Comparação ao Nível dos Doentes com MPC de CTC e Redução de 30% do PSA às 2-5 Semana.....	46
Tabela 30: Comparação ao Nível dos Doentes com MPC de CTC e Redução de 30% do PSA às 13-20 Semanas.....	46
Tabela 31: Comparação ao Nível da Observação de MPC de CTC e Redução de 30% de PSA.....	46

Lista de Figuras

Figura 1: PFS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N=177).....	7
Figura 2: PFS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	8
Figura 3: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MBC.....	9
Figura 4: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N=177).....	10
Figura 5: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	10
Figura 6: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento na Contagem de CTC de 5 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MBC.....	12
Figura 7: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com NPD ou PD no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=138).....	17
Figura 8: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC no 1º Seguimento após o Início da Terapêutica (N=138).....	18
Figura 9: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC no espaço de ± 1 Mês do 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=134).....	18
Figura 10: OS de Doentes com MBC nos Grupos 1, 2, 3 e 4 utilizando a 1ª avaliação de CTC de seguimento após o Início da Terapêutica (n=138) e o Estado da Doença Determinado no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento.....	20
Figura 11: PFS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC na Linha de Base (N=413).....	23
Figura 12: PFS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	24
Figura 13: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 3 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MCRC.....	25
Figura 14: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC na Linha de Base (N=413).....	26
Figura 15: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	26
Figura 16: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 3 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento na Contagem de CTC de 3 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MCRC.....	27
Figura 17: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com NPD ou PD no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=402).....	31
Figura 18: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC no 1º Seguimento após o Início da Terapêutica (N=320).....	32
Figura 19: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC no espaço de ±1 Mês após o 1º Estudo Imagiológico ou Morte (N=364).....	32
Figura 20: OS de Doentes com MCRC nos Grupos 1, 2, 3 e 4 utilizando a contagem de CTC nas 3-5 Semanas após o Início da Terapêutica (n=320) e o Estado da Doença Determinado no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento.....	34
Figura 21: PFS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N = 219).....	37
Figura 22: PFS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	37
Figura 23: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MPC.....	38
Figura 24: OS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N = 219).....	39
Figura 25: OS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes.....	40

Figura 26: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento na Contagem de CTC de 5 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MPC	41
Figura 27: OS de Doentes com MPC às 2–5 semanas após o início da terapêutica	44
Figura 28: OS de Doentes com MPC às 6–8 semanas após o início da terapêutica	44
Figura 29: OS de Doentes com MPC às 9–12 semanas após o início da terapêutica	44
Figura 30: OS de Doentes com MPC às 13–20 semanas após o início da terapêutica	45
Figura 31: Combinação dos Níveis de CTC e Alterações de PSA para Prever a OS às 2–5 Semanas (Painel A), 6–8 Semanas (Painel B), 9–12 Semanas (Painel C) e 13–20 Semanas (Painel D) Após o Início da Terapêutica	47–48

1 Doentes com Cancro da Mama Metastático (MBC)

Foi realizado um ensaio clínico multicêntrico e prospectivo para determinar se era possível prever a progressão da doença e sobrevivência através do número de CTC. Neste estudo participaram doentes com cancro da mama metastático com doença mensurável (N=177) e que estavam a iniciar uma nova linha de terapêutica. Os dados clínicos foram analisados numa base de “intenção de tratar”. As informações demográficas dos doentes são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Dados demográficos dos Doentes com MBC

Categoria		N=177 Doentes
Idade na linha de base	Média ± desvio padrão Mediana	58 ± 13 58
	Descrição das categorias	Número de indivíduos (% do total)
Fase	1	26 (15%)
	2	92 (52%)
	3	26 (15%)
	4	20 (11%)
	Desconhecida	13 (7%)
Raça	Branca	153 (86%)
	Negra	14 (8%)
	Hispânica	7 (4%)
	Desconhecida	3 (2%)
Classificação ECOG a linha de base	0	82 (46%)
	1	72 (41%)
	2	18 (10%)
	Desconhecida	5 (3%)
Local da doença	Visceral	152 (86%)
	Ossos	153 (86%)
ER/PR	+	121 (68%)
	-	54 (31%)
	Desconhecida	2 (1%)
HER2	0	91 (51%)
	1+	12 (7%)
	2+	18 (10%)
	3+	27 (15%)
	Desconhecida	29 (17%)
Linha de terapêutica	1ª linha	82 (46%)
	2ª linha	26 (15%)
	≥ 3ª linha	67 (38%)
	Desconhecida	2 (1%)
Tipo de terapêutica	Químio (Qu)	74 (42%)
	Endócrina (En)	45 (25%)
	Dirigida (Di)	9 (5%)
	Qu/En	10 (6%)
	Qu/Di	23 (13%)
	En/Di	7 (4%)
	Qu/En/Di	2 (1%)
	Várias	2 (1%)
	Desconhecida	5 (3%)

A contagem de CTC na linha de base foi determinada antes do início de uma nova linha de terapêutica. As contagens de CTC de seguimento foram determinadas após o início da terapêutica com intervalos de cerca de 3 a 4 semanas. Para as análises da linha de base, procedeu-se à medição da Sobrevivência livre de progressão (PFS – Progression Free Survival) a partir da altura da colheita de sangue na linha de base até ao diagnóstico de progressão por exames de TC e/ou sinais e sintomas clínicos e a Sobrevivência global (OS – Overall Survival) foi medida desde a altura da colheita de sangue na linha de base até à altura em que o doente morreu. Para as análises de seguimento, procedeu-se à medição da PFS a partir da altura da colheita de sangue de seguimento até ao diagnóstico de progressão ou morte e a OS foi medida desde a altura da colheita de sangue de seguimento até à altura em que o doente morreu.

1.1 Frequências de CTC

Os resultados de CTC obtidos a partir das colheitas de sangue de seguimento às 3–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica foram classificados como sendo favoráveis (<5 CTC) ou desfavoráveis (≥ 5 CTC). Nos casos em que se obteve mais do que um resultado de CTC dentro de qualquer um dos pontos temporais de seguimento designados, utilizou-se o resultado de CTC da colheita de sangue com o maior distanciamento da colheita de sangue da linha de base.

Do total de 177 doentes com MBC, 23 não foram avaliados no primeiro seguimento. Destes 23 doentes, dez doentes morreram antes de ter sido possível realizar uma colheita de sangue de seguimento, nove doentes progrediram antes de uma colheita de sangue de seguimento e quatro não realizaram o seguimento. Notavelmente, cada um dos dez doentes que morreram apresentava contagens de CTC desde ≥ 5 a um valor extremamente elevado na

linha de base (contagens de CTC de 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 e 23618). Dos 154 doentes disponíveis para a análise de seguimento, 132, 99, 129 e 85 realizaram uma colheita de sangue às 3–5, 6–8, 9–14 e 15–20 semanas após o início da terapêutica, respectivamente.

A **Tabela 3** resume o número total e a percentagem de doentes com CTC desfavoráveis no ensaio clínico de Sobrevivência global que difere dos números e percentagens de doentes no grupo de Sobrevivência livre de progressão apresentados na **Tabela 2**. A diferença em termos de número de doentes em cada ponto temporal entre as duas tabelas deve-se à progressão de alguns doentes antes da colheita de sangue. A diferença em termos de número de doentes *dentro* das tabelas deve-se ao número de doentes com colheitas de sangue e resultados de CTC avaliados em cada ponto temporal.

1.2 Análise da Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MBC

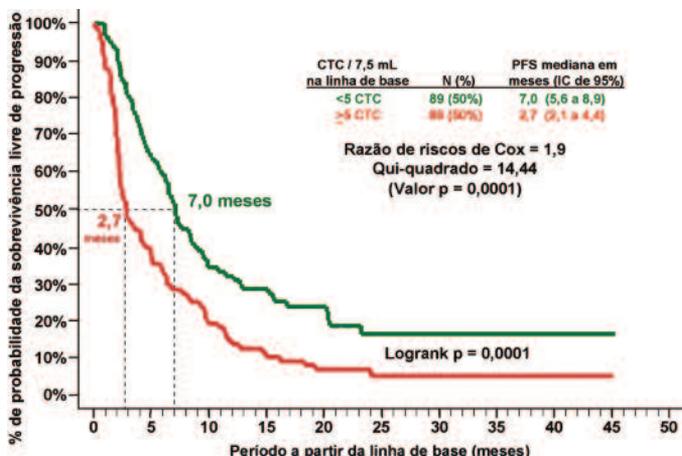
1.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

Todos os 177 doentes com MBC realizaram um teste CTC na linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=89), representado a **verde**, era composto por doentes com <5 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=88), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC.

A PFS mediana foi significativamente mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (7,0 vs. 2,7 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 1**.

Figura 1: PFS de Doentes com MBC com <5 ou ≥ 5 CTC na Linha de Base (N=177).

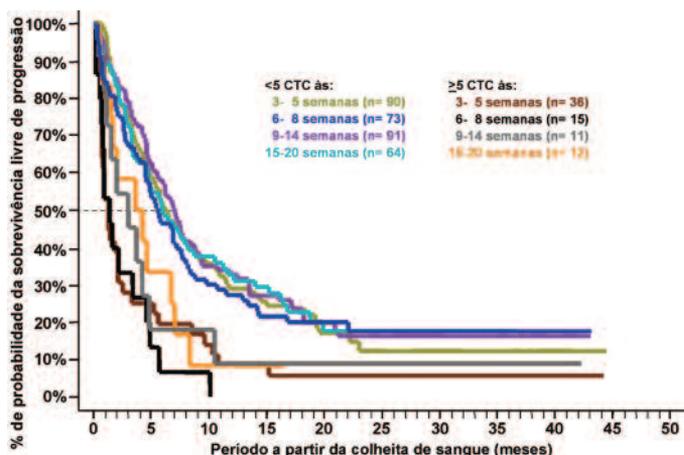


1.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes com MBC foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC em cada uma das várias colheitas de sangue de seguimento. Na **Figura 2**, estão ilustrados ambos os grupos de doentes em cada uma das alturas em que foi realizada uma colheita de sangue de seguimento após o início da terapêutica para PFS. Os períodos de PFS foram calculados desde a altura em que foi realizada cada colheita de sangue e qualquer doente que tenha apresentado evidências de progressão antes de uma determinada colheita de sangue foi excluído da análise dessa e de todas as colheitas de sangue de seguimento subsequentes. A **Figura 2** ilustra a capacidade das CTC em doentes com <5 CTC e ≥ 5 às 3–5 semanas, 6–8 semanas, 9–14 semanas e 15–20 semanas após o início da terapêutica para prever o período de tempo até à progressão clínica, em 177 doentes com cancro da mama metastático.

- O grupo Favorável representado a **verde seco, azul, roxo e azul turquesa**, era composto por doentes com <5 CTC,
- O grupo Desfavorável, representado a **castanho, preto, cinzento e cor de laranja**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC

Figura 2: PFS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes



A Tabela 2 resume os resultados da análise PFS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥5 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 2: Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) para doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais

Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 5 CTC	PFS mediana em meses (IC de 95%)		Valor p Log-rank
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
			1	2	
Linha de base	117	88 (50%)	7,0 (5,6 à 8,9)	2,7 (2,1 à 4,4)	0,0001
3-5 Semanas	126	36 (29%)	6,1 (4,7 à 8,6)	1,3 (0,7 à 2,1)	<0,0001
6-8 Semanas	88	15 (17%)	5,6 (4,5 à 7,6)	1,4 (0,6 à 3,4)	0,0001
9-14 Semanas	102	11 (11%)	7,0 (5,1 à 8,8)	3,0 (0,9 à 4,8)	0,0251
15-20 Semanas	76	12 (16%)	5,9 (3,8 à 8,7)	3,6 (0,7 à 7,0)	0,0610

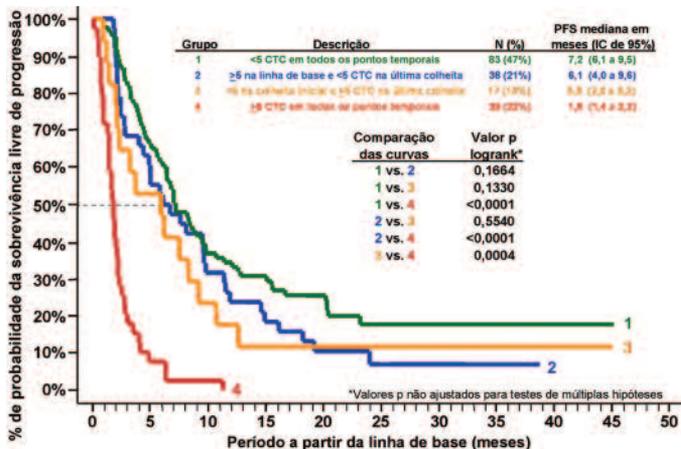
Conforme ilustrado na Figura 2 e na Tabela 2, os doentes com contagens elevadas de CTC (≥5 CTC/7,5 mL de sangue total) em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de progressão rápida do que os doentes com <5 CTC. A coluna 4 da Tabela 2 indica que os períodos de PFS mediana para os doentes com <5 CTC variaram entre 5,6 a 7,0 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de PFS mediana para os doentes com ≥5 CTC, que variaram entre 1,3 a 3,6 meses (coluna 5).

1.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS

Os períodos decorridos de PFS foram calculados a partir da colheita de sangue da linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier (Figura 3), os doentes com MBC foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 3–5 semanas, 6–8 semanas, 9–14 semanas e 15–20 semanas após o início da terapêutica:

- Grupo 1 (curva verde), 83 (47%) doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais da colheita de sangue. Cinco (6%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto dois (2%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥5 CTC;
- Grupo 2 (curva azul), 38 (21%) doentes com ≥5 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 17 (10%) doentes com <5 CTC numa colheita inicial (linha de base, 3–5 semanas e/ou 6–8 semanas) mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva vermelha), 39 (22%) doentes com ≥5 CTC em todos os pontos temporais da colheita de sangue. Dez (26%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue na linha de base.

Figura 3: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MBC



A **Figura 3** mostra que os doentes com MBC com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a PFS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a PFS mediana do **Grupo 3**, **Grupo 2** e **Grupo 1**. As diferenças entre as curvas para os demais grupos nesta figura não foram significativas.

1.3 Análise da Sobrevivência Global (OS) de Doentes com MBC

1.3.1 Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

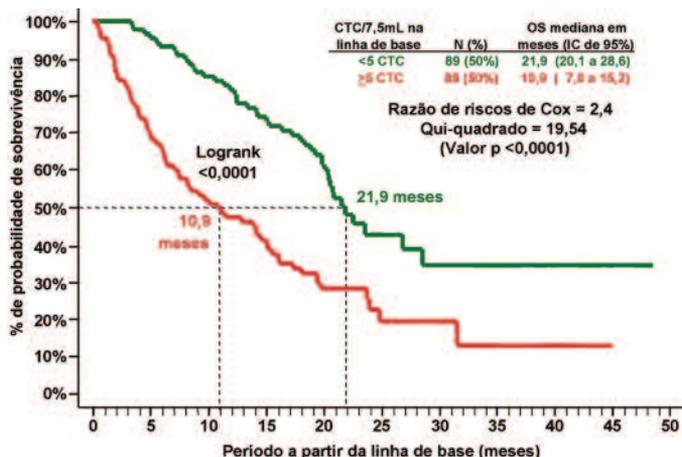
Os casos de morte ocorreram em 109 (62%) dos 177 doentes com MBC, com um período de seguimento médio para os 68 (38%) doentes ainda vivos de $22,7 \pm 9,4$ meses (mediana = 21,1, intervalo = 4,4 – 48,6). Na altura da realização das análises, 44 (49%) dos 89 doentes do grupo Favorável (<5 CTC na linha de base) morreram em comparação com 65 (74%) de 88 do grupo Desfavorável (≥ 5 CTC na linha de base).

Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=89), representado a **verde**, era composto por doentes com <5 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=88), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC.

A OS mediana foi significativamente mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (21,9 vs. 10,9 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 4**.

Figura 4: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N=177).

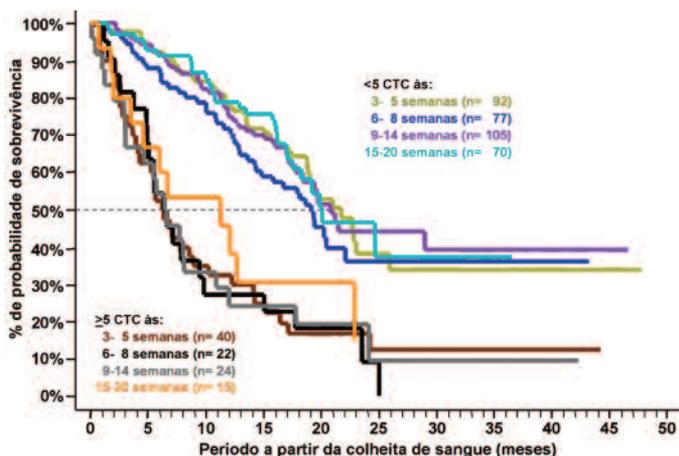


1.3.2 OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

As análises de Kaplan-Meier de ambos os grupos de doentes com MBC, em cada uma das alturas em que foi realizada uma colheita de sangue de seguimento após o início da terapêutica, estão ilustradas na **Figura 5**. Esta figura ilustra a capacidade das CTC em doentes com MBC com <5 CTC e ≥5 às 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas e 15-20 semanas após o início da terapêutica para prever o período de tempo até à morte, em 177 doentes com cancro da mama metastásico. Os períodos de OS foram calculados a partir da altura em que foi realizada cada colheita de sangue.

- O grupo Favorável representado a **verde seco, azul, roxo e azul turquesa**, era composto por doentes com <5 CTC,
- O grupo Desfavorável, representado a **castanho, preto, cinzento e cor de laranja**, era composto por doentes com ≥5 CTC.

Figura 5: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes



A **Tabela 3** resume os resultados da análise OS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥5 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 3: Sobrevivência Global (OS) para doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC em diferentes pontos temporais

1	2	3	4		5	6
Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 5 CTC	OS mediana em meses (IC de 95%)		Valor p Log-rank	
			<5 CTC	≥ 5 CTC		
Linha de base	177	88 (50%)	21,9 (20,1 a 28,6)	10,9 (7,0 a 15,2)	<0,0001	
3-5 Semanas	132	40 (30%)	21,7 (18,8 a 25,9)	6,2 (4,1 a 8,9)	<0,0001	
6-8 Semanas	99	22 (22%)	19,1 (14,2 a 22,1)	6,3 (4,8 a 9,8)	0,0001	
9-14 Semanas	129	24 (19%)	20,8 (17,8 a ≥ 45)	6,4 (3,0 a 10,9)	<0,0001	
15-20 Semanas	85	15 (18%)	20,1 (17,1 a ≥ 35)	11,3 (2,0 a 22,9)	0,0021	

1.3.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS

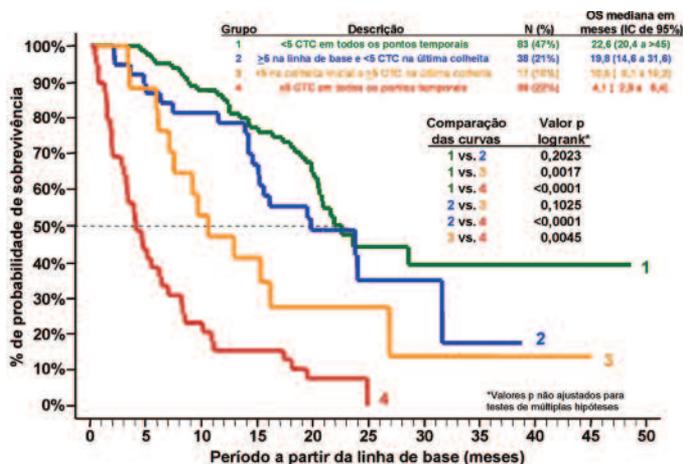
Os períodos decorridos de OS foram calculados a partir da colheita de sangue de linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier (**Figura 6**), os doentes foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 3–5 semanas, 6–8 semanas, 9–14 semanas e 15–20 semanas após o início da terapêutica:

- Grupo 1 (curva **verde**), 83 (47%) doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais da colheita de sangue. Cinco (6%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto dois (2%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥5 CTC;
- Grupo 2 (curva **azul**), 38 (21%) doentes com ≥5 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva **cor de laranja**), 17 (10%) doentes com <5 CTC numa colheita inicial (linha de base, 3–5 semanas e/ou 6–8 semanas) mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva **vermelha**), 39 (22%) doentes com ≥5 CTC em todos os pontos temporais da colheita de sangue. Dez (26%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue na linha de base.

A **Figura 6** mostra que os doentes com MBC que ultrapassaram o limiar de 5 CTC em qualquer ponto após o início da terapêutica apresentavam uma probabilidade muito maior de terem uma sobrevivência global mais curta. Os doentes com ≥5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a OS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a OS mediana do **Grupo 3**, **Grupo 2** e **Grupo 1**. A diferença na sobrevivência mediana entre o **Grupo 3** e **Grupo 1** foi igualmente significativa e embora a OS mediana para o **Grupo 3** tem sido mais curta em comparação com o **Grupo 2**, a diferença não foi estatisticamente significativa.

A **Figura 6** indica ainda que os doentes com ≥5 CTC na linha de base mas que, eventualmente, registaram uma redução para <5 CTC após o início da terapêutica, apresentaram, aproximadamente, o mesmo risco de morte que os doentes que nunca ultrapassaram o limiar de 5 CTC.

Figura 6: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento na Contagem de CTC de 5 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MBC



Conforme ilustrado na **Figura 6** e **Tabela 3**, nas colunas 4 e 5, os doentes com MBC com ≥ 5 CTC em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de morrer mais cedo do que os doentes com < 5 CTC. Os períodos de OS mediana para os doentes com < 5 CTC variaram entre 19,1 a 21,9 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de OS mediana para os doentes com ≥ 5 CTC, que variaram entre 6,2 a 11,3 meses.

1.3.4 Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MBC

Os parâmetros seguintes foram analisados utilizando a análise de regressão univariada de Cox para avaliar a associação com PFS e OS: idade do doente (contínuo), fase da doença a quando do diagnóstico (1–4), tempo até à metástase (contínuo), estado ECOG antes do início de uma nova linha de terapêutica (0–2), estado ER/PR (+/-), estado HER2/neu (0–3+), linha de terapêutica ($\geq 2^a$ ou 1^a), tipo de terapêutica (apenas quimio ou hormonal/ combinada), contagem de CTC na linha de base (≥ 5 ou < 5 CTC/7,5 mL) e contagens de CTC de seguimento às 3–5 semanas, 6–8 semanas, 9–14 semanas e 15–20 semanas após o início da terapêutica (≥ 5 ou < 5 CTC/7,5 mL). A **Tabela 4** apresenta os resultados desta análise e a razão dos riscos (HR) de Cox e o valor p associado (estatística de Z do teste de Wald), bem como o número de doentes em cada avaliação.

Tabela 4: Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MBC

Parâmetro	Categorias		N.º de doentes com MBC	Risco de PFS a partir da linha de base		Risco de OS a partir da linha de base	
	Positivo	Negativo		HR	Valor p	HR	Valor p
Idade na colheita de sangue na linha de base	Idade em anos		175	0,99	0,173	0,99	0,375
Fase no diagnóstico primário	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		164	0,97	0,723	1,00	0,969
ER/PR	Positivo	Negativo	175	0,84	0,327	0,53	0,002
Her-2/neu	3+ vs. 2+ vs. 1+ vs. 0		148	0,91	0,207	0,93	0,422
Estado ECOG na linha de base	2 vs. 1 vs. 0		172	1,14	0,307	1,64	0,001
Tempo até à metástase	Tempo em anos		175	0,97	0,048	0,95	0,018
Linha de terapêutica	≥ 2ª	1ª	175	1,55	0,007	1,91	0,001
Tipo de terapêutica	Apenas quimio	H / C e/ou I	172	1,97	<0,001	2,22	<0,001
Número de CTC na linha de base	≥ 5	<5	177	1,85	<0,001	2,36	<0,001
Número de CTC na 3 – 5 semana	≥ 5	<5	132	2,52	<0,001	3,30	<0,001
Número de CTC na 6 – 8 semana	≥ 5	<5	99	3,57	<0,001	2,87	<0,001
Número de CTC na 9 – 14 semana	≥ 5	<5	129	2,89	<0,001	3,64	<0,001
Número de CTC na 15 – 20 semana	≥ 5	<5	85	1,86	0,041	2,85	0,004

H / C / et/ou I – – Hormonal ou Imunoterapia isoladamente ou Combinação de Hormonal e/ou Quimio e/ou Imunoterapia

1.3.5 Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MBC

Foram realizadas análises de regressão multivariadas de Cox em doentes com MBC para avaliar a capacidade preditiva, independente da contagem de CTC, através do ajuste segundo os efeitos dos factores clínicos importantes que são estatisticamente significativos nas análises univariadas. Determinou-se que as CTC são fortes indicadores de PFS (Tabela 5) e OS (Tabela 6).

Tabela 5: Análise de Regressão Multivariada de Cox da Sobrevida Livre de Progressão em Doentes com MBC

Variável	N	Razão de riscos	Valor p
CTC na linha de base (<5 vs. ≥5)	172	1,69	0,001
Tempo até à metástase (ano)		0,98	0,154
Linha de terapêutica (1a vs. ≥2ª)		1,52	0,013
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Químio)		1,74	0,001
CTC no seguimento às 3–5 semanas (<5 vs. ≥5)	132	2,32	<0,001
Tempo até à metástase (ano)		0,97	0,166
Linha de terapêutica (1a vs. ≥2ª)		1,68	0,008
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Químio)		1,50	0,060
CTC no seguimento às 6–8 semanas (<5 vs. ≥5)	99	2,92	<0,001
Tempo até à metástase (ano)		0,93	0,023
Linha de terapêutica (1a vs. ≥2ª)		1,36	0,175
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Químio)		1,90	0,005
CTC no seguimento às 9–14 semanas (<5 vs. ≥5)	129	2,23	0,002
Tempo até à metástase (ano)		0,97	0,170
Linha de terapêutica (1a vs. ≥2ª)		1,48	0,061
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Químio)		1,73	0,007
CTC no seguimento às 15–20 semanas (<5 vs. ≥5)	85	1,58	0,140
Tempo até à metástase (ano)		0,96	0,064
Linha de terapêutica (1a vs. ≥2ª)		1,80	0,018
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Químio)		1,66	0,049

Tabela 6: Análise de Regressão Multivariada de Cox da Sobrevida Global em Doentes com MBC

Variável	N	Razão de riscos	Valor p
CTC na linha de base (<5 vs. ≥5)	170	2,62	<0,001
ER/PR (Negativo vs. Positivo)		0,57	0,016
Estado ECOG na linha de base (2 vs. 1 vs. 0)		1,58	0,001
Tempo até à metástase (ano)		0,97	0,078
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª)		2,33	<0,001
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Quimio)		1,78	0,006
CTC no seguimento às 3–5 semanas (<5 vs. ≥5)	130	3,78	<0,001
ER/PR (Negativo vs. Positivo)		0,51	0,020
Estado ECOG na linha de base (2 vs. 1 vs. 0)		1,69	0,001
Tempo até à metástase (ano)		0,96	0,142
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª)		2,30	0,001
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Quimio)		1,72	0,026
CTC no seguimento às 6–8 semanas (<5 vs. ≥5)	99	2,88	0,001
ER/PR (Negativo vs. Positivo)		0,58	0,062
Estado ECOG na linha de base (2 vs. 1 vs. 0)		1,32	0,173
Tempo até à metástase (ano)		0,94	0,135
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª)		2,51	0,001
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Quimio)		2,33	0,003
CTC no seguimento às 9–14 semanas (<5 vs. ≥5)	129	4,14	<0,001
ER/PR (Negativo vs. Positivo)		0,39	0,002
Estado ECOG na linha de base (2 vs. 1 vs. 0)		1,57	0,016
Tempo até à metástase (ano)		0,98	0,388
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª)		2,21	0,003
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Quimio)		2,28	0,003
CTC no seguimento às 15–20 semanas (<5 vs. ≥5)	85	3,44	0,006
ER/PR (Negativo vs. Positivo)		0,38	0,024
Estado ECOG na linha de base (2 vs. 1 vs. 0)		1,33	0,321
Tempo até à metástase (ano)		0,94	0,150
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª)		3,43	0,001
Tipo de terapêutica (Hormonal/Outra vs. Apenas Quimio)		1,67	0,166

1.4 Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico do Cancro da Mama Metastático

1.4.1 Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por imagiologia

A radiologia consiste num dos principais métodos de determinação do estado da doença e resposta à terapêutica nos doentes com cancro da mama metastático. Para estabelecer relação das CTC, com o estado clínico, conforme determinado pela imagiologia, as CTC (medidas em dois pontos temporais diferentes) e os resultados de imagiologia foram comparados 1) com a sobrevivência global do ponto final clínico verdadeiro 2) entre si.

1.4.2 CTC

Os dados anteriores demonstraram que os doentes com ≥ 5 CTC / 7,5mL de sangue, em qualquer consulta de seguimento subsequente após o início da terapêutica, apresentavam uma probabilidade mais elevada de doença progressiva e sobrevivência global reduzida em comparação com os doentes com < 5 CTC / 7,5 mL de sangue. Os resultados de CTC obtidos no primeiro seguimento após o início da terapêutica, bem como os resultados de CTC obtidos no espaço de \pm um mês do estudo imagiológico foram classificados como < 5 CTC e ≥ 5 CTC. Nos casos em se obteve mais do que um valor de CTC no espaço de \pm mês do estudo imagiológico, utilizou-se o resultado de CTC obtido mais próximo da data do estudo imagiológico.

1.4.3 Imagiologia

Todos os locais de imagiologia estavam em conformidade com os padrões Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Com base na utilização de imagens digitais normalizadas, dois especialistas em radiologia (leitores), a trabalhar individualmente e sem conhecimento das informações clínicas, classificaram cada avaliação de seguimento da doença (total de 231 estudos de imagiologia) de 138 doentes com doença mensurável como indeterminada (I), doença estável (S), resposta parcial (PR) ou doença progressiva (PD), de acordo com os critérios bidimensionais da Organização Mundial de Saúde (OMS). A doença mensurável foi definida como a presença de, pelo menos, uma lesão com ≥ 2 cm na sua dimensão mais longa. Os leitores identificaram até oito lesões por doente em cada ponto temporal, descrevendo a dimensão mais longa da lesão e a dimensão perpendicular mais longa. Estas duas dimensões foram multiplicadas e foi apresentado o “produto vectorial”. Procedeu-se ao cálculo das medições somadas para os produtos vectoriais e foi determinada a percentagem de alteração a partir do ponto temporal anterior. Embora todos os doentes apresentassem uma doença mensurável, foram incluídas lesões não mensuráveis (mesmo assim detectáveis por radiologia) na determinação do estado do doente, conforme descrito nas directrizes da OMS. A doença progressiva foi definida como um aumento $>25\%$ na soma de todas as lesões ou aparecimento de uma nova lesão mensurável ou não mensurável. A resposta parcial foi definida como uma redução na soma de todas as lesões de $\geq 50\%$ e ausência de novas lesões.

As interpretações radiológicas dos dois especialistas em radiologia foram classificadas da seguinte forma:

- Considerou-se que tanto S como PR reflectiam a existência de doença não progressiva (NPD)
- Considerou-se que PD reflectia a existência de doença progressiva
- Nas situações em que um dos radiologista atribuiu uma classificação de Indeterminada (I) mas o outro radiologista atribuiu uma classificação de S, PR ou PD, foi utilizada a classificação do segundo radiologista para a comparação com CTC (n=11)
- Quando ambos os radiologistas atribuíram uma classificação de Indeterminada (I), os dados não foram utilizados na comparação com CTC (n=3)
- Um terceiro radiologista independente pronunciou uma decisão em relação às discordâncias existentes entre os dois leitores principais relativamente a PD e NPD (n=27)
- Nas situações em que o terceiro radiologista independente atribuiu uma classificação de Indeterminada (I), os dados não foram utilizados na comparação com CTC (n=2)
- Nos estudos de imagiologia em série, os resultados de radiologia que ocorreram em menos de um mês após uma observação anterior classificada não foram utilizados (n=1)

1.4.4 Relação entre sobrevivência, imagiologia e CTC

Foram realizadas análises de Kaplan-Meier em separado para comparar a sobrevivência global de doentes com MBC nos grupos Favorável (<5 CTC) e Desfavorável (≥ 5 CTC) utilizando resultados de CTC obtidos em dois pontos temporais diferentes e o primeiro estudo imagiológico de seguimento. Com base nos resultados dos primeiros estudos de imagiologia de seguimento realizados nas $10,1 \pm 5,1$ semanas (mediana = 9,0 semanas) após o início da terapêutica (ou seja, a colheita de sangue na linha de base), a sobrevivência mediana dos 96 (70%) doentes, que segundo a imagiologia tinham NPD, foi de 23,8 meses (IC de 95% entre 20,4 a 28,6) (**Figura 7, Tabela 7**). Para os 42 (30%) doentes, que segundo a imagiologia tinham PD, a sobrevivência mediana foi de 12,9 meses (IC de 95% entre 7,1 e 19,3).

Para as CTC na primeira colheita de sangue de seguimento, realizada nas $4,3 \pm 2,5$ semanas (mediana = 4,0 semanas) após o início da terapêutica, a sobrevivência mediana de 104 (75%) doentes com resultados de CTC Favoráveis (<5 CTC) foi de 21,9 meses (IC de 95% entre 20,4 e 26,9) (**Figura 8, Tabela 7**). Trinta e quatro (34) doentes (25%) com resultados de CTC Desfavoráveis (≥ 5 CTC) apresentavam uma sobrevivência mediana de 8,3 meses (IC de 95% entre 5,9 a 15,1).

De modo a determinar se as avaliações de CTC realizadas numa altura mais próxima da imagiologia resultavam em perspectivas de sobrevivência semelhantes em comparação às avaliações de CTC realizadas no espaço de, aproximadamente, 4 semanas após o início da terapêutica, foram apenas analisados os doentes com avaliações de CTC realizadas no espaço de \pm um mês do primeiro estudo imagiológico de seguimento ($9,9 \pm 5,1$ semanas, mediana = 8,8 semanas, após o início da terapêutica) (**Figura 9, Tabela 7**). Cento e trinta e quatro (134) dos 138 doentes (97%) apresentavam avaliações de CTC no espaço de um mês do primeiro estudo imagiológico de seguimento. A sobrevivência mediana de 105 (78%) doentes com resultados de CTC Favoráveis foi de 21,9 meses (IC de 95% entre 19,9 e 31,6). Para 29 (22%) doentes com resultados de CTC Desfavoráveis, a sobrevivência mediana foi de 8,5 meses (IC de 95% entre 5,5 e 15,1). Estes dados demonstram que as avaliações de CTC em ambos os pontos temporais fornecem resultados semelhantes em relação aos exames de imagiologia realizados, aproximadamente, 9 semanas após o início da terapêutica (*Clin. Cancer Res. Vol 12: 6403-6409, Novembro 2006*).

Tabela 7: OS de Doentes com MBC com uma avaliação de CTC, aproximadamente, um mês após o início da terapêutica e no espaço de um mês da avaliação radiológica

	N	Sobrevivência mediana e (IC de 95%) meses
Imagiologia	138	
Favorável (NPD)	96 (70%)	23,8 (20,4 – 28,6)
Desfavorável (PD)	42 (30%)	12,9 (7,1 – 19,3)
CTC do 1 seguimento	138	
favorável (<5)	104 (75%)	21,9 (20,4 – 26,9)
desfavorável (≥5)	34 (25%)	8,3 (5,9 – 15,1)
CTC (±1 mês após imagiologia)	134*	
favorável (<5)	105 (78%)	21,9 (19,9 – 31,6)
desfavorável (≥5)	29 (22%)	8,5 (5,5 – 15,1)

*Des évaluations des CTC ont été réalisées chez 134 des 138 patientes moins d'1 mois avant ou après l'imagerie médicale.

Figura 7: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com NPD ou PD no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=138)

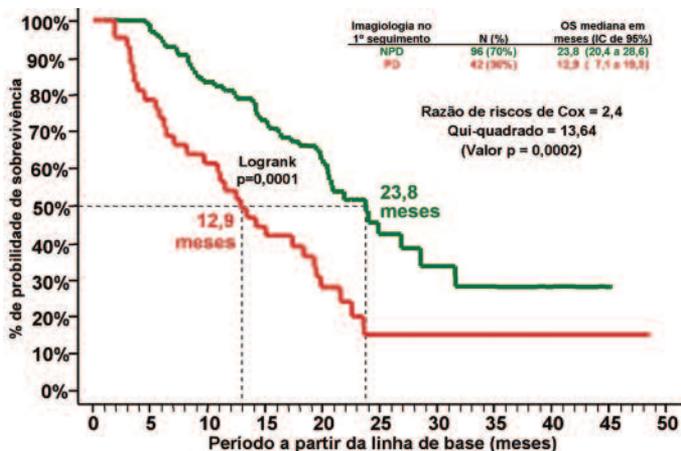


Figura 8: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC no 1º Seguimento após o Início da Terapêutica (N=138)

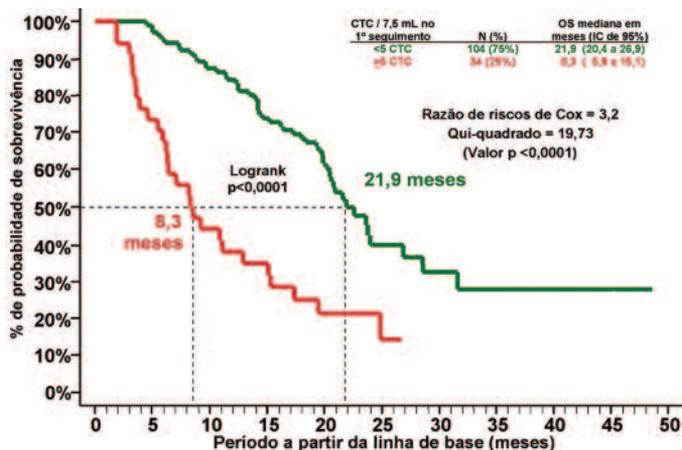
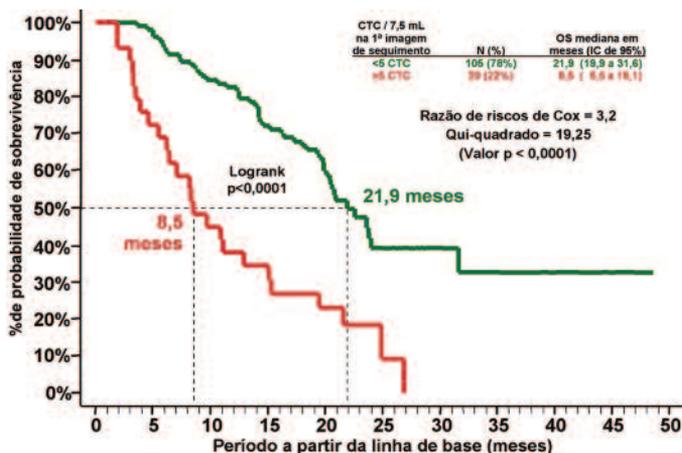


Figura 9: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MBC com <5 ou ≥5 CTC no espaço de ± 1 Mês do 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=134)



1.4.5 Concordâncias entre CTC e Monitorização Radiológica

Conforme referido anteriormente, os estudos de imagiologia constituem um importante componente dos padrões de cuidados de saúde actuais para determinar a progressão da doença e resposta ao tratamento no cenário de cancro da mama metastásico. Para melhor corroborar a eficácia de CTC na realização destas avaliações clínicas (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, Novembro 2006), foram elaboradas classificações em tabelas 2x2 das observações concordantes e discordantes entre CTC e imagiologia radiológica, utilizando os critérios anteriormente descritos.

Utilizando apenas o 1o estudo imagiológico de seguimento, a resposta radiológica nesta consulta foi comparada com os resultados de CTC obtidos no espaço de ± um mês após o estudo imagiológico. No total, 134 dos 138 doentes (97%) com MBC apresentavam resultados de CTC em conformidade com o referido critério. O resultado desta comparação ao nível dos doentes entre a contagem de CTC e imagiologia é apresentado na **Tabela 8**.

Tabela 8: Comparação ao Nível dos Doentes com MBC de CTC e Imagiologia

Resposta no 1º estudo imagiológico de seguimento	CTC no espaço de ± 1 mês após imagiologia		Total
	<5 CTC / 7,5mL	≥ 5 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	85	9	94
Doença progressiva	20	20	40
Total	105	29	134

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	50%	34%	66%
% de concordância negativa	90%	83%	96%
Valor preditivo positivo	69%	49%	85%
Valor preditivo negativo	81%	72%	88%
Concordância global	78%	70%	85%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	9,4	3,4	26,8

Utilizando todos os estudos de imagiologia de seguimento realizados após o início da terapêutica nos 138 doentes com MBC que apresentaram resultados de resposta radiológica utilizáveis (n=225), estes resultados foram então comparados com os resultados de CTC obtidos no espaço de ± um mês após o estudo imagiológico. No total, 219 dos 225 (97%) estudos de imagiologia apresentaram resultados de CTC em conformidade com este critério. O resultado desta comparação ao nível da observação entre a contagem de CTC e imagiologia é apresentado na **Tabela 9**.

Tabela 9: Comparação ao Nível da Observação de MBC de CTC e Imagiologia

Resposta em todos os estudos de imagiologia de seguimento	CTC no espaço de ± 1 mês após imagiologia		Total
	<5 CTC / 7,5mL	≥ 5 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	151	16	167
Doença progressiva	30	22	52
Total	181	38	219

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	42%	29%	57%
% de concordância negativa	90%	85%	94%
Valor preditivo positivo	58%	41%	74%
Valor preditivo negativo	83%	77%	89%
Concordância global	79%	73%	84%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	6,9	3,0	15,8

Nas observações em série, apenas uma minoria das transições para resultados de imagiologia entre doença não progressiva e doença progressiva coincidiu com uma transição de contagens correspondente de CTC entre <5 e ≥5 CTC / 7,5 mL.

Uma vez que o valor prognóstico dos resultados de CTC num ponto temporal anterior era equivalente ao dos resultados de CTC na altura dos exames de imagiologia (**Figura 8 e Figura 9**), foi realizada uma comparação ao nível dos doentes utilizando os resultados apenas do 1º estudo imagiológico de seguimento, realizado aproximadamente 9 semanas após o início da terapêutica, e os resultados de CTC obtidos no 1º seguimento, realizado aproximadamente 4 semanas após o início da terapêutica. Todos os 138 doentes com MBC apresentaram resultados de CTC em conformidade com este critério. O resultado desta comparação ao nível dos doentes entre a contagem de CTC num ponto temporal anterior e imagiologia é apresentado na **Tabela 10**.

Tabela 10: Comparação ao Nível dos Doentes com MBC de CTC e Imagiologia

Resposta no 1º estudo imagiológico de seguimento	CTC no 1º seguimento		Total
	<5 CTC / 7,5mL	≥ 5 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	84	12	96
Doença progressiva	20	22	42
Total	104	34	138

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	52%	36%	68%
% de concordância negativa	88%	79%	93%
Valor preditivo positivo	65%	46%	80%
Valor preditivo negativo	81%	72%	88%
Concordância global	77%	69%	84%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	7,7	3,0	19,9

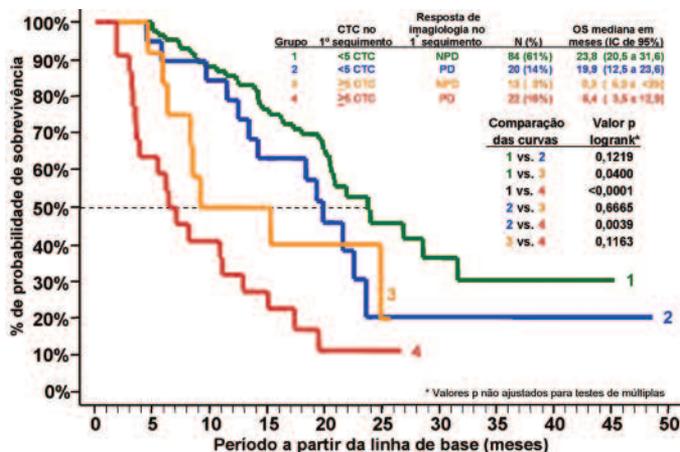
1.4.6 CTC como um Complemento à Imagiologia

Embora a concordância global entre a contagem de CTC e a imagiologia tenha sido boa (aproximadamente 78%), verificou-se uma discordância em, aproximadamente, 22% dos doentes com MBC. Uma vez que as informações provenientes de avaliações de CTC se destinam a ser utilizadas em conjunto com outras modalidades de diagnóstico para tomar decisões relativamente ao tratamento, a avaliação de CTC no 1º seguimento (aproximadamente 4 semanas após o início da terapêutica) e os exames de imagiologia nos grupos seguintes foram comparados em termos de OS, para determinar quais dos resultados discordantes melhor refletem o prognóstico do doente (Figura 10):

- Grupo 1 (curva verde), 84 (61%) doentes com <5 CTC no 1º seguimento e NPD;
- Grupo 2 (curva azul), 20 (14%) doentes com <5 CTC no 1º seguimento e PD;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 12 (9%) doentes com ≥5 CTC no 1º seguimento e NPD;
- Grupo 4 (curva vermelha), 22 (16%) doentes com ≥5 CTC no 1º seguimento e PD.

Neste estudo, a determinação de CTC consiste num forte indicador independente da sobrevivência global. Os resultados do estudo indicaram que a combinação de CTC com avaliações radiológicas fornece a avaliação mais exacta do prognóstico.

Figura 10: OS de Doentes com MBC nos Grupos 1, 2, 3 e 4 utilizando a 1ª avaliação de CTC de seguimento após o Início da Terapêutica (n=138) e o Estado da Doença Determinado no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento



1.5 Variabilidade das Avaliações de CTC e Radiológicas

1.5.1 CTC

As variabilidades inter-leitor das contagens de CTC na primeira colheita de sangue de seguimento foi determinada através da contagem do número de casos nos quais o operador no local de teste não estava em concordância com o laboratório central na classificação de uma amostra como ≥ 5 CTC *versus* < 5 CTC. Num subconjunto de 71 doentes, procedeu-se à colheita e processamento de dois tubos de sangue e foi realizada a comparação da classificação de ≥ 5 CTC *versus* < 5 CTC em cada um dos dois tubos, conforme determinado pelo local e pelo laboratório central.

1.5.2 Imagiologia

A variabilidade inter-leitor foi determinada através da comparação das interpretações radiológicas dos dois radiologistas, classificadas como NPD vs. PD. A variabilidade intra-leitor foi calculada através da comparação das interpretações radiológicas dos dois radiologistas num subconjunto de doentes, no qual cada radiologista determinou a resposta em três sessões separadas, com um intervalo mínimo de uma semana entre estas. Além disso, foram estudados os segmentos de imagiologia das avaliações posteriores nestes 138 doentes com MBC e avaliações de CTC antes do início da terapêutica e seguimentos posteriores.

Tabela 11: Variabilidade das Avaliações Radiológicas e de CTC em Doentes com MBC

	n	Radiologia NPD vs. PD discordância	n	CTC / 7,5 mL ≤5 vs. ≥5 discordância
<i>Inter-leitor</i>				
1º seguimento	132	11,4%	138	0,7%
Qualquer seguimento	217	13,4%	695	1,0%
<i>Intra-leitor</i>				
1º seguimento				
Leitor 1 (Radiologia)	24	25,0%	—	—
Leitor 2 (Radiologia)	22	9,1%	—	—
Qualquer seguimento				
Leitor 1 (Radiologia)	30	20,0%	—	—
Leitor 2 (Radiologia)	28	10,7%	—	—
<i>Tubo a tubo de CTC</i>				
1º seguimento	—	—	71	5,6%
Qualquer seguimento	—	—	403	5,5%

A **Tabela 11** demonstra que a variabilidade inter-leitor das determinações radiológicas foi significativamente mais elevada tanto na primeira avaliação de seguimento da doença, como em todas as avaliações de seguimento subsequentes da doença, quando comparada com a variabilidade inter-leitor das contagens de CTC nos mesmos grupos (Fisher, $P < 0,001$).

Nos casos em que se observou uma discordância entre a avaliação de CTC e radiológica, concluiu-se que a contagem de CTC fornecia uma avaliação mais exacta do prognóstico.

2 Doentes com Cancro Colorectal Metastásico (MCRC)

Foi realizado um ensaio clínico multicêntrico e prospectivo para determinar se era possível prever a progressão da doença e sobrevivência através do número de CTC. Neste estudo participaram doentes com cancro colorectal metastásico com doença mensurável ($N=430$) e que estavam a iniciar uma nova linha de terapêutica. Os dados clínicos foram analisados numa base de “intenção de tratar”. As informações demográficas dos doentes são apresentadas na **Tabela 12**.

A contagem de CTC na linha de base foi determinada antes do início de uma nova linha de terapêutica. As contagens de CTC de seguimento foram determinadas após o início da terapêutica com intervalos de cerca de 3 a 4 semanas. Para as análises da linha de base, procedeu-se à medição da Sobrevivência livre de progressão (PFS – Progression Free Survival) a partir da altura da colheita de sangue na linha de base até ao diagnóstico de progressão por exames de TC e/ou sinais e sintomas clínicos e a Sobrevivência global (OS – Overall Survival) foi medida desde a altura da colheita de sangue na linha de base até à altura em que o doente morreu. Para as análises de seguimento, procedeu-se à medição da PFS a partir da altura da colheita de sangue de seguimento até ao diagnóstico de progressão ou morte e a OS foi medida desde a altura da colheita de sangue de seguimento até à altura em que o doente morreu.

Tabela 12: Dados demográficos dos Doentes com MCRC

Categoria		N=430 doentes
Idade na linha de base(em anos)	Média ± desvio padrão (Mediana)	63,0 ± 12,6 (64)
Anos até à metástase	Média ± desvio padrão (Mediana)	0,9 ± 1,4 (0,1)
	Descrição das categorias	Número de indivíduos (% do total)
Sexo	Feminino	192 (45%)
	Masculino	238 (55%)
Raça	Branca	305 (71%)
	Negra	44 (10%)
	Outro	12 (3%)
	Desconhecida	69 (16%)
Classificação ECOG na linha de base	0	196 (46%)
	1	187 (43%)
	2	31 (7%)
	Desconhecida	16 (4%)
Tipo de tumor no diagnóstico primário	Cólon	292 (68%)
	Rectal	71 (17%)
	Colorectal	66 (15%)
	Desconhecida	1 (0%)
Fase no diagnóstico primário	1	12 (3%)
	2	45 (11%)
	3	118 (27%)
	4	232 (54%)
	Desconhecida	23 (5%)
Metástases no fígado	Non	117 (27%)
	Oui	313 (73%)
Linha de terapêutica	1ª linha	309 (72%)
	2ª linha	95 (22%)
	3ª linha	26 (6%)
Tipo de terapêutica	Bevacizumab	243 (56%)
	Irinotécán	103 (24%)
	Oxaliplatine	253 (59%)
	Desconhecida	25 (6%)

2.1 Frequências de CTC

Do total de 430 doentes com MCRC, 9 tinham uma colheita de sangue na linha de base e mais nenhuma colheita de sangue de seguimento. Destes 9 doentes, quatro doentes morreram antes de ter sido possível realizar uma colheita de sangue de seguimento, dois interromperam a terapêutica devido a toxicidade relacionada com o tratamento, um doente foi submetido a uma cirurgia para remover a doença mensurável em causa, um doente recusou-se continuar com o tratamento e um doente recusou-se a ser submetido a novas colheitas de sangue. Dos restantes doentes, 362, 342, 321, e 211 realizaram colheitas de sangue de seguimento às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas, respectivamente, após o início da terapêutica. A diferença em termos de número de doentes avaliados quanto à PFS e OS em cada ponto temporal deve-se à progressão de alguns doentes antes da colheita de sangue, ao passo que a diferença em termos de número de doentes em cada ponto temporal deve-se ao número de doentes com colheitas de sangue e resultados de CTC avaliados.

Na **Tabela 13** é apresentado o número de doentes em cada ponto temporal que foram excluídos das análises de PFS, OS ou PFS e OS e os motivos da exclusão.

Tabela 13: Excluições das Análises de Sobrevida Livre de Progressão e Global em Doentes com MCRC progression et de survie globale

Período em que foi realizada a colheita de sangue	Motivos de exclusão dos doentes com MCRC das seguintes análises:						N.º total de doentes com MCRC avaliados:	
	PFS e OS				Apenas PFS	Apenas OS		
	Colheita de sangue não realizada	Colheita de sangue realizada 1–7 dias após a administração da terapêutica	Sem seguimento após a data da colheita de sangue	Sem resultados de CTC avaliáveis	Colheita de sangue após a data de progressão da doença	Pas de suivi après la date du prélèvement sanguin	PFS	OS
Linha de base	1	11	0	5	0	0	413	413
1-2 Semanas	68	0	0	5	1	0	356	357
3-5 Semanas	88	0	1	8	4	0	329	333
6-12 Semanas	109	0	4	7	26	0	284	310
13-20 Semanas	219	0	9	8	14	1	180	193

Os resultados de CTC obtidos a partir das colheitas de sangue de seguimento às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica foram classificados como sendo favoráveis (<3 CTC) ou desfavoráveis (≥3 CTC). Nos casos em que se obteve mais do que um resultado de CTC dentro de qualquer um dos pontos temporais de seguimento designados, utilizou-se o resultado de CTC da colheita de sangue com um maior distanciamento da colheita de sangue da linha de base.

A **Tabela 15** resume o número total de doentes com MCRC e a percentagem de doentes com CTC desfavoráveis no ensaio clínico que difere dos números e percentagens de doentes no grupo de Sobrevivência livre de progressão apresentados na **Tabela 14**.

2.2 Análise da Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MCRC

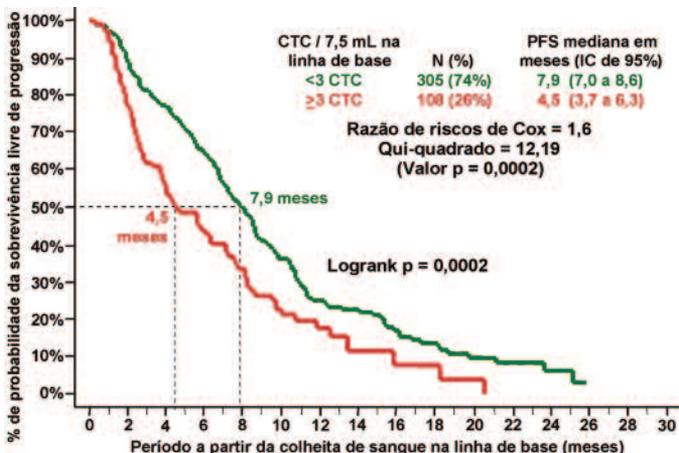
2.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

Quatrocentos e treze (413) dos 430 doentes com MCRC tinham disponível um resultado de CTC da linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=305), representado a **verde**, era composto por doentes com <3 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=108), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥3 CTC.

A PFS mediana foi significativamente mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (7,9 vs. 4,5 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 11** e **Tabela 14**.

Figura 11: PFS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC na Linha de Base (N=413).

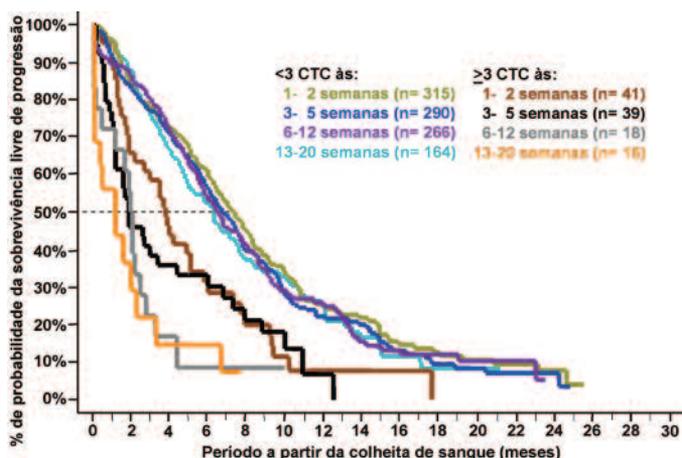


2.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes com MCRC foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC em cada uma das várias colheitas de sangue de seguimento. Os resultados relativos a ambos os grupos de doentes, em cada uma das várias alturas em que foi realizada uma colheita de sangue de seguimento após o início da terapêutica para PFS, estão ilustrados na **Figura 12**. Os períodos de PFS foram calculados a partir da altura em que foi realizada cada colheita de sangue e qualquer doente que apresentasse indícios de progressão antes de uma determinada colheita de sangue foi excluído da análise da colheita em causa e de todas as colheitas de sangue de seguimento subsequentes. A Figura 12 ilustra a capacidade das CTC em doentes com MCRC com <3 e ≥3 CTC 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica para fins de previsão da PFS.

- O grupo Favorável representado a **verde seco, azul, roxo e azul turquesa**, era composto por doentes com <3 CTC,
- O grupo Desfavorável, representado a **castanho, preto, cinzento e cor de laranja**, era composto por doentes com ≥3 CTC.

Figura 12: PFS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC a alturas de Seguimento diferentes



A Tabela 14 resume os resultados da análise PFS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥3 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 14: Sobrevivência Livre de Progressão (PFS) para doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC em diferentes pontos temporais

Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 3 CTC	PFS mediana em meses (IC de 95%)		Valor p Log-rank
			<3 CTC	≥ 3 CTC	
Linha de base	413	108 (26%)	7,9 (7,0 – 8,6)	4,5 (3,7 – 6,3)	0,0002
1-2 Semanas	356	41 (12%)	7,3 (6,5 – 8,1)	3,8 (1,9 – 5,1)	<0,0001
3-5 Semanas	329	39 (12%)	6,8 (6,1 – 7,6)	1,9 (1,2 – 4,4)	<0,0001
6-12 Semanas	284	18 (6%)	6,5 (5,8 – 7,7)	2,0 (0,5 – 2,5)	<0,0001
13-20 Semanas	180	16 (9%)	6,3 (4,9 – 7,4)	1,2 (0,1 – 2,3)	<0,0001

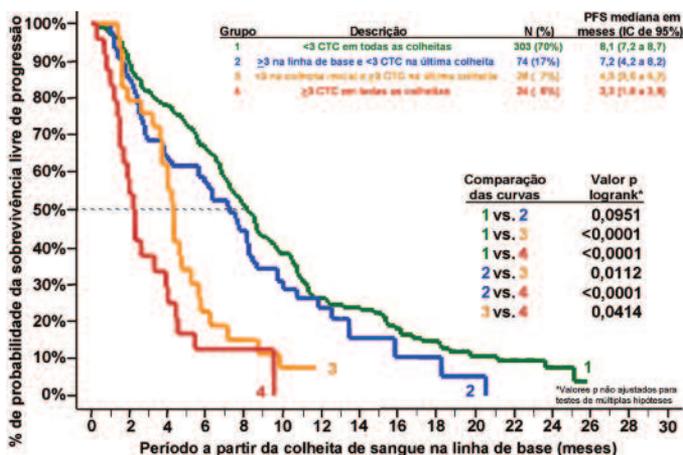
Conforme ilustrado na Figura 12 e Tabela 14, os doentes com MCRC com contagens elevadas de CTC (≥3 CTC/7,5 mL de sangue total) em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de progressão rápida do que os doentes com <3 CTC. A coluna 4 da Tabela 14 indica que os períodos de PFS mediana para os doentes com <3 CTC variaram entre 6,3 a 7,9 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de PFS mediana para os doentes com ≥3 CTC, que variaram entre 1,2 a 4,5 meses (coluna 5).

2.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS

Os períodos decorridos de PFS foram calculados a partir da colheita de sangue da linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier (Figura 13), os doentes com MCRC foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica:

- Grupo 1 (curva verde), 303 (70%) doentes com <3 CTC em todos os pontos temporais. Sete (2%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto oito (3%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥3 CTC;
- Grupo 2 (curva azul), 74 (17%) doentes com ≥3 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <3 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 29 (7%) doentes com <3 CTC numa colheita inicial (linha de base, 1–2 semanas e/ou 3–5 semanas) mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥3 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva vermelha), 24 (6%) doentes com ≥3 CTC em todos os pontos temporais. Três (13%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, um (4%) tinham apenas uma colheita de sangue realizada entre 3–5 semanas e um (4%) tinha uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha <3 CTC.

Figura 13: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 3 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MCRC



A Figura 13 demonstra que os doentes com MCRC com ≥ 3 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a PFS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a PFS mediana do **Grupo 3**, **Grupo 2** e **Grupo 1**. A diferença na PFS mediana entre os doentes que apresentaram uma redução de CTC após o início da terapêutica (**Grupo 2**) era significativamente maior em comparação com os doentes que apresentaram um aumento de CTC (**Grupo 3**).

2.3 Análise da Sobrevivência Global (OS) de Doentes com MCRC

2.3.1 Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

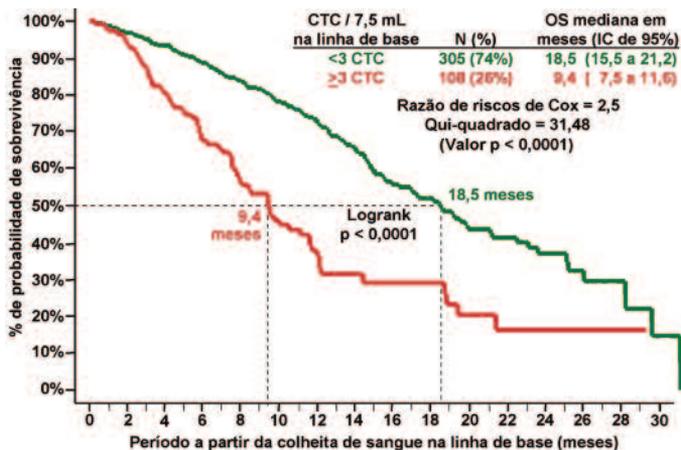
Os casos de morte ocorreram em 202 (47%) dos 430 doentes com MCRC, com um período de seguimento médio para os 228 (53%) doentes ainda vivos de $12,6 \pm 6,5$ meses (mediana = 11,0, intervalo = 0,8 a 30,0). Na altura da realização das análises, 124 (41%) dos 305 doentes do grupo Favorável (<3 CTC na linha de base) morreram em comparação com 68 (63%) de 108 do grupo Desfavorável (≥ 3 CTC na linha de base).

Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=305), representado a **verde**, era composto por doentes com <3 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=108), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥ 3 CTC.

A OS mediana foi significativamente mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (18,5 vs. 9,4 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 14**.

Figura 14: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC na Linha de Base (N=413).

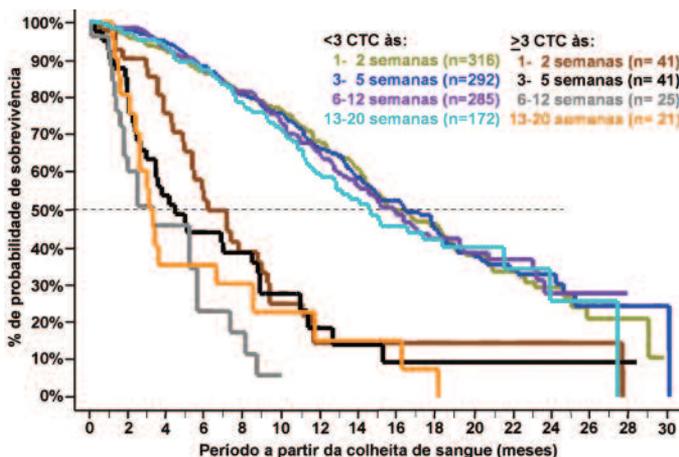


2.3.2 OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

As análises de Kaplan-Meier de ambos os grupos de doentes com MCRC, em cada uma das alturas em que foi realizada uma colheita de sangue de seguimento após o início da terapêutica, estão ilustradas na **Figura 15**. Esta figura ilustra a capacidade das CTC em doentes com MCRC com <3 CTC e ≥3 às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica para prever o período de tempo até à morte, em 421 doentes com cancro colorectal metastásico. Os períodos de OS foram calculados a partir da altura em que foi realizada cada colheita de sangue.

- O grupo Favorável representado a verde seco, azul, roxo e azul turquesa, era composto por doentes com <3 CTC,
- O grupo Desfavorável, representado a castanho, preto, cinzento e cor de laranja, era composto por doentes com ≥3 CTC.

Figura 15: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC a alturas de Seguimento diferentes.



A **Tabela 15** resume os resultados da análise OS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥3 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 15: Sobrevivência Global (OS) para doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC em diferentes pontos temporais

Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 3 CTC	OS mediana em meses (IC de 95%)		Valor p Log-rank
			OS mediana em meses (IC de 95%)		
			<3 CTC	≥ 3 CTC	
Linha de base	413	108 (26%)	18,5 (15,5 – 21,2)	9,4 (7,5 – 11,6)	<0,0001
1-2 Semanas	357	41 (11%)	15,7 (14,3 – 18,4)	6,1 (4,9 – 8,9)	<0,0001
3-5 Semanas	333	41 (12%)	16,4 (14,1 – 18,3)	4,4 (2,6 – 8,7)	<0,0001
6-12 Semanas	310	25 (8%)	15,8 (13,8 – 19,2)	3,3 (1,8 – 5,6)	<0,0001
13-20 Semanas	193	21 (11%)	14,6 (12,0 – 21,5)	3,3 (2,4 – 8,5)	<0,0001

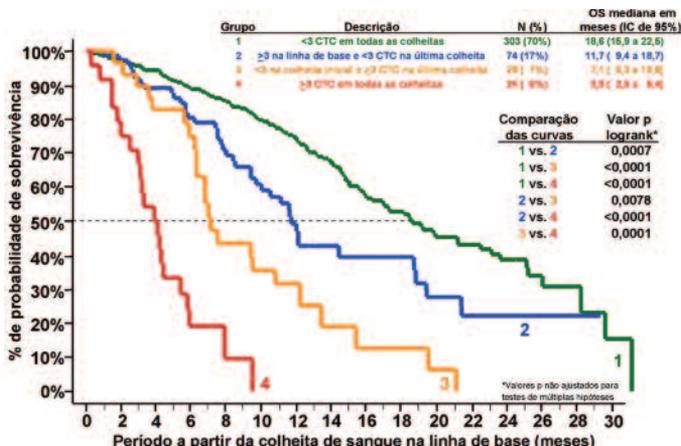
Conforme ilustrado na **Figura 15** e **Tabela 15**, nas colunas 4 e 5, os doentes com MCRC com ≥3 CTC em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de morrer mais cedo do que os doentes com <3 CTC. Os períodos de OS mediana para os doentes com <3 CTC variaram entre 14,6 a 18,5 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de OS mediana para os doentes com ≥3 CTC, que variaram entre 3,3 a 9,4 meses.

2.3.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS

Os períodos decorridos de OS foram calculados a partir da colheita de sangue de linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier (**Figura 16**), os doentes com MCRC foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas:

- Grupo 1 (curva verde), 303 (70%) doentes com <3 CTC em todos os pontos temporais. Sete (2%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto oito (3%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥3 CTC;
- Grupo 2 (curva azul), 74 (17%) doentes com ≥3 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <3 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 29 (7%) doentes com <3 CTC numa colheita inicial (linha de base, 1–2 semanas e/ou 3–5 semanas) mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥3 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva vermelha), 24 (6%) doentes com ≥3 CTC em todos os pontos temporais relativos à colheita. Três (13%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, um (4%) tinha apenas uma colheita de sangue realizada entre 3–5 semanas e um (4%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha <3 CTC.

Figura 16: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 3 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento de CTC de 3 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MCRC



A **Figura 16** mostra que os doentes com MCRC que ultrapassaram o limiar de 3 CTC em qualquer ponto após o início da terapêutica apresentavam uma probabilidade muito maior de morrer mais cedo. Os doentes com ≥ 3 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a OS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a OS mediana do **Grupo 3**, **Grupo 2** e **Grupo 1**. Os doentes com < 3 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 1**) apresentaram a OS mediana mais longa, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a OS mediana do **Grupo 4**, **Grupo 3** e **Grupo 2**. A **Figura 16** indica ainda que os doentes que apresentaram uma redução na contagem de CTC (**Grupo 2**) corriam um risco de morte significativamente inferior em comparação com os doentes que apresentaram um aumento na contagem de CTC (**Grupo 3**).

2.3.4 Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MCRC

Os parâmetros seguintes foram analisados utilizando a análise de regressão univariada de Cox para avaliar a associação com PFS e OS: sexo, fase da doença aquando do diagnóstico (1–4), tempo até à metástase (contínuo), idade do doente (≥ 65 ou < 65), local de doença primária (colorectal, rectal ou cólon) estado ECOG antes do início de uma nova linha de terapêutica (0–2), linha de terapêutica (1ª, 2ª ou 3ª), presença de metástases no fígado (sim ou não), tipo de terapêutica (bevacizumab, irinotecan, e/ou oxaliplatina incluída ou não), contagens de CTC na linha de base (≥ 3 ou < 3 CTC/7,5 mL) e contagens de CTC de seguimento às 1–2 semanas, 3–5 semanas, 6–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica (≥ 3 ou < 3 CTC/7,5 mL). A **Tabela 16** apresenta os resultados desta análise e a razão dos riscos (HR) de Cox e o valor p associado (estatística de Z do teste de Wald), bem como o número de doentes em cada avaliação.

Tabela 16: Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MCRC

Parâmetro	Categorias		N.º de doentes com MCRC	Risco de PFS a partir da linha de base		Risco de OS a partir da linha de base	
	Positivo	Negativo		HR	Valor p	HR	Valor p
Sexo	Masculino (1)	Feminino (0)	430	1,01	0,944	1,23	0,156
Fase no diagnóstico primário	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		407	0,98	0,734	1,09	0,330
Tempo até à metástase	Tempo em anos		428	1,00	0,901	0,92	0,121
Idade na colheita de sangue na linha de base	≥ 65 ans	< 65 ans	430	1,65	$< 0,001$	1,82	$< 0,001$
Local de doença primária	Colorectal (2) vs. rectal (1) vs. cólon (0)		429	1,03	0,733	1,02	0,866
Estado ECOG na linha de base	2 vs. 1 vs. 0		414	1,32	0,002	1,65	$< 0,001$
Linha de terapêutica	3 vs. 2 vs. 1		430	2,04	$< 0,001$	1,63	$< 0,001$
Metástases no fígado	Sim	Não	430	0,86	0,225	1,23	0,198
Bevacizumab	Sim	Não	405	0,54	$< 0,001$	0,62	0,001
Irinotecan	Sim	Não	405	1,51	0,001	1,39	0,029
Oxaliplatina	Sim	Não	405	0,53	$< 0,001$	0,69	0,008
Número de CTC na linha de base	≥ 3	< 3	413	1,59	$< 0,001$	2,48	$< 0,001$
Número de CTC na 1 – 2 semana	≥ 3	< 3	357	2,02	$< 0,001$	3,23	$< 0,001$
Número de CTC na 3 – 5 semana	≥ 3	< 3	334	2,19	$< 0,001$	4,23	$< 0,001$
Número de CTC na 6 – 12 semana	≥ 3	< 3	314	4,59	$< 0,001$	10,88	$< 0,001$
Número de CTC na 13 – 20 semana	≥ 3	< 3	203	5,07	$< 0,001$	4,88	$< 0,001$

2.3.5 Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MCRC

Foram realizadas análises de regressão multivariadas de Cox para avaliar a capacidade preditiva, independente da contagem de CTC, através do ajuste segundo os efeitos dos factores clínicos importantes que são estatisticamente significativos nas análises univariadas. Determinou-se que as CTC são forte indicadores de PFS e OS (**Tabela 17**).

Tabela 17: Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MCRC

Variável	N	Risco de PFSa partir da linha de base		Risco de OS a partir da linha de base	
		Razão de riscos	Valor p	Razão de riscos	Valor p
CTC na linha de base (<3 vs. ≥3)	373	1,76	<0,001	2,46	<0,001
Idade na linha de base (<65 vs. ≥65)		1,47	0,002	1,84	<0,001
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,16	0,107	1,48	0,001
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª vs. 3ª)		1,59	<0,001	1,41	0,009
Bevacizumab (Não vs. Sim)		0,65	0,001	0,68	0,021
Irinotecan (Não vs. Sim)		0,76	0,156	1,25	0,363
Oxaliplatina (Não vs. Sim)		0,57	0,002	1,00	0,984
CTC às 1 – 2 semanas (<3 vs. ≥3)	321	1,76	0,003	2,77	<0,001
Idade na linha de base (<65 vs. ≥65)		1,53	0,001	1,85	<0,001
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,26	0,025	1,54	0,001
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª vs. 3ª)		1,76	<0,001	1,62	0,001
Bevacizumab (Não vs. Sim)		0,66	0,003	0,77	0,156
Irinotecan (Não vs. Sim)		0,67	0,066	1,25	0,402
Oxaliplatina (Não vs. Sim)		0,53	0,002	0,97	0,904
CTC às 3 – 5 semanas (<3 vs. ≥3)	302	2,35	<0,001	4,54	<0,001
Idade na linha de base (<65 vs. ≥65)		1,58	0,001	2,06	<0,001
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,16	0,149	1,33	0,032
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª vs. 3ª)		1,74	<0,001	1,65	0,001
Bevacizumab (Não vs. Sim)		0,68	0,007	0,86	0,410
Irinotecan (Não vs. Sim)		0,58	0,012	0,99	0,966
Oxaliplatina (Não vs. Sim)		0,47	<0,001	0,88	0,594
CTC às 6 – 12 semanas (<3 vs. ≥3)	279	3,04	<0,001	9,43	<0,001
Idade na linha de base (<65 vs. ≥65)		1,43	0,013	1,73	0,005
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,30	0,027	1,53	0,004
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª vs. 3ª)		1,73	<0,001	1,20	0,282
Bevacizumab (Não vs. Sim)		0,61	0,001	0,82	0,337
Irinotecan (Não vs. Sim)		0,78	0,258	1,47	0,181
Oxaliplatina (Não vs. Sim)		0,62	0,020	1,35	0,278
CTC às 13 – 20 semanas (<3 vs. ≥3)	186	4,50	<0,001	4,97	<0,001
Idade na linha de base (<65 vs. ≥65)		1,26	0,218	1,55	0,061
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,13	0,417	1,13	0,526
Linha de terapêutica (1ª vs. 2ª vs. 3ª)		1,68	0,004	1,12	0,628
Bevacizumab (Não vs. Sim)		0,68	0,058	0,89	0,655
Irinotecan (Não vs. Sim)		0,73	0,311	1,20	0,636
Oxaliplatina (Não vs. Sim)		0,65	0,135	1,31	0,477

2.4 Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico do Cancro Colorectal Metastásico

2.4.1 Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por imagiologia

A radiologia consiste num dos principais métodos utilizados para determinar o estado da doença e resposta à terapêutica nos doentes com cancro colorectal metastásico. Para estabelecer relação das CTC, com o estado clínico, conforme determinado pela imagiologia, as CTC (medidas em dois pontos temporais diferentes) e os resultados de imagiologia foram comparados 1) com a sobrevivência global do ponto final clínico verdadeiro 2) entre si.

2.4.2 CTC

Os dados anteriores demonstraram que os doentes com cancro colorectal metastásico com ≥ 3 CTC / 7,5mL de sangue, em qualquer consulta de seguimento subsequente após o início da terapêutica, apresentavam uma probabilidade mais elevada de doença progressiva e sobrevivência global reduzida em comparação com os doentes com < 3 CTC / 7,5 mL de sangue. Os resultados de CTC obtidos às 3–5 semanas após o início da terapêutica, bem como os resultados de CTC obtidos no espaço de \pm um mês do estudo imagiológico foram classificados como Favoráveis (< 3 CTC) e Desfavoráveis (≥ 3 CTC). Nos casos em se obteve mais do que um valor de CTC no espaço de \pm um mês do estudo imagiológico, utilizou-se o resultado de CTC obtido mais próximo da data do estudo imagiológico.

2.4.3 Imagiologia

Cada doente com MCRC tinha de apresentar uma doença mensurável, ou seja, entre no mínimo uma lesão de 2 cm a no máximo 10 lesões semelhantes, inclusive. O método de imagiologia aplicada a cada doente foi determinado pelo oncologista responsável pelo tratamento, em conformidade com os padrões de cuidados de saúde actuais. Foi realizado um exame de TC ou RM do tórax, abdómen e pélvis com o requisito de que todas as lesões observadas na linha de base fossem seguidas recorrendo ao mesmo método para todos os estudos imagiológicos subsequentes. A interpretação das imagens foi realizada por um radiologista certificado no local participante utilizando critérios unidimensionais RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) para classificar cada uma das avaliações de seguimento da doença como resposta completa (CR), resposta parcial (PR), doença estável (SD) ou doença progressiva (PD).

Cada doente foi avaliado imagiológicamente em, no mínimo, dois pontos temporais até 8 pontos temporais diferentes. Estes estudos incluíram uma imagem na linha de base, exames imagiológicos nos intervalos subsequentes de 2–3 meses (6–12 semanas) e um estudo imagiológico final aquando da conclusão do estudo. As cópias de todos os estudos imagiológicos dos doentes foram reencaminhadas para o coordenador do estudo em cada clínica para fins de preenchimento com os dados clínicos dos doentes.

Do total de 430 doentes com MCRC avaliados e que participaram no estudo, 28 (7%) não realizaram um estudo imagiológico de seguimento, 18 (4%) morreram antes de ter sido possível realizar um estudo imagiológico de seguimento e 384 (89%) realizaram um ou mais estudos imagiológicos de seguimento que, por sua vez, foram avaliados de acordo com os critérios RECIST. Na altura do 1º seguimento nos 384 doentes com um estudo imagiológico de seguimento, 4 (1%) apresentaram uma resposta completa, 117 (31%) apresentaram uma resposta parcial, 186 (48%) apresentaram doença estável e 77 (20%) apresentaram doença progressiva. No âmbito destas análises, os doentes que morreram antes da realização do estudo imagiológico de seguimento foram incluídos no grupo de doentes com doença progressiva.

No que respeita à resposta à terapêutica na primeira avaliação de seguimento da doença, o grupo Favorável foi definido como o grupo de doentes com doença estável (S), resposta parcial (PR) ou resposta completa (CR), de acordo com os critérios RECIST (doença não progressiva, NPD) e o grupo Favorável como o grupo de doentes com doença progressiva ou que morreram (PD).

2.4.4 Relação entre sobrevivência, imagiologia e CTC

Foram realizadas análises de Kaplan-Meier em separado para comparar a sobrevivência global de doentes com MCRC nos grupos Favorável (< 3 CTC) e Desfavorável (≥ 3 CTC) utilizando resultados de CTC obtidos em dois pontos temporais diferentes e o primeiro estudo imagiológico de seguimento. Com base nos resultados dos primeiros estudos imagiológicos de seguimento realizados nas $9,1 \pm 2,9$ semanas (mediana = 8,6 semanas) após o início da terapêutica (ou seja, a colheita de sangue na linha de base), a sobrevivência mediana dos 307 (76%) doentes, que segundo a imagiologia tinham NPD, foi de 19,1 meses (IC de 95% = 17,0 a 23,1) (**Figura 17, Tabela 18**). Para os 95 (24%) doentes, que segundo a imagiologia tinham PD, a sobrevivência mediana foi de 5,8 meses (IC de 95% = 4,4 a 7,7).

No total, 320 doentes com MCRC realizaram estudos imagiológicos antes e depois do início da terapêutica ou morreram antes de ter sido possível realizar um estudo imagiológico de seguimento, além disso foram sujeitos a uma avaliação da contagem de CTC nas 3–5 semanas seguintes ao início da terapêutica (média = $3,8 \pm 0,7$ semanas desde a altura em que foi realizada a colheita de sangue da linha de base, mediana = 4,0 semanas). A sobrevivência mediana de 282 (88%) doentes com resultados de CTC Favoráveis (< 3 CTC) foi de 17,3 meses (IC de 95% = 15,0 a 19,5 meses) (**Figura 18, Tabela 18**). Os 38 doentes (12%) com resultados de CTC Desfavoráveis (≥ 3 CTC) apresentaram uma sobrevivência mediana de 5,4 meses (IC de 95% = 3,6 a 9,4 meses).

De modo a determinar se as avaliações de CTC realizadas numa altura mais próxima da imagiologia resultavam em perspectivas de sobrevivência semelhantes em comparação às avaliações de CTC realizadas no espaço de, aproximadamente, 4 semanas após o início da terapêutica, foram apenas analisados os doentes com avaliações de CTC realizadas no espaço de \pm um mês do primeiro estudo imagiológico de seguimento (**Figura 19, Tabela 18**). Trezentos e sessenta e quatro (364) dos 402 doentes (91%) apresentavam avaliações de CTC no espaço de um mês do primeiro estudo imagiológico de seguimento, que foi realizado $9,0 \pm 2,9$ semanas (mediana = 8,5 semanas) após o início da terapêutica. A sobrevivência mediana de 335 (92%) doentes com resultados de CTC Favoráveis foi de 17,2 meses (IC de 95% = 15,0 a 19,2 meses). Para os 29 (8%) doentes com resultados de CTC Desfavoráveis, a sobrevivência mediana foi de 5,4 meses (IC de 95% = 3,2 a 7,5 meses). Estes dados demonstraram que as avaliações de CTC em ambos os pontos temporais forneceram resultados semelhantes em relação aos exames de imagiologia realizados, aproximadamente, nove semanas após o início da terapêutica.

Este estudo, no qual se aplicou a análise de regressão multivariada de Cox para ajustar a imagiologia, indicou que tanto a contagem CTC como os exames de imagiologia às 6–12 semanas estão associados, de forma independente, à sobrevivência global mas a contagem de CTC [razão dos riscos ajustada: 7,9 (4,6–13,6)] constitui um indicador mais forte do que a imagiologia [razão dos riscos ajustada: 3.1 (2.1–4,6)].

Tabela 18: OS de Doentes com MCRC com uma avaliação de CTC, aproximadamente, um mês após o início da terapêutica e no espaço de um mês da avaliação radiológica

	N	Sobrevivência mediana e (IC de 95%) em meses
A. Imagiologia	402	
Favorável (NPD)	307 (76%)	19,1 (17,0 – 23,1)
Desfavorável (PD)	95 (24%)	5,8 (4,4 – 7,7)
B. CTC às 3-5 semanas	320	
Favorável (<3 CTC)	282 (88%)	17,3 (15,0 – 19,5)
Desfavorável (≥3 CTC)	38 (12%)	5,4 (3,6 – 9,4)
C. CTC (±1 mês após imagiologia)	364	
Favorável (<3 CTC)	335 (92%)	17,2 (15,0 – 19,2)
Desfavorável (≥3 CTC)	29 (8%)	5,4 (3,2 – 7,5)

Figura 17: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com NPD ou PD no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento (N=402)

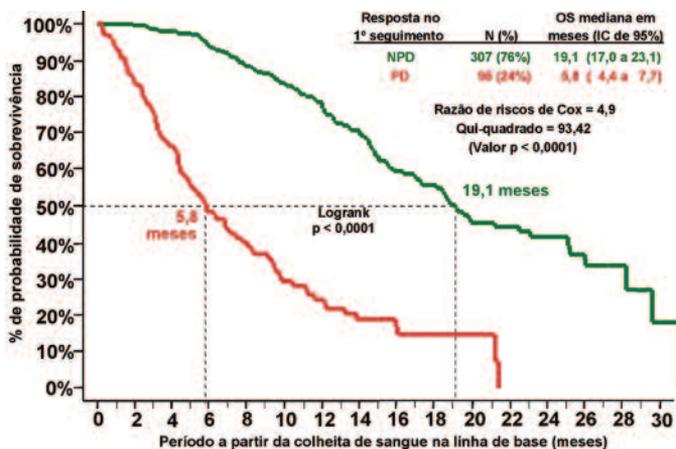


Figura 18: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC no 1º Seguimento após o Início da Terapêutica (N=320)

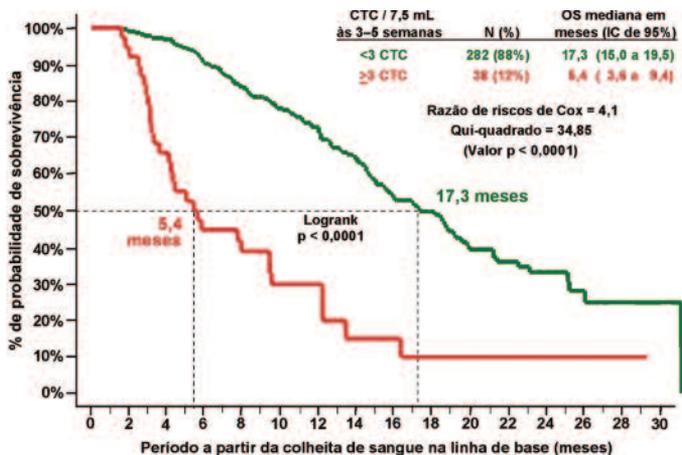
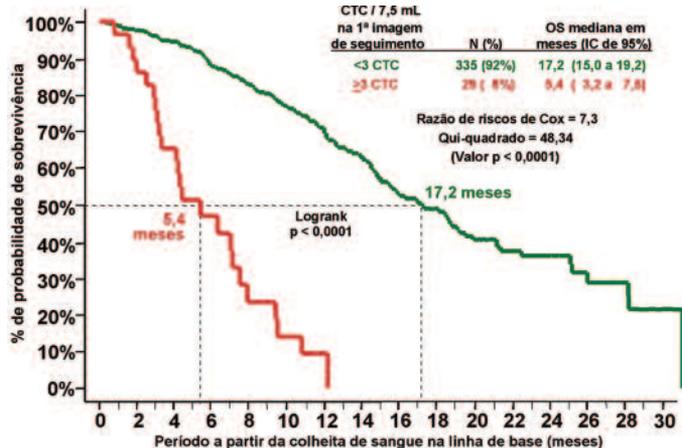


Figura 19: Correlação da Avaliação Radiológica e de CTC com OS: OS de Doentes com MCRC com <3 ou ≥3 CTC no espaço de ±1 Mês após o 1º Estudo Imagiológico ou Morte (N=364)



2.4.5 Concordâncias entre CTC e Monitorização Radiológica em Doentes com MCRC

Conforme referido anteriormente, os estudos de imagiologia constituem um importante componente dos padrões de cuidados de saúde actuais para determinar a progressão da doença e resposta ao tratamento no cenário de cancro colorectal metastático. Para melhor corroborar a eficácia de CTC na realização destas avaliações clínicas, foram elaboradas classificações em tabelas 2x2 das observações concordantes e discordantes entre CTC e imagiologia radiológica.

No que respeita à resposta à terapêutica, o grupo Favorável foi definido como o grupo de doentes com doença estável (S), resposta parcial (PR) ou resposta completa (CR), de acordo com os critérios RECIST (doença não progressiva, NPD) e o grupo Favorável como o grupo de doentes com doença progressiva (PD). Dos 18 doentes que morreram antes de ter sido possível realizar um estudo imagiológico de seguimento, 10 realizaram uma colheita de sangue de seguimento no espaço de 30 dias antes de morrerem e os mesmos 10 foram classificados como tendo doença progressiva (PD) para efeitos das comparações realizadas.

Os resultados de CTC obtidos no espaço de ± um mês do estudo imagiológico foram classificados como Favoráveis (<3 CTC) e Desfavoráveis (≥3 CTC). Nos casos em se obteve mais do que um valor de CTC no espaço de ± um mês

do estudo imagiológico, utilizou-se o resultado de CTC obtido mais próximo da data do estudo imagiológico. Nesta análise foram utilizadas todas as colheitas de sangue avaliadas dos doentes para fazer uma correspondência entre a contagem de CTC e os estudos imagiológicos, e não apenas as que foram seleccionadas para os pontos temporais designados, conforme descrito na secção 2.1 acima.

No total, 366 doentes com MCRC apresentaram resultados de CTC no espaço de um mês após o estudo imagiológico ou morreram. O resultado desta comparação ao nível dos doentes entre a contagem de CTC e imagiologia (ou morte) é apresentado na **Tabela 19**.

Tabela 19: Comparação ao Nível dos Doentes com MCRC de CTC e Imagiologia

Resposta no 1º estudo imagiológico de seguimento	CTC no espaço de ± 1 mês após estudo imagiológico ou morte		Total
	<3 CTC / 7,5mL	≥ 3 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	272	13	285
Doença progressiva	65	16	81
Total	337	29	366

Medição	Estimativa	Inférieur IC de 95%	Supérieur IC de 95%
% de concordância positiva	20%	12%	30%
% de concordância negativa	95%	92%	98%
Valor preditivo positivo	55%	36%	74%
Valor preditivo negativo	81%	76%	85%
Concordância global	79%	74%	83%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	5,2	2,4	11,2

Dos 384 doentes com MCRC com um ou mais estudos imagiológicos de seguimento, foi realizado um total de 911 estudos imagiológicos que produziram uma resposta radiológica passível de ser utilizada. No total, 805 dos 911 (88%) estudos imagiológicos apresentaram resultados de CTC obtidos no espaço de ± um mês após o estudo imagiológico. Dos 18 doentes que morreram antes de ter sido possível realizar um estudo imagiológico de seguimento, 10 realizaram uma colheita de sangue de seguimento no espaço de 30 dias antes de morrerem e os mesmos 10 foram classificados como tendo doença progressiva (PD) para efeitos das comparações realizadas. O resultado desta comparação ao nível da observação entre a contagem de CTC e imagiologia (ou morte) nas 815 observações é apresentado na **Tabela 20**.

Tabela 20: Comparação ao Nível da Observação de MCRC de CTC e Imagiologia

Resposta em todos os estudos de imagiologia de seguimento	CTC no espaço de ± 1 mês após estudo imagiológico ou morte		Total
	<3 CTC / 7,5mL	≥ 3 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	597	33	630
Doença progressiva	147	38	185
Total	744	71	815

Medição	Estimativa	Inférieur IC de 95%	Supérieur IC de 95%
% de concordância positiva	21%	15%	27%
% de concordância negativa	95%	93%	96%
Valor preditivo positivo	54%	41%	65%
Valor preditivo negativo	80%	77%	83%
Concordância global	78%	75%	81%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	4,7	2,8	7,7

Nas observações em série, apenas uma minoria das transições para resultados de imagiologia entre doença não progressiva e doença progressiva coincidiu com uma transição de contagens correspondente de CTC entre <3 e ≥3 CTC / 7,5 mL.

Uma vez que o valor prognóstico dos resultados de CTC num ponto temporal anterior era equivalente ao dos resultados de CTC na altura dos exames de imagiologia (**Figura 18 e Figura 19**), foi realizada uma comparação ao nível dos doentes utilizando os resultados apenas do 1º estudo imagiológico de seguimento, realizado aproximadamente 9 semanas após o início da terapêutica, e os resultados de CTC obtidos aproximadamente 4 semanas após o início da terapêutica. No total, 320 (80%) dos 402 doentes apresentaram resultados de CTC 3–5 semanas após o início da terapêutica. O resultado desta comparação ao nível dos doentes entre a contagem de CTC num ponto temporal anterior e imagiologia (ou morte) é apresentado na **Tabela 21**.

Tabela 21: Comparação ao Nível dos Doentes com MCRC de CTC e Imagiologia

Resposta no 1º estudo imagiológico de seguimento	CTC às 3-5 semanas Após o início da terapêutica		Total
	<3 CTC / 7,5mL	≥ 3 CTC / 7,5mL	
Doença não progressiva	228	18	246
Doença progressiva	54	20	74
Total	282	38	320

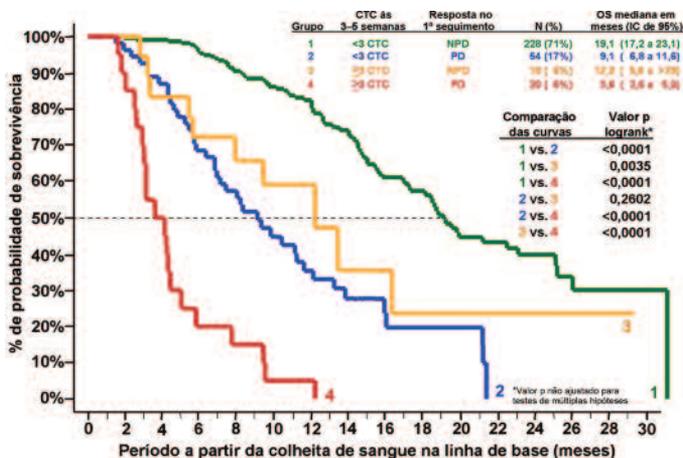
Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	27%	17%	39%
% de concordância negativa	93%	89%	96%
Valor preditivo positivo	53%	36%	69%
Valor preditivo negativo	81%	76%	85%
Concordância global	78%	73%	82%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	4,7	2,3	9,5

2.4.6 CTC como um Complemento à Imagiologia

Embora a concordância global entre a contagem de CTC e a imagiologia tenha sido boa (aproximadamente 78%), verificou-se uma discordância em, aproximadamente, 22% dos doentes com MCRC. Uma vez que as informações provenientes de avaliações de CTC se destinam a ser utilizadas em conjunto com outras modalidades de diagnóstico para tomar decisões relativamente ao tratamento, a avaliação de CTC 3-5 semanas após o início da terapêutica e os exames de imagiologia nos grupos seguintes foram comparados em termos de OS, para determinar quais dos resultados discordantes melhor reflectiam o prognóstico do doente (Figura 20).

- Grupo 1 (curva verde), 228 (71%) doentes com <3 CTC às 3-5 semanas e NPD;
- Grupo 2 (curva azul), 54 (17%) doentes com <3 CTC às 3-5 semanas e PD;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 18 (6%) doentes com ≥ 3 CTC às 3-5 semanas e NPD;
- Grupo 4 (curva vermelha), 20 (6%) doentes com ≥ 3 CTC às 3-5 semanas e PD.

Figura 20: OS de Doentes com MCRC nos Grupos 1, 2, 3 e 4 utilizando a contagem de CTC nas 3-5 Semanas após o Início da Terapêutica (n=320) e o Estado da Doença Determinado no 1º Estudo Imagiológico de Seguimento



Neste estudo, a determinação de CTC consiste num forte indicador independente da sobrevivência global. Os resultados do estudo indicaram que a combinação de CTC com avaliações radiológicas fornece a avaliação mais exacta do prognóstico.

3 Doentes com Cancro da Próstata Metastásico (MPC)

Foi realizado um ensaio clínico multicêntrico e prospectivo para determinar se era possível prever a progressão da doença e sobrevivência através do número de CTC. Os doentes com cancro da próstata metastásico que participaram neste estudo foram definidos como apresentando dois aumentos consecutivos no marcador sérico PSA (antígeno específico da próstata), acima do nível de referência, apesar do tratamento hormonal padrão. Estes doentes são, frequentemente, descritos como doentes com cancro da próstata independente de androgénio,

hormono-resistente ou resistente à castração. No estudo realizado participaram, no total, 231 doentes com cancro da próstata metastático com evidência de progressão do PSA apesar da terapêutica hormonal padrão e que estavam a iniciar uma nova linha ou tipo de quimioterapia. Os dados clínicos foram analisados numa base de “intenção de tratar”. As informações demográficas dos doentes são apresentadas na **Tabela 22**.

Tabela 22: Dados demográficos dos Doentes com MPC

Categoria	Média ± desvio padrão (Mediana)	Número de indivíduos
Idade na linha de base (em anos)	70 ± 9 (70)	231
Pré-terapêutica:		
PSA (ng/mL)	547 ± 1616 (144)	231
Hemoglobina (g/dL)	12,3 ± 1,6 (12,4)	221
Fosfatase alcalina (AlkPhos) (IU/mL)	235 ± 271 (144)	223
Lactato desidrogenase(LDH) (IU/mL)	293 ± 228 (224)	219
Albumina (g/dL)	3,9 ± 2,6 (3,8)	214
	Descrição das categorias	Número de indivíduos (% do total)
Raça	Branca Negra Outra	209 (90%) 17 (7%) 5 (3%)
Classificação ECOG na linha de base	0 1 2 Inconnu	101 (44%) 100 (43%) 21 (9%) 9 (4%)
Classificação de Gleason	≥ 5 6 7 8 ≥ 9 Desconhecida	18 (8%) 28 (12%) 63 (27%) 45 (20%) 54 (23%) 23 (10%)
Fase no diagnóstico primário	1 2 3 4 Desconhecida	14 (6%) 30 (13%) 58 (25%) 19 (8%) 110 (48%)
Linha de terapêutica	1 ^a 2 ^a ≥ 3 ^a	154 (67%) 38 (16%) 39 (17%)
Taxotere na linha de terapêutica actual?	Não Sim Desconhecida	67 (29%) 162 (70%) 2 (1%)
Metástases ósseas	Negativo Positivo Desconhecida	20 (8%) 207 (90%) 4 (2%)
Doença mensurável	Não Sim Desconhecida	142 (62%) 88 (38%) 1 (0%)
Metástases viscerais	Não Sim Desconhecida	141 (61%) 89 (39%) 1 (0%)

A contagem de CTC na linha de base foi determinada antes do início de uma nova linha de quimioterapia. Foram escolhidos os períodos seguintes para avaliação linha de base (antes do início da terapêutica), 2–5 semanas (14 – 41 dias a partir da linha de base), 6–8 semanas (42 – 62 dias a partir da linha de base), 9–12 semanas (63 – 90 dias a partir da linha de base) e 13–20 semanas (91 – 146 dias a partir da linha de base) após o início da terapêutica. Nos casos em que mais do que uma colheita de sangue se situava dentro dos períodos designados, foi utilizada a colheita de sangue com um maior distanciamento da colheita de sangue da linha de base, como resultado para cada período.

3.1 Frequências de CTC

Todos os 231 doentes com MPC avaliados realizaram uma colheita de sangue da linha de base. Duzentos e vinte e um (221) destes doentes com MPC tinham uma ou mais colheitas de sangue de seguimento após o início da terapêutica. Dos dez doentes com MPC com apenas uma colheita de sangue de linha de base, três morreram antes de ter sido possível obter uma colheita de sangue de seguimento, um progrediu e foi enviado para um centro de cuidados paliativos, um interrompeu a quimioterapia devido a uma fractura na anca, um doente mudou-se, três recusaram-se a realizar mais colheitas de sangue e um retirou o seu consentimento para o estudo. No total, participaram 214, 171, 158 e 149 doentes com MPC com colheitas de sangue de seguimento realizadas às 2–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica, respectivamente.

Nos casos de cancro da próstata metastásico, a progressão da doença é principalmente determinada com base nas alterações no PSA. Para este estudo, a progressão da doença foi determinada pelos locais utilizando o PSA, imagiologia e/ou sinais e sintomas clínicos. Para as análises da linha de base, procedeu-se à determinação da Sobrevida livre de progressão (PFS – Progression Free Survival) a partir da altura da colheita de sangue na linha de base até à determinação de progressão ou morte e a Sobrevida global (OS – Overall Survival) foi medida desde a altura da colheita de sangue na linha de base até à altura em que o doente morreu ou a data do último contacto com o doente. Para as análises de seguimento, procedeu-se à determinação da PFS a partir da altura da colheita de sangue de seguimento até ao diagnóstico de progressão ou morte e a OS foi determinada desde a altura da colheita de sangue de seguimento até à altura em que o doente morreu ou a data do último contacto com o doente. Os doentes que apresentaram progressão antes da data de avaliação da colheita de sangue foram excluídos das análises de PFS do ponto temporal em causa e de todas as colheitas de sangue de seguimento subsequentes. Os doentes que não realizaram qualquer seguimento de sobrevivência adicional depois da data de avaliação da colheita de sangue foram excluídos das análises de PFS e OS do ponto temporal em causa. Na **Tabela 23** é apresentado o número de doentes em cada ponto temporal que foram excluídos das análises de PFS ou PFS e OS e os motivos da exclusão.

Tabela 23: Exclusões das Análises de PFS e OS em Doentes com MPC

Período em que foi realizada a colheita de sangue	Doentes com MPC não avaliados:					N.º total de doentes com MPC Avaliados	
	PFS e OS				Apenas PFS	PFS	OS
	Colheita de sangue não realizada	Colheita de sangue realizada 1-7 dias após a administração da terapêutica	Sem seguimento após a data da colheita de sangue	Sem resultados de CTC ou resultados não avaliáveis	Colheita de sangue após a data de progressão da doença		
Linha de base	0	6	0	6	0	219	219
2-5 Semanas	17	0	0	11	4	199	203
6-8 Semanas	60	0	0	8	22	141	163
9-12 Semanas	73	1	0	8	15	134	149
13-20 Semanas	82	0	1	5	27	116	143

Os resultados de CTC obtidos a partir das colheitas de sangue na linha de base e de seguimento às 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas e 13-20 semanas após o início da terapêutica foram classificados como sendo favoráveis (<5 CTC) ou desfavoráveis (≥ 5 CTC). Os níveis de PSA, Fosfatase alcalina e LDH resumidos na tabela de dados demográficos e utilizados nas análises foram medidos, na sua totalidade, num laboratório central em amostras de soro colhidas ao mesmo tempo que as amostras de sangue utilizadas na avaliação de CTC. Os níveis de hemoglobina e albumina resumidos nas tabelas e utilizados nas análises consistiam nos valores fornecidos pelos locais e verificados a partir dos registos médicos dos doentes que foram determinados no espaço de ± 30 dias após a avaliação de CTC da linha de base.

3.2 Análise da Sobrevida Livre de Progressão (PFS) de Doentes com MPC

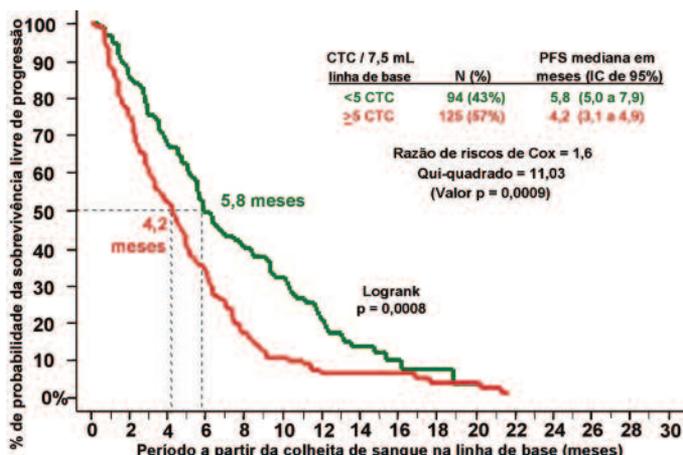
3.2.1 PFS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

Duzentos e dezanove (219) dos 231 doentes avaliados tinham disponível um resultado de CTC da linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=94), representado a **verde**, era composto por doentes com <5 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=125), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC.

A PFS mediana foi mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (5,8 vs. 4,2 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 21** e **Tabela 24**.

Figura 21: PFS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC na Linha de Base (N = 219).

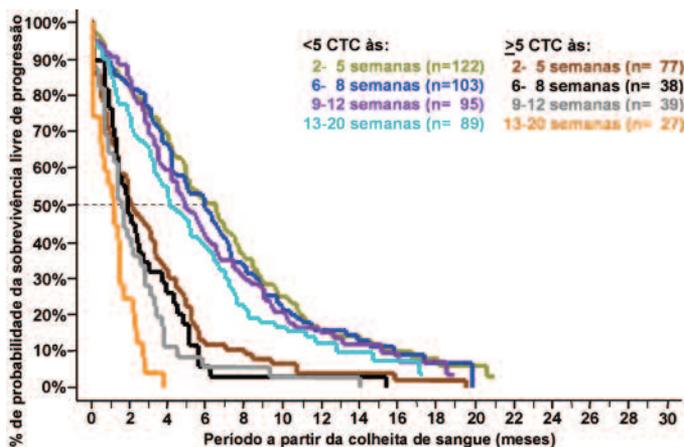


3.2.2 PFS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

Para a análise de Kaplan-Meier, os doentes com MPC foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC em cada uma das várias colheitas de sangue de seguimento. Os resultados relativos a ambos os grupos de doentes, em cada uma das colheitas de sangue de seguimento após o início da terapêutica para PFS, estão ilustrados na Figura 22. Esta figura ilustra a capacidade das CTC em doentes com MPC com <5 e ≥5 CTC para prever o período de tempo até à progressão clínica ou morte às 2–5 semanas (n=199), 6–8 semanas (n=141), 9–12 semanas (n=134) e 13–20 semanas (n=116) após o início da terapêutica.

- O grupo Favorável representado a verde seco, azul, roxo e azul turquesa, era composto por doentes com <5 CTC às 2–5, 6–8, 9–12 e 13–20 semanas após o início da terapêutica, respectivamente.
- O grupo Desfavorável, representado a castanho, preto, cinzento e cor de laranja era composto por doentes com ≥5 CTC às 2–5, 6–8, 9–12 e 13–20 semanas após o início da terapêutica, respectivamente.

Figura 22: PFS de Doentes com MPC com <5 ou ≥5 CTC a alturas de Seguimento diferentes



A Tabela 24 resume os resultados da análise PFS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥5 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 24: Sobrevida Livre de Progressão (PFS) para doentes com MPC com <5 ou ≥ 5 CTC em diferentes pontos temporais

1	2	3	4	5	6
Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 5 CTC	PFS mediana em meses (IC de 95%)		Valor p Log-rank
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Linha de base	219	125 (57%)	5,8 (5,0 – 7,9)	4,2 (3,1 – 4,9)	0,0008
2-5 Semanas	199	77 (39%)	6,5 (4,9 – 7,4)	2,1 (1,4 – 3,3)	<0,0001
6-8 Semanas	141	38 (27%)	5,9 (4,2 – 7,0)	1,9 (1,3 – 2,7)	<0,0001
9-12 Semanas	134	39 (24%)	4,9 (3,8 – 6,2)	1,6 (0,9 – 2,6)	<0,0001
13-20 Semanas	116	27 (23%)	4,1 (3,3 – 5,8)	1,2 (0,5 – 1,5)	<0,0001

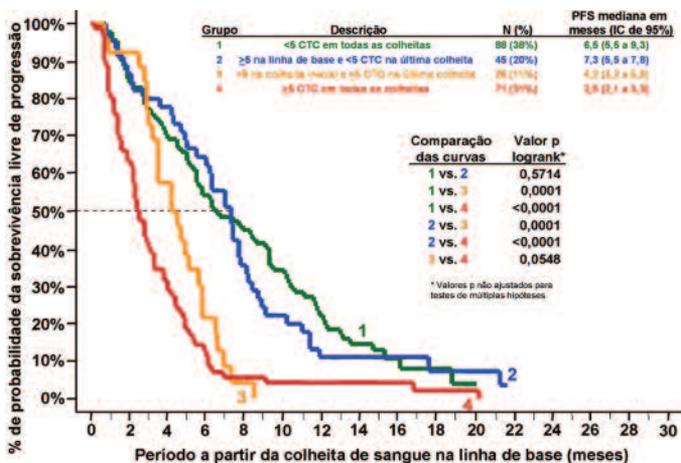
Conforme ilustrado na **Figura 22** e **Tabela 24**, os doentes com MPC com contagens elevadas de CTC (≥ 5 CTC/7,5 mL de sangue total) em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de progressão rápida do que os doentes com <5 CTC. A coluna 4 da **Tabela 24** indica que os períodos de PFS mediana para os doentes com <5 CTC variaram entre 4,1 a 6,5 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de PFS mediana para os doentes com ≥ 5 CTC, que variaram entre 1,2 a 4,2 meses (coluna 5).

3.2.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor PFS

Os períodos decorridos de PFS foram calculados a partir da colheita de sangue da linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier apresentada na **Figura 23**, os doentes com MPC foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas e 13-20 semanas após o início da terapêutica:

- Grupo 1 (curva verde), 88 (38%) doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais. Cinco (6%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto sete (8%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥ 5 CTC;
- Grupo 2 (curva azul), 45 (20%) doentes com ≥ 5 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 26 (11%) doentes com <5 CTC numa colheita inicial (linha de base, 2-5 semanas e/ou 6-8 semanas) mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥ 5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva vermelha), 71 (31%) doentes com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais relativos à colheita. Oito (11%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base e dois (3%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha <5 CTC.

Figura 23: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê Uma PFS Mais Longa em Doentes com MPC



A **Figura 23** demonstra que os doentes com MPC com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a PFS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a PFS mediana do **Grupo 3**, **Grupo 2** e **Grupo 1**. A diferença na PFS mediana entre os doentes que apresentaram uma

wredução de CTC após o início da terapêutica (**Grupo 2**) era significativamente maior em comparação com os doentes que apresentaram um aumento de CTC (**Grupo 3**).

3.3 Análise da Sobrevida Global (OS) de Doentes com MPC

3.3.1 Análise da OS Utilizando Resultados de CTC da Linha de Base

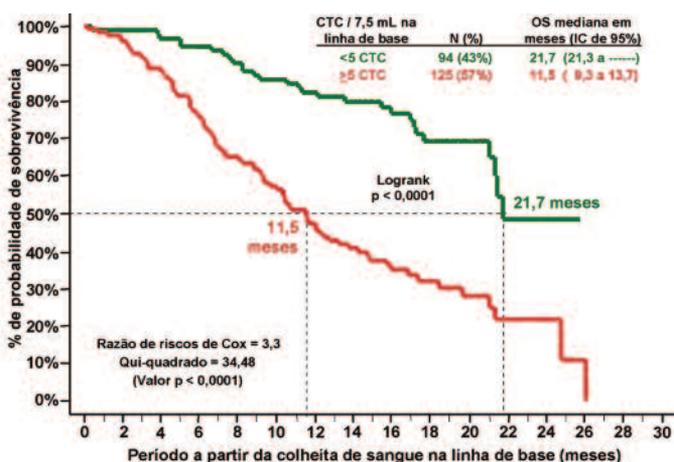
Os casos de morte ocorreram em 119 (52%) dos 231 doentes com MPC, com um período de seguimento médio para os 112 (48%) doentes ainda vivos de $16,1 \pm 4,9$ meses (mediana = 16,5, intervalo = 1,9 a 25,7 meses). Na altura da realização das análises, 28 (30%) dos 94 doentes do grupo Favorável (<5 CTC na linha de base) morreram em comparação com 83 (66%) de 125 do do grupo Desfavorável (≥ 5 CTC na linha de base).

Para a análise de Kaplan-Meier, os 219 doentes do total de 231 doentes avaliados com resultados na linha de base foram divididos em dois grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base:

- O grupo Favorável (N=94), representado a **verde**, era composto por doentes com <5 CTC.
- O grupo Desfavorável (N=125), representado a **vermelho**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC.

A OS mediana foi significativamente mais longa no grupo Favorável em comparação com o grupo Desfavorável (21,7 vs. 11,5 meses, respectivamente). Estes resultados estão ilustrados na **Figura 24**.

Figura 24: OS de Doentes com MPC com <5 ou ≥ 5 CTC na Linha de Base (N = 219).

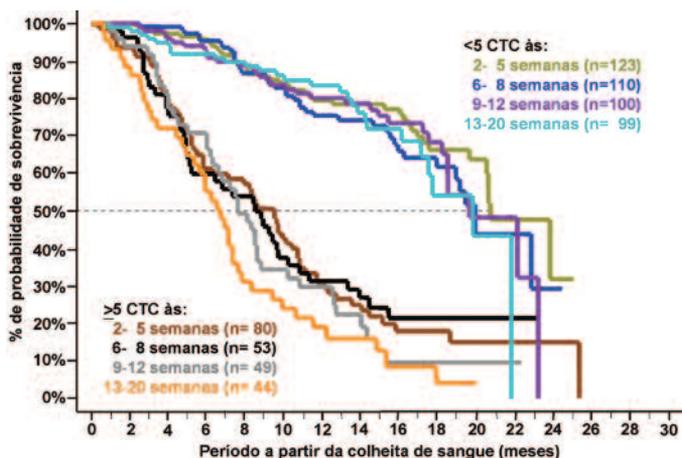


3.3.2 OS Utilizando Resultados de CTC de Seguimento

As análises de Kaplan-Meier de ambos os grupos de doentes com MPC, em cada uma das alturas em que foi realizada uma colheita de sangue de seguimento após o início da terapêutica, estão ilustradas na **Figura 25**. Esta figura ilustra a capacidade das CTC em doentes com MPC com <5 e ≥ 5 CTC às 2–5 semanas (n=203), 6–8 semanas (n=163), 9–12 semanas (n=149) e 13–20 semanas (n=143) após o início da terapêutica para prever o período de tempo até à morte. Os períodos de OS foram calculados a partir da altura em que foi realizada cada colheita de sangue.

- O grupo Favorável representado a **verde seco, azul, roxo e azul turquesa**, era composto por doentes com <5 CTC,
- O grupo Desfavorável, representado a **castanho, preto, cinzento e cor de laranja**, era composto por doentes com ≥ 5 CTC.

Figura 25: OS de Doentes com MPC com <5 ou ≥ 5 CTC a alturas de Seguimento diferentes



A Tabela 25 resume os resultados da análise OS utilizando os níveis de CTC e um limiar de ≥ 5 CTC/7,5 mL em cada um dos pontos temporais de colheita de sangue diferentes.

Tabela 25: Sobrevivência Global (OS) para doentes com MPC com <5 ou ≥ 5 CTC em diferentes pontos temporais

Tempo de amostragem após início Tx	N	≥ 5 CTC	OS mediana em meses (IC de 95%)		Log-rank Valor p
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
			Linha de base	219	
2-5 Semanas	203	80 (39%)	20,7 (20,5 – NR)	9,5 (5,8 – 10,7)	<0,0001
6-8 Semanas	163	53 (33%)	19,9 (17,9 – NR)	8,5 (5,0 – 10,2)	<0,0001
9-12 Semanas	149	49 (33%)	19,6 (18,5 – NR)	7,6 (6,2 – 8,6)	<0,0001
13-20 Semanas	143	44 (31%)	19,8 (17,1 – NR)	6,7 (4,9 – 7,6)	<0,0001

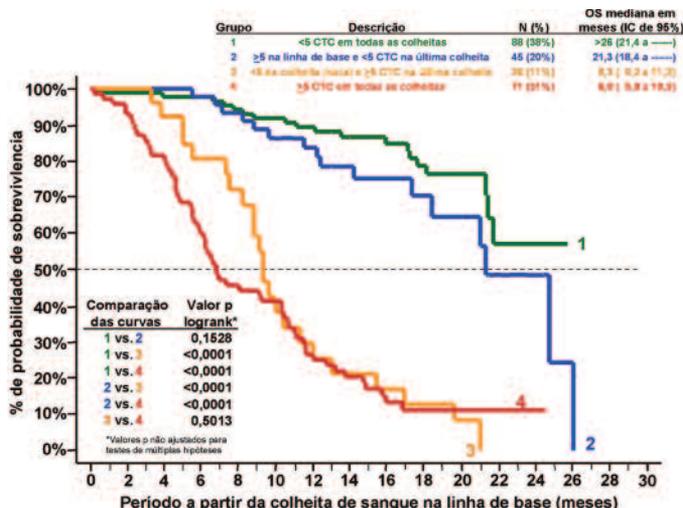
Conforme ilustrado na Figura 25 e Tabela 25, nas colunas 4 e 5, os doentes com MPC com ≥ 5 CTC em qualquer um dos pontos temporais apresentavam uma probabilidade muito mais elevada de morrer mais cedo do que os doentes com <5 CTC. Os períodos de OS mediana para os doentes com <5 CTC variaram entre 19,6 a 21,7 meses e foram consideravelmente superiores em relação aos períodos de OS mediana para os doentes com ≥ 5 CTC, que variaram entre 6,7 a 11,5 meses.

3.3.3 Redução ou Aumento de CTC Prevê uma Maior ou Menor OS

Os períodos decorridos de OS foram calculados a partir da colheita de sangue de linha de base. Para a análise de Kaplan-Meier (Figura 26), os doentes foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC na linha de base, às 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas e 13-20 semanas após o início da terapêutica:

- Grupo 1 (curva verde), 88 (38%) doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais. Cinco (6%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base, enquanto sete (8%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha ≥ 5 CTC;
- Grupo 2 (curva azul), 45 (20%) doentes com ≥ 5 CTC antes do início da terapêutica mas que apresentaram uma contagem reduzida para <5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), 26 (11%) doentes com <5 CTC numa colheita inicial mas que apresentaram um aumento na contagem para ≥ 5 CTC na altura da última colheita de sangue;
- Grupo 4 (curva vermelha), 71 (31%) doentes com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais relativos à colheita. Oito (11%) destes doentes tinham apenas uma colheita de sangue de linha de base e dois (3%) tinham uma única colheita de sangue entre a primeira e última colheita de sangue que continha <5 CTC.

Figura 26: Uma Redução na contagem de CTC Inferior a 5 Depois do Início da Terapêutica Prevê uma OS Mais Longa ao passo que um Aumento na Contagem de CTC de 5 ou Superior Prevê uma OS Mais Curta em Doentes com MPC



A **Figura 26** mostra que os doentes com ≥ 5 CTC em qualquer ponto após o início da terapêutica apresentavam uma probabilidade muito maior de morrer mais cedo. Os doentes com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 4**) apresentaram a OS mediana mais curta, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a OS mediana do **Grupo 2** e **Grupo 1**, mas não do **Grupo 3**. Os doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 1**) apresentaram a OS mediana mais longa, a qual apresentava uma diferença significativa em comparação com a OS mediana do **Grupo 4** e **Grupo 3**, mas não do **Grupo 2**. A **Figura 26** indica ainda que os doentes que apresentaram uma redução na contagem de CTC (**Grupo 2**) melhoraram as suas hipóteses de sobrevivência e apresentaram uma OS mediana semelhante à dos doentes com uma contagem de CTC favorável em todas as colheitas (**Grupo 1**). A figura ilustra, igualmente, que os níveis de CTC desfavoráveis após o início da terapêutica diminuíram significativamente a sobrevivência global (**Grupo 3** e **Grupo 4**).

3.3.4 Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MPC

A análise de regressão univariada de Cox dos riscos proporcionais foi utilizada para avaliar a associação dos seguintes parâmetros de pré-tratamento com a PFS e OS: fase da doença aquando do diagnóstico (1–4), idade do doente (≥ 70 ou <70 anos), estado ECOG antes do início de uma nova linha de terapêutica (0–2), classificação de Gleason (2–10), nível de hemoglobina no espaço de ± 30 dias após a colheita de sangue de linha de base (g/dL, contínuo), nível de albumina no espaço de ± 30 dias após a colheita de sangue de linha de base (g/dL, contínuo), nível de testosterona na altura da colheita de sangue na linha de base (ng/mL, contínuo), nível de LHD na altura da colheita de sangue na linha de base (IU/mL, contínuo), nível de fosfatase alcalina na altura da colheita de sangue na linha de base (IU/mL, contínuo), nível de PSA na altura da colheita de sangue na linha de base (ng/mL, contínuo), período duplo de PSA pré-tratamento (meses, contínuo), velocidade do PSA pré-tratamento (ng/mL/mês, contínuo), linha de terapêutica (1^a, 2^a, 3^a, 4^a, 5^a ou 6^a), tipo de terapêutica (taxotere incluído ou não), presença de doença mensurável (sim ou não), presença de metástases ósseas (sim ou não), presença de metástases viscerais (sim ou não) e nível de CTC na linha de base (≥ 5 CTC/7,5 mL ou <5 CTC/7,5mL) e contagens de CTC de seguimento às 2–5, 6–8, 9–12 e 13–20 semanas.

Para estas análises, os períodos decorridos para PFS e OS foram calculados a partir da altura da colheita de sangue de linha de base. Os resultados de regressão de Cox (ou seja, a razão dos riscos e o intervalo de confiança de 95% associado, valor de qui-quadrado e valores p associados) quanto à capacidade dos parâmetros preverem, de forma independente, a PFS e OS são fornecidos na **Tabela 26**, bem como o número de doentes em cada avaliação.

Tabela 26: Análise de Regressão Univariada de Cox em Doentes com MPC

Parâmetro	Categorias		N.º de doentes com MPC	Risco de PFS a partir da linha de base		Risco de OS a partir da linha de base	
	Positivo	Negativo		HR	Valor p ²	HR	Valor p ²
Fase no diagnóstico primário	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		121	0,88	0,206	0,83	0,174
Idade na colheita de sangue na linha de base	≥ 70	<70	231	0,96	0,764	1,28	0,178
Estado ECOG aquando da entrada no estudo	2 vs. 1 vs. 0		222	1,34	0,011	2,36	<0,001
Classificação de Gleason	10 a 2		208	1,01	0,919	1,02	0,717
Período duplo de PSA pré-tratamento (Meses)	Contínuo		230	0,97	0,542	0,97	0,664
Velocidade de PSA pré-tratamento (ng/mL/Mês)	Contínuo		230	1,00	0,200	1,00	0,544
Hemoglobina da linha de base (g/dL)	Contínuo		221	0,87	0,002	0,71	<0,001
Albumina da linha de base (g/dL)	Contínuo		214	0,99	0,748	1,02	0,557
Testosterona da linha de base (ng/mL) ¹	Contínuo		223	1,07	0,900	2,71	0,060
LDH da linha de base (IU/mL) ¹	Contínuo		219	1,001	<0,001	1,002	<0,001
Fosfatase alcalina da linha de base (IU/mL) ¹	Contínuo		223	1,00	0,158	1,008	0,001
Linha de terapêutica	Contínua (1-6)		231	1,23	0,003	1,228	0,003
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)	Sim	Não	229	0,57	<0,001	0,59	0,006
Doença mensurável?	Sim	Não	230	1,00	0,993	1,28	0,181
Metástases ósseas?	Sim	Não	227	1,02	0,933	2,22	0,057
Metástases viscerais?	Sim	Não	230	1,01	0,918	1,26	0,216
PSA de linha de base (ng/mL) ¹	Contínuo		231	1,00	0,746	1,00	0,907
PSA às 2 – 5 semanas PSA (ng/mL) ¹	Contínuo		207	1,00	0,819	1,00	0,794
PSA às 6 – 8 semanas PSA (ng/mL) ¹	Contínuo		167	1,00	0,426	1,00	0,654
PSA às 9 – 12 semanas PSA (ng/mL) ¹	Contínuo		155	1,00	0,684	1,00	0,324
PSA às 13 – 20 semanas PSA (ng/mL) ¹	Contínuo		143	1,00	0,639	1,00	0,205
Redução de PSA da linha de base às 2 – 5 semanas (%) ¹	<30%	≥ 30%	207	1,56	0,006	1,24	0,318
Redução de PSA da linha de base às 6 – 8 semanas (%) ¹	<30%	≥ 30%	167	2,21	<0,001	2,27	0,001
Redução de PSA da linha de base às 9 – 12 semanas (%) ¹	<30%	≥ 30%	155	2,76	<0,001	2,30	<0,001
Redução de PSA da linha de base às 13 – 20 semanas (%) ¹	<30%	≥ 30%	143	2,69	<0,001	3,19	<0,001
Número de CTC na linha de base	≥ 5	<5	219	1,62	0,001	3,33	<0,001
Número de CTC na 2 – 5 semana	≥ 5	<5	203	2,34	<0,001	4,46	<0,001
Número de CTC na 6 – 8 semana	≥ 5	<5	163	3,29	<0,001	3,66	<0,001
Número de CTC na 9 – 12 semana	≥ 5	<5	149	3,23	<0,001	5,82	<0,001
Número de CTC na 13 – 20 semana	≥ 5	<5	144	4,82	<0,001	7,18	<0,001

¹ Determinado a partir de uma colheita de soro realizada na mesma data que a colheita de sangue para CTC

² Valor p da estatística de Z do teste de Wald

3.3.5 Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MPC

Foram realizadas análises de regressão multivariadas de Cox para avaliar a capacidade preditiva, independente da contagem de CTC, através do ajuste segundo os efeitos dos factores clínicos importantes que são estatisticamente significativos nas análises univariadas. Determinou-se que as CTC são forte indicadores de PFS e OS na maioria dos pontos temporais (Tabela 27).

Tabela 27: Análise de Regressão Multivariada de Cox em Doentes com MPC

Parâmetro	N.º de doentes	Risco de PFS a partir da linha de base		Risco de OS a partir da linha de base	
		HR	Valor p ²	HR	Valor p ²
CTC na linha de base (<5 vs. ≥5)	188	1,14	0,455	1,92	0,009
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,00	0,982	1,46	0,032
Hemoglobina da linha de base (g/dL) ³		0,88	0,027	0,81	0,007
LDH da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		1,0007	0,018	1,002	<0,001
Fosfatase alcalina de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,410
Linha de terapêutica (1ª à 6ª)		1,14	0,145	1,07	0,547
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)		0,63	0,009	0,70	0,139
CTC às 2 – 5 semanas (<5 vs. ≥5)	173	1,48	0,041	2,91	<0,001
Redução de PSA da linha de base às 2 – 5 semanas (≥30% vs. <30%) ¹		1,40	0,077	1,13	0,637
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		0,97	0,836	1,46	0,054
Hemoglobina da linha de base (g/dL) ³		0,93	0,246	0,89	0,141
LDH da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		1,002	0,002	1,003	<0,001
Fosfatase alcalina de départ (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,622
Linha de terapêutica (1ª à 6ª)		1,11	0,274	1,11	0,399
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)	0,75	0,133	0,80	0,397	
CTC às 6 – 8 semanas (<5 vs. ≥5)	139	2,14	<0,001	2,13	0,009
Redução de PSA da linha de base às 6 – 8 semanas (≥30% vs. <30%) ¹		1,88	0,002	2,38	0,007
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,04	0,810	1,52	0,088
Hemoglobina da linha de base (g/dL) ³		0,97	0,695	0,79	0,013
LDH da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		1,002	0,003	1,004	<0,001
Fosfatase alcalina da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,780
Linha de terapêutica (1ª à 6ª)		1,37	0,001	1,35	0,035
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)	0,80	0,278	1,45	0,276	
CTC às 9 – 12 semanas (<5 vs. ≥5)	125	1,74	0,015	3,94	<0,001
Redução de PSA da linha de base às 9 – 12 semanas (≥30% vs. <30%) ¹		2,23	<0,001	1,46	0,221
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		1,21	0,307	1,89	0,004
Hemoglobina da linha de base (g/dL) ³		0,93	0,322	0,97	0,758
LDH da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		1,00	0,190	1,003	<0,001
Fosfatase alcalina da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,989
Linha de terapêutica (1ª à 6ª)		1,25	0,052	1,11	0,499
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)	0,97	0,903	1,26	0,486	
CTC às 13 – 20 semanas (<5 vs. ≥5)	123	2,95	<0,001	3,75	0,001
Redução de PSA da linha de base às 13 – 20 semanas (≥30% vs. <30%) ¹		1,97	0,002	1,52	0,275
Estado ECOG na linha de base (0 vs. 1 vs. 2)		0,98	0,919	1,98	0,002
Hemoglobina da linha de base (g/dL) ³		1,03	0,723	0,87	0,232
LDH da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		1,00	0,380	1,003	<0,001
Fosfatase alcalina da linha de base (IU/mL) ^{1,3}		---	---	1,00	0,078
Linha de terapêutica (1ª à 6ª)		1,25	0,050	1,06	0,751
Tipo de terapêutica (Taxotere: Sim/Não)	1,04	0,882	0,90	0,770	

¹ Determinado a partir de uma colheita de soro realizada na mesma data que a colheita de sangue para CTC

² Valor p da estatística de Z do teste de Wald

³ Avaliado como um parâmetro contínuo

3.4 Utilização de CTC para Monitorizar o Estado Clínico de Doentes com Cancro da Próstata Metastásico

3.4.1 Relação entre sobrevivência, CTC e avaliação da doença por PSA

Actualmente, uma redução no PSA consiste num dos principais métodos utilizados para determinar a resposta à terapêutica nos doentes com MPC. De modo a estabelecer a relação do estado clínico, conforme determinado pelo PSA, com a contagem de CTC, redução de $\geq 30\%$ ou $\geq 50\%$, tanto o PSA como as CTC foram medidos às 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas e 13-20 semanas após o início da terapêutica e comparados em termos de sobrevivência global.

Para a análise de Kaplan-Meier, os períodos decorridos de OS foram calculados a partir da altura em que foi realizada a colheita de sangue. Os doentes foram divididos em grupos Favoráveis, com base numa contagem de CTC <5 , na altura da avaliação, e uma redução $\geq 30\%$ do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação. Os doentes foram divididos em grupos Desfavoráveis, com base numa contagem de CTC ≥ 5 e uma redução $<30\%$ do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação.

A **Figura 27** apresenta os resultados da análise 2-5 semanas após o início da terapêutica, **Figura 28** da análise 6-8 semanas após o início da terapêutica, **Figura 29** da análise 9-12 semanas após o início da terapêutica e **Figura 30** da análise 13-20 semanas após o início da terapêutica.

Figura 27: OS de Doentes com MPC às 2-5 semanas após o início da terapêutica

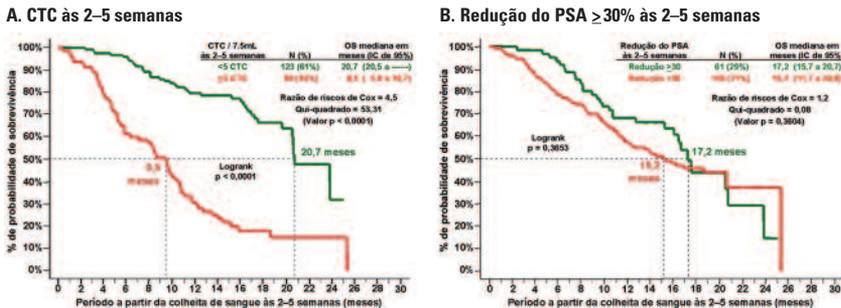


Figura 28: OS de Doentes com MPC às 6-8 semanas após o início da terapêutica

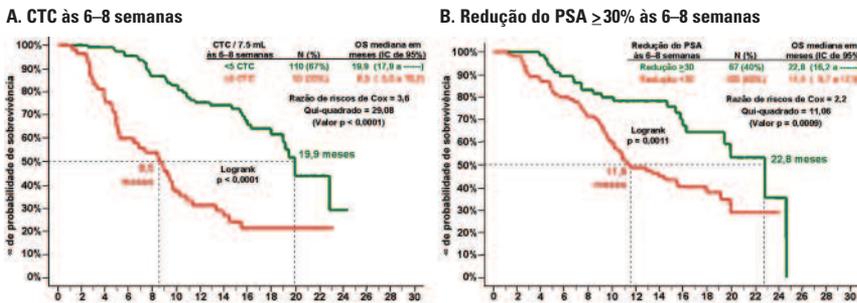


Figura 29: OS de Doentes com MPC às 9-12 semanas após o início da terapêutica

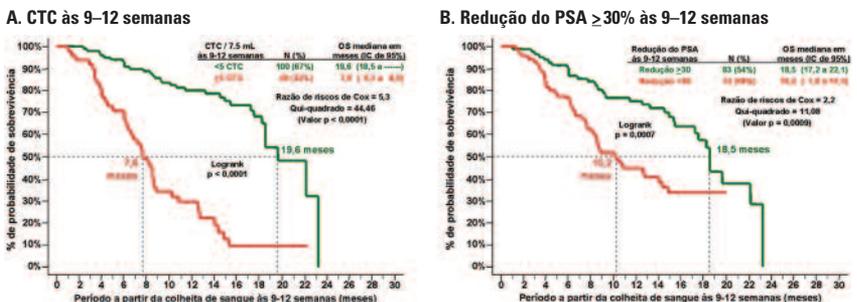
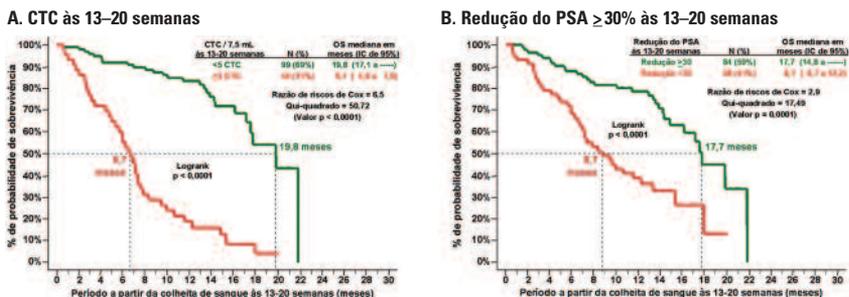


Figura 30: OS de Doentes com MPC às 13–20 semanas após o início da terapêutica



A Tabela 28 ilustra a comparação da sobrevivência global mediana em pontos temporais diferentes após a terapêutica, em conjunto com a contagem de CTC, uma redução de PSA de 30% e de 50%.

Tabela 28: Comparação da OS Mediana entre os Grupos Favoráveis e Desfavoráveis em termos de CTC e Redução de PSA.

Ponto temporal	CTC / 7,5mL					Redução de PSA de 30% da linha de base				Redução de PSA de 50% da linha de base								
	N	≥ 5 (%)	OS mediana <math>< 5</math>	OS mediana ≥ 5	Valor p logrank	HR	N	< 30 (%)	OS mediana $\ge 30\%$	OS mediana $< 30\%$	Valor p logrank	HR	N	< 50 (%)	OS mediana $\ge 50\%$	OS mediana $< 50\%$	Valor p logrank	HR
2-5 Semanas	203	39%	20,7	9,5	<0,0001	4,5	207	71%	17,2	15,2	0,3653	1,2	207	83%	17,5	16,2	0,5599	1,2
6-8 Semanas	163	33%	19,9	8,5	<0,0001	3,6	167	60%	22,8	11,5	0,0011	2,2	167	75%	22,8	14,4	0,0117	2,1
9-12 Semanas	149	33%	19,6	7,6	<0,0001	5,3	155	46%	18,5	10,2	0,0007	2,2	155	59%	19,6	10,8	0,0006	2,3
13-20 Semanas	143	31%	19,8	6,7	<0,0001	6,5	142	41%	17,7	8,7	<0,0001	2,9	142	46%	17,7	9,9	0,0001	2,6

Os dados na Figura 27 a Figura 30 e na Tabela 28, demonstram uma diferença bastante significativa na sobrevivência global entre os doentes com uma contagem de CTC desfavorável e Favorável em todos os pontos temporais testados, ao passo que as avaliações de PSA só foram significativas a partir das 6–8 semanas após o início da terapêutica. Embora as diferenças na OS mediana entre os grupos de redução do PSA Favorável (redução de PSA $\ge 30\%$ ou $\ge 50\%$ da linha de base) e Desfavorável (redução de PSA $< 30\%$ ou $< 50\%$) tenham sido significativas, a separação entre os grupos de contagem de CTC Favorável (< 5 CTC) e Desfavorável (≥ 5 CTC) destacou-se e foi significativa em todos os pontos temporais após o início da terapêutica.

3.4.2 Concordâncias entre CTC e Alterações do PSA em Doentes com MPC

Actualmente, uma redução de $\ge 30\%$ ou $\ge 50\%$ no PSA é frequentemente utilizada para avaliar a progressão da doença em doentes com cancro da próstata metastásico. Por essa razão, para estabelecer a relação entre a contagem de CTC e as alterações no PSA, foram elaboradas classificações em tabelas 2x2 das observações concordantes e discordantes entre CTC e PSA para cada ponto temporal após o início da terapêutica. Embora tenham sido calculadas as comparações entre as contagens de CTC e alteração de PSA em ambas as magnitudes, só são apresentados os dados relativos a CTC vs. alteração de PSA $\ge 30\%$. Esta decisão baseou-se numa recente publicação (*J Nat Ca Inst.* 98 (8):p.516-521, 2006) que demonstrava que uma redução de 30% do PSA durante 3 meses indicava uma associação mais acentuada à redução do risco de morte do que uma diminuição de 50% no PSA. Além disso, uma comparação dos resultados ao nível dos doentes e da observação das análises de redução de 30% e 50% do PSA vs. CTC não demonstrou diferenças significativas em termos de % de concordância positiva, % de concordância negativa e Concordância global em nenhum dos pontos temporais observados.

No total, 197, 159, 146 e 138 doentes realizaram colheitas para obter amostras de soro, pelo laboratório central, e apresentaram resultados de CTC disponíveis de 2–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica respectivamente. Por forma a determinar a resposta à terapêutica de um doente, a percentagem de alteração do PSA em relação ao valor da linha de base foi calculada para cada ponto temporal após o início da terapêutica. Para as alterações de PSA em cada ponto temporal, o grupo Favorável foi definido como o grupo dos doentes com uma redução do PSA $\ge 30\%$ e o grupo Desfavorável como o grupo dos doentes com uma redução do PSA $< 30\%$. Relativamente à contagem de CTC em cada ponto temporal, o grupo Favorável foi definido como o grupo dos doentes com < 5 CTC por 7,5 mL de sangue e o grupo Desfavorável como o grupo dos doentes com ≥ 5 CTC.

Visto que os resultados de CTC vs. PSA das comparações ao nível dos doentes entre a contagem de CTC e uma redução de PSA $\ge 30\%$ às 2–5 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica foram mais significativos em termos de discordância e concordância, respectivamente, estes dados estão apresentados na Tabela 29 e Tabela 30, respectivamente.

Tabela 29: Comparação ao Nível dos Doentes com MPC de CTC e Redução de 30% do PSA às 2–5 Semanas

% Redução no PSA da Linha de Base às 2–5 Semanas Após o Início da Terapêutica	CTC 2–5 Semanas após o Início da Terapêutica		Total
	<5 CTC / 7,5mL	≥ 5 CTC / 7,5mL	
Redução ≥ 30% no PSA	50	11	61
Redução <30% no PSA	69	67	136
Total	119	78	197

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	49%	41%	58%
% de concordância negativa	82%	70%	91%
Valor preditivo positivo	86%	76%	93%
Valor preditivo negativo	42%	33%	51%
Concordância global	59%	52%	66%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	4,4	2,1	9,2

Tabela 30: Comparação ao Nível dos Doentes com MPC de CTC e Redução de 30% do PSA às 13–20 Semanas

% Redução no PSA da Linha de Base às 13–20 Semanas Após o Início da Terapêutica	CTC 13–20 Semanas após o Início da Terapêutica		Total
	<5 CTC	≥ 5 CTC	
Redução ≥ 30% no PSA	72	9	81
Redução <30% no PSA	23	34	57
Total	95	43	138

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	60%	46%	72%
% de concordância negativa	89%	80%	95%
Valor preditivo positivo	79%	64%	90%
Valor preditivo negativo	76%	66%	84%
Concordância global	77%	69%	84%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	11,8	4,9	28,3

Os resultados de uma comparação combinada ao nível da observação entre a contagem de CTC e alterações de PSA utilizando um limiar de redução ≥ 30% às 2–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica estão apresentados na **Tabela 31**.

Tabela 31: Comparação ao Nível da Observação de MPC de CTC e Redução de 30% de PSA

% Redução no PSA da Linha de Base Após o Início da Terapêutica	CTC após o Início da Terapêutica		Total
	<5 CTC	≥ 5 CTC	
Redução ≥ 30% no PSA	243	41	284
Redução <30% no PSA	175	181	356
Total	418	222	640

Medição	Estimativa	Inferior IC de 95%	Superior IC de 95%
% de concordância positiva	51%	46%	56%
% de concordância negativa	86%	81%	89%
Valor preditivo positivo	82%	76%	86%
Valor preditivo negativo	58%	53%	63%
Concordância global	66%	62%	70%
Razão de probabilidades (<i>odds ratio</i>)	6,1	4,1	9,1

A concordância global entre a contagem de CTC e as alterações de PSA, nos vários pontos temporais após o início da terapêutica, variaram entre 59% a 77% aquando de uma comparação com uma redução de PSA ≥ 30% e entre 52% a 75% aquando de uma comparação com uma redução de PSA ≥ 50%, tendo sido observada uma discordância entre a contagem de CTC e alterações de PSA em aproximadamente ~25% a 40% dos doentes.

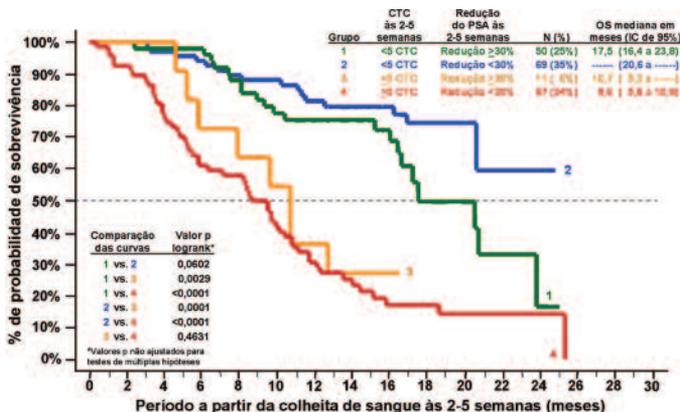
3.4.3 Combinação dos Níveis de CTC e Redução de PSA para Prever a OS em Doentes com MPC

Para determinar quais dos resultados discordantes melhor reflectiam o prognóstico do doente, foi realizada uma comparação quanto à sobrevivência global entre a avaliação de CTC e as alterações de PSA às 2–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica. Os períodos decorridos de OS foram calculados a partir da colheita de sangue avaliada. Para a análise de Kaplan-Meier **Figura 31 (Painéis A, B, C e D)** os doentes foram divididos em quatro grupos com base nas respectivas contagens de CTC e redução de PSA às 2–5 semanas, 6–8 semanas, 9–12 semanas e 13–20 semanas após o início da terapêutica, respectivamente:

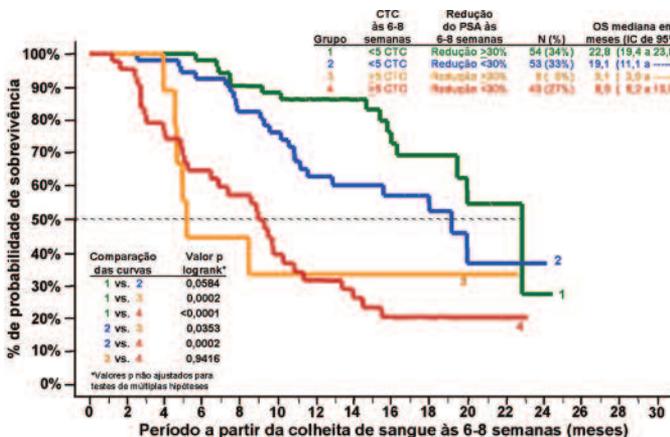
- Grupo 1 (curva verde), doentes com <5 CTC na altura da avaliação e uma redução $\geq 30\%$ do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação;
- Grupo 2 (curva azul), doentes com <5 CTC na altura da avaliação e uma redução <30% do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação;
- Grupo 3 (curva cor de laranja), doentes com ≥ 5 CTC na altura da avaliação e uma redução $\geq 30\%$ do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação;
- Grupo 4 (curva vermelha), doentes com ≥ 5 CTC na altura da avaliação e uma redução <30% do PSA da linha de base em relação à altura da avaliação.

Figura 31: Combinação dos Níveis de CTC e Alterações de PSA para Prever a OS às 2–5 Semanas (Painel A), 6–8 Semanas (Painel B), 9–12 Semanas (Painel C) e 13–20 Semanas (Painel D) Após o Início da Terapêutica

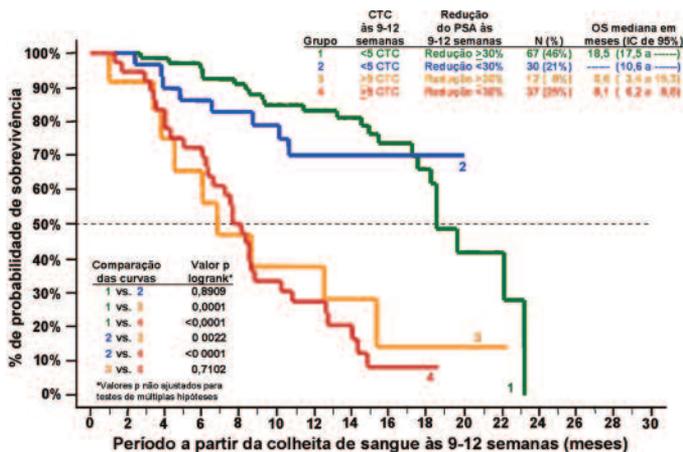
A. 2–5 semanas



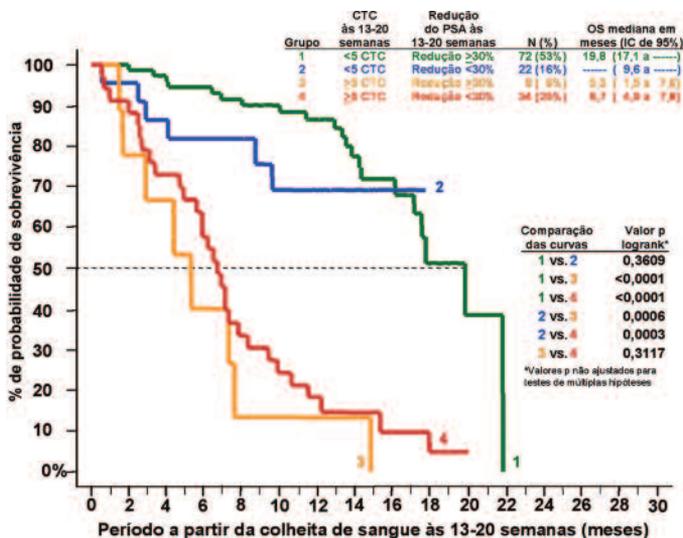
B. 6–8 semanas



C. 9-12 semanas



D. 13-20 semanas



A **Figura 31** mostra que os doentes com ≥ 5 CTC em qualquer ponto após o início da terapêutica apresentavam uma probabilidade muito maior de morrer mais cedo, independentemente das alterações nos níveis de PSA em relação à linha de base. Os doentes com ≥ 5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 3** e **Grupo 4**) apresentaram a sobrevivência global mediana mais curta, sem uma diferença significativa. Contudo, a OS mediana destes dois grupos foi significativamente diferente quando comparada com a OS mediana dos doentes com <5 CTC em todos os pontos temporais (**Grupo 1** e **Grupo 2**). Estes dois grupos (**Grupo 1** e **Grupo 2**) apresentaram a sobrevivência global mediana mais longa, sem uma diferença significativa. Com base na **Figura 31** importa salientar que embora uma redução de PSA em determinados pontos temporais após o início da terapêutica possa ser importante para prever a sobrevivência, a contagem de CTC favorável em qualquer ponto temporal foi mais precisa do que a avaliação de PSA. Em termos práticos, isto significa que se deve utilizar a análise de CTC para avaliar a probabilidade de sobrevivência dos doentes com MPC. Nos casos em que se observou uma discordância entre a avaliação de CTC e a alteração de PSA, concluiu-se que a contagem de CTC fornecia uma avaliação mais exacta do prognóstico.

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data da revisão	Código de componente	Descrição das alterações técnicas
2017-04-01	e631600004_PT	<ul style="list-style-type: none"> • Código final transportado para e631600004_PT • Informação da patente atualizada • Data da revisão actualizada
2016-04-20	e631600003_PT	<ul style="list-style-type: none"> • Código final transportado para e631600003_PT • Removidas todas as menções do registo da marca comercial registada MAGNEST • Atualizada a secção 'LIMITAÇÕES': <ul style="list-style-type: none"> – Adição da advertência das restrições de comercialização da lei federal dos EUA • Atualizada a secção 'LEGENDA DOS SÍMBOLOS': <ul style="list-style-type: none"> – Removidos todos os idiomas exceto o inglês • Atualizado o nome da empresa BVBA para 'JANSSEN DIAGNOSTICS uma divisão da JANSSEN PHARMACEUTICA NV'
2015-05-22	e631600002_PT	<ul style="list-style-type: none"> • Adicionado DS-SPE-25106 sob a referência • Código final transportado para e631600002_PT • Atualizada a secção ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES: <ul style="list-style-type: none"> – Atualizado o passo 7 relativo a azida de sódio de 'Aviso' para 'Cuidado' – Removidas as frases de Risco e Segurança R22 e S28 • Adicionada a secção e advertências de 'PERIGO e de PRUDÊNCIA': <ul style="list-style-type: none"> • Removida a declaração dos sintomas de sobreexposição ao ProClin® 300 • Secção 'LEGENDA DOS SÍMBOLOS': <ul style="list-style-type: none"> – Substituído o pictograma de Nocivo pelo pictograma de Atenção – Atualizado o pictograma de Risco Biológico • Atualizado o endereço
2013-08-29	e631600001_PT	<p>Tecnicamente equivalente a e631500023_PT com as seguintes alterações:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Atribuído um novo número de peça • Atualizado com os atributos comerciais da Janssen, incluindo: <ul style="list-style-type: none"> – Logótipo da Janssen – Morada de fabrico – Morada do Representante da CE – Números de telefone – Website • Eliminadas todas as instâncias de CELLSPOTTER® Analyzer • Atualizadas todas as instâncias do termo "Tubo Cónico CELLSEARCH® para "Tubos Cónicos para Centrífuga CELLSEARCH® (15 mL)" • Atualizadas todas as instâncias de "CELLSEARCH® Kit" para "CELLSEARCH® CTC Kit" • Na secção INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS: <ul style="list-style-type: none"> – Atualizadas as informações sobre contaminação de células para "igual ou superior a 5000" • Na secção Janssen Technical & Customer Support: <ul style="list-style-type: none"> – Atualizadas todas as instâncias de "Veridex, LLC" para "Janssen Diagnostics, LLC" – Declaração relativa a Patentes nos EUA atualizada • Na secção LEGENDA DOS SÍMBOLOS: <ul style="list-style-type: none"> – Adicionado o símbolo de Data de fabrico e o texto "Data de fabrico" • Data da revisão actualizada



Janssen Technical & Customer Support

Janssen Diagnostics, LLC

700 US HWY 202 South

Raritan, NJ 08869

USA

documents.cellsearchctc.com

Telefone: 1-877-837-4339

00 8000 8374339 (EU)

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II® e AUTOPREP® são marcas comerciais registradas da Janssen Diagnostics, LLC. Mitomycin® é uma marca comercial registrada da Bristol Myers Oncology. Procrit® é uma marca comercial registrada da Ortho BioTech. Arimidex® é uma marca comercial registrada da AstraZeneca. Aredia® é uma marca comercial registrada da Novartis. Herceptin® é uma marca comercial registrada da Genentech. Proclin® é uma marca comercial registrada da Supelco.

Esta tecnologia, incluindo os produtos e/ou respectivos componentes associados e os procedimentos e sistemas dos instrumentos descritos neste documento estão protegidos pelas patentes dos Estados Unidos, patentes internacionais correspondentes e pedidos de patentes pendentes, incluindo um ou mais dos seguintes: Números de Patentes dos EUA 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982; 6,790,366; 7,011,794 e 7,332,288.

LEGENDA DOS SÍMBOLOS

Os símbolos seguintes podem ter sido utilizados nestas instruções de utilização ou na rotulagem associada.



Utilizar até
AAAA-MM-DD ou AAAA-MM



Código do lote



Número de série



Cuidado, consultar os documentos em anexo



Data de fabrico



Fabricante



Contém o suficiente para < n > Testes



Atenção



Número de série



Representante autorizado indicado nas instruções de Consulta para utilização na Comunidade Europeia



Limite da temperatura



Riscos biológicos



Consultar as instruções de utilização



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

EC REP

JANSSEN DIAGNOSTICS uma divisão da
JANSSEN PHARMACEUTICA NV
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse
Belgium

e631600004_PT
Emitido em janeiro de 2017



Janssen Diagnostics, LLC
700 US HWY 202 South
Raritan, NJ 08869
USA
documents.cellsearchctc.com
Telephone: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

