

**DANIEL JOSÉ SZOR**

**Avaliação da relação neutrófilo-linfócito como fator prognóstico em  
pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia  
potencialmente curativa**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título  
de Doutor em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Ulysses Ribeiro Júnior

**São Paulo  
2019**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Szor, Daniel José

Avaliação da relação neutrófilo-linfócito como fator prognóstico em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa / Daniel José Szor. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.  
Orientador: Ulysses Ribeiro Júnior.

Descritores: 1.Neoplasias gástricas  
2.Carcinogênese 3.Inflamação 4.Biomarcadores tumorais 5.Gastrectomia 6.Prognóstico

USP/FM/DBD-413/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*“Until you make the unconscious conscious, it will direct your life and you will call it fate”.*

Carl Jung (1875 - 1961)

Aos meus pais, Beni e Flávia, e à minha irmã  
Simone, meu porto seguro.

À minha esposa Roberta e aos meus filhos  
David e Michel, a razão de tudo.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Ulysses Ribeiro Júnior, exemplo de dedicação à profissão e à pesquisa científica. Dentre as incontáveis reuniões, cirurgias e demais responsabilidades pessoais e profissionais, multiplica o seu tempo e torna-se disponível para ser o verdadeiro orientador. O meu profundo respeito e admiração.

Ao Dr. André Roncon Dias, exímio cirurgião, capaz de transformar as questões mais complexas em soluções simples e óbvias, tanto na cirurgia quanto na vida. Grande amigo e principal incentivador da realização desta tese.

À Marina Alessandra Pereira por seu verdadeiro altruísmo, empatia e dedicação. Suas incontáveis edições, sugestões e cálculos estatísticos tornaram a jornada mais leve.

Ao Dr. Marcus Kodama, pela ideia do estudo e sugestões que aprimoraram a tese. Um grande exemplo de cirurgião e pesquisador.

Ao Prof. José Jukemura, por todo seu apoio durante a minha passagem pela pós-graduação.

Ao Prof. Bruno Zilberstein, pelo constante estímulo na produção científica na área de estudo do câncer gástrico.

Ao Prof. Ivan Ceconello, por manter as portas do Departamento de Gastroenterologia sempre abertas.

À Vilma Libério, pela ajuda nos inúmeros passos administrativos necessários para chegar até aqui.

Ao Dr. André Domingues Pereira, grande amigo desde o primeiro ano da faculdade. A bondade em pessoa.

Aos amigos da residência médica Dr. Omar Abduch, Dr. André Passalacqua e Dra. Vivian Carla Gomes. Excelentes profissionais, excelentes pessoas.

Ao Dr. Roberto Nigro, pelas oportunidades e ensinamentos na carreira cirúrgica e na vida.

Ao Prof. Fernando Herbella por traduzir toda a sua genialidade em preciosos comentários e conselhos.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Câncer Gástrico .....	2
1.2 Inflamação e Neoplasia.....	6
1.3 Estádio e Biomarcadores Inflamatórios.....	11
1.4 Neutrófilos e Câncer .....	13
1.5 Linfócitos e Câncer.....	16
1.6 Relação Neutrófilo-Linfócito.....	18
2 OBJETIVOS .....	22
3 MÉTODOS.....	24
3.1 População do Estudo.....	25
3.1.1 Critérios de inclusão .....	25
3.1.2 Critérios de exclusão.....	26
3.2 Desenho do Estudo .....	26
3.3 Considerações Éticas .....	27
3.4 Coleta de Dados .....	27
3.4.1 Variáveis clinicopatológicas .....	28
3.5 Relação Neutrófilo-Linfócito.....	30
3.6 Seguimento .....	30
3.7 Técnica Operatória.....	31
3.8 Análise Estatística.....	32
4 RESULTADOS.....	33
4.1 Descrição da Amostra.....	34
4.2 Determinação do Ponto de Corte .....	37
4.3 Achados Histopatológicos .....	38
4.4 Relação Neutrófilo-Linfócito.....	38
4.5 Relação dos Valores de NLR com Características Clinicopatológicas .....	40
4.6 Seguimento .....	41
4.7 Análise de Fatores Prognósticos .....	45
5 DISCUSSÃO.....	46
5.1 Relação Neutrófilo-Linfócito e Características Clínico-laboratoriais .....	53
5.2 Relação Neutrófilo-Linfócito e Características Patológicas.....	59
5.3 Estratificação de Risco .....	62
5.4 Fatores Prognósticos .....	63
5.5 Considerações Finais e Perspectivas .....	64

6	CONCLUSÕES .....	66
7	ANEXOS .....	68
8	REFERÊNCIAS .....	78
	APÊNDICES.....	102



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	- <i>American Joint Committee on Cancer</i>
ASA	- <i>American Society of Anesthesiologists</i>
CCI	- <i>Charlson-Deyo comorbidity index</i>
CG	- Câncer gástrico
D1	- Linfadenectomia D1
D2	- Linfadenectomia D2
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
G-CSF	- Fator estimulador de colônias granulocitárias
GM-CSF	- Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
GPI	- <i>Glasgow prognostic index</i>
HCFMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ICESP	- Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
IMC	- Índice de massa corpórea
iNOS	- Radicais livres de nitrogênio
MT	- Microambiente tumoral
NLR	- Relação neutrófilo-linfócito
PCR	- Proteína C-reativa
PLR	- Relação plaqueta-linfócito
ROS	- Radicais livres de oxigênio
RR	- Risco relativo
SG	- Sobrevida global
SLD	- Sobrevida livre de doença
TAMs	- <i>Tumoral-associated macrophages</i>
TNM	- Tumor, linfonodos, metástases
UICC	- <i>Union for International Cancer Control</i>
VEGF	- Fator de crescimento vascular endotelial

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Produto de gastrectomia subtotal, estômago aberto na grande curvatura. Presença de extensa lesão ulcerada compatível com adenocarcinoma gástrico..... 4
- Figura 2 - Adenocarcinoma gástrico com estroma linfoide, coloração hematoxilina-eosina (HE), demonstrando intenso infiltrado inflamatório que excede o número de células tumorais. (A) aumento de 10x e (B) aumento de 20x; (C) imuno-histoquímica com citoqueratina AE1/AE3 (IHQ CKAE1/3) onde se observa intenso infiltrado linfocitário em meio às células tumorais coradas, aumento de 10x..... 10
- Figura 3 - Mecanismos que demonstram a participação dos neutrófilos e seus subprodutos em diferentes etapas do desenvolvimento tumoral. Os neutrófilos atuam desde fases iniciais como a iniciação e a promoção tumoral até fases mais tardias como a angiogênese e a reconfiguração da matriz extracelular que possibilita a disseminação tumoral. Em todo o processo, a atuação antitumoral dos linfócitos T é inibida pelos neutrófilos ..... 14
- Figura 4 - Fluxograma de seleção dos pacientes até a obtenção dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo..... 34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características clínicas e cirúrgicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa .....	35
Tabela 2 -	Características patológicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa .....	36
Tabela 3 -	Valores de NLR de acordo com características clínicas, laboratoriais e patológicas além de recidiva e óbito nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa.....	39
Tabela 4 -	Relação dos grupos NLR baixo (n = 236) e alto (n = 147) com características clinicopatológicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa .....	40
Tabela 5 -	Relação do NLR com o índice de massa corpórea .....	41
Tabela 6 -	Análise univariada e multivariada para sobrevida livre de doença e sobrevida global nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa .....	45

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Curva de Lausen para cálculo do valor de corte de 2,44 da relação neutrófilo-linfócito na população de 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico..... 37
- Gráfico 2 - Histograma de distribuição dos valores de NLR nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativo ..... 38
- Gráfico 3 - Curva de Kaplan-Meier demonstrando sobrevida global (A) e livre de doença (B) nos 383 pacientes agrupados de acordo com a relação neutrófilo-linfócito - NLR baixo ( $< 2,44$ ) e NLR alto ( $\geq 2,44$ )..... 42
- Gráfico 4 - Curva de Kaplan-Meier de acordo com pT (A), pN (B) e pTNM (C) estratificados pelo NLR - NLR baixo ( $< 2,44$ ) e NLR alto ( $\geq 2,44$ ) ..... 43

## RESUMO

Szor DJ. *Avaliação da relação neutrófilo-linfócito como fator prognóstico em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

**INTRODUÇÃO:** o adenocarcinoma gástrico (AG) persiste com elevada prevalência mundial, apesar da queda progressiva nos casos diagnosticados nas últimas décadas. O principal pilar do tratamento é a ressecção cirúrgica com intuito curativo. A presença de diferentes prognósticos em pacientes de mesmo estágio indica que fatores não avaliados rotineiramente podem influenciar a sobrevida. Um desses fatores seriam os biomarcadores inflamatórios, sustentados pela ideia que inflamação e câncer são duas entidades intimamente relacionadas. A relação neutrófilo-linfócito (NLR) é um marcador inflamatório que reflete o *status* inflamatório sistêmico do paciente e que apresenta potencial para predição prognóstica. **OBJETIVOS:** avaliar a importância prognóstica do NLR em pacientes com AG submetidos à gastrectomia potencialmente curativa. Verificar a associação entre o NLR e características clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas dos pacientes. **MÉTODOS:** Foram avaliados, de forma retrospectiva, 383 pacientes com AG submetidos à gastrectomia com intuito curativo. O NLR foi calculado pela divisão entre os neutrófilos e os linfócitos séricos, obtidos de amostras sanguíneas pré-operatórias. Estabeleceu-se o valor de corte do NLR por meio da curva de Lausen e os pacientes foram agrupados em grupos acima ou abaixo deste valor. **RESULTADOS:** a média e o valor de corte estabelecidos para o NLR foram de 2,53 e 2,44, respectivamente. Dividiram-se os pacientes em grupos de baixo NLR (236 pacientes, 61,6%) ou alto NLR (147 pacientes, 38,3%), de acordo com a comparação de seu valor com o valor de corte. O grupo de NLR alto associou-se a pacientes de idade mais avançada ( $p = 0,03$ ), do sexo masculino ( $p < 0,001$ ), com plaquetose ( $p = 0,015$ ) e tumores mais profundos ( $p = 0,02$ ). No seguimento, os pacientes com NLR mais elevado apresentaram menor sobrevida global ( $p = 0,047$ ) e livre de doença ( $p = 0,045$ ). Mais ainda, pacientes com mesmo estágio clínico e grau de invasão tumoral apresentaram pior prognóstico quando o NLR era elevado ( $p = 0,02$  e  $p = 0,032$ , respectivamente). A análise multivariada identificou o NLR elevado ( $p = 0,048$ ), a hipoalbuminemia ( $p = 0,019$ ), os tumores mais invasivos ( $p = 0,006$ ) e o acometimento linfonodal ( $p = 0,007$ ) como fatores independentes de pior prognóstico para sobrevida global. **CONCLUSÃO:** o NLR de valor elevado é um fator independente de pior prognóstico, indicando menor sobrevida global em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo. Seus valores elevados associam-se com idade avançada, sexo masculino, plaquetose e tumores mais invasivos (pT3/pT4). Trata-se de marcador de baixo custo, obtido de forma simples e facilmente reproduzível.

**Descritores:** Neoplasias gástricas; Carcinogênese; Inflamação; Biomarcadores tumorais; Gastrectomia; Prognóstico.

## ABSTRACT

Szor DJ. *Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients who underwent potentially curative resection for gastric cancer* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

**INTRODUCTION:** gastric adenocarcinoma (GA) persists with high worldwide prevalence, despite the progressive fall in cases diagnosed during the last decades. The main cornerstone of the treatment is surgical resection with curative intent. The presence of different prognosis for same stage disease patients indicates that factors not routinely evaluated may influence survival. One of those factors would be the inflammatory biomarkers, supported by the idea that inflammation and cancer are two intimately related entities. The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) is an inflammatory marker, which reflects the systemic inflammatory status of the patient and sets forth a potential for prognosis prediction. **OBJECTIVES:** to evaluate the prognosis relevance of NLR in patients with GA who underwent potentially curative gastrectomy. To verify the association between NLR and clinical, laboratory and anatomopathological characteristics of the patients. **METHODS:** 383 patients with GA who underwent gastrectomy were retrospectively evaluated. NLR was calculated by the division between serum neutrophils and lymphocytes, obtained from preoperative blood samples. The cutoff value was established through the Lauen curve and two groups, high and low, were established according to patient's NLR value. **RESULTS:** the average rate and cutoff value established for NLR were of 2.53 and 2.44 respectively. The patients were divided in groups of low (236 patients, 61.6%) and high NLR (147 patients, 38.3%), according to the comparison of their value with the cutoff value. The high NLR group showed patients of an older age ( $p = 0.03$ ), male gender ( $p < 0.001$ ), with thrombocytosis ( $p = 0.015$ ) and deeper tumors ( $p = 0.02$ ). Subsequently, the patients with a higher NLR presented lower overall survival ( $p = 0.047$ ) and disease-free survival ( $p = 0.045$ ). Even more, patients in the same clinical stage and tumoral invasion grade presented a worse prognosis when NLR was high ( $p = 0.02$  and  $p = 0.032$ , respectively). The multivariate analysis identified NLR ( $p = 0.048$ ), hypoalbuminemia ( $p = 0.019$ ), more invasive tumors ( $p = 0.006$ ) and lymph node involvement ( $p = 0.007$ ) as independent prognosis factors. **CONCLUSION:** high NLR is an independent factor for worse prognosis, indicating lower overall survival in patients with gastric cancer who underwent curative gastrectomy. Higher values correlates with older age, male gender, thrombocytosis and more invasive tumors (pT3/pT4). This is a low cost marker, obtained through a simple and replicable way.

Descriptors: Stomach neoplasms; Carcinogenesis; Inflammation; Cancer biomarkers; Gastrectomy; Prognosis.

# **1 INTRODUÇÃO**

“Se o dano genético é o fósforo que acende o fogo do câncer, alguns tipos de inflamação podem prover o combustível que alimenta a chama”<sup>1</sup>.

### **1.1 Câncer Gástrico**

O câncer gástrico (CG) é uma neoplasia sólida de alta incidência e prevalência que, apesar da redução no número de casos observados ao longo das últimas décadas, ainda representa a quinta neoplasia mais frequente e a terceira causa de óbito por câncer no mundo. Esta posição se traduziu em 1.000.000 de novos casos diagnosticados em 2018, o que representou 6% de todas as neoplasias. O número de óbitos no mesmo ano foi de 783.000, 8% de todos aqueles relacionados com neoplasia<sup>2</sup>. Ao contrário das atuais estatísticas, o adenocarcinoma gástrico foi a principal causa de óbito relacionada a neoplasia em grande parte do século 20<sup>3</sup>.

O número de casos varia entre diferentes partes do mundo, destacando-se o Leste Asiático, Leste Europeu e a América do Sul como locais de maior incidência, com o dobro do número de casos em homens<sup>2,4</sup>. No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer, 21.290 novos casos foram diagnosticados em 2018, sendo 13.540 em homens. Dados mais recentes sobre mortalidade são de 2017, que estimam 14.314 óbitos neste ano. Excluindo-se o câncer de pele não melanótico, o câncer gástrico é a quinta neoplasia mais comum no Brasil, sendo a quarta mais frequente em homens e a sexta nas mulheres<sup>5</sup>.



Além da diferença de incidência, ocorrem variações entre países concernentes ao estágio clínico no momento do diagnóstico e à mortalidade. Isto porque determinados países do Leste Asiático possuem programas eficazes de rastreamento e detecção precoce do tumor, fato que não ocorre em outros países<sup>6</sup>.

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer gástrico são a infecção pelo *Helicobacter pylori*, a ingestão elevada de alimentos com alta concentração de sal e a baixa ingestão de frutas e verduras frescas, o tabagismo e o etilismo<sup>7</sup>. Menos frequentes são os casos ocasionados por mutações germinativas na E-caderina ou nos genes de “mismatch repair” que resultam no câncer gástrico familiar e na síndrome de Lynch, respectivamente<sup>8,9</sup>. A redução na incidência observada nas últimas décadas pode ser explicada pela mudança de hábitos alimentares e implementação de métodos eficazes para conservação de alimentos<sup>2</sup>.

Dentre as neoplasias gástricas, destaca-se o adenocarcinoma que representa 90%-95% dos casos e é demonstrado na Figura 1. No presente estudo, foi utilizado o termo câncer gástrico como sinônimo de adenocarcinoma gástrico. Outros tipos histológicos de menor incidência são o linfoma (4%), tumor neuroendócrino (3%) e o tumor estromal (2%)<sup>10</sup>.

Diversas são as classificações destinadas ao câncer gástrico<sup>11</sup>. A principal delas é a classificação de Lauren, que divide os tumores em dois tipos histológicos com diferentes características. O tipo intestinal representa uma variedade bem diferenciada com tendência a formação de glândulas semelhantes à de outras partes do trato gastrointestinal, principalmente o cólon. Caracteriza-se pela disseminação linfática e hematogênica, com menor grau de infiltração da parede gástrica. Associa-se à presença de gastrite crônica atrófica e metaplasia intestinal decorrentes da

infecção por *H. pylori*. Incide mais em homens, populações de países em desenvolvimento e pacientes com idade mais avançada. O tipo difuso apresenta baixa coesão celular, com tendência à disseminação submucosa. Associa-se com pior prognóstico, metástases precoces e incidência em pacientes mais jovens. Seu evento carcinogênico é a perda da expressão da E-caderina<sup>11</sup>.



**Figura 1 - Produto de gastrectomia subtotal, estômago aberto na grande curvatura. Presença de extensa lesão ulcerada compatível com adenocarcinoma gástrico**

Do ponto de vista topográfico, as lesões podem ser classificadas em cárdicas e não cárdicas, lembrando que o declínio de incidência vem acontecendo em lesões do tipo intestinal não cárdicas. As lesões de cárdia apresentaram aumento de seis vezes desde a década de 1980, fato amplamente relacionado com maiores taxas de sobrepeso e aumento no número de casos de esôfago de Barrett<sup>12</sup>. Estas lesões apresentam alta agressividade e tratamento mais complexo.

Baseado na expressão genética, o câncer gástrico é dividido em quatro tipos de acordo com a classificação proposta pelo *Cancer Genome Atlas Research Network*: infecção pelo Epstein-Barr vírus, tumores com instabilidade de microssatélites, tumores geneticamente estáveis e tumores cromossomicamente instáveis<sup>13</sup>. Esta classificação apresenta implicação na escolha do tratamento, uma vez que identifica possíveis alvos terapêuticos para cada subtipo<sup>14</sup>.

As classificações utilizadas em pacientes com neoplasias gástricas levam em consideração a topografia, extensão, histologia e padrão molecular. Mais do que agrupar pacientes com características semelhantes de modo a facilitar a predição prognóstica, essas classificações auxiliam na escolha do tratamento adequado e na comparação entre diferentes linhas de tratamento. O fator de maior relevância para o prognóstico é o estadiamento clínico-patológico, baseado na classificação Tumor, Linfonodos, Metástases (TNM) conforme proposto pela oitava edição da *American Joint Committee on Cancer*<sup>15</sup>.

O tratamento do câncer gástrico é multidisciplinar e a cirurgia permanece como principal opção de tratamento definitivo. Variações quanto a extensão da linfadenectomia ocorre entre países, sendo que a linfadenectomia estendida é defendida pelos países orientais<sup>16</sup>. O papel da ressecção endoscópica é restrito para lesões precoces sem sinais de acometimento linfonodal, menores que 2 cm, sem ulcerações e bem diferenciadas<sup>17</sup>. Diversos são os protocolos de quimioterapia perioperatória e não há consenso interinstitucional de protocolos padrões, sendo que o tratamento mais efetivo ainda não foi estabelecido<sup>18</sup>.

O prognóstico após o tratamento depende de algumas variáveis, mas o grande divisor de águas é o acometimento linfonodal. Na ausência de acometimento

linfonodal, a sobrevida em cinco anos chega a 90%. Com o acometimento linfonodal e metástases a distância, a sobrevida em 5 anos cai para 31% e 5%, respectivamente<sup>19</sup>. O câncer gástrico é dito precoce quando acomete mucosa ou submucosa independente do acometimento linfonodal. O risco de acometimento linfonodal com mucosa ou submucosa comprometida é de 2%-3% e 15%-20%, respectivamente<sup>20</sup>.

Há que se ressaltar que pacientes com mesmo estágio podem apresentar prognósticos distintos. No intuito de individualizar pacientes e prognósticos, informações complementares ao estágio clássico vêm sendo propostas nas últimas décadas. Uma dessas frentes baseia-se no estudo de marcadores inflamatórios como a relação neutrófilo-linfócito (NLR)<sup>21</sup> e plaqueta-linfócito (PLR)<sup>22</sup>. Esses biomarcadores particularizam o ambiente no qual o tumor surge e se desenvolve, o que talvez implique em diferentes evoluções e desfechos.

## **1.2 Inflamação e Neoplasia**

O desenvolvimento tumoral é um mecanismo complexo realizado em múltiplas etapas. Para tanto, as células tumorais adquirem ao longo da tumorigênese determinadas capacidades biológicas que viabilizam o crescimento, manutenção e disseminação do tumor. Essas capacidades biológicas são separadas em seis marcos: sustentação da sinalização proliferativa, evasão da supressão do crescimento tumoral, imortalidade replicativa, angiogênese, resistência à morte celular e ativação de invasão e metástases<sup>23</sup>. Os agentes geradores e sustentadores dessas características são a instabilidade genômica e a inflamação.

A ideia de que a inflamação é uma condição inerente a neoplasia não é nova, sendo descrita pela primeira vez em 1863 por Virchow ao observar a presença de leucócitos no parênquima tumoral<sup>1</sup>. A noção de que os tumores, mais do que um conjunto de células autônomas em proliferação, são tecidos complexos nos quais ocorrem inúmeras interações entre diferentes tipos de células se solidificou nas últimas décadas. Atualmente, é consenso que a inflamação pode afetar cada aspecto do desenvolvimento tumoral assim como a resposta ao tratamento<sup>24</sup>.

A proliferação celular sozinha não é capaz de gerar uma neoplasia, porém quando ocorre em um ambiente propenso constituído por células inflamatórias e seus subprodutos, o risco da tumorigênese eleva-se. Neste contexto, o conceito de que tumores são feridas que não cicatrizam foi cunhado por Dvorak<sup>25</sup>, em 1986, na medida em que nos processos cicatriciais normais a resposta inflamatória cessa após o término da cicatrização ou a eliminação do agente agressor. Entretanto, nas neoplasias o processo inflamatório é perpetuado por uma cadeia de ações e reações peritumorais, justificando o termo feridas que não cicatrizam.

Outro dado que corrobora a ligação entre inflamação e câncer é o surgimento de neoplasias em locais com infecção crônica, responsáveis por 15% do total de neoplasias<sup>26</sup>. Destacam-se alguns exemplos clássicos: associação entre doenças inflamatórias colorretais e o câncer colorretal<sup>27</sup>, infecção crônica pelo vírus da hepatite C e o hepatocarcinoma<sup>28</sup>, esquistossomose e câncer de bexiga<sup>29</sup>, a infecção pelo *H. pylori* no câncer gástrico<sup>30</sup> e o desenvolvimento de carcinoma espinocelular nos casos de esofagite crônica relacionada ao megaesôfago<sup>31</sup>. Neste último caso, estima-se incidência de 2,8% de carcinoma espinocelular nos casos de megaesôfago chagásico, o que representa um risco 33 vezes maior de desenvolvimento tumoral em relação à população sem megaesôfago<sup>31</sup>.

Por consequência, a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais tem o potencial de reduzir a incidência e mortalidade de alguns tipos de neoplasias, como o câncer colorretal<sup>32</sup>.

A inflamação pode atuar na iniciação e na promoção tumoral. Entende-se por iniciação tumoral o processo onde a célula inicial normal adquire a primeira mutação que a coloca na rota da tumorigênese, conferindo vantagens de crescimento e sobrevivência em relação às células vizinhas<sup>33</sup>. Já a promoção tumoral é o processo de crescimento tumoral a partir da célula inicial mutada até um tumor primário completamente desenvolvido<sup>24</sup>.

O microambiente tumoral (MT) é um tecido composto por diferentes tipos de células, tumorais e inflamatórias, influenciado por moléculas bioativas que desencadeiam cadeias de ações e reações com formação de um leito propício à tumorigênese e desenvolvimento tumoral<sup>34</sup>. Sugere-se que sua complexidade exceda àquelas relacionadas aos tecidos normais e que a vasta maioria dos tumores, senão todos, possuam células inflamatórias associadas independente do fator desencadeador<sup>35</sup>. As células imunes podem regular quase todas as etapas do crescimento tumoral, e podem apresentar efeitos diametralmente opostos, ao bloquear ou estimular o crescimento tumoral<sup>36</sup>.

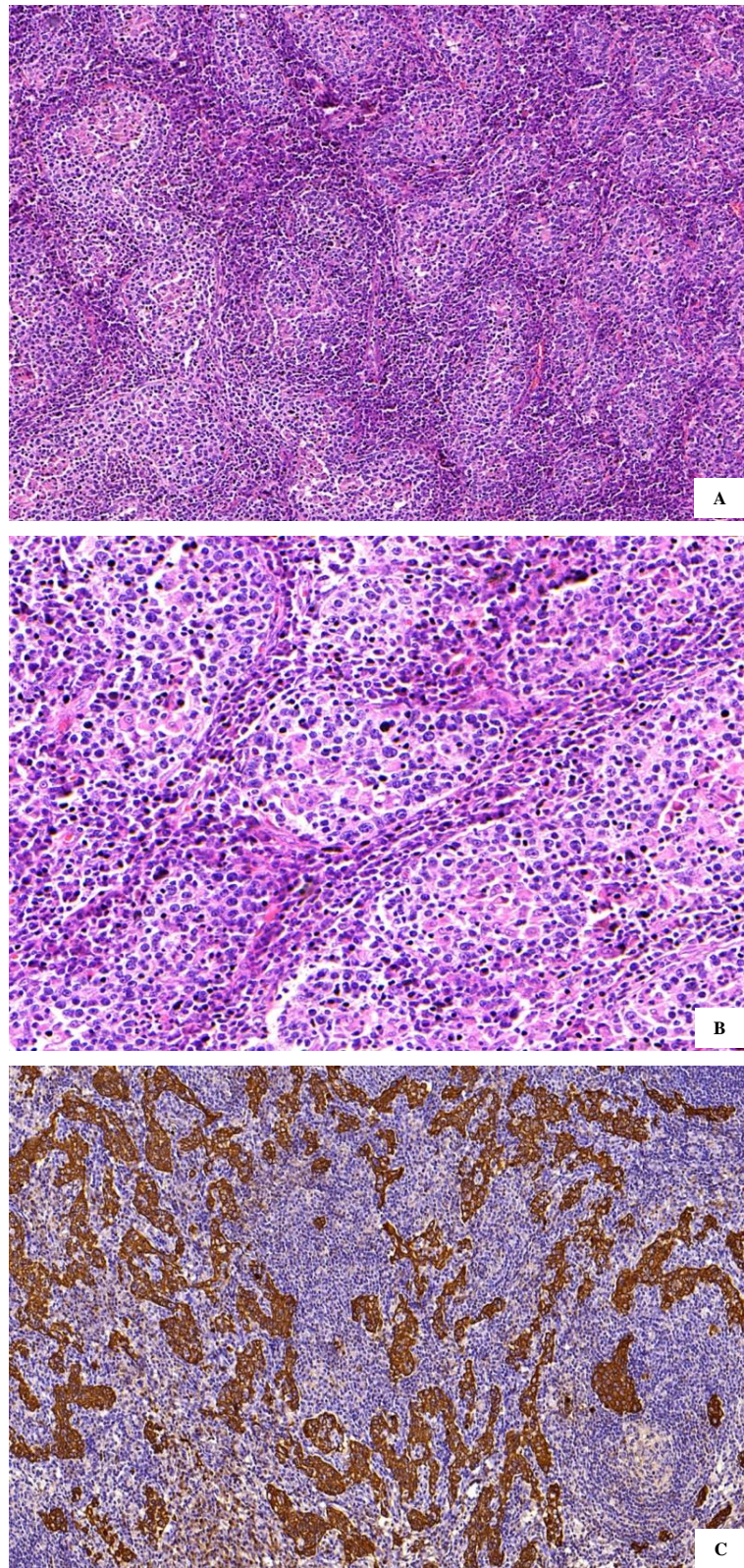
As células imunes que compõe o MT podem ser inatas (macrófagos, neutrófilos, mastócitos, células supressoras mieloides, células dendríticas e células *natural killers*) ou adaptativas (linfócitos T e B). O estroma que envolve o conjunto de células inflamatórias e tumorais é formado por fibroblastos, células endoteliais, perícitos e células mesenquimais. As citocinas e quimiocinas permitem a comunicação entre os diferentes tipos de células<sup>36</sup>.

Vale destacar que não há consenso na literatura médica sobre o termo microambiente tumoral. Certos autores utilizam o termo estroma tumoral para sua definição<sup>36,37</sup>, porém de acordo com Witz *et al.*<sup>38</sup> define-se estroma como tecido conjuntivo que compõe a estrutura de órgãos e as células imunes e seus subprodutos, por desempenharem papéis ativos no desenvolvimento tumoral, não poderiam ser definidos somente como estroma.

O MT possui características singulares como a hipóxia, acidose, baixa concentração de glicose e presença de necrose que em conjunto induzem instabilidade genética e modificam a expressão de perfis genéticos que ocorrem nas células neoplásicas<sup>39-41</sup>. A extensa influência do MT não se limita às células neoplásicas, acometendo também células não tumorais, como as endoteliais e os fibroblastos, resultando em alterações citogenéticas nas mesmas<sup>42,43</sup>.

As mutações celulares que ocasionam a iniciação tumoral acima descrita são estimuladas pelo MT, por meio dos radicais livres de oxigênio e espécies de nitrogênio reativo<sup>44</sup>. Ambos subprodutos levam ao estresse oxidativo e nitrosativo com consequente dano celular e instabilidade genética, que é perpetrada pela inibição dos genes de *mismatch repair*. Esta inibição leva à instabilidade genética, traduzida pela capacidade adquirida da célula em tolerar mutações em seu DNA<sup>45</sup>. Mais ainda, por meio de citocinas como o TNF-alfa, as células inflamatórias promovem o acúmulo de radicais livres também nas células vizinhas à neoplásica, fator característico do MT<sup>45</sup>.

As Figuras 2A e 2B mostram o intenso infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos no MT de um carcinoma gástrico estroma linfoide. A Figura 2C mostra a imunohistoquímica que destaca em marrom as células neoplásicas, evidenciando o grande infiltrado inflamatório adjacente.



**Figura 2 -** Adenocarcinoma gástrico com estroma linfoide, coloração hematoxilina-eosina (HE), demonstrando intenso infiltrado inflamatório que excede o número de células tumorais. (A) aumento de 10x e (B) aumento de 20x; (C) imuno-histoquímica com citoqueratina AE1/AE3 (IHQ CKAE1/3) onde se observa intenso infiltrado linfocitário em meio às células tumorais coradas, aumento de 10x.



### 1.3 Estádio e Biomarcadores Inflamatórios

Estabelecer o prognóstico de pacientes acometidos por neoplasia é um dos pilares que fundamentam a abordagem terapêutica. Para tanto, utiliza-se o estágio clinicopatológico que, tendo por base a experiência com grupos de pacientes previamente avaliados, padroniza a mensuração da extensão da doença e permite estimar a sobrevida individual e comparar tratamentos distintos<sup>46</sup>.

A classificação proposta pela *American Joint Committee on Cancer* (AJCC)<sup>15</sup> foi criada em 1977 e é rotineiramente utilizada para criar uma linguagem comum de compreensão global. Naquela época já era consenso que “estadiar o câncer não é uma ciência exata. Com novas informações sendo disponibilizadas sobre etiologia e métodos diagnósticos e terapêuticos, a classificação e estágio irão mudar”<sup>15</sup>. Como previsto, realizam-se atualizações periódicas nas classificações de estágio. A tendência das novas versões é a compreensão de que a análise prognóstica é complexa, influenciada por inúmeras variáveis diretamente relacionadas à natureza particular do tumor e do indivíduo no qual ele se desenvolve<sup>46</sup>. O estadiamento atual do câncer gástrico é realizado de acordo com a oitava edição da AJCC que avaliou 25.000 pacientes com câncer gástrico tratados em diferentes países com seguimento mínimo de 5 anos<sup>47</sup>.

Um fato relevante e grande motivador da realização do presente estudo é a existência de pacientes com mesmo estágio patológico que apresentam diferentes prognósticos. O seguimento destes pacientes pode revelar extensa sobrevida livre de doença (SLD) em contraste com recidivas precoces em pacientes com mesmo estágio<sup>48</sup>. A estratificação de risco nesses pacientes se faz necessária para individualização do prognóstico, seguimento e tratamento. Neste ponto encontra-se

uma fronteira que deve ser ultrapassada pela incorporação de ferramentas mais acuradas, que permitam melhor avaliação dos pacientes, e neste contexto os biomarcadores se destacam<sup>49</sup>. A questão que se coloca é que os esforços realizados neste contexto são descentralizados e com metodologias distintas dificultando a adaptação ao sistema vigente de estágio, o que torna necessária a unificação de resultados multicêntricos<sup>46</sup>.

Os biomarcadores fazem parte do grupo dos sinais médicos, indicadores objetivos de um estado que independe da percepção do paciente. Os biomarcadores integram um diverso grupo de medidas que refletem a interação entre o sistema biológico e um potencial dano. Fazem parte dos biomarcadores medidas básicas como o pulso e a pressão arterial, exames bioquímicos simples até as mais complexas análises séricas e teciduais<sup>50</sup>. Os biomarcadores inflamatórios refletem o *status* inflamatório sistêmico e dada a relação entre câncer e inflamação, são potenciais indicadores de evolução e desfecho em paciente com neoplasias.

Alguns índices prognósticos baseados em parâmetros inflamatórios já foram propostos e estudados em diversos tipos de tumores primários. Ao se revisar a literatura, identificam-se alguns índices com maior frequência: NLR, PLR, relação monócito-linfócito, *Glasgow Prognostic Index* (GPI), que utiliza medida de proteína C-reativa e albumina e *Prognostic Nutritional Index* (NPI), que utiliza os valores de albumina e linfócitos séricos<sup>51</sup>. Independente de resultados obtidos e relevâncias estatísticas, o ponto de comum acordo entre os estudos é a percepção da necessidade de identificar mais variáveis prognósticas além das rotineiramente utilizadas nos sistemas de estádios vigentes.

#### 1.4 Neutrófilos e Câncer

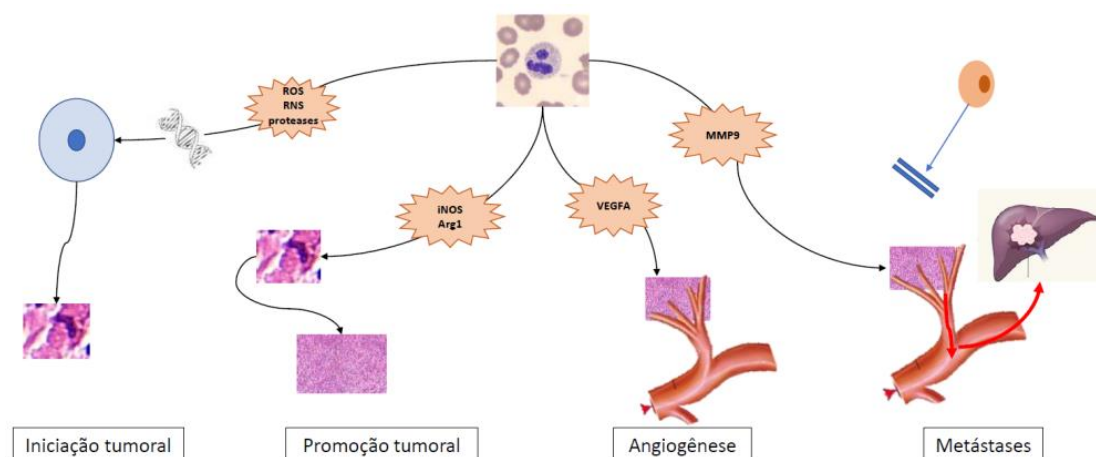
Os granulócitos são células fagocíticas que medem de 12  $\mu\text{m}$  - 15  $\mu\text{m}$  e apresentam núcleo multilobulado. Seu citoplasma pode conter diferentes tipos de grânulos responsáveis pela subdivisão dos granulócitos em três tipos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos.

Os neutrófilos caracterizam-se por reter corantes de pH neutro e por este motivo receberam esta denominação pelo bacteriologista alemão Paul Ehrlich em 1880<sup>52</sup>. Representam 50%-70% do total de leucócitos e são os principais responsáveis pela resposta inflamatória aguda e resposta imune inata. Originam-se na medula óssea e apresentam meia-vida curta de 6-7 horas após serem atraídos para os tecidos inflamados<sup>53</sup>. Podem ser produzidos mais de  $10^{11}$  neutrófilos por dia<sup>54</sup> sendo que somente 1%-2% encontra-se na forma madura circulando na corrente sanguínea em condições homeostáticas<sup>55</sup>. Sua principal função é a fagocitose de microrganismos e células mortas, também atuando pela liberação de grânulos com produtos tóxicos, que danificam microrganismos e o próprio tecido saudável do hospedeiro.

O ponto inicial da interação entre o câncer e neutrófilos é a modificação da fisiologia normal de maturação dos neutrófilos na medula óssea. As células tumorais estimulam a produção de G-CSF e GM-CSF, determinando maior taxa e velocidade de maturação dos precursores mieloides<sup>52</sup>. A formação de um neutrófilo hipersegmentado resulta de uma cadeia de maturação que se inicia com as células tronco hematopoiéticas e passa por todas as etapas de maturação do mieloblasto. Vale ressaltar que estímulos intensos resultam na hematopoese de emergência, aonde órgãos extramedulares como o baço têm estimulada a liberação de células imunes<sup>56</sup>.

Uma vez maduros, a liberação dos neutrófilos para a corrente sanguínea é estimulada pela interleucina-17 e interleucina-23<sup>44</sup>. Já na corrente sanguínea, a própria meia vida dos neutrófilos aumenta de 7 horas para 17 horas, provavelmente em resposta a maior concentração de G-CSF<sup>44</sup>. Esse aumento de duração permite ao neutrófilo mais tempo para sintetizar e liberar seus subprodutos.

As formas nas quais os neutrófilos interagem com a célula tumoral são diversas e complexas. O principal é a compreensão de que ocorre uma atuação em grande parte das etapas da tumorigênese, destacando-se: iniciação tumoral, promoção tumoral, angiogênese e disseminação tumoral. A ação dos neutrófilos se faz na prática pela liberação do conteúdo dos seus grânulos. Cada componente exerce ação específica em cada uma dessas etapas. A Figura 3 traz um resumo da ação dos neutrófilos por meio dos seus subprodutos nas principais etapas da tumorigênese.



**Figura 3 - Mecanismos que demonstram a participação dos neutrófilos e seus subprodutos em diferentes etapas do desenvolvimento tumoral. Os neutrófilos atuam desde fases iniciais como a iniciação e a promoção tumoral até fases mais tardias como a angiogênese e a reconfiguração da matriz extracelular que possibilita a disseminação tumoral. Em todo o processo, a atuação antitumoral dos linfócitos T é inibida pelos neutrófilos [Fonte: Adaptado de Ocana *et al.*<sup>44</sup>]**

Na iniciação tumoral, a liberação dos radicais livres de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) pelos neutrófilos causa dano ao DNA celular e consequente instabilidade genética<sup>57</sup>. A célula tumoral primária inicia seu processo de proliferação para formação do tecido tumoral. Nesta etapa de proliferação tumoral, a ação dos neutrófilos se faz pela elastase neutrofílica e do iNOS<sup>58,59</sup>.

A angiogênese caracteriza-se pela formação de novos vasos sanguíneos e envolve proliferação, migração e diferenciação de células endoteliais<sup>60</sup>. O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é um potente fator angiogênico, armazenado e prontamente liberado pelos neutrófilos após estímulo específico. No microambiente tumoral, a taxa de produção e liberação do VEGF aumenta, com consequente formação de microvascularização imprescindível para a nutrição tumoral<sup>44</sup>.

A matriz extracelular que envolve as células tumorais e inflamatórias sofre um remodelamento por meio da ação da metaloproteinase 9 secretada pelos neutrófilos. Este remodelamento permite maior mobilidade celular pelo microambiente tumoral. As células endoteliais promotoras de angiogênese tem sua ação facilitada por este processo<sup>61</sup>. Da mesma forma, a célula tumoral encontra menor dificuldade em se liberar da lesão principal e alcançar a rede vascular, no intuito de promover a disseminação tumoral<sup>61</sup>.

É importante destacar que todas as etapas citadas no parágrafo acima podem ser antagonizadas pela ação dos linfócitos T que infiltram o microambiente tumoral. Porém, os neutrófilos promovem ação inibitória justamente contra esses linfócitos que seriam os responsáveis pela vigilância imunológica antitumoral. Por meio da liberação de ROS e arginase, os neutrófilos promovem a apoptose dos linfócitos<sup>62,63</sup>.

Algumas etapas acima descritas foram reproduzidas *in vitro* e em modelos animais. Collota *et al.*<sup>64</sup> submetem granulócitos polimorfonucleares a ação de citocinas como TNF, interleucina-1, G-CSF o que resultou na inibição da apoptose destas células e consequente aumento de sua meia-vida.

Já em modelos tumorais em animais, a depleção dos neutrófilos leva a redução do crescimento tumoral<sup>65,66</sup>. Inversamente, a inoculação de granulócitos promove angiogênese e crescimento tumoral<sup>67</sup>.

Os neutrófilos não são as únicas células com potencial pró-tumoral. O microambiente tumoral também é composto pelos *tumoral-associated macrophages* (TAMs), que se originam dos monócitos presentes na corrente sanguínea. Estima-se que mais da metade dos pacientes com câncer gástrico apresente infiltração tumoral pelos TAMs<sup>68</sup>. Os macrófagos atuam de forma pró-tumoral promovendo a angiogênese, o remodelamento tissular e a inibição dos linfócitos T<sup>69</sup>.

## 1.5 Linfócitos e Câncer

Os linfócitos são células que se originam na medula óssea e se dividem em dois tipos de acordo com seu local de maturação: linfócitos T migram para o timo e linfócitos B permanecem na medula óssea. Compõe aproximadamente 10% das células do mielograma<sup>70</sup>. Caracterizam-se pela presença de receptores específicos em sua superfície e possuem ação direcionada contra antígenos, promovendo uma memória imunológica específica mediada por anticorpos ou por células. São as únicas células do sistema imune adaptativo. Após sua formação, migram para órgãos linfoides secundários onde são apresentados aos antígenos específicos pelas células dendríticas, se diferenciam e proliferam, conjunto resumido pelo termo expansão clonal<sup>70</sup>.

A ação dos linfócitos T citotóxicos é o principal mecanismo antitumoral do sistema imune, fato inicialmente descrito em 1975<sup>71</sup>. É importante a distinção entre os diferentes tipos de linfócitos T uma vez que apresentam diferentes funções no microambiente tumoral. Os linfócitos T CD8+ citotóxicos atuam diretamente contra a célula tumoral. Os CD4+ *helper* são divididos em dois tipos, sendo que o T *helper* 1 ativa os linfócitos CD8+ e o *helper* 2 atua na resposta humoral e na ativação dos eosinófilos<sup>72</sup>. A divisão em grupos mais específicos continua, porém foge do escopo do presente estudo.

O princípio-chave da resposta imune contra o câncer é a capacidade dos linfócitos reconhecerem antígenos expressados pelas células tumorais por meio do complexo maior de histocompatibilidade. Esses antígenos produzidos por tumores são gerados por genes mutados em diferentes clones de células tumorais e não são produzidos por células saudáveis, motivo pelo qual são reconhecidos pelo sistema imune<sup>73</sup>. Vale ressaltar que este conceito foi primeiro descrito de forma mais simples por Paul Ehrlich em 1909, quando o autor destacou que células transformadas são constantemente geradas no corpo humano, e que o sistema imune as rastreava e eliminava<sup>74</sup>.

A resposta adaptativa do sistema imune é capaz de reconhecer diversos tipos de antígenos, resultando em eficiente resposta antígeno-específica. Esses princípios sustentam o conceito da “vigilância imunológica” proposto por Macfarlane Burnet em 1953<sup>75</sup>. Este conceito determina que uma das funções fisiológicas do sistema imune é reconhecer e destruir clones de células mutadas antes da sua transformação em tumores, assim como atuar similarmente em tumores já formados. A maior incidência de neoplasia em organismos imunocomprometidos vai ao encontro com essa teoria<sup>76</sup>.

A taxa de apoptose dos linfócitos em pacientes com câncer mostra-se elevada. Saito *et al.*<sup>77</sup> avaliaram amostras sanguíneas de pacientes com tumor de cabeça e pescoço nos tempos 0 e em 24 horas. Por meio da citometria de fluxo, concluíram que os linfócitos T eram as células com maiores taxas de apoptose nos pacientes quando comparados com o grupo controle. Destaca-se que no momento da coleta essa taxa já era maior, o que indica que a neoplasia promoveria a apoptose *in vivo* com consequente linfocitopenia.

Além de apresentar diminuição de seu valor absoluto devido à apoptose, os linfócitos também sofrem com a redução de sua atividade funcional pela interação com os neutrófilos. Em 1985, Petrie *et al.*<sup>78</sup> coincubaram linfócitos T com neutrófilos e observaram que a atividade citolítica linfocitária foi comprometida.

## **1.6 Relação Neutrófilo-Linfócito**

A relação neutrófilo-linfócito é um marcador calculado pela divisão entre os neutrófilos e linfócitos séricos. O conceito envolvido baseia-se na interação entre as células tumorais e as células imunes. Mais precisamente, na ideia de que neutrófilos e linfócitos exercem atividades diametralmente opostas. Conforme exposto nos parágrafos acima, os neutrófilos atuam de forma pró-tumoral, favorecendo o crescimento e desenvolvimento do tumor. Já os linfócitos, inversamente, combatem as células tumorais dentro do conceito de vigilância imunológica. Portanto, estima-se que quanto maior esta relação, maior é a condição sistêmica oferecida ao desenvolvimento tumoral.

O crescente interesse no estudo do NLR é demonstrado pelo aumento no número de artigos publicados na última década. A primeira citação na literatura desta relação ocorreu em 1967 em um artigo sobre as consequências da exposição ao ozônio



em modelos murinos<sup>79</sup>. De 1985 até 1998, os estudos sobre o tema estavam voltados somente para doenças infecciosas<sup>80</sup> até que em 1998 seu vínculo com as neoplasias começou a ser divulgado, sendo o primeiro artigo voltado para pacientes com câncer gástrico<sup>81</sup>. Até 2012, 125 artigos haviam sido publicados com foco principal no NLR. O grande salto se deu a partir de 2013, com mais de 2.400 publicações até meados de 2019, números obtidos por pesquisa na plataforma *Scopus*.

Por se tratar de um marcador inespecífico, diversas especialidades estudam o NLR relacionando-o com a gravidade e o prognóstico de inúmeras patologias. As áreas que concentram o maior número de estudo sobre o tema são a oncologia e cirurgia oncológica, infectologia, cardiologia e neurologia<sup>82-84</sup>.

A função do NLR no contexto das doenças neoplásicas não deve ser considerada de forma isolada. Mais importante é a sua incorporação nos sistemas de estadiamento vigentes com intuito de refinar informações sobre a doença. Um artigo nomeado “Relação neutrófilo-linfócito: outra gota no oceano de biomarcadores no câncer de próstata?”<sup>85</sup> defende essa ideia.

O valor prognóstico do NLR relaciona-se com diferentes tipos de tumores sólidos, além das neoplasias gástricas<sup>86</sup>. Uma importante metanálise avaliou cem estudos totalizando quarenta mil pacientes com neoplasia sólidas. Sua conclusão demonstra que valores elevados de NLR associam-se com pior sobrevida em pacientes com neoplasias sólidas gastrointestinais, ginecológicas, pulmonares, neurológicas, urológicas e de cabeça e pescoço<sup>21</sup>.

Os estudos avaliados nesta metanálise mostram uma heterogeneidade quanto aos grupos de pacientes e características tumorais. Diferentes topografias, estádios patológicos e intenções de tratamento (curativos ou paliativos) se misturam. Deste

fato, conclui-se que a percepção sobre o valor prognóstico do NLR já se concretizou. Porém, sustentado pelo ideal de individualização e estratificação de risco, a avaliação do NLR em subpopulações específicas com tratamentos homogêneos se faz necessária, embasando com maior solidez estatísticas que potencializem a confiança no NLR, a ponto de torná-lo apto para compor o sistema de estadiamento atual.

O foco do NLR no câncer gástrico começou em 1998, quando Hirashima *et al.*<sup>81</sup> demonstraram em análise univariada a relação de um valor alto de NLR com menor sobrevida global (SG). A pequena amostra de 55 pacientes impediu a realização de uma análise multivariada. Os autores destacam na introdução do artigo que “a predição prognóstica de pacientes com câncer pelo exame dos leucócitos no sangue periférico parece um procedimento mais fácil e útil que a análise histopatológica”.

Nove anos após esta publicação, Yamanaka *et al.*<sup>87</sup> confirmaram por meio da análise multivariada que valores elevados de NLR se relacionam com pior prognóstico. Este artigo ainda destaca o baixo custo e ampla disponibilidade do hemograma necessário para cálculo do NLR quando comparado a outros biomarcadores. Um dado interessante destacado por Wang *et al.*<sup>88</sup> ao avaliarem uma população com câncer gástrico e de transição esofagogástrica é que para cada um ponto de elevação do NLR, há um aumento de 10% no risco de óbito relacionado ao câncer.

A avaliação do NLR em pacientes com neoplasia gástrica submetidos ao tratamento cirúrgico potencialmente curativo foi realizada em alguns estudos<sup>89,90</sup>. Da mesma forma, o NLR mostra-se um marcador eficaz na avaliação prognóstica e seus valores elevados indicam menor sobrevida.

Em suma, o cenário atual da abordagem do câncer mostra forte tendência a individualização do paciente, a fim de se refinar seu estágio, tratamento e predição prognóstica. A inflamação apresenta íntima relação nesta dinâmica e um de seus marcadores sistêmicos é o NLR. Maior volume de dados e análises sobre o NLR são necessárias em populações oncológicas específicas, com características tumorais semelhantes e submetidas à mesmo tipo de tratamento. Neste contexto, este estudo tem por intuito preencher esse espaço com foco em pacientes com tumores gástricos não metastáticos submetidos a tratamento cirúrgico potencialmente curativo.

## **2 OBJETIVOS**

- a) Avaliar a importância prognóstica da relação neutrófilo-linfócito em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa.
- b) Verificar a associação entre a relação neutrófilo-linfócito com características clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas dos pacientes.

## **3 MÉTODOS**

### **3.1 População do Estudo**

Incluíram-se pacientes submetidos à gastrectomia com intuito curativo por adenocarcinoma gástrico operados entre os anos de 2009 e 2016 no Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICESP-HCFMUSP). Os casos foram selecionados com base nos critérios abaixo relacionados.

#### **3.1.1 Critérios de inclusão**

- a) diagnóstico histológico de adenocarcinoma gástrico;
- b) ausência de doença metastática pré e/ou intraoperatória;
- c) realização de gastrectomia com linfadenectomia com intuito curativo;
- d) hemograma completo disponível do período de até 100 dias antes da cirurgia.

### **3.1.2 Critérios de exclusão**

- a) gastrectomia realizada em situação de emergência;
- b) pacientes submetidos à neoadjuvância;
- c) margens cirúrgicas comprometidas microscópica ou macroscopicamente;
- d) vigência de infecção, uso de antibióticos, corticoides ou imunomoduladores no período pré-operatório;
- e) pacientes que apresentaram óbito intra-hospitalar pós-operatório ou nos primeiros 30 dias após a cirurgia.

Os procedimentos foram realizados por cirurgiões especializados no tratamento cirúrgico do câncer gástrico. A técnica cirúrgica, extensão de ressecção e cadeias linfonodais dissecadas seguiram as recomendações da JGCA<sup>91</sup> e foram definidas em reunião multidisciplinar pré-operatória e julgamento intraoperatório do cirurgião responsável pelo caso.

### **3.2 Desenho do Estudo**

Trata-se de um estudo observacional, retrospectivo e unicêntrico, com base em dados clínicos, laboratoriais e patológicos de um banco de dados coletado prospectivamente.



### **3.3 Considerações Éticas**

A aprovação da presente pesquisa foi realizada pelo Comitê de ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICESP-FMUSP) sob o número de registro NP 1159/17, em 12 de julho de 2017 (Anexo A). A aprovação na Plataforma Brasil, que engloba todas as pesquisas científicas envolvendo seres humanos do país, foi obtida em 20/09/2017, sob o CAAE 76483517.8.0000.0065 (Anexo B).

Coletaram-se os dados clínicos por meio de registros em prontuário eletrônico armazenados em banco de dados médicos, conforme projeto de pesquisa intitulado “Banco de dado de pacientes do Serviço de Cirurgia Oncológica do Aparelho Digestivo do ICESP-HCFMUSP”, com aprovação pelo Comitê de ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICESP-FMUSP) sob o número de registro NP 993/2016, em 5 de agosto de 2016.

### **3.4 Coleta de Dados**

Os dados foram coletados e inseridos na base por médicos assistentes do grupo de estômago do ICESP e o seguimento dos pacientes é atualizado anualmente.

### 3.4.1 Variáveis clinicopatológicas

Os pacientes foram avaliados no pré-operatório de forma padronizada que inclui exames laboratoriais, endoscopia digestiva alta com biópsia, tomografia computadorizada de tórax, abdome e pelve.

Os dados clínicos, laboratoriais e patológicos coletados no período perioperatório foram os abaixo listados:

- a) idade: em anos, da data de nascimento à data da cirurgia;
- b) registro hospitalar (RGHC);
- c) sexo: masculino ou feminino;
- d) índice de massa corpórea: calculado pela divisão entre o peso em quilogramas pela altura em centímetros elevada ao quadrado. Valor dado em  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;
- e) comorbidades: foi utilizado o índice de comorbidades de Charlson<sup>92</sup>. A partir dos 40 anos, foi acrescentado 1 ponto para cada década de vida. Valores de CCI  $\geq$  a 5 foram considerados como altos. Presença de neoplasia não foi considerada para pontuação;
- f) classificação de ASA: score utilizado pela anestesiologia seguindo os seguintes critérios: I- paciente saudável II- doença sistêmica moderada, sem limitação de funções vitais III- doença sistêmica severa, com funções vitais comprometidas IV- doença sistêmica severa com ameaça à vida<sup>93</sup>;
- g) hemoglobina: número absoluto determinado por g/dL;
- h) neutrófilos: número absoluto determinado por  $\text{mm}^3$ ;
- i) linfócitos: número absoluto determinado por  $\text{mm}^3$ ;

- j) plaquetas: número absoluto determinado por  $\text{mm}^3$ ;
- k) albumina: número absoluto determinado por g/dL;
- l) localização do tumor: classificado em proximal (cárdia e fundo), médio (corpo), distal (antro e incisura angular) ou total (acometimento difuso);
- m) extensão da ressecção: classificada como subtotal ou total;
- n) extensão da linfadenectomia: definido em D1 (linfonodos perigástricos) ou D2 (D1 + linfonodos nos trajetos grandes vasos perigástricos);
- o) tipo histológico de *Lauren*: determinado como intestinal, difuso, misto ou indeterminado;
- p) grau de diferenciação histológica: classificado como bem diferenciado, moderadamente diferenciado ou pouco diferenciado;
- q) grau de penetração tumoral: determinado em pT1 (pT1a: invasão mucosa pT1b: invasão submucosa), pT2 (invasão muscular própria), pT3 (invasão subserosa) ou pT4 (pT4a: invasão serosa pT4b: invasão órgãos adjacentes. Utilizado de acordo com os critérios de estadiamento 8º edição (UICC 2016);
- r) número de linfonodos dissecados: número total de linfonodos submetidos à análise histológica, independente da cadeia linfonodal;
- s) presença de metástase linfonodal: Presente ou ausente. Definição categórica, independente do número de linfonodos acometidos;
- t) estágio pTNM: definidos em estágio I, II, III ou IV de acordo com os critérios de estágio oitava edição (UICC 2016).

### **3.5 Relação Neutrófilo-Linfócito**

O cálculo da relação neutrófilo-linfócito foi realizado pela divisão dos neutrófilos pelos linfócitos séricos obtidos do mesmo hemograma. O hemograma considerado foi após o diagnóstico e antes da cirurgia. Foram incluídas duas casas decimais no valor do NLR.

As análises laboratoriais foram realizadas no ICESP, com utilização do analisador hematológico XT-2000i e XE-2100D da companhia Sysmex® (Kobe, Japão).

Para fins de divisão da população em dois grupos de acordo com o NLR, foi calculado um valor de corte pela curva de Lausen. Os grupos foram divididos da seguinte forma:

1. Grupo NLR alto: pacientes que apresentaram valor do NLR maior ou igual ao valor de corte.
2. Grupo NLR baixo: pacientes que apresentaram valor do NLR menor que o valor de corte.

### **3.6 Seguimento**

O seguimento ambulatorial foi realizado de forma trimestral no primeiro ano e semestral nos anos seguintes à cirurgia. Considerou-se como perda de seguimento a ausência em consulta por mais de 12 meses consecutivos.

Os dados coletados no seguimento foram os seguintes:

- a) ocorrência de recidiva: confirmada através de exame de imagem e/ou histopatológico;
- b) data da recidiva;
- c) ocorrência de óbito;
- d) data do óbito.

### 3.7 Técnica Operatória

A técnica anestésica realizada consistiu em sua maioria de bloqueio peridural associado a anestesia geral, com necessidades individuais decididas pela equipe de anestesia. Com o paciente posicionado em decúbito dorsal, uma incisão mediana xifo-umbilical é realizada, a parede abdominal é aberta por planos e a cavidade é inspecionada para identificação de eventuais lesões metastáticas ou carcinomatosas. Procede-se com a coleta da citologia oncótica.

Na ausência de lesões sugestivas de acometimento secundário, procede-se com a gastrectomia. A extensão da linfadenectomia e o tipo de ressecção (gastrectomia subtotal ou total) são decididos no intraoperatório pelo médico assistente responsável.

Inicia-se o procedimento pelo descolamento intercolo-epiploico por meio do plano avascular entre o mesocolon e o grande omento, com atenção à preservação dos vasos cólicos. Atinge-se o platô pancreático e resseca-se a cápsula pancreática seletivamente. A artéria hepática comum é identificada e segue-se para dissecação da veia e artéria gastroepiplóica direitas com linfadenectomia da cadeia 6. A porção supraduodenal é isolada no local a ser grampeado e o duodeno é seccionado com grampeador linear. Reforço da linha de grampeamento duodenal é realizado com sutura contínua de prolene 3-0. Na sequência, a artéria gástrica direita é isolada e ligada em sua origem com fio de algodão 2-0. A linfadenectomia estende-se ao longo da cadeia 8a e 12a com posterior ressecção da pars flácida em direção ao pilar diafragmático direito, com linfadenectomia da cadeia 1. A veia e artéria gástrica esquerda são isoladas e ligadas em sua origem, com linfadenectomia das cadeias 7 e 9.

Em se tratando de gastrectomia subtotal, o estômago é seccionado com margens adequadas com grampeador linear e a peça é retirada. No caso da gastrectomia total, liberam-se os vasos gástricos curtos e gastroepiplóicos esquerdos, isola-se o esôfago abdominal e o mesmo é seccionado, com congelação da margem se necessário.

Após a realização das anastomoses, a cavidade é drenada com dreno siliconado vigiando o coto duodenal e a anastomose esôfago-jejunal nos casos de gastrectomia total.

### **3.8 Análise Estatística**

O estabelecimento do valor de corte do NLR foi realizado pelo método de Lausen. A comparação de características clínico-patológicas foi realizada pelo teste de chi-quadrado para variáveis categóricas e *t* de *student* para variáveis contínuas. As sobrevidas global e livre de doença foram avaliadas pelo método de Kaplan-Meier e a comparação entre as curvas foi obtida pelo teste de *log-rank*.

Os fatores de risco independentes para sobrevida global e livre de doença foram determinados pela análise multivariada de Cox. Somente variáveis que foram significativas na análise univariada foram incluídas como covariáveis na análise multivariada. O valor de significância aplicado foi de 5%, sempre considerando a hipótese alternativa bicaudal.

A sobrevida livre de doença e global foram calculadas em meses da data da cirurgia até a recidiva ou o óbito, respectivamente. Os pacientes vivos foram censurados no dia do último contato.

O *software* R versão 3.4.1 foi utilizado para realização de todas as análises.

## **4 RESULTADOS**

#### 4.1 Descrição da Amostra

Entre março de 2009 e fevereiro de 2016, 818 pacientes foram submetidos à procedimentos cirúrgicos por câncer gástrico (todos os tipos) no Instituto do Câncer da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A Figura 4 ilustra a seleção dos casos.

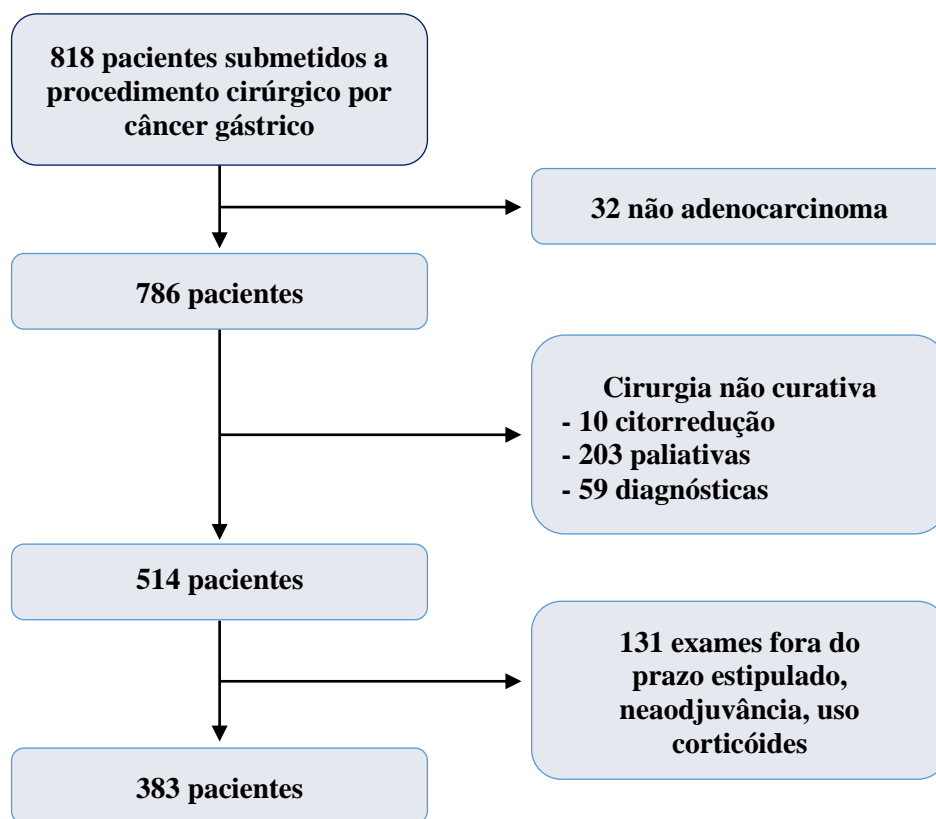


Figura 4 - Fluxograma de seleção dos pacientes até a obtenção dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo



Após a seleção, 383 pacientes foram incluídos no estudo. As características clínicas e cirúrgicas são descritas na Tabela 1. A média de idade foi 62,9 anos, predominando o sexo masculino (60,3%). O procedimento mais realizado foi a gastrectomia subtotal (64%) com linfadenectomia D2 (90%).

**Tabela 1 - Características clínicas e cirúrgicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa**

Variáveis	n = 383	%
Idade (anos)		
Média ± DP	62,9 ± 12,48	-
Min-max	25 - 94	-
Sexo		
Feminino	152	39,6
Masculino	231	60,4
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*		
Média ± DP	24,2 ± 4,7	-
Min-max	13,9 - 46,5	-
Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> )		
Média ± DP	4294,8 ± 2283,2	-
Min-max	550 - 19100	-
Linfócitos (/mm <sup>3</sup> )		
Média ± DP	1954,7 ± 870,6	-
Min-max	260 - 11370	-
Plaquetas (/mm <sup>3</sup> )		
Média ± DP	272x10 <sup>3</sup> ± 171x10 <sup>3</sup>	-
Min-max	32x10 <sup>3</sup> - 291x10 <sup>3</sup>	-
Albumina		
Média ± DP	3,99 ± 0,58	-
Min-max	1,4 - 5	-
Relação neutrófilo-linfócito		
Média ± DP	2,53 ± 1,86	-
Min-max	0,36 - 16,98	-
Extensão da ressecção		
Subtotal	245	64
Total	138	36
Extensão da linfadenectomia		
D1	39	10,1
D2	344	89,8
Localização do tumor		
Proximal	43	11,2
Média	94	24,5
Distal	236	61,6
Todo órgão	10	2,6

\* n = 359.

As características patológicas são descritas na Tabela 2. O tipo de tumor mais comum foi o avançado (73,4%), distal (61,6%), do tipo intestinal (51,1%) com acometimento linfonodal (55,3%).

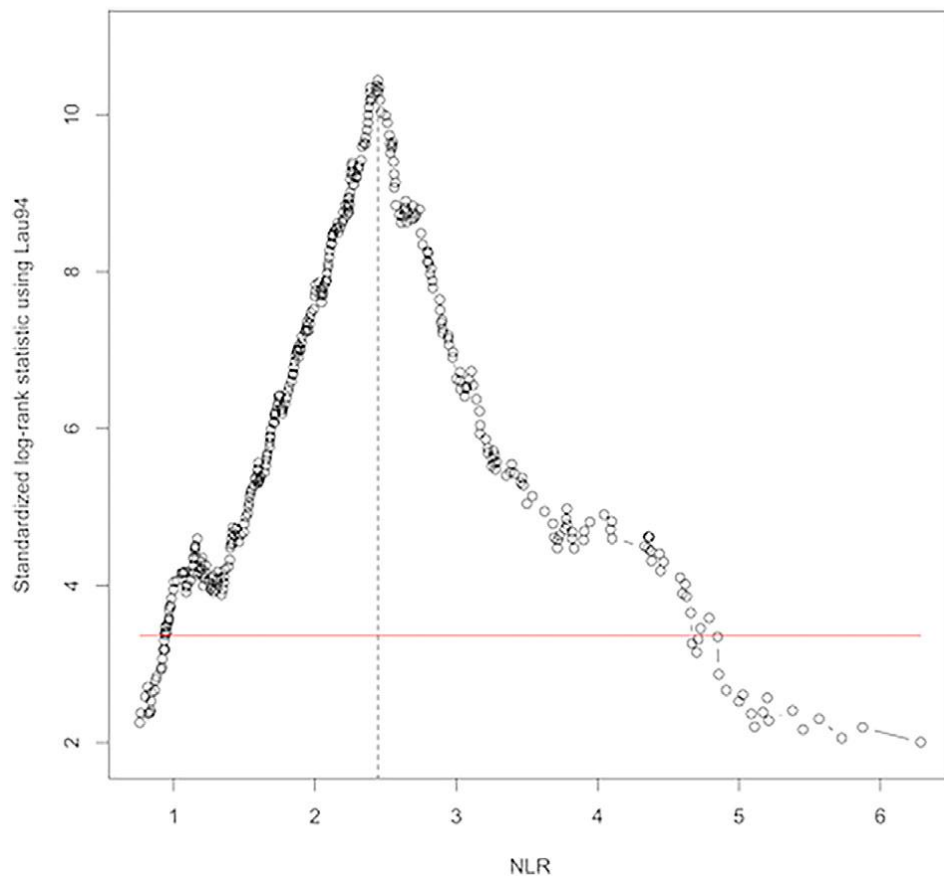
**Tabela 2 - Características patológicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa**

Variáveis	n = 383	%
Tipo histológico		
Intestinal	196	51,1
Difuso	132	34,4
Misto	37	9,6
Indeterminado	18	4,6
Grau de diferenciação histológica		
G1/G2	191	49,9
G3	192	50,1
Invasão tumoral (pT)		
pT1	106	27,6
pT2	52	13,5
pT3	123	32,1
pT4	102	26,6
Metástase linfonodal		
N-	171	44,6
N+	212	55,3
Número de linfonodos dissecados		
Média ± DP	39,3 ± 17,11	-
Mín-max	16-115	-
Estádio pTNM (8ª edição)		
I	127	33,1
II	87	22,7
III	169	44,1

## 4.2 Determinação do Ponto de Corte

A obtenção do ponto de corte no valor do NLR foi realizada pela curva de Lausen, que estabelece um ponto de corte minimizando o p-valor da diferença de duas curvas de sobrevida, ou seja, usa informação de duas variáveis (recidiva e óbito) (Gráfico 1).

**Gráfico 1 - Curva de Lausen para cálculo do valor de corte de 2,44 da relação neutrófilo-linfócito na população de 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico**



O valor de corte obtido foi de 2,44. Com isso, os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com o valor do NLR. Pacientes com  $NLR < 2,44$  e  $NLR \geq 2,44$  foram denominados “NLR baixo” e “NLR alto”, respectivamente.

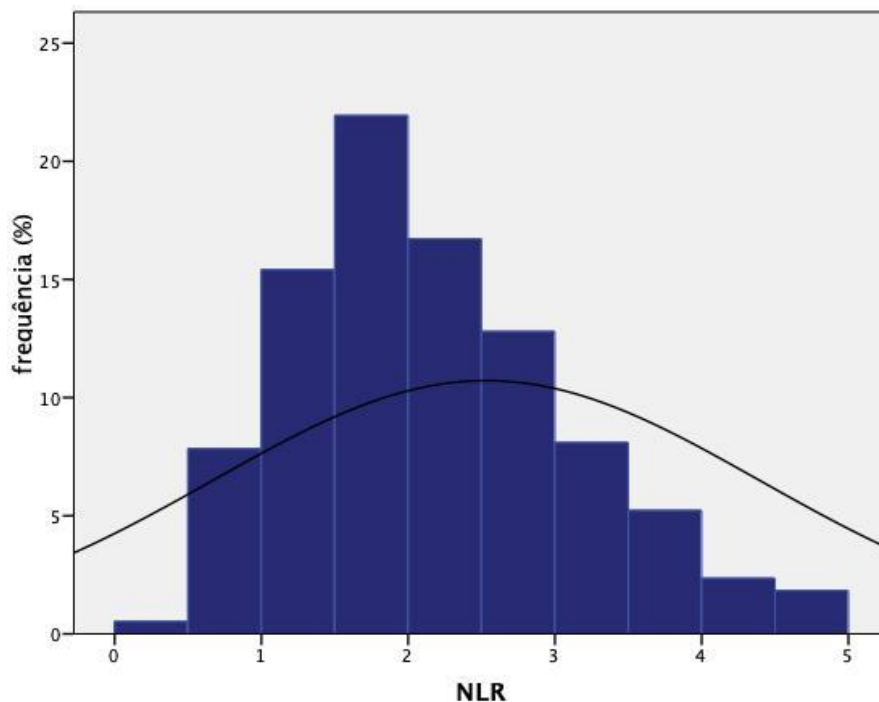
### 4.3 Achados Histopatológicos

O grau de invasão tumoral na parede gástrica mais frequente foi o pT3 (32,1%). A média de linfonodos dissecados por peça foi de 39,7 (mínimo 16 - máximo 115). O acometimento linfonodal ocorreu em 212 casos (55,3%) e a média de linfonodos acometidos neste grupo foi de 8,5 (1-53).

### 4.4 Relação Neutrófilo-Linfócito

Considerando-se o valor de corte estabelecido de 2,44, 236 (61,6%) pacientes apresentaram valor menor ao corte e 147 (38,3%) apresentaram valor maior ou igual ao mesmo. O histograma de distribuição dos valores de NLR é demonstrado no Gráfico 2.

**Gráfico 2 - Histograma de distribuição dos valores de NLR nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativo**



O NLR apresentou mediana de 2,12 (média de 2,53 - mínimo 0,37 máximo 17). Os valores médios dos neutrófilos e linfócitos foram  $4294,9/\text{mm}^3$  (550-19100) e  $1954,7/\text{mm}^3$  (260-11370), respectivamente (Tabela 1).

A distribuição dos valores de NLR de acordo com idade, sexo, IMC, plaquetas, grau de invasão tumoral, acometimento linfonodal, estágio, recidiva e óbito são demonstrados na Tabela 3.

**Tabela 3 - Valores de NLR de acordo com características clínicas, laboratoriais e patológicas além de recidiva e óbito nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa**

	<i>n</i>	Média	Mín	Máx
T1*	113	2,24	0,5	9,3
T2*	47	2,36	0,67	10,67
T3*	120	2,39	0,36	8,05
T4*	103	3,10	0,75	16,98
N-	169	2,38	0,5	10,67
N+	214	2,64	0,36	16,98
EI*	132	2,33	0,5	10,67
EII*	81	2,50	0,67	8,05
EIII*	170	2,75	0,36	16,98
Recidiva	91	2,65	0,36	16,98
Sem recidiva	292	2,49	0,5	15,22
Óbito	112	2,76	0,36	16,98
Sem óbito	271	2,44	0,5	15,22
≤ 65 anos	207	2,46	0,36	13,64
> 65 anos	176	2,61	0,41	16,98
Plaquetas ≤ $350 \times 10^3$ **	316	2,42	0,36	16,98
Plaquetas > $350 \times 10^3$ **	67	3,05	0,74	13,64
Feminino	152	2,14	0,5	9,3
Masculino	231	2,79	0,36	16,98
IMC ≤ 24,2***	177	2,75	0,41	16,98
IMC > 24,2	182	2,32	0,55	13,64

\*critérios de acordo com 8ª edição AJCC; \*\* por milímetro cúbico; \*\*\* mediana de IMC dos 359 casos com valores de IMC disponíveis.

Mín: valor mínimo de NLR; Max: valor máximo de NLR; T1: tumor invade mucosa e submucosa; T2: tumor invade muscular própria; T3: tumor invade subserosa; T4: tumor invade serosa / órgãos adjacentes; EI: estágio I; EII: estágio II; EIII: estágio III; N-: ausência de acometimento linfonodal; N+: presença de acometimento linfonodal.

#### 4.5 Relação dos Valores de NLR com Características Clinicopatológicas

Conforme o valor de corte estabelecido, pacientes foram divididos em grupos de alto e baixo NLR. Os dados clinicopatológico são apresentados na Tabela 4. Idade avançada ( $p = 0,038$ ), sexo masculino ( $p = < 0,001$ ), plaquetose ( $p = 0,015$ ) e pT mais avançado ( $p = 0,027$ ) se associaram com NLR elevado.

**Tabela 4 - Relação dos grupos NLR baixo (n = 236) e alto (n = 147) com características clinicopatológicas dos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa**

Variáveis	NLR baixo	NLR alto	p
	n = 236 (%)	n = 147 (%)	
Idade (anos)**			<b>0,038</b>
Média (± DP)	61,9(12,2)	64,6 (12,8)	
Sexo*			<b>&lt; 0,001</b>
Masculino	125 (53)	106 (72,1)	
Feminino	111 (47)	41 (27,9)	
Albumina (g/dL)**			0,821
Média (± DP)	4,0 (0,5)	4,0 (0,6)	
Plaquetas (x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )**			<b>0,015</b>
Média (± DP)	252 (88,6)	305 (25,3)	
Tipo de Gastrectomia*			0,377
Subtotal	155 (65,7)	90 (61,2)	
Total	81 (34,3)	57 (38,8)	
pT status*			<b>0,027</b>
pT1/T2	109 (46,2)	51 (34,7)	
pT3/T4	127 (53,8)	96 (65,3)	
Linfonodos dissecados**			0,121
Média (± DP)	40,2 (18,3)	37,3 (16)	
pN status*			0,234
Negativo	111 (47)	60 (40,8)	
Positivo	125 (53)	87 (59,2)	
Estádio TNM*			0,224
I-II	137 (58,1)	76 (51,7)	
III	99 (41,9)	71 (48,3)	

\* teste de chi-quadrado; \*\* teste *t de student*.

A relação das médias de NLR com subgrupos de pacientes agrupados de acordo com seu índice de massa corpórea é demonstrada na Tabela 5. Os valores de NLR diminuem com o aumento do IMC.

**Tabela 5 - Relação do NLR com o índice de massa corpórea**

IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	NLR (média)	N
13,9-20	2,79	63
20,1-25	2,73	146
25,1-30	2,32	115
30,1-35	2,25	24
> 35	1,8	11

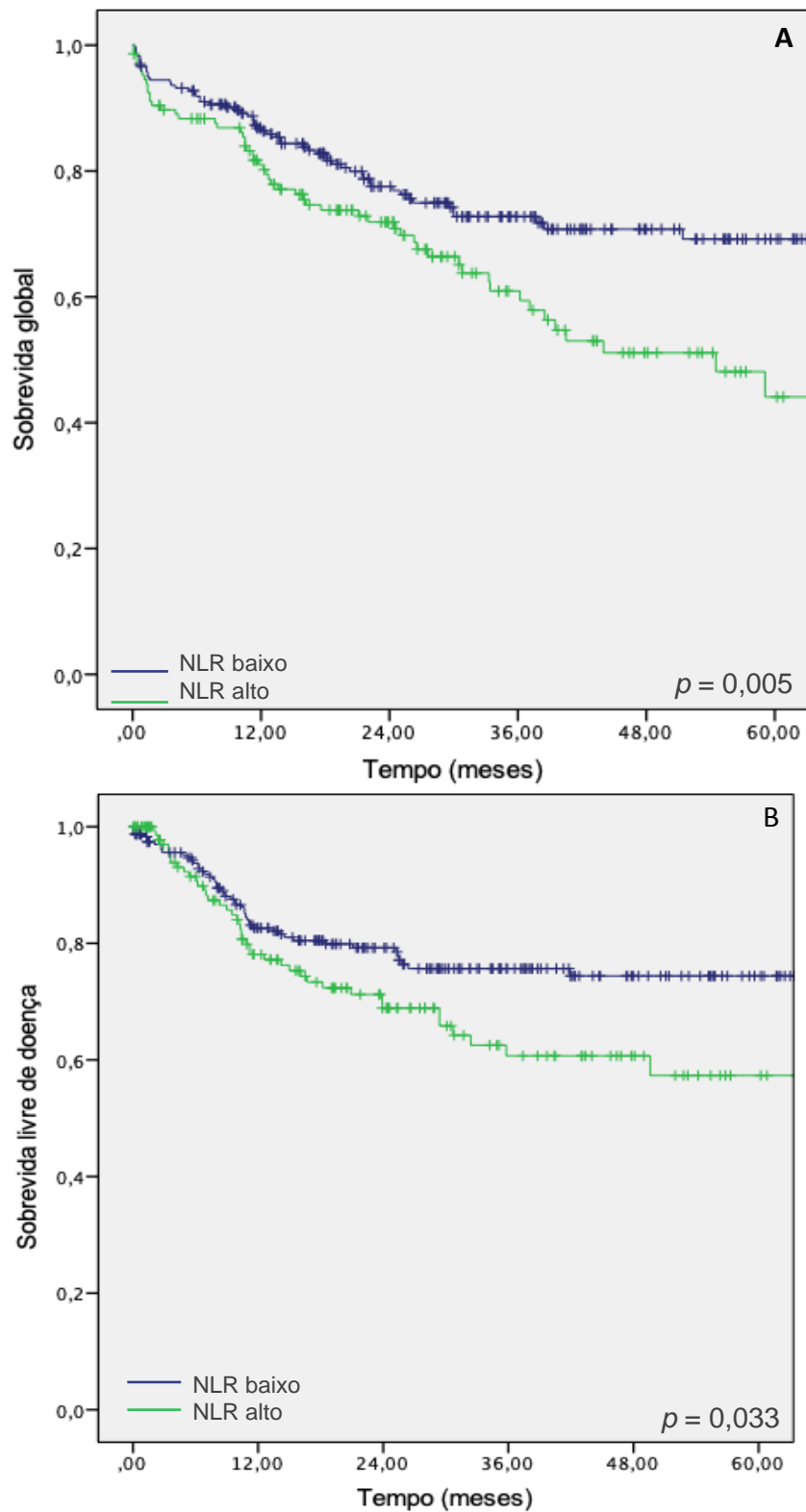
\* n = 359

#### 4.6 Seguimento

Em um seguimento médio de 28,5 meses (mediana 24,3 meses 1-90 meses), um total de 91 pacientes apresentou recidiva da doença e 112 morreram. De acordo com o valor de corte do NLR, a sobrevida livre de doença e a sobrevida global foi significativamente pior no grupo de pacientes NLR alto quando comparados com o NLR baixo ( $p = 0,047$  e  $p = 0,045$ , respectivamente) (Gráfico 3).

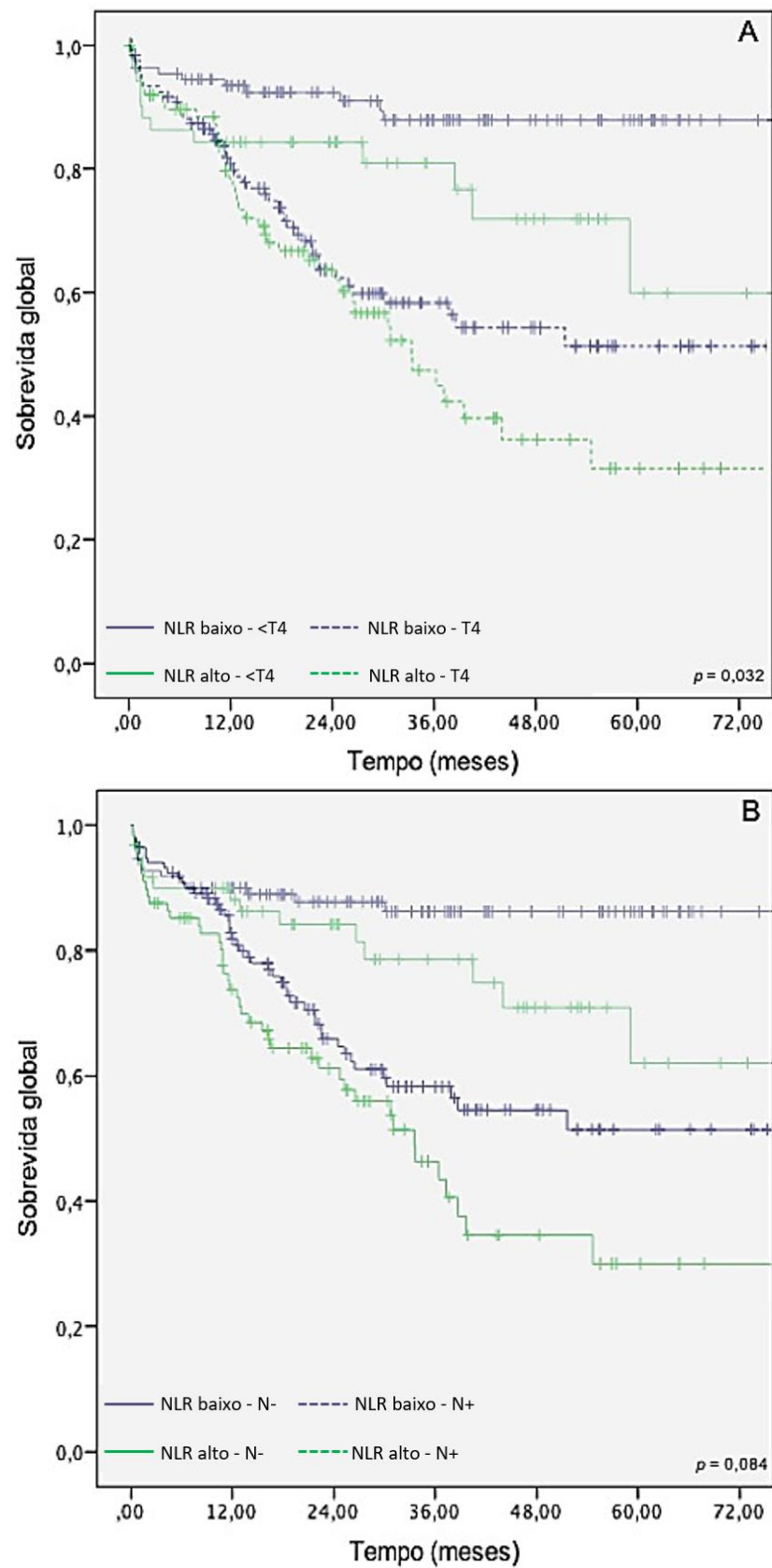
A estratificação de risco de acordo com o NLR foi realizada em tumores com mesma profundidade (T4 e < T4), mesmo estágio pTNM (III e < III) e mesmo comprometimento linfonodal (N+ e N-). A sobrevida global foi significativamente menor quando o NLR estava alto no grupo de mesma profundidade do tumor ( $p = 0,032$ ) e mesmo estágio ( $p = 0,020$ ), mas não no mesmo status linfonodal. (Gráfico 4).

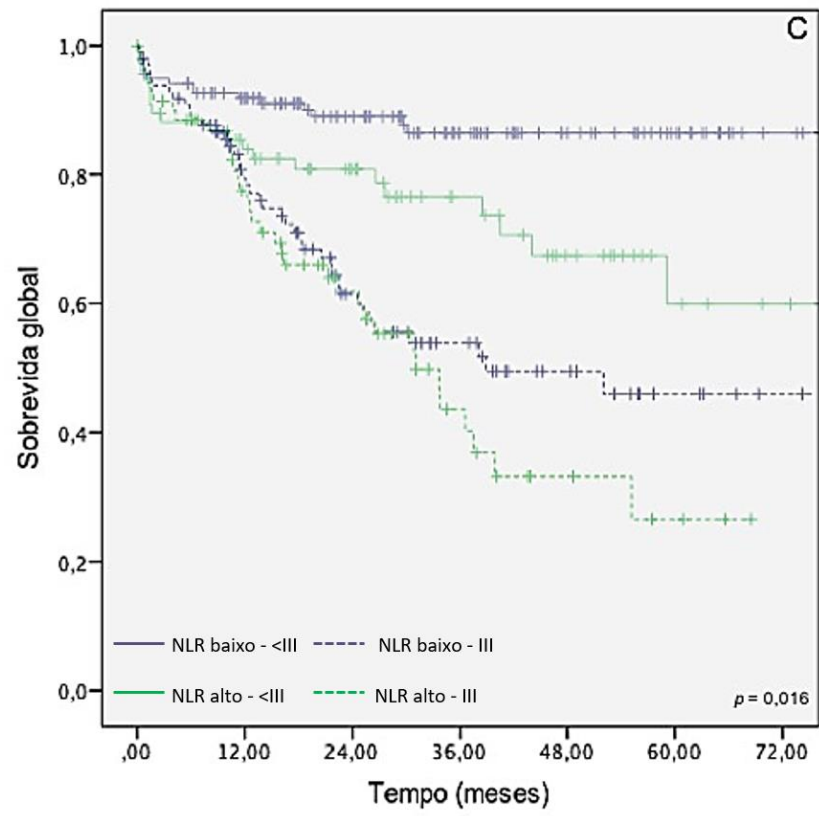
**Gráfico 3 - Curva de Kaplan-Meier demonstrando sobrevida global (A) e livre de doença (B) nos 383 pacientes agrupados de acordo com a relação neutrófilo-linfócito - NLR baixo ( $< 2,44$ ) e NLR alto ( $\geq 2,44$ )**





**Gráfico 4 - Curva de Kaplan-Meier de acordo com pT (A), pN (B) e pTNM (C) estratificadas pelo NLR - NLR baixo (< 2,44) e NLR alto (≥ 2,44)**





#### 4.7 Análise de Fatores Prognósticos

A Tabela 6 mostra os fatores independentes de prognóstico para SLD e SG identificados na análise multivariada. Esta análise foi realizada nos fatores identificados como significativos na análise univariada. Fatores prognósticos associados com pior SLD foram os baixos níveis de albumina, a gastrectomia total, tumores mais profundos e acometimento linfonodal. Em relação à SG, a análise revelou que a baixa albumina, o NLR alto, os tumores mais profundos e o acometimento linfonodal estão associados a pior sobrevida.

**Tabela 6 - Análise univariada e multivariada para sobrevida livre de doença e sobrevida global nos 383 pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia potencialmente curativa**

Sobrevida livre de doença Variáveis	Univariada			Multivariada		
	HR	IC95%	<i>p</i>	HR	IC95%	<i>p</i>
Idade < 65 vs. ≥ 65 anos	0,82	0,54 - 1,24	0,347	-	-	-
Feminino vs. masculino	1,29	0,84 - 1,98	0,251	-	-	-
Albumina*	0,65	0,48 - 0,88	<b>0,006</b>	0,58	0,41 - 0,81	<b>0,002</b>
Plaquetas*	1,00	0,99-1,00	0,804	-	-	-
NLR baixo vs. NLR alto	1,56	1,03-2,35	<b>0,034</b>	1,42	0,91 - 2,21	0,122
Gastrectomia subtotal vs. total	2,13	1,41 - 3,21	<b>&lt; 0,001</b>	1,75	1,23 - 2,71	<b>0,013</b>
Intestinal vs. difuso/misto	1,61	1,06 - 2,45	<b>0,024</b>	1,35	0,86 - 2,11	0,186
pT1/T2 vs. pT3/T4	13,4	5,87-30,77	<b>&lt; 0,001</b>	5,57	2,12 - 14,68	<b>0,001</b>
pN0 vs. pN1/2/3	7,59	4,04-14,26	<b>&lt; 0,001</b>	4,64	2,09 - 10,29	<b>&lt; 0,001</b>
Sobrevida Global Variáveis	Univariada			Multivariada		
	HR	IC95%	<i>p</i>	HR	IC95%	<i>p</i>
Idade < 65 vs. ≥ 65 anos	1,48	1,02 - 2,15	<b>0,037</b>	1,42	0,95 - 2,11	0,088
Feminino vs. masculino	1,29	0,87 - 1,89	0,200	-	-	-
Albumina*	0,73	0,55 - 0,98	<b>0,038</b>	0,69	0,50 - 0,94	<b>0,019</b>
Plaquetas*	0,79	0,99 - 1,00	0,788	-	-	-
NLR baixo vs. NLR alto	1,68	1,16 - 2,43	<b>0,006</b>	1,50	1,01 - 2,23	<b>0,048</b>
Gastrectomia subtotal vs. total	1,64	1,13 - 2,38	<b>0,009</b>	1,38	0,93 - 2,10	0,107
Intestinal vs. difuso/misto	1,25	0,86 - 1,82	0,233	-	-	-
pT1/T2 vs. pT3/T4	3,37	2,13 - 5,33	<b>&lt; 0,001</b>	2,31	1,27- 4,21	<b>0,006</b>
pN0 vs. pN1/2/3	2,91	1,90 - 4,47	<b>&lt; 0,001</b>	2,18	1,24 - 3,82	<b>0,007</b>

\* avaliados como variável contínua.

## **5 DISCUSSÃO**

A relação neutrófilo-linfócito mostrou-se um marcador inflamatório prognóstico e valores elevados no período pré-operatório indicam menor sobrevida global após a gastrectomia com intuito curativo. Este resultado corrobora com trabalhos que concernem tumores gástricos e as neoplasias sólidas mais frequentes<sup>21</sup>. O principal potencial deste marcador é a capacidade de acrescentar informações ao sistema vigente de estágio, possibilitando a estratificação de risco em pacientes com mesma extensão da doença. Vale ressaltar que o NLR visa acrescentar informações, sem a presunção de substituir outros parâmetros rotineiramente empregados.

Nas últimas décadas, a importância atribuída à inflamação na tumorigênese, progressão tumoral e avaliação prognóstica aumentou. Vale lembrar que já no século XIX Rudolph Virchow, pioneiro nos estudos da patologia, sugeriu a relação entre inflamação e câncer<sup>45</sup>. Várias linhas de pesquisa identificaram marcadores e índices inflamatórios implicados no prognóstico de pacientes com câncer<sup>94</sup>. Parte deles utiliza dados laboratoriais solicitados na maioria dos pré-operatórios. A relação neutrófilo-linfócito e plaqueta-linfócito necessitam apenas de um hemograma pré-operatório para serem calculadas. Outros índices mais rebuscados, como o *Glasgow-Prognostic Index*, utilizam as medidas pré-operatórias de albumina e proteína C-reativa<sup>95</sup>.

O presente estudo dedicou-se a avaliação do NLR em contrapartida ao GPI pela disponibilidade do valor da PCR antes da cirurgia. Este não é um exame rotineiramente solicitado nos pré-operatórios, ao contrário do hemograma, presente

na totalidade dos casos. Acreditou-se, portanto, que para a reprodutibilidade dos métodos utilizados, o exame mais comumente utilizado deveria ser o foco. Interessante citar que outros autores também citam a disponibilidade da PCR no pré-operatório como limitante para utilização do GPI<sup>96</sup>.

A comparação entre os diferentes tipos de marcadores inflamatórios prognósticos como o GPI, NLR, PLR e o *Onodera Prognostic Nutritional Index* mostra que todos eles são parâmetros prognósticos independentes para avaliação de sobrevida<sup>97</sup>. Proctor *et al.*<sup>98</sup> avaliando pacientes pareados por tipo de tumor, idade e sexo indicam que há superioridade na utilização do GPI em relação aos outros marcadores. Vale ressaltar que o referido estudo avalia exames colhidos até 2 anos antes do diagnóstico e de uma população submetida à diferentes tipos de tratamento. Também, o valor de corte do NLR foi 5, muito alto comparado com o presente estudo, fator que tira a sua sensibilidade, colocando-o em posição desfavorável quando comparado ao GPI.

Ao avaliar os marcadores em 324 pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia curativa, uma população mais semelhante a este estudo, Wang *et al.*<sup>99</sup> também concluíram que o GPI é superior ao NLR. Porém, foi identificada a mesma questão já abordada referente ao alto valor de 5 no corte do NLR. Eventualmente, se este corte fosse reduzido esta superioridade do GPI talvez não fosse encontrada.

Diversos grupos estudaram o valor do NLR em diferentes tipos de neoplasias e estádios<sup>21</sup>. Particularmente, no conjunto de estudos de neoplasias gastrointestinais, o NLR aparenta ser fator prognóstico independente de sobrevida mais frequentemente em lesões do trato gastrointestinal alto. Uma hipótese para tal fato seria a maior frequência de diagnóstico de lesões mais avançadas nesta topografia, o

que resultaria em uma maior resposta inflamatória sistêmica. Mais ainda, dentre as lesões do TGI alto, o NLR aparenta maior relação com as lesões mais avançadas em comparação com as lesões precoces, fato que pode ser explicado pela hipótese previamente destacada<sup>100</sup>.

A importância do NLR como fator prognóstico em pacientes com tumores sólidos é confirmada por grandes metanálises como a realizada por Templeton *et al.* em 2014<sup>21</sup>. Os autores analisaram 100 artigos que envolveram mais de 40.000 pacientes com diferentes neoplasias sólidas. O risco de óbito nos grupos com NLR acima do valor de corte foi 1,81 vezes maior comparado ao grupo com NLR baixo. Esta característica estende-se para todos os grupos de pacientes, independente do sítio primário do tumor ou do estágio. Neste mesmo estudo, ao se avaliar em particular a população de 8.800 pacientes com tumores gastroesofágicos, o risco de óbito foi 1,66 vezes maior no grupo com NLR alto.

Dois importantes fatores nortearam a escolha do NLR como foco do presente estudo. Um deles é a reprodutibilidade dos resultados, uma vez que o perfil epidemiológico dos pacientes deste estudo assemelha-se ao da maioria dos pacientes com CG no mundo, com exceção daqueles no Leste Asiático<sup>101</sup>. Portanto, estima-se que os valores de NLR das populações sigam um padrão semelhante de distribuição.

Outro fator é a simplicidade do marcador. O hemograma pré-operatório traz informações valiosas sobre o prognóstico do paciente e dispensa procedimentos invasivos para sua obtenção. Esta questão foi tema do artigo “Parâmetros preditivos de desfechos cirúrgicos no câncer gástrico: simples é melhor que complexo”<sup>102</sup> que mostra que a avaliação de neutrófilos e albumina foram fatores independentes de prognóstico, mostrando-se mais eficazes que escores mais complexos envolvendo perda ponderal, sarcopenia, IMC, entre outros<sup>102</sup>.

A gastrectomia com linfadenectomia se mantém como principal forma de tratamento curativo na doença localizada, auxiliado pela quimioterapia perioperatória ou quimiorradiação pós-operatória. Em casos restritos à mucosa e submucosa, sem acometimento linfonodal, a cirurgia pode resultar em taxa de cura de aproximadamente 90%<sup>103</sup>. Porém, o diagnóstico precoce das lesões gástricas não é regra neste meio, uma vez que não há políticas públicas de rastreamento como em países orientais<sup>104</sup>. Este fato tem por consequência elevada incidência de pacientes com doença avançada. Dos pacientes submetidos à gastrectomia com intuito curativo no serviço em que foi realizado o presente estudo, 67% apresentavam doença avançada.

Se faz necessário destacar a extensão da linfadenectomia realizada nos pacientes da casuística. A equipe realizou um total de 556 gastrectomias com linfadenectomia entre 2008 e 2017<sup>105</sup>, o que classifica o serviço como uma referência de alto volume. A média de linfonodos obtidos por peça após a gastrectomia com intuito curativo D1 ou D2 é de 39,5, número acima dos 16 considerados adequados para linfadenectomia<sup>106</sup>. Esse dado é importante pois destaca que o tratamento cirúrgico empregado é adequado e homogêneo entre os pacientes, possibilitando análise do NLR como fator prognóstico em um grupo de pacientes que recebeu tratamento semelhante, a despeito dos diferentes estádios.

É interessante demonstrar o que é considerado a normalidade do NLR em pacientes saudáveis. Dois grandes estudos, um americano e um sul-coreano, avaliaram diferentes populações somando mais de 20.000 indivíduos. A população sul-coreana avaliada não tinha nenhum antecedente médico digno de nota e suas amostras sanguíneas foram obtidas em exames de rotina. Já o estudo americano



incluiu pacientes saudáveis que não utilizavam determinadas medicações como corticoides, antibióticos ou imunomoduladores. A média do NLR foi de 1,65 e 2,15 para população oriental e ocidental, respectivamente. Dentre os ocidentais, os negros e hispânicos apresentam valores menores quando comparados com brancos<sup>107,108</sup>. O valor mais elevado em populações ocidentais poderia ser atribuído a maior taxa de obesidade, fator implicado em maior inflamação sistêmica. A comparação com a média de NLR da amostragem do presente trabalho indica que a neoplasia efetivamente aumenta os valores do NLR.

O foco no NLR em doenças gástricas foi tema de um estudo com mais de 500 pacientes. Realizou-se a comparação dos valores de NLR entre pacientes com tumores gástricos, lesões gástricas benignas e indivíduos saudáveis sendo identificada diferença significativa nos níveis de NLR entre os pacientes com lesões malignas e os outros pacientes. Porém, não houve diferença entre pacientes com lesões benignas, como gastrite e úlcera, e indivíduos saudáveis<sup>109</sup>.

Nesta pesquisa utiliza-se a curva de Lausen para cálculo do valor de corte. Destaca-se que o método utilizado para cálculo deste valor é motivo de discussão na maioria dos artigos. Como consequência, diferentes valores de corte são considerados para avaliação de populações semelhantes. Uma metanálise sobre o tema abordou tal questão<sup>89</sup>. Dentre os sete estudos avaliados em populações com câncer gástrico submetidas à tratamento curativo, foi obtido um valor de corte diferente para cada estudo, variando de 1,4 até 4,0. O método para estabelecimento do valor de corte também é variável, sendo que foram utilizados curva ROC, mediana e intervalo interquartil.

Uma outra metanálise inglesa que aborda o mesmo tema e inclui o mesmo tipo de paciente avaliou sete outros artigos. A variação nos valores de corte do NLR foi de 1,44 até 5,5 e nenhum estudo utilizou o mesmo corte utilizado pelos outros. Os métodos empregados para cálculo do corte foram os mesmos descritos no parágrafo acima. A única diferença se dá pelo fato de dois artigos terem utilizado valores de corte previamente descritos e calculados por outros autores<sup>90</sup>.

Um aspecto importante relacionado ao NLR é o baixo custo associado à sua realização, uma vez que se baseia unicamente em parâmetros obtidos no hemograma completo. Todo o contexto que envolve o cuidado ao paciente oncológico demanda elevado gasto financeiro, desde exames diagnósticos, tratamento cirúrgico, quimioterápico e radioterápico, internações prolongadas, antibioticoterapia, exames de seguimento, entre outros. Estima-se que pacientes oncológicos apresentam custos diretos entre U\$ 20.000 e U\$ 100.000 com exames diagnósticos e tratamento<sup>110</sup>.

Ao se tratar especificamente dos exames laboratoriais preditores de prognóstico, o hemograma completo apresenta o menor custo tanto no Sistema Único de Saúde quanto na esfera particular. Como exemplo, o custo no sistema público e particular de um hemograma completo é de R\$ 4,11 e R\$ 18,00 respectivamente<sup>111</sup>.

Ao se comparar o custo do hemograma com outros marcadores prognósticos descritos na literatura, observa-se a grande disparidade entre os valores. Classicamente, os seguintes marcadores tumorais e exames laboratoriais são utilizados: CA72.4, CA19.9, CEA, proteína C-reativa e albumina. O custo dos marcadores tumorais no mercado particular varia em torno de R\$ 70,00 por exame. A proteína C-reativa e a albumina têm menor custo (R\$ 44,97 e R\$ 11,25, respectivamente)<sup>111</sup>. Nota-se que o hemograma completo apresenta valor bastante

inferior comparado aos outros marcadores. Em um contexto de saúde pública, a utilização rotineira do NLR não implicaria em sobrecarga no sistema de financiamento da área da saúde.

O prognóstico dos pacientes depende de determinadas variáveis clinicopatológicas, agrupadas em sistemas de estágio. Utiliza-se o grau de penetração tumoral na parede gástrica (T), o acometimento linfonodal (N) e a presença de metástases (M) para definição do estágio do paciente de acordo com o proposto pela AJCC/UICC oitava edição 2017<sup>15</sup>. É fato que pacientes com mesmo estágio podem apresentar diferentes evoluções, inclusive com sobrevidas distintas. Portanto, o prognóstico apoiaria-se mais do que somente em características tumorais e se expandiria para fatores relacionados ao paciente que hospeda o tumor. Essas variáveis e sua incorporação aos sistemas de estágio favoreceriam melhor caracterização individualizada do paciente e sua doença.

### **5.1 Relação Neutrófilo-Linfócito e Características Clínico-laboratoriais**

O perfil epidemiológico dos pacientes avaliados no presente estudo assemelha-se ao classicamente presente na literatura<sup>101</sup>. Com média de idade de 63 anos e maior proporção de pacientes do sexo masculino (60%), os dados do presente estudo reforçam a ideia de que o câncer gástrico incide com maior frequência em pacientes do sexo masculino com idade avançada.

Encontrou-se relação significativa entre sexo e NLR. O grupo de pacientes com NLR elevado apresentou 72% de pacientes do sexo masculino, contra 52% no grupo com NLR baixo. A média de NLR foi mais elevada no grupo de pacientes do sexo masculino, que apresentou valor de 2,79 contra 2,14 no sexo feminino. Não há

consenso na literatura sobre valores de NLR de acordo com o sexo, provavelmente pela heterogeneidade dos estudos quanto à população avaliada e condutas adotadas. Quando o foco é dado em populações como a do presente estudo, encontra-se predomínio do sexo masculino quando o NLR é elevado<sup>89</sup>.

Não há uma justificativa exata para a prevalência de gêneros de acordo com o NLR. Uma das teorias é a grande influência de hormônios como a progesterona e o estrogênio na hematopoese. Uma vez que há variações fisiológicas nos níveis hormonais entre os gêneros e idades, a influência exercida sobre a hematopoese entre homens e mulheres de diferentes idades não é uniforme.

O estrogênio e a progesterona estimulam o recrutamento de neutrófilos da medula óssea<sup>112</sup>. Já na corrente sanguínea, os neutrófilos têm sua apoptose retardada pela ação do estrogênio que inibe a caspase 3, proteína que promove a cascata da apoptose<sup>113</sup>. Mesmo com a meia vida prolongada, a funcionalidade dos neutrófilos permanece preservada. Um exemplo prático desses mecanismos é a neutrofilia fisiológica da gestação, promovida pela elevação de quase 100 vezes das taxas de estrogênio e progesterona neste período<sup>114</sup>.

A queda nos níveis de estrogênio chega a 70% após a menopausa, que em geral ocorre após os 50 anos<sup>115,116</sup>. Como consequência, o estímulo ao recrutamento de neutrófilos se reduz e seu valor absoluto no sangue diminui. Com isso, o NLR também diminui uma vez que o valor dos linfócitos permanece estável. Portanto, como a maioria das pacientes do presente estudo apresenta-se na menopausa, observou-se declínio de sua prevalência no grupo de pacientes com NLR elevado<sup>116</sup>.

A incidência do CG aumenta progressivamente com a idade. De modo geral, 1% dos casos são diagnosticados abaixo dos 35 anos, 70% dos casos entre 35 e 75 anos e 29% acima dos 75 anos<sup>117</sup>. A população estudada neste trabalho apresentou

média de idade de 63 anos com variações entre os grupos de acordo com NLR. O grupo com valores baixos e elevados de NLR apresentaram médias de idade de 61,9 e 64,6 anos, respectivamente.

A idade se relaciona com os valores do NLR em outros trabalhos, seguindo a tendência de idade mais avançada com valores elevados de NLR<sup>118</sup>. Na Tabela 3 demonstra-se que a média do NLR é maior em pacientes acima dos 65 anos.

A obesidade é uma doença crônica que causa um estado inflamatório subclínico. Determinados marcadores inflamatórios foram estudados e relacionados com a obesidade visceral. Entre eles, a proteína C reativa, a adiponectina, IL-6, TNF-alfa e o NLR<sup>119</sup>. Particularmente, em relação ao NLR, os estudos indicam aumento de seus valores com o aumento do IMC, porém não há significância estatística de tal dado em nenhuma análise. A justificativa dada pelos autores cita que o ganho ponderal resulta na elevação do total de leucócitos e de seus subtipos celulares proporcionalmente<sup>120,121</sup>. Uma vez que tanto neutrófilos quanto linfócitos se elevam, não há modificação considerável nos valores da relação neutrófilo-linfócito.

O presente estudo identificou uma relação inversa entre NLR e obesidade comparada com os estudos citados no parágrafo anterior. A média do NLR apresenta queda gradual com o aumento do IMC, conforme demonstrado na Tabela 5. Vale destacar que a população avaliada é restrita à pacientes oncológicos, o que determina interações diferentes entre o peso, a neoplasia e os parâmetros inflamatórios.

O câncer gástrico caracteriza-se por promover a perda ponderal e a caquexia, por fatores mecânicos obstrutivos e sistêmicos. Um estudo que avaliou mais de 18.000 pacientes com câncer gástrico demonstra que a perda ponderal é o sintoma mais comum, atingindo 61% dos casos<sup>122</sup>. A ocorrência de doença mais avançada se

reflete na maior perda ponderal e conseqüente menor IMC. Portanto, os casos mais avançados representados pelos pacientes com menor IMC apresentam valores mais elevados de NLR.

O papel das plaquetas como facilitadores do desenvolvimento tumoral é conhecido e a identificação da plaquetose como fator paraneoplásico foi descrita no século XIX<sup>123</sup>. Porém, referências históricas remetem a descrições de 1000 anos antes de Cristo sobre diferentes tipos de tumor, sendo que um deles “é um tumor que invade o sangue e comprime os vasos sanguíneos”. Esta primeira referência conhecida é do texto sânscrito da medicina indiana *Sushruta Samhita*<sup>124</sup>, que é considerada a primeira análise na história sobre a relação entre tumores e alterações sanguíneas. No século XIX Armand Trosseua descreveu a síndrome que leva o seu nome, que passou a ter maior aceitação na comunidade médica a partir do estudo da anatomista americana Edith Sproul em 1938. A autora descreve a necropsia de mais de 4.200 cadáveres de pacientes com carcinoma, aonde a presença de múltiplas trombozes chegou a 30% em tumores de cauda de pâncreas<sup>124</sup>.

Aproximadamente 40% dos pacientes com achado incidental de plaquetas acima de 400 mil por milímetro cúbico, na ausência de ferropenia ou doenças inflamatórias, possuem alguma neoplasia oculta, geralmente de trato gastrointestinal, pulmão, mama ou ovariana<sup>125</sup>. A prevalência de trombocitose entre as neoplasias sólidas é variável: 33% no câncer de cólon<sup>126</sup>, 30% no câncer de colo uterino<sup>127</sup> e 6,4-11,4% no câncer gástrico<sup>128-130</sup>.

Na presente casuística, a média de plaquetas foi de 275 mil por milímetro cúbico e 9,6% dos pacientes apresentaram valores acima de 400 mil por milímetro cúbico. A média no valor absoluto das plaquetas aumentou de 235 mil por milímetro

cúbico no grupo de NLR baixo para 305 mil por milímetro cúbico no grupo NLR alto, com significância estatística ( $p = 0,015$ ). Porém, a plaquetose não foi um fator independente de pior prognóstico.

Trombocitose como fator independente de pior prognóstico em pacientes com câncer gástrico foi primeiro descrita em 2002 por Ikeda *et al.*<sup>128</sup>, a avaliação de 369 pacientes identificou 12% dos casos com valores acima de 400 mil plaquetas por milímetro cúbico, com pior sobrevida global em 1 e 3 anos nestes casos. Anteriormente à este estudo, a trombocitose já havia sido relacionada como fator prognóstico em outros tipos de neoplasias sólidas, como ginecológicas<sup>127</sup>, pulmonares<sup>131</sup> e urológicas<sup>132</sup>.

Um estudo recente com casuística acima de 4.600 pacientes com câncer gástrico submetidos à tratamento cirúrgico identificou prevalência de 2% de plaquetas acima de 400 mil por milímetro cúbico. Estabelecido um valor de corte de 255 mil por milímetro cúbico, a plaquetose foi considerada fator independente de pior prognóstico<sup>133</sup>. Uma metanálise de 2018 avaliou mais de 7000 pacientes com câncer gástrico em nove estudos. A sobrevida de um, três e cinco anos após o tratamento é menor nos pacientes com plaquetose. Esta metanálise destaca que o grande viés dos estudos que utilizam variáveis contínuas é o estabelecimento de um valor de corte resultando em valores entre 250 mil e 400 mil por milímetro cúbico de sangue estabelecidos nos estudos considerados<sup>134</sup>.

Em estudo avaliando pacientes e modelos murinos com tumores ovarianos, Stone *et al.*<sup>135</sup> demonstram que a síntese de trombopoetina hepática encontra-se elevada em resposta à interleucina-6 produzida pelo tumor. Esta trombopoetina eleva a síntese plaquetária, o que estimula o crescimento tumoral e consequente produção

de mais Interleucina-6. Este é um mecanismo de retroalimentação que se perpetua ao longo do crescimento tumoral.

As particularidades envolvendo plaquetas no paciente com câncer vão além do aumento no número absoluto: alterações estruturais, com aumento no número de grânulos intraplaquetários, além de uma maior ativação plaquetária são observados nos pacientes com câncer. A influência das plaquetas no câncer é tão relevante que algumas células tumorais assumem fenótipo próprios das plaquetas, expressando receptores e moléculas de adesão semelhantes. Este mimetismo plaquetário foi descrito em 2005 por Timar *et al.*<sup>136</sup>.

O resultado prático de todos esses achados é o grande foco que ocorre desde a década de 1980 no uso de drogas antiplaquetárias e anticoagulantes no combate ao câncer. Diversos protocolos foram desenhados para avaliação de medicamentos como a aspirina, clopidogrel, mopidamol e dipiridamol. A aspirina em baixas doses é recomendada como profilaxia de câncer colorretal nos Estados Unidos. Devido aos riscos de sangramento, essa conduta não é recomendada nos países europeus. Outros estudos estendem o efeito profilático da aspirina para diferentes tipos de tumores: mama, próstata, pulmão, pâncreas e ovário<sup>137</sup>. Certamente, a terapia antiplaquetária é promissora contra o câncer, mas ainda existem desafios para tornar-se senso comum. Deve-se identificar quais tipos de tumores e pacientes são respondedores e mais ainda, identificar em quais pacientes os benefícios superam os riscos da terapia antiplaquetária.



## 5.2 Relação Neutrófilo-Linfócito e Características Patológicas

A população estudada apresentou predomínio de tumores localmente avançados, fato encontrado com frequência em países em desenvolvimento como o Brasil<sup>101</sup>. A invasão até a subserosa (pT3), o acometimento linfonodal e o estágio 3 foram as características mais frequentes totalizando 61,6%, 55,3% e 44% dos casos, respectivamente. O tipo histológico mais comum foi o intestinal (51,1%), com localização na parte distal do estômago (61,6%), características tumorais também associadas a pacientes de países em desenvolvimento<sup>101</sup>.

Vale destacar que o diagnóstico do câncer gástrico precoce é fundamental para o bom prognóstico. A sobrevida global em 5 anos nesses casos é de 90%<sup>103</sup>. Infelizmente, o Brasil não possui políticas de rastreamento endoscópico que permitam o diagnóstico precoce, o que resulta na elevada taxa de tumores avançados aqui demonstradas. Países do Leste asiático como o Japão, que aplicam programas de rastreamento, apresentam maior incidência de lesões precoces e melhores taxas de sobrevida<sup>103</sup>.

O tipo histológico apresentado na presente casuística segue a tendência global de queda na incidência de lesões do tipo intestinal. Como consequência, o diagnóstico de lesões do tipo difuso aumentou proporcionalmente, alcançando 30% em casuísticas com mais de 2.000 pacientes<sup>138</sup>. O tipo difuso da população estudada foi de 34,4%.

O tipo histológico não foi fator independente de pior sobrevida livre e sobrevida global, apesar da histologia, seja classificada por Lauren ou por grau de diferenciação celular, influenciar o prognóstico em diversos estudos<sup>105,139,140</sup>. O tipo difuso caracteriza-se pela presença de metástases precoces, o que implica em seu pior prognóstico<sup>11</sup>. Como o presente estudo excluiu os pacientes com metástases, ocorreu uma homogeneização entre os graus de progressão de doença entre os tipos intestinal e difuso, o que se traduziu em sua ausência de impacto prognóstico.

As médias de NLR foram progressivamente maiores com o avançar da profundidade do tumor na parede gástrica. Destaca-se o fato que as lesões até a subserosa apresentam médias muito semelhantes, porém quando a lesão penetra a serosa ocorre uma grande elevação na média do NLR. Conforme se demonstra na Tabela 3, a diferença da média entre lesões T3 e T1 foi de 0,15. Já a diferença encontrada entre T4 e T3 foi de 0,71. Além disso, dos 147 pacientes com NLR alto, 65,3% apresentavam lesões mais invasivas. Este dado vai ao encontro de uma série de publicações envolvendo tumores gástricos<sup>141,142</sup> e outras neoplasias sólidas<sup>21</sup>. Uma das teorias formuladas para explicar tal fato é o remodelamento tissular em locais de invasão tumoral perigástrica. A penetração tumoral desencadearia uma forte reação inflamatória local, capaz de influenciar os níveis séricos de células inflamatórias<sup>141</sup>.

O acometimento linfonodal não apresentou relação estatisticamente significativa com os níveis do NLR, apesar do grupo com NLR elevado apresentar maior proporção (60%) de pacientes N+. O acometimento linfonodal ocorre pelo alcance dos linfáticos presentes na submucosa gástrica, logo lesões mais invasivas relacionam-se com maior frequência ao comprometimento linfonodal. Lesões mais invasivas apresentam NLR elevado, logo, tal resultado também era esperado para o acometimento linfonodal, o que não ocorreu.

Hsu *et al.*<sup>143</sup> identificaram a mesma questão em sua casuística com mais de mil pacientes com câncer gástrico operado. O acometimento linfonodal não se relacionou com o NLR. Os autores então analisaram a razão dos linfonodos (divisão dos linfonodos acometidos pelos linfonodos totais) o que resultou em relação significativa do NLR.

Quando se avalia estudos que encontraram relação de NLR com acometimento linfonodal, identifica-se que a maioria inclui pacientes metastáticos. Por exemplo, na casuística de Zhang *et al.*<sup>118</sup>, 24% e 80% dos pacientes apresentavam metástases e acometimento linfonodal, respectivamente. A proporção de pacientes N+ é muito superior comparado com os 55% deste trabalho, o que pode ser entendido pela influência que o estágio IV determina sobre a taxa de acometimento linfonodal.

O estágio patológico também não se relacionou de modo significativo com valores de NLR, porém seus valores aumentam com a progressão dos estágios. Uma das possíveis explicações para esta falta de relação significativa foi a exclusão dos pacientes com doença metastática. A carcinomatose e as metástases à distância acentuam a resposta inflamatória e elevam o NLR<sup>144</sup>. A exclusão desses pacientes da amostragem do presente estudo levou a um grupo mais homogêneo de estágios, o que eventualmente traduziu-se nesta ausência de relação estatística.

Reforçando a ideia do impacto das metástases na condição inflamatória sistêmica, a casuística de Shimada *et al.*<sup>140</sup> mostra elevação média de 1,23 pontos no NLR em pacientes com câncer gástrico metastático. Outro estudo mostra que há diferença significativa do NLR ao se comparar pacientes com câncer gástrico estágio III e IV<sup>145</sup>.

A questão que se coloca em inúmeros artigos e deve ser levantada é se o NLR reflete a situação do microambiente inflamatório. Os neutrófilos e linfócitos utilizados no cálculo são obtidos do sangue periférico e conforme definido por Shimada *et al.*<sup>140</sup> “a relação entre NLR e infiltrado inflamatório peritumoral é altamente especulativa”. Para responder tal questão, Choi *et al.*<sup>146</sup> demonstraram que o NLR apresenta relação com a densidade de células imunes no microambiente

tumoral gástrico, particularmente com os linfócitos T CD4+. Concluíram que um parâmetro laboratorial de sangue periférico pode ser utilizado para avaliação do microambiente tumoral.

### 5.3 Estratificação de Risco

A estratificação de risco pode ser definida como o processo de quantificação da probabilidade de um evento prejudicial ocorrer a um determinado indivíduo, resultado de uma gama de fatores internos ou externos<sup>147</sup>. O evento considerado é a recidiva e/ou o óbito e o NLR seria um dos fatores implicados.

É fato que pacientes classificados com mesmo estágio patológico podem apresentar diferentes prognósticos, com sobrevidas livre de doença e global completamente distintas. Esta afirmação pressupõe a existência de fatores não considerados na avaliação individual que apresentam potencial prognóstico.

As curvas de sobrevida de acordo com estágio patológico mostram que pacientes estágio 3 apresentam pior prognóstico comparados com estágios 1 e 2. Mais ainda, ao se dividir os pacientes com mesmo estágio de acordo com seu NLR, observa-se pior sobrevida global no subgrupo com NLR elevado (Gráfico 4B). O mesmo fenômeno ocorre quando a estratificação de risco é realizada em pacientes com mesmo grau de invasão tumoral na parede gástrica (Gráfico 4A).

Poucos estudos realizaram este tipo de estratificação de risco. Hu *et al.*<sup>148</sup> descrevem a estratificação por estágios, porém adotam um valor de corte do NLR diferente para cada um deles. Apesar do método diferente na estratificação, os autores têm conclusão semelhante ao descrito no presente estudo: o NLR tem o potencial de estratificar risco em pacientes com mesmo estágio.

#### 5.4 Fatores Prognósticos

A análise multivariada dos fatores relacionados com SLD e SG identificou a hipoalbuminemia, a gastrectomia total, os tumores pT3 e pT4 e o acometimento linfonodal como fatores de pior prognóstico tanto para SLD quanto para SG. O NLR elevado foi identificado como fator de pior prognóstico na análise multivariada somente ao se considerar a sobrevida global.

O NLR acima do valor de corte no pré-operatório implica em risco de óbito 1,5 vezes maior, fato confirmado pela regressão de Cox para a análise multivariada. Em metanálise que considerou mais de 3.000 pacientes com características semelhantes ao do presente estudo, o NLR foi fator independente de prognóstico para SLD e SG em todos os estudos, com exceção de um. Este único estudo mostrou relação do NLR com pior prognóstico somente na análise univariada, eventualmente por haver considerado um valor de corte baixo<sup>149</sup>.

O grau de invasão tumoral (pT) e o acometimento linfonodal (pN) são duas características consideradas no sistema de estadiamento e classicamente relacionadas ao prognóstico do câncer gástrico. A conclusão deste estudo que pT e pN são fatores independentes de pior prognóstico confirma uma informação já consagrada pela prática médica. Já na década de 1980, Maruyama *et al.*<sup>150</sup> analisaram 25 variáveis em mais de 4.700 pacientes submetidos à ressecção cirúrgica. Profundidade de invasão na parede gástrica (RR 4,69) e acometimento linfonodal (RR 4,04) foram as duas principais variáveis relacionadas com prognóstico.

A gastrectomia total foi um fator independente de pior prognóstico relacionado com a sobrevida livre de doença. Este procedimento representa no geral lesões mais proximais ou distais e médias com invasão ascendente. As lesões

proximais geralmente apresentam maiores proporções quando comparadas às distais. Tal fato se explica pela falta de sintomas obstrutivos em lesões proximais pequenas associado à política insatisfatória de rastreamento endoscópico. Portanto, o fato da gastrectomia total ser um fator de pior prognóstico é a tradução do tipo de lesão tratada por esta cirurgia. Outros grupos relatam achados semelhantes, com lesões proximais de maiores dimensões e apresentando pior prognóstico<sup>151,152</sup>.

A hipoalbuminemia apresentou-se como fator independente de pior prognóstico. Seu valor médio foi de 4,0 g/dL e 14% dos pacientes apresentaram valores abaixo de 3,5 g/dL. Sua meia-vida é de 20 dias e valores baixos podem refletir o aumento do metabolismo sistêmico causado pelo tumor, associado à redução na ingestão alimentar e à caquexia relacionada ao câncer<sup>153</sup>. O pior prognóstico vai ao encontro com resultados de outras publicações em diferentes topografias<sup>154</sup>.

## **5.5 Considerações Finais e Perspectivas**

O avanço no tratamento do câncer com intuito curativo debruça-se cada vez mais na individualização do paciente. Características próprias, tanto sistêmicas como tumorais, destacam o indivíduo dentro do grupo, permitindo intervenções mais específicas e eficientes. Esta individualização é possível graças a uma série de marcadores que complementam as informações fornecidas pelo sistema de estadiamento vigente.

O NLR mostra-se um marcador capaz de destacar características próprias do paciente e seu tumor, estratificando o risco e aperfeiçoando a predição prognóstica. É um marcador obtido de forma simples, facilmente reproduzível e com baixo custo. Depende unicamente do hemograma, exame amplamente disponível e solicitado mundialmente de maneira rotineira no pré-operatório da gastrectomia.

Em 1977, nas primeiras classificações ditadas pela AJCC, um comentário pioneiro previa as futuras adaptações à luz de novos conhecimentos, deixando claro que os sistemas de estadiamento não eram estáticos. Este é o ponto chave do presente estudo, que objetiva fornecer informações capazes de implementar a avaliação do paciente com câncer gástrico, com intuito de aprimorar o estadiamento e como consequência embasar com maior solidez as opções de tratamento.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, alguns pontos apresentam-se como perspectivas futuras. Em primeiro lugar, a análise longitudinal do NLR no seguimento do paciente poderia trazer mais informações sobre o grau de responsividade e eficiência dos tratamentos. Outro aspecto relevante é a relação entre os valores do NLR com o das citocinas séricas. Entender se a elevação do NLR se traduz também no aumento dos valores séricos de citocinas adicionaria maior compreensão dos mecanismos de ação pró-tumoral. Mais ainda, os tipos e proporções de células inflamatórias infiltrando o tumor precisam ser melhor correlacionados com o valor sérico do NLR.

Outro aspecto são as janelas de oportunidade apresentadas no tratamento do câncer com a melhor compreensão das complexas vias inflamatórias pró- e antitumorais. A depleção dos neutrófilos associada a repopulação clonal de linfócitos em pacientes com câncer seria uma alternativa terapêutica? A “normalização terapêutica” do NLR resultaria na regressão tumoral?

## **6 CONCLUSÕES**

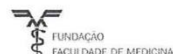


a) A relação neutrófilo-linfócito de valor elevado é um fator independente de pior prognóstico, indicando menor sobrevida global em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo.

b) Relação neutrófilo-linfócito acima do valor de corte se relaciona com idade avançada, sexo masculino, plaquetose e tumores mais invasivos (T3/T4).



## Anexo A - Aprovação pelo Comitê de ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo



São Paulo, 12 de Julho de 2017

Registro: NP 1159/17

Ref. Solicitação de execução de estudo: "Valor prognóstico da relação neutrófilo-linfócitos e plaquetas: linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por câncer gástrico".

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Ulysses Ribeiro Júnior  
Pesquisador Executante: Dr. Daniel José Szor

### CONSIDERAÇÕES

Estudo retrospectivo, para obtenção de título de Mestrado, que envolve aproximadamente 500 participantes e visa avaliar se as razões neutrófilo:linfócito (NLR) e plaqueta:linfócito (PLR) se relacionam com a sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de recidiva em pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo no ICESP entre os anos de 2009 a 2017. Resultados de hemograma completo serão revisados e será calculada a relação plaquetas:linfócitos e neutrófilos:linfócitos.

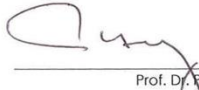
### RESPONSABILIDADES DO PESQUISADOR

Antes do início das atividades relacionadas ao estudo:

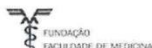
- Apresentar a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP para execução no ICESP conforme a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde;
- Enviar relatório final do estudo. Projetos sem informações por mais de 1 ano serão cancelados automaticamente e impedirá a submissão de novos projetos pelos investigadores;
- Enviar resultados do projeto (publicações, defesa de tese, apresentação em congressos e outros);

Informamos que sua solicitação foi DEFERIDA

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Paulo M. Hoff  
Diretor Geral  
ICESP

Versão 1.2 11 de julho de 2016



Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP 01246-000 Tel: 11 3893.2000 www.icesp.org.br

**Anexo B - Aprovação na Plataforma Brasil**

USP - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO - FMUSP

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico

**Pesquisador:** Ulysses Ribeiro Junior

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 76483517.8.0000.0065

**Instituição Proponente:** FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.286.610

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de projeto com análise retrospectiva que utilizará dados de prontuários de pacientes com adenocarcinoma gástrico. O projeto já foi aprovado no ICESP, de onde serão utilizados dados de 550 pacientes.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar o valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Sem riscos pois trata-se de projeto retrospectivo com consulta a prontuários. Benefícios informativos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

De acordo.


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

De acordo.

**Recomendações:**

Nenhuma.

**Endereço:** DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36  
**Bairro:** PACAEMBU **CEP:** 01.246-903  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br

		MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP <b>PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS</b>				
Projeto de Pesquisa: Valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico						
<b>Informações Preliminares</b>						
<b>Responsável Principal</b>						
CPF/Documento: 672.483.499-68	Nome: Ulysses Ribeiro Junior					
Telefone: (11) 5532-1784	E-mail: ulyssesribeiro@terra.com.br					
<b>Instituição Proponente</b>						
CNPJ: 56.577.059/0006-06	Nome da Instituição: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA					
É um estudo internacional? Não						
■ <b>Assistentes</b>						
CPF/Documento	Nome					
272.816.938-18	Evelise Pelegrinelli Zaidan					
■ <b>Equipe de Pesquisa</b>						
CPF/Documento	Nome					
223.326.508-49	Bruno Zilberstein					
214.270.148-50	Andre Roncon Dias					
353.416.958-10	Marina Alessandra Pereira					
325.195.488-19	Daniel José Szor					
105.273.788-95	Osmar Kenji Yagi					
027.729.569-62	Marcus Fernando Kodama Pertille Ramos					
<b>Área de Estudo</b>						
<b>Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)</b>						
■ Grande Área 4. Ciências da Saúde						
<b>Propósito Principal do Estudo (OMS)</b>						
■ Clínico						
<b>Título Público da Pesquisa:</b> Valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico						
<b>Contato Público</b>						
CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail			
672.483.499-68	Ulysses Ribeiro Junior	(11) 5532-1784	ulyssesribeiro@terra.com.br			
<b>Contato</b> Ulysses Ribeiro Junior						
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017</td> <td>Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_966793.pdf</td> <td>Versão do Projeto: 1</td> </tr> </table>				Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017	Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_966793.pdf	Versão do Projeto: 1
Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017	Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_966793.pdf	Versão do Projeto: 1				

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
672.483.499-68	Ulysses Ribeiro Junior	(11) 5532-1784	ulyssesribeiro@terra.com.br

**Contato** Ulysses Ribeiro Junior

**Área de Estudo**

**Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)**

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

**Propósito Principal do Estudo (OMS)**

- Clínico

**Título Público da Pesquisa:** Valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico

**Contato Público**

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
672.483.499-68	Ulysses Ribeiro Junior	(11) 5532-1784	ulyssesribeiro@terra.com.br

**Equipe de Pesquisa**

CPF/Documento	Nome
223.326.508-49	Bruno Zilberstein
214.270.148-50	Andre Roncon Dias
353.416.958-10	Marina Alessandra Pereira
325.195.488-19	Daniel José Szor
105.273.788-95	Osmar Kenji Yagi
027.729.569-62	Marcus Fernando Kodama Pertille Ramos

**Assistentes**

CPF/Documento	Nome
272.816.938-18	Evelise Pelegrinelli Zaidan

É um estudo internacional? Não

**Instituição Proponente**

CNPJ: 56.577.059/0006-06	Nome da Instituição: FUNDAÇÃO FACULDADE DE MEDICINA
--------------------------	---

**Informações Preliminares**

Projeto de Pesquisa: Valor prognóstico das relações linfócitos/neutrófilos e plaquetas/linfócitos em pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico

**Responsável Principal**

CPF/Documento: 672.483.499-68	Nome: Ulysses Ribeiro Junior
Telefone: (11) 5532-1784	E-mail: ulyssesribeiro@terra.com.br

**Plataforma Brasil** MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP  
PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017 Nome do Arquivo: PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_966793.pdf Versão do Projeto: 1

Página 1 de 6

Desenho de Estudo / Apoio Financeiro				
Desenho do Estudo: Observacional				
<b>Condições de saúde ou problemas</b>				
Condição de saúde ou Problema				
pacientes submetidos à gastrectomia curativa por adenocarcinoma gástrico				
<b>Descritores Gerais para as Condições de</b>				
CID1-10:Classificação Internacional de Doenças				
Código CID		Descrição CID		
C16	Neoplasia maligna do estomago			
DeCS:Descritores em Ciência da Saúde				
Código DECS		Descrição DECS		
D013274	Neoplasias Gástricas			
<b>Descritores Específicos para as Condições de Saúde</b>				
CID1-10:Classificação Internacional de Doenças				
Código CID		Descrição CID		
C16	Neoplasia maligna do estomago			
DeCS:Descritores em Ciência da Saúde				
Código DECS		Descrição DECS		
D013274	Neoplasias Gástricas			
<b>Desenho:</b>				
Serão estudados retrospectivamente 550 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma gástrico comprovado por análise histológica submetidos à gastrectomia com linfadenectomia com intuito curativo no Instituto do Câncer do Estado de S. Paulo (ICESP) entre os anos de 2009 a 2017.				
<b>Apoio Financeiro</b>				
CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
				Financiamento Próprio
<b>Palavra Chave</b>				
Palavra-chave				
câncer gástrico				
gastrectomia				
relação neutrófilos/linfócitos				
relação plaquetas/linfócitos				

### Detalhamento do Estudo

#### Resumo:

O câncer gástrico é uma das neoplasias sólidas mais frequentes; costumava ser a neoplasia de maior incidência até a década de 80, quando foi superada pelo câncer de pulmão[1]. Desde então sua incidência vem diminuindo devido ao reconhecimento e intervenções contra os fatores predisponentes como o H. pylori[2], padrões de dieta e fatores ambientais. Apesar da redução na incidência, o número absoluto de pacientes vem aumentando devido à maior expectativa de vida da população, com aproximadamente 1 milhão de casos novos diagnosticados em 2012 [3].  
 [3] Objetivos: Objetivo primário: Avaliar se as razões NLR e PLR se relacionam com a sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de recidiva em pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo. Método: Serão estudados retrospectivamente 550 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma gástrico comprovado por análise histológica submetidos à gastrectomia com linfadenectomia com intuito curativo no Instituto do Câncer do Estado de S. Paulo (ICESP) entre os anos de 2009 a 2017.

#### Introdução:

O câncer gástrico é uma das neoplasias sólidas mais frequentes; costumava ser a neoplasia de maior incidência até a década de 80, quando foi superada pelo câncer de pulmão[1]. Desde então sua incidência vem diminuindo devido ao reconhecimento e intervenções contra os fatores predisponentes como o H. pylori[2], padrões de dieta e fatores ambientais. Apesar da redução na incidência, o número absoluto de pacientes vem aumentando devido à maior expectativa de vida da população, com aproximadamente 1 milhão de casos novos diagnosticados em 2012 [3]. É um tumor bastante agressivo com diagnóstico realizado na maior parte das vezes em pacientes sintomáticos, com doença avançada. Cerca de 50% dos casos apresentam doença com extensão além do estômago no momento do diagnóstico e a sobrevida em 5 anos pode chegar à apenas 30% dependendo do estadiamento clínico de acordo com a Union for International Cancer Control (UICC). Em 2016, estima-se que 25.000 casos foram diagnosticados nos Estados Unidos e 20.000 no Brasil. O prognóstico de um paciente é baseado em seu estadiamento clínico determinado após a ressecção gástrica com a análise histopatológica da peça cirúrgica. O paciente é inserido em uma curva de sobrevida de acordo com seu estadiamento afim de que sua sobrevida possa ser estimada. Por exemplo, um paciente com adenocarcinoma gástrico no estadiamento IA tem sobrevida em 5 anos estimada em 71%; já um paciente estadiamento IV, 4% de acordo com a American Cancer Society[4]. O estadiamento clínico do câncer gástrico pré tratamento é realizado através de exames de imagem como o ultrassom endoscópico (EUS) e a tomografia computadorizada de abdome (TC)[5]. Revisões sistemáticas demonstram que a acurácia em determinar o estadiamento T varia de 65% até 92% para EUS e 77-87% para TC. Para acometimento linfonodal, a sensibilidade e especificidade do EUS é de 71% e 85%, respectivamente, e 80% e 78% para TC, respectivamente. Nota-se que há espaço para melhora na acurácia do estadiamento clínico e nesse contexto, outros exames como os marcadores séricos ganham importância. Uma vez que a inflamação é reconhecida como participante no desenvolvimento das neoplasias, sua mensuração por meio das células inflamatórias circulantes pode demonstrar o status inflamatório sistêmico e indiretamente refletir a gravidade e o prognóstico de uma neoplasia. A mensuração da inflamação sistêmica, através da relação neutrófilo:linfócito (NLR) e plaqueta:linfócito (PLR) ganha importância e sentido. Sua associação com exames de estadiamento clássicos aumentaria a acurácia diagnóstica, otimizando o tratamento. A menor parte dos tumores se origina de mutações em células germinativas e a maior parte provém de mutações somáticas e influência de fatores externos, que estão intimamente relacionados com a inflamação. Esta é a peça chave no desenvolvimento de tumores, fato este exemplificado pela incidência aumentada de neoplasias em locais com infecção, irritação crônica e inflamação. Aproximadamente 15% das neoplasias se desenvolvem devido infecção [6]. Alguns exemplos clássicos são o adenocarcinoma gástrico com o H. pylori, o câncer vesical com o Schistosoma hematobium [7], o hepatocarcinoma com a hepatite C [8] e o câncer colorretal com as doenças inflamatórias intestinais [9]. A inflamação está intimamente relacionada com a evolução das neoplasias, fato já descrito desde o século 19 [10]. O microambiente tumoral é amplamente influenciado por células inflamatórias e a progressão do câncer depende da complexa interação entre o tumor e a resposta inflamatória do organismo. Os leucócitos produzem grande variedade de citocinas, quimiocinas e proteinases extracelulares que modificam os componentes do estroma peritumoral [11] produzindo um microambiente atrativo para o crescimento tumoral, facilitando a instabilidade genômica e promovendo a angiogênese e linfangiogênese [12]. Este fato ganha importância na predição de prognóstico, uma vez que estados inflamatórios mais exacerbados associam-se com neoplasias mais avançadas de pior evolução. A relação entre inflamação e tumores foi primeiro observada por Virchow em 1863, quando o mesmo observou a presença de leucócitos dentro de tumores, supondo o papel da inflamação nas neoplasias. Sugeriu que na presença de fatores irritantes e injúria tecidual a inflamação se instala promovendo a aceleração da proliferação celular [13]. Mais de um século depois, os tumores foram definidos como feridas que não cicatrizam [14]. O termo estado neoplásico subliminar foi criado em 1941, caracterizado por mutações somáticas irreversíveis que podem existir indefinidamente em tecidos normais e são causadas por vírus ou agentes químicos carcinogênicos [15]. Quando este grupo de células mutadas é exposto à determinados fatores (irritantes químicos, fatores liberados em inflamação, ressecções de órgãos) ocorre a proliferação celular desordenada, recrutamento de células inflamatórias, redução no reparo e aumento no dano oxidativo do DNA. Essa proliferação celular não controlada, diferente da inflamação normal mediada por fatores pró e anti-inflamatórios, resulta no surgimento da neoplasia [16]. A partir de então notou-se a importância do microambiente tumoral e da inflamação peritumoral, que pode ter 2 origens distintas: 1- células inflamatórias são atraídas para determinado local a partir de um estímulo, como por exemplo, a presença de Helicobacter pylori. Logo, essas células inflamatórias criam um microambiente propício para a carcinogênese e desenvolvimento tumoral. 2- o próprio tumor tem o potencial de atrair células inflamatórias para seu microambiente, através da liberação de citocinas inflamatórias por suas células ou por células vizinhas sadias. Estudos em modelos animais com supressão de linfócitos natural-killers (células anti-tumorais), mostram que o estímulo por uma neoplasia leva ao aparecimento de infiltrado inflamatório peri-tumoral. As células inflamatórias suprem o microambiente tumoral com moléculas bioativas responsáveis pelo aparecimento, crescimento e desenvolvimento da neoplasia [12]. Essas moléculas atuam em diversas etapas da carcinogênese: 1. Liberação de fatores pró-proliferação celular. 2. Remoção de supressores de crescimento celular. 3. Aumento resistência à morte celular. 4. Indução de angiogênese. 5. Ativação de invasão e envio de metástases. A neutrofilia apresenta alguns mecanismos pró-carcinogênicos: secreção de fatores angiogênicos e indução de células neoplásicas a migrarem por estes vasos sanguíneos neoformados promovendo metástases, aumento de adesão entre células tumorais circulantes e órgãos-alvo de metástases, ao secretar uma rede de cromatina e proteína que captura células tumorais circulantes, fato já demonstrado em modelos murinos [17]. Os linfócitos assumem papel na resposta sistêmica anti-tumoral pois o infiltrado linfocitário intra-tumoral exibe atividade contra a angiogênese e contra a própria célula tumoral. A linfopenia, ao sinalizar o conseqüente menor efeito anti-tumoral, pode indicar um pior prognóstico [18]. O sangue periférico reflete esta atividade inflamatória, podendo ser estudado de modo não invasivo e sem grandes custos. Os marcadores inflamatórios atualmente utilizados podem ser bioquímicos (proteína C reativa, albumina) e hematológicos (neutrófilos, linfócitos, plaquetas). As relações entre esses elementos e a sobrevida relacionada ao câncer já é descrita, inclusive com a criação de escores prognósticos como o Glasgow Prognostic Score (GPS) que combina a proteína C reativa e a concentração de albumina [19]. No início dos anos 2000, a confirmação da relação entre inflamação e prognóstico foi realizada em estudos com neoplasia pulmonar de pequenas células. A definição do tipo de tratamento era baseada em critérios como baixo status performance e perda ponderal, que, uma vez considerados subjetivos, motivaram a busca de marcadores séricos mais fidedignos. Nesse contexto, a utilização da albumina e da proteína C reativa foi impulsionada de modo a criar um score preditor de prognóstico, o GPS [20]. Nos anos 70, foi descoberta a influência que células inflamatórias peritumorais exercem sobre o crescimento e desenvolvimento do tumor. Notou-se que a presença com infiltrado linfocitário resultava em tumores menos agressivos comparados com sua ausência, sendo atribuído um papel protetor aos linfócitos devido à ação de células natural-killers contra a neoplasia. De



forma semelhante, a presença de infiltrado neutrofílico resulta em maior agressão. Estudos in vitro desta mesma época demonstraram que quando co-incubados, os neutrófilos inibem os efeitos citotóxicos dos linfócitos ativados sugerindo que in vivo esta relação também acontece [21]. A anergia linfocitária foi demonstrada ao se expor populações de linfócitos intra-tumorais a meios de cultura com células tumorais, quando não demonstraram imunorreatividade contra estas células. Sabe-se que os neutrófilos, ao suprimir a ação dos linfócitos e células natural-killers, inibem o sistema imune e aceleram a carcinogênese [22]. São responsáveis por secretar fator de crescimento endotelial, fator de crescimento hepatocitário, interleucina-6, interleucina-8 e elastases, todos esses fatores que promovem o crescimento tumoral [23]. Em particular a interleucina-6 age estimulando a produção de proteínas da fase aguda, como a proteína C reativa, e suprimindo a produção de albumina pelo fígado. A concentração sérica aumentada de IL-6 está relacionada com pior prognóstico. As células tumorais promovem o aumento do valor absoluto dos neutrófilos ao produzir citocinas hematopoiéticas e a neutrofilia indica portanto a natureza mais agressiva do tumor [24]. O NLR de valor elevado indica pior prognóstico de 2 formas: como fator independente e por estar relacionado com fatores de pior prognóstico no câncer gástrico (idade avançada, sexo masculino, caucasianos, histologia pouco diferenciada, maior T e N, infiltração vascular). O alto valor de NLR é fator prognóstico independente do TNM; um volume tumoral maior ao produzir mais inflamação resulta em um alto NLR e este logicamente apresentará pior prognóstico. Porém, ao compararmos pacientes com volume tumoral semelhante, aqueles com maior NLR apresentarão pior prognóstico. Não há valor de cutoff definido para NLR, com variações entre os diversos estudos já publicados sobre o tema. Um valor progressivamente maior do NLR indica um estado inflamatório mais exacerbado, o que se relaciona com pior prognóstico em diversos tipos de tumores: colorretal, pancreático, hepatocarcinoma, ovariano, mieloma múltiplo, carcinoma de células renais e câncer pulmonar não pequenas células [25]. Em 1998 foi publicado o primeiro estudo relacionando NLR com câncer gástrico e desde então diversos estudos demonstraram que um alto valor NLR se relaciona com pior prognóstico [26]. Estima-se que para cada aumento de 1 ponto no NLR, há aumento de 10% no risco de morte relacionada ao câncer gástrico [27]. O valor pode ser mensurado no pré-operatório logo após o diagnóstico e sem nenhum tipo de tratamento instituído. Também pode ser medido nos primeiros dias de pós-operatório, quando inicialmente até o 4º pós-operatório costuma ocorrer uma elevação no valor devido à resposta inflamatória pós-operatória. No 7º pós-operatório observa-se um retorno no NLR aos níveis de pré-operatório. Com 1 mês de pré-operatório, a queda de NLR para valores inferiores ao do pós-operatório indica melhor prognóstico [28,29]. O acometimento linfonodal é um dos fatores de pior prognóstico no câncer gástrico e sua previsão no pré-operatório pode ser realizada através do NLR. Um valor maior que 1,57 pode ser um instrumento para indicar a presença de linfonodos acometidos [28]. As células tumorais circulantes são danificadas por fatores imunes e trauma mecânico quando presentes na microcirculação sanguínea. Porém, quando cobertas por plaquetas a intensidade do dano é reduzida [30]. As plaquetas também promovem a angiogênese ao secretar fator vascular de crescimento endotelial (VEGF). Logo, entende-se que as plaquetas têm papel carcinogênico e quanto maior o seu valor, mais intensos serão esses efeitos. Clinicamente, observa-se como fenômenos paraneoplásicos a trombose e a embolia. A plaquetose se relaciona com estádios mais avançados de neoplasia gástrica, com valores aumentando em tumores mais avançados e no acometimento linfonodal [31]. A PLR reflete esse estado de plaquetose e eventual linfopenia e seu alto valor, assim com o NLR, se relaciona com pior prognóstico em determinadas neoplasias incluindo o câncer gástrico [31,32]. Dados revisados em meta-análises sugerem que uma alta relação plaquetas:linfócitos prediz maior risco de metástase linfonodal e invasão serosa, com consequente estadiamento mais avançado. Como já dito, não há consenso na literatura sobre os valores de cutoff do NLR e PLR. Alguns estudos utilizam a curva ROC para determinar o valor mais fidedigno. A comparação entre o valor prognóstico do NLR e do PLR já foi tema de estudo que concluiu que somente o NLR relaciona-se com menor sobrevida global no câncer gástrico ressecado [33].

#### Hipótese:

as razões NLR e PLR têm relação com a sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de recidiva em pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo.

#### Objetivo Primário:

Objetivo primário: Avaliar se as razões NLR e PLR se relacionam com a sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de recidiva em pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intuito curativo.

#### Objetivo Secundário:

Identificar fatores de risco epidemiológicos (ex.: sexo, idade) para alta relação NLR e PLR. Avaliar se a queda do NLR e PLR a partir do 30º pós-operatório comparado com o valor pré-operatório indica menor taxa de recidiva e maior sobrevida livre de doença. Avaliar se a trombocitose é relacionada com estádios mais avançados. Avaliar se os valores NLR e PLR estão relacionados com maior morbi-mortalidade até o 30º pós-operatório. Avaliar se o status nutricional (demonstrado pelo valor de albumina sérica) influencia nos valores NLR e PLR. Avaliar a relação entre NLR e PLR com o estadiamento patológico (TNM).

#### Metodologia Proposta:

População Serão estudados retrospectivamente 550 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma gástrico comprovado por análise histológica submetidos à gastrectomia com linfadenectomia com intuito curativo no Instituto do Câncer do Estado de S. Paulo (ICESP) entre os anos de 2009 a 2017. Exames laboratoriais Serão revisados resultados de exames laboratoriais realizados após a confirmação diagnóstica e antes de qualquer tipo de intervenção terapêutica, como cirurgia ou quimioterapia neoadjuvante. Sabe-se que a cirurgia exacerba a resposta inflamatória sistêmica e que a quimioterapia pode suprimi-la. Logo, o cuidado em se analisar exames em pacientes sem nenhum tipo de tratamento prévio visa impedir a interferência de fatores externos no status inflamatório basal do paciente. Resultados de hemograma completo, especificamente o número total de linfócitos, neutrófilos e plaquetas serão revisados e será calculada a relação plaquetas:linfócitos e neutrófilos:linfócitos.

. Coleta de dados

Será utilizado banco de dados bom projeto já aprovado pelo Comitê de Ética do ICESP Registro no núcleo de pesquisa: NP 993/16 Registro na plataforma Brasil: CAAE: 62915516.2.0000.0065

#### Critério de Inclusão:

Serão incluídos pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à ressecção com intuito curativo.

#### Critério de Exclusão:

Submetidos à neoadjuvância  
Com doença inicial metastática  
Sem exames laboratoriais completos ao diagnóstico

#### Riscos:

Não há riscos diretos para os participantes de pesquisa, pois trata-se de um estudo retrospectivo

#### Benefícios:

Não há benefícios diretos para os participantes de pesquisa, pois trata-se de um estudo retrospectivo

#### Metodologia de Análise de Dados:

Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017

Nome do Arquivo: PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_966793.pdf

Versão do Projeto: 1

Rudolph K. Hepatocellular Carcinoma: Epidemiology and Molecular Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007;132: 2557–2576. 9. Itzkowitz SH. Inflammation and Cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *AJP: Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2004;287: G7–G17. 10. Bryant T. Remarks on Some Cases of Inflammation of the Breast Simulating Cancer. *Br Med J*. 1868;2: 608–609. 11. Robinson SC, Coussens LM. Soluble Mediators of Inflammation During Tumor Development. *Advances in Cancer Research*. 2005. pp. 159–187. 12. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420: 860–867. 13. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357: 539–545. 14. Flier JS, Underhill LH, Dvorak HF. Tumors: Wounds That Do Not Heal. *N Engl J Med*. 1986;315: 1650–1659. 15. Rous P, Kidd JG. CONDITIONAL NEOPLASMS AND SUBTHRESHOLD NEOPLASTIC STATES: A STUDY OF THE TAR TUMORS OF RABBITS. *J Exp Med*. 1941;73: 365–390. 16. Mackenzie I, Rous P. THE EXPERIMENTAL DISCLOSURE OF LATENT NEOPLASTIC CHANGES IN TARRIED SKIN. *J Exp Med*. 1941;73: 391–416. 17. Mishalian I, Bayuh R, Levy L, Zolotarov L, Michaeli J, Fridlender ZG. Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression. *Cancer Immunol Immunother*. 2013;62: 1745–1756. 18. Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene*. 2008;27: 5904–5912. 19. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, Balmer SM, Fletcher CD, O'Reilly DSJ, et al. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer*. 2011;47: 2633–2641. 20. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, Angerson WJ, Dagg K, Scott HR. A prospective longitudinal study of performance status, an inflammation-based score (GPS) and survival in patients with inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2005;92: 1834–1836. 21. Roubin R, Césarini JP, Fridman WH, Pavie-Fischer J, Peter HH. Characterization of the mononuclear cell infiltrate in human malignant melanoma. *Int J Cancer*. 1975;16: 61–73. 22. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol*. 1985;134: 230–234. 23. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GAP, Meijer C, Mulder NH. Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis*. 2003;6: 283–287. 24. Granot Z, Jablonska J. Distinct Functions of Neutrophil in Cancer and Its Regulation. *Mediators Inflamm*. 2015;2015: 701067. 25. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88: 218–230. 26. Hirashima M, Higuchi S, Sakamoto K, Nishiyama T, Okada H. The ratio of neutrophils to lymphocytes and the phenotypes of neutrophils in patients with early gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998;124: 329–334. 27. Wang SC, Chou JF, Strong VE, Brennan MF, Capanu M, Coit DG. Pretreatment Neutrophil to Lymphocyte Ratio Independently Predicts Disease-specific Survival in Resectable Gastroesophageal Junction and Gastric Adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2016;263: 292–297. 28. Lou N, Zhang L, Chen X-D, Pang W-Y, Arvine C, Huang Y-P, et al. A novel scoring system associating with preoperative platelet/lymphocyte and clinicopathologic features to predict lymph node metastasis in early gastric cancer. *J Surg Res*. 2016;209: 153–161. 29. Lian L, Xia Y-Y, Zhou C, Shen X-M, Li X-L, Han S-G, et al. Application of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratios in early diagnosis and prognostic prediction in patients with resectable gastric cancer. *Cancer Biomark*. 2015;15: 899–907. 30. Shou L-M, Zhang Q-Y, Li W, Xie X, Chen K, Lian L, et al. Cantharidin and norcantharidin inhibit the ability of MCF-7 cells to adhere to platelets via protein kinase C pathway-dependent downregulation of 2 integrin. *Oncol Rep*. 2013;30: 1059–1066. 31. Heras P, Hatzopoulos A, Kritikos N, Kritikos K. Platelet count and tumor progression in gastric cancer patients. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45: 1005–1006. 32. Pang W, Lou N, Jin C, Hu C, Arvine C, Zhu G, et al. Combination of preoperative platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte rates and tumor-related factors to predict lymph node metastasis in patients with gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016;28: 493–502. 33. Kim EY, Lee JW, Yoo HM, Park CH, Song KY. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio Versus Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio: Which is Better as a Prognostic Factor in Gastric Cancer? *Ann Surg Oncol*. 2015;22: 4363–4370.

#### Upload de Documentos

##### Arquivo Anexos:

Tipo	Arquivo
Folha de Rosto	FolhaRosto.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPesquisa.docx
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.pdf
Outros	AnexoII.pdf
Outros	Aprovacao_ICESP.pdf

##### Finalizar

Manter sigilo da íntegra do projeto de pesquisa:  Sim

Prazo: Até a publicação dos resultados

Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017

Nome do Arquivo: PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_966793.pdf

Versão do Projeto: 1

O valor de cutoff do NLR será calculado através da Receiving operator characteristic (ROC curve). A curva será construída atribuindo-se a sensibilidade e especificidade para cada valor de corte do NLR; a razão com máxima sensibilidade e especificidade indicará o cutoff adequado. Para análise de sobrevida global será realizada curva de Kaplan-Meier com 2 grupos a serem determinados pelo cutoff. As relações entre NLR e características clínico-patológicas serão analisadas através do teste t de student.

**Desfecho Primário:**

sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de recidiva

**Desfecho Secundário:**

Taxa do NLR e PLR no pré-operatório  
Taxa do NLR e PLR a partir do 30º pós-operatório  
Status nutricional  
Estadiamento patológico (TNM).

**Tamanho da Amostra no Brasil:** 550

**Países de Recrutamento**

País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	550

**Outras Informações****Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?**

Sim

**Detalhamento:**

análise de prontuários

**Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:**

550

**Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro**

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
pacientes operados por adenocarcinoma gástrico	550	Análise retrospectiva de prontuários e banco de dados

**O Estudo é Multicêntrico no Brasil?**

Não

**Propõe dispensa do TCLE?**

Sim

**Justificativa:**

Pois trata-se de um estudo retrospectivo, onde serão analisados dados de prontuários de pacientes submetidos à gastrectomia com intuito curativo por adenocarcinoma gástrico no ICESP

**Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?**

Não

**Cronograma de Execução**

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
publicação dos resultados	10/05/2018	10/08/2018
Seleção dos casos	10/09/2017	10/03/2018
Análise dos resultados	10/03/2018	10/05/2018

**Orçamento Financeiro**

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R\$)
Coleta de dados	Outros	R\$ 1.000,00
Total em R\$		R\$ 1.000,00

**Bibliografia:**

Parkin DM, Läärrä E, Muir CS. Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. Int J Cancer. 1988;41: 184–197. 2. &NA, &NA Helicobacter pylori Infection and the Development of Gastric Cancer. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2001;13: 1395. 3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015;136: E359–86. 4. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015;65: 87–108. 5. Kwon SJ. Evaluation of the 7th UICC TNM Staging System of Gastric Cancer. J Gastric Cancer. 2011;11: 78. 6. Kuper H, Adami H-O, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. J Intern Med. 2001;249: 61–74. 7. El-Awady MK, Gad YZ, Wen Y, Eassawi M, Effat L, Amr KS, et al. Schistosoma hematobium soluble egg antigens induce proliferation of urothelial and endothelial cells. World J Urol. 2001;19: 263–266. 8. El-Serag HB, Lenhard

Data de Submissão do Projeto: 12/09/2017

Nome do Arquivo: PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_966793.pdf

Versão do Projeto: 1

## **8 REFERÊNCIAS**

1. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
3. Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiol Rev*. 1986;8:1-27.
4. Balakrishnan M, George R, Sharma A, Graham DY. Changing trends in stomach cancer throughout the world. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017;19(8):36.
5. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer de estômago [internet]. 2019 jul 24 [acesso em 2019 ago 29]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-estomago>.
6. Zhang X, Li M, Chen S, Hu J, Guo Q, Liu R, Zheng H, Jin Z, Yuan Y, Xi Y, Hua B. Endoscopic screening in asian countries is associated with reduced Gastric cancer mortality: a meta-analysis and systematic review. *Gastroenterology*. 2018;155(2):347-54.

7. Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Surg Oncol*. 2013;107(3):230-6.
8. Pharoah PD, Guilford P, Caldas C, International Gastric Cancer Linkage C. Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology*. 2001;121(6):1348-53.
9. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261-8.
10. Schulz C, Schutte K, Malfertheiner P. Rare Neoplasia of the stomach. *Gastrointest Tumors*. 2015;2(2):52-60.
11. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(3):251-61.
12. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sorensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1375-83.

13. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*. 2014;513(7517):202-9.
14. Pereira MA, Ramos M, Faraj SF, Dias AR, Yagi OK, Zilberstein B, Ceconello I, Alves VAF, de Mello ES, Ribeiro U Jr. Clinicopathological and prognostic features of Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2018 Apr;117(5):829-39.
15. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP.. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-9.
16. Sano T, Sasako M, Yamamoto S, Nashimoto A, Kurita A, Hiratsuka M, Tsujinaka T, Kinoshita T, Arai K, Yamamura Y, Okajima K. Gastric cancer surgery: morbidity and mortality results from a prospective randomized controlled trial comparing D2 and extended para-aortic lymphadenectomy--Japan Clinical Oncology Group study 9501. *J Clin Oncol*. 2004;22(14):2767-73.
17. Bourke MJ, Neuhaus H, Bergman JJ. Endoscopic Submucosal dissection: indications and application in western endoscopy practice. *Gastroenterology*. 2018;154(7):1887-900.

18. Ronellenfitsch U, Schwarzbach M, Hofheinz R, Kienle P, Kieser M, Slinger TE, Jensen K; GE Adenocarcinoma Meta-analysis Group. Perioperative chemo(radio)therapy versus primary surgery for resectable adenocarcinoma of the stomach, gastroesophageal junction, and lower esophagus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(5):CD008107.
19. Japanese Gastric Cancer Association Registration Committee, Maruyama K, Kaminishi M, Hayashi K, Isobe Y, Honda I, Katai H, Arai K, Kodera Y, Nashimoto A. Gastric cancer treated in 1991 in Japan: data analysis of nationwide registry. *Gastric Cancer.* 2006;9(2):51-66.
20. Kwee RM, Kwee TC. Predicting lymph node status in early gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2008;11(3):134-48.
21. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, Leibowitz-Amit R, Sonpavde G, Knox JJ, Tran B, Tannock IF, Amir E. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(6):dju124.
22. Templeton AJ, Ace O, McNamara MG, Al-Mubarak M, Vera-Badillo FE, Hermanns T, Seruga B, Ocaña A, Tannock IF, Amir E. Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(7):1204-12.
23. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.



24. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
25. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*. 1986;315(26):1650-9.
26. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med*. 2000;248(3):171-83.
27. Bernstein CN, Blanchard JF, Kliewer E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer*. 2001;91(4):854-62.
28. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007;132(7):2557-76.
29. Badawi AF, Mostafa MH, Probert A, O'Connor PJ. Role of schistosomiasis in human bladder cancer: evidence of association, aetiological factors, and basic mechanisms of carcinogenesis. *Eur J Cancer Prev*. 1995;4(1):45-59.
30. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med*. 2001;345(11):784-9.
31. Pajceki D, Zilberstein B, dos Santos MA, Quintanilha AG, Ceconello I, Gama-Rodrigues J. Megaesophagus microbiota and carcinogenesis. *Arq Gastroenterol*. 2003;40(1):16-9.

32. Koehne CH, Dubois RN. COX-2 inhibition and colorectal cancer. *Semin Oncol.* 2004;31(2 Suppl 7):12-21.
33. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.
34. Witz IP. Yin-yang activities and vicious cycles in the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2008;68(1):9-13.
35. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008;454(7203):436-44.
36. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(1):24-37.
37. Bhowmick NA, Moses HL. Tumor-stroma interactions. *Curr Opin Genet Dev.* 2005;15(1):97-101.
38. Witz IP, Levy-Nissenbaum O. The tumor microenvironment in the post-PAGET era. *Cancer Lett.* 2006;242(1):1-10.
39. Yuan J, Glazer PM. Mutagenesis induced by the tumor microenvironment. *Mutat Res.* 1998;400(1-2):439-46.
40. Bindra RS, Glazer PM. Genetic instability and the tumor microenvironment: towards the concept of microenvironment-induced mutagenesis. *Mutat Res.* 2005;569(1-2):75-85.
41. Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(1):38-47.

42. Hida K, Klagsbrun M. A new perspective on tumor endothelial cells: unexpected chromosome and centrosome abnormalities. *Cancer Res.* 2005;65(7):2507-10.
43. Streubel B, Chott A, Huber D, Exner M, Jager U, Wagner O, Schwarzingler I. Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. *N Engl J Med.* 2004;351(3):250-9.
44. Ocana A, Nieto-Jimenez C, Pandiella A, Templeton AJ. Neutrophils in cancer: prognostic role and therapeutic strategies. *Mol Cancer.* 2017;16(1):137.
45. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002;420(6917):860-7.
46. Compton C. Precision medicine core: progress in prognostication-populations to patients. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(2):349-50.
47. In H, Solsky I, Palis B, Langdon-Embry M, Ajani J, Sano T. Validation of the 8th Edition of the AJCC TNM Staging System for Gastric Cancer using the National Cancer Database. *Ann Surg Oncol.* 2017;24(12):3683-91.
48. Amri R, England J, Bordeianou LG, Berger DL. Risk stratification in patients with stage II colon cancer. *Ann Surg Oncol.* 2016;23(12):3907-14.
49. Baniak N, Senger JL, Ahmed S, Kanthan SC, Kanthan R. Gastric biomarkers: a global review. *World J Surg Oncol.* 2016;14(1):212.

- 
50. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463-6.
  51. Dolan RD, Lim J, McSorley ST, Horgan PG, McMillan DC. The role of the systemic inflammatory response in predicting outcomes in patients with operable cancer: Systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):16717.
  52. Coffelt SB, Wellenstein MD, de Visser KE. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(7):431-46.
  53. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*. 2010;33(5):657-70.
  54. Dancey JT, Deubelbeiss KA, Harker LA, Finch CA. Neutrophil kinetics in man. *J Clin Invest*. 1976;58(3):705-15.
  55. Semerad CL, Liu F, Gregory AD, Stumpf K, Link DC. G-CSF is an essential regulator of neutrophil trafficking from the bone marrow to the blood. *Immunity*. 2002;17(4):413-23.
  56. Strauss L, Sangaletti S, Consonni FM, Szebeni G, Morlacchi S, Totaro MG, Porta C, Anselmo A, Tartari S, Doni A, Zitelli F, Tripodo C, Colombo MP, Sica A. RORC1 regulates tumor-promoting "emergency" granulomonocytopoiesis. *Cancer Cell*. 2015;28(2):253-69.

57. Knaapen AM, Gungor N, Schins RP, Borm PJ, Van Schooten FJ. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*. 2006;21(4):225-36.
58. Houghton AM, Rzymkiewicz DM, Ji H, Gregory AD, Egea EE, Metz HE, Stolz DB, Land SR, Marconcini LA, Kliment CR, Jenkins KM, Beaulieu KA, Mouded M, Frank SJ, Wong KK, Shapiro SD. Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med*. 2010;16(2):219-23.
59. Karadayi N, Kandemir NO, Yavuzer D, Korkmaz T, Gecmen G, Kokturk F. Inducible nitric oxide synthase expression in gastric adenocarcinoma: impact on lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Diagn Pathol*. 2013;8:151.
60. Viallard C, Larrivee B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*. 2017;20(4):409-26.
61. Liang W, Ferrara N. The Complex Role of Neutrophils in Tumor Angiogenesis and Metastasis. *Cancer Immunol Res*. 2016;4(2):83-91.
62. Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(8):641-54.
63. Lu T, Gabrilovich DI. Molecular pathways: tumor-infiltrating myeloid cells and reactive oxygen species in regulation of tumor microenvironment. *Clin Cancer Res*. 2012;18(18):4877-82.

- 
64. Colotta F, Re F, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood*. 1992;80(8):2012-20.
65. Keane MP, Belperio JA, Xue YY, Burdick MD, Strieter RM. Depletion of CXCR2 inhibits tumor growth and angiogenesis in a murine model of lung cancer. *J Immunol*. 2004;172(5):2853-60.
66. Tazzyman S, Barry ST, Ashton S, Wood P, Blakey D, Lewis CE, Murdoch C. Inhibition of neutrophil infiltration into A549 lung tumors in vitro and in vivo using a CXCR2-specific antagonist is associated with reduced tumor growth. *Int J Cancer*. 2011;129(4):847-58.
67. Yang L, DeBusk LM, Fukuda K, Fingleton B, Green-Jarvis B, Shyr Y, Matrisian LM, Carbone DP, Lin PC. Expansion of myeloid immune suppressor Gr<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis. *Cancer cell*. 2004;6(4):409-21.
68. Yan Y, Zhang J, Li JH, Liu X, Wang JZ, Qu HY, Wang JS, Duan XY. High tumor-associated macrophages infiltration is associated with poor prognosis and may contribute to the phenomenon of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Onco Targets Ther*. 2016;9:3975-83.
69. Raiha MR, Puolakkainen PA. Tumor-associated macrophages (TAMs) as biomarkers for gastric cancer: a review. *Chronic Dis Transl Med*. 2018;4(3):156-63.

- 
70. Mildner A, Jung S. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*. 2014;40(5):642-56.
71. Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer*. 1975;16(2):216-29.
72. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*. 2004;10(9):942-9.
73. Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, van der Bruggen P, Van Pel A. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:337-65.
74. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007;121(1):1-14.
75. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors. The first theories. *Oncotarget*. 2017;8(4):7175-80.
76. Mortaz E, Tabarsi P, Mansouri D, Khosravi A, Garssen J, Velayati A, Adcock IM. Cancers related to immunodeficiencies: update and perspectives. *Front Immunol*. 2016;7:365.

- 
77. Saito T, Kuss I, Dworacki G, Gooding W, Johnson JT, Whiteside TL. Spontaneous ex vivo apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 1999;5(6):1263-73.
  78. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol.* 1985;134(1):230-4.
  79. Bobb GA, Fairchild EJ. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as indicator of ozone exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1967;11(3):558-64.
  80. Varenko Iu S, Lekakh VA, Shidlovskaia MP. Significance of the ratio of blood lymphocytes to polymorphonuclear neutrophils in pneumonia and bronchitis patients. *Vrach Delo.* 1985;(8):102-3.
  81. Hirashima M, Higuchi S, Sakamoto K, Nishiyama T, Okada H. The ratio of neutrophils to lymphocytes and the phenotypes of neutrophils in patients with early gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1998;124(6):329-34.
  82. Tamhane UU, Aneja S, Montgomery D, Rogers EK, Eagle KA, Gurm HS. Association between admission neutrophil to lymphocyte ratio and outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol.* 2008;102(6):653-7.
  83. Ahsen A, Ulu MS, Yuksel S, Demir K, Uysal M, Erdogan M, Acarturk G. As a new inflammatory marker for familial Mediterranean fever: neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Inflammation.* 2013;36(6):1357-62.



- 
84. Akil E, Bulut A, Kaplan I, Ozdemir HH, Arslan D, Aluclu MU. The increase of carcinoembryonic antigen (CEA), high-sensitivity C-reactive protein, and neutrophil/lymphocyte ratio in Parkinson's disease. *Neurol Sci.* 2015;36(3):423-8.
  85. Castro E, Lozano R, Olmos D. Neutrophil to lymphocyte ratio: another drop in the ocean of CRPC biomarkers? *Ann Oncol.* 2015;26(4):622-3.
  86. Roxburgh CS, McMillan DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. *Future Oncol.* 2010;6(1):149-63.
  87. Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S, Ishiwata R, Nagai Y, Fukushima M. The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in advanced gastric cancer. *Oncology.* 2007;73(3-4):215-20..
  88. Wang SC, Chou JF, Strong VE, Brennan MF, Capanu M, Coit DG. Pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio independently predicts disease-specific survival in resectable gastroesophageal junction and gastric adenocarcinoma. *Ann Surg.* 2016;263(2):292-7.
  89. Szor DJ, Dias AR, Pereira MA, Ramos M, Zilberstein B, Ceconello I, Ribeiro-Júnior U. Prognostic role of neutrophil/lymphocyte ratio in resected gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clinics (Sao Paulo).* 2018;73:e360.

- 
90. Mellor KL, Powell A, Lewis WG. Systematic review and meta-analysis of the prognostic significance of neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) after R0 gastrectomy for cancer. *J Gastrointest Cancer*. 2018;49(3):237-44.
  91. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). *Gastric Cancer*. 2017;20(1):1-19.
  92. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-83.
  93. Owens WD, Felts JA, Spitznagel EL, Jr. ASA physical status classifications: a study of consistency of ratings. *Anesthesiology*. 1978;49(4):239-43.
  94. Powell A, Parkinson D, Patel N, Chan D, Christian A, Lewis WG. Prognostic significance of serum inflammatory markers in gastric cancer. *J Gastrointest Sur*. 2018;22(4):595-605.
  95. Gao Y, Huang D. The value of the systematic inflammation-based Glasgow Prognostic Score in patients with gastric cancer: a literature review. *J Cancer Res Ther*. 2014;10(4):799-804.
  96. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2005;91(3):181-4.

- 
97. Fruchtenicht AVG, Poziomyck AK, Reis AMD, Galia CR, Kabke GB, Moreira LF. Inflammatory and nutritional statuses of patients submitted to resection of gastrointestinal tumors. *Rev Col Bras Cir.* 2018;45(2):e1614.
  98. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, Balmer SM, Fletcher CD, O'Reilly DS, Foulis AK, Horgan PG, McMillan DC. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer.* 2011;47(17):2633-41.
  99. Wang DS, Ren C, Qiu MZ, Luo HY, Wang ZQ, Zhang DS, Wang FH, Li YH, Xu RH. Comparison of the prognostic value of various preoperative inflammation-based factors in patients with stage III gastric cancer. *Tumour Biol.* 2012;33(3):749-56.
  100. Guthrie GJ, Charles KA, Roxburgh CS, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;88(1):218-30.
  101. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006;12(3):354-62.
  102. Guner A, Kim SY, Yu JE, Min IK, Roh YH, Roh C, Seo WJ, Cho M, Choi S, Choi YY, Son T, Cheong JH, Hyung WJ, Noh SH, Kim HI. Parameters for predicting surgical outcomes for gastric cancer patients: simple is better than complex. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(11):3239-47.

103. Onodera H, Tokunaga A, Yoshiyuki T, Kiyama T, Kato S, Matsukura N, Masuda G, Tajiri T. Surgical outcome of 483 patients with early gastric cancer: prognosis, postoperative morbidity and mortality, and gastric remnant cancer. *Hepatogastroenterology*. 2004;51(55):82-5.
104. Forman D, Burley VJ. Gastric cancer: global pattern of the disease and an overview of environmental risk factors. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006;20(4):633-49.
105. Ramos M, Pereira MA, Yagi OK, Dias AR, Charruf AZ, Oliveira RJ, Zaidan EP, Zilberstein B, Ribeiro-Júnior U, Cecconello I. Surgical treatment of gastric cancer: a 10-year experience in a high-volume university hospital. *Clinics (Sao Paulo)*. 2018;73(suppl 1):e543s.
106. Ichikura T, Ogawa T, Chochi K, Kawabata T, Sugasawa H, Mochizuki H. Minimum number of lymph nodes that should be examined for the International Union Against Cancer/American Joint Committee on Cancer TNM classification of gastric carcinoma. *World J Surg*. 2003;27(3):330-3.
107. Lee JS, Kim NY, Na SH, Youn YH, Shin CS. Reference values of neutrophil-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in healthy adults in South Korea. *Medicine*. 2018;97(26):e11138.
108. Azab B, Camacho-Rivera M, Taioli E. Average values and racial differences of neutrophil lymphocyte ratio among a nationally representative sample of United States subjects. *PloS One*. 2014;9(11):e112361.

109. Wu Y, Jiang M, Qin Y, Lin F, Lai M. Single and combined use of neutrophil-lymphocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio and carcinoembryonic antigen in diagnosing gastric cancer. *Clin Chim Acta*. 2018;481:20-4.
110. Pisu M, Henrikson NB, Banegas MP, Yabroff KR. Costs of cancer along the care continuum: What we can expect based on recent literature. *Cancer*. 2018;124(21):4181-91.
111. Associação Médica Brasileira. Classificação Brasileira Hierarquizada de Procedimentos Médicos [internet]. 2018 [acesso em 2019 abr 29]. Disponível em: <https://amb.org.br/cbhpm/>.
112. Markle JG, Fish EN. Sex matters in immunity. *Trends Immunol*. 2014;35(3):97-104.
113. Zhang Y, Tounekti O, Akerman B, Goodyer CG, LeBlanc A. 17-beta-estradiol induces an inhibitor of active caspases. *J Neurosci*. 2001;21(20):RC176.
114. Chandra S, Tripathi AK, Mishra S, Amzarul M, Vaish AK. Physiological changes in hematological parameters during pregnancy. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2012;28(3):144-6.
115. Gubbels Bupp MR. Sex, the aging immune system, and chronic disease. *Cell Immunol*. 2015;294(2):102-10.

- 
116. Chen Y, Zhang Y, Zhao G, Chen C, Yang P, Ye S, Tan X. Difference in leukocyte composition between women before and after menopausal age, and distinct sexual dimorphism. *PloS One*. 2016;11(9):e0162953.
117. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(5):700-13.
118. Zhang Y, Lu JJ, Du YP, Feng CX, Wang LQ, Chen MB. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in gastric cancer. *Medicine*. 2018;97(12):e0144.
119. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
120. Furuncuoğlu Y, Tulgar S, Dogan AN, Cakar S, Tulgar YK, Cakiroglu B. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(7):1300-6.
121. Bahadır A1, Baltacı D, Türker Y, Türker Y, Iliev D, Öztürk S, Deler MH, Sarıgüzel YC. Is the neutrophil-to-lymphocyte ratio indicative of inflammatory state in patients with obesity and metabolic syndrome? *Anatol J Cardiol*. 2015;15(10):816-22.
122. Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele G, Jr., Winchester D, Osteen R. Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. *Ann Surg*. 1993;218(5):583-92.

123. Erpenbeck L, Schon MP. Deadly allies: the fatal interplay between platelets and metastasizing cancer cells. *Blood*. 2010;115(17):3427-36.
124. Menter DG, Tucker SC, Kopetz S, Sood AK, Crissman JD, Honn KV. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev*. 2014;33(1):231-69.
125. Levin J, Conley CL. Thrombocytosis associated with malignant disease. *Arch Int Med*. 1964;114:497-500.
126. Costantini V, Zacharski LR, Moritz TE, Edwards RL. The platelet count in carcinoma of the lung and colon. *Thromb Haemost.*. 1990;64(4):501-5.
127. Hernandez E, Lavine M, Dunton CJ, Gracely E, Parker J. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with cervical cancer. *Cancer*. 1992;69(12):2975-7.
128. Ikeda M, Furukawa H, Imamura H, Shimizu J, Ishida H, Masutani S, Tatsuta M, Satomi T. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2002;9(3):287-91.
129. Hwang SG, Kim KM, Cheong JH, Kim HI, An JY, Hyung WJ, Noh SH. Impact of pretreatment thrombocytosis on blood-borne metastasis and prognosis of gastric cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2012;38(7):562-7.
130. Li FX, Wei LJ, Zhang H, Li SX, Liu JT. Significance of thrombocytosis in clinicopathologic characteristics and prognosis of gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(16):6511-7.

131. Pedersen LM, Milman N. Prognostic significance of thrombocytosis in patients with primary lung cancer. *Eur Resp J*. 1996;9(9):1826-30.
132. Symbas NP, Townsend MF, El-Galley R, Keane TE, Graham SD, Petros JA. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2000;86(3):203-7.
133. Oh SE, Seo JE, An JY, Lee JH, Sohn TS, Bae JM, Kim S, Choi MG. Prognostic Impact of Increased Perioperative Platelet Count in Gastric Cancer Patients. *J Surg Res*. 2019;242:296-303.
134. Wang YH, Kang JK, Zhi YF, Zhang Y, Wang ZQ, Zhou Q, Niu WY, Ma MJ. The pretreatment thrombocytosis as one of prognostic factors for gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg*. 2018 May;53:304-11.
135. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, Rupairmoole R, Armaiz-Pena GN, Pecot CV, Coward J, Deavers MT, Vasquez HG, Urbauer D, Landen CN, Hu W, Gershenson H, Matsuo K, Shahzad MM, King ER, Tekedereli I, Ozpolat B, Ahn EH, Bond VK, Wang R, Drew AF, Gushiken F, Lamkin D, Collins K, DeGeest K, Lutgendorf SK, Chiu W, Lopez-Berestein G, Afshar-Kharghan V, Sood AK. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *New Engl J Medicine*. 2012;366(7):610-8.
136. Timar J, Tovari J, Raso E, Meszaros L, Bereczky B, Lapis K. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance. *Oncology*. 2005;69(3):185-201.



- 
137. Xu XR, Yousef GM, Ni H. Cancer and platelet crosstalk: opportunities and challenges for aspirin and other antiplatelet agents. *Blood*. 2018;131(16):1777-89.
138. Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, Haraguchi Y, Saku M, Sugimachi K. Improvements in diagnosis have changed the incidence of histological types in advanced gastric cancer. *Br J Cancer*. 1995;72(2):424-6.
139. Jiang N, Deng JY, Liu Y, Ke B, Liu HG, Liang H. The role of preoperative neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratio in patients after radical resection for gastric cancer. *Biomarkers*. 2014;19(6):444-51.
140. Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Cho A, Miyazaki A, Gunji H, Yamamoto H, Nagata M. High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2010;13(3):170-6.
141. Aizawa M, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Kinoshita T. Predictive value of baseline neutrophil/lymphocyte ratio for T4 disease in wall-penetrating gastric cancer. *World J Surg*. 2011;35(12):2717-22.
142. Chen J, Hong D, Zhai Y, Shen P. Meta-analysis of associations between neutrophil-to-lymphocyte ratio and prognosis of gastric cancer. *World J Surg*. 2015;13:122.
143. Hsu JT, Liao CK, Le PH, Chen TH, Lin CJ, Chen JS, Chiang KC, Yeh TS. Prognostic value of the preoperative neutrophil to lymphocyte ratio in resectable gastric cancer. *Medicine*. 2015;94(39):e1589.

- 
144. Nakamura N, Kinami S, Fujii Y, Miura S, Fujita J, Kaida D, Tomita Y, Miyata T, Fujita H, Ueda N, Iida Y, Kosaka T. The neutrophil/lymphocyte ratio as a predictor of peritoneal metastasis during staging laparoscopy for advanced gastric cancer: a retrospective cohort analysis. *World J Surg Oncol*. 2019;17(1):108.
145. Jung MR, Park YK, Jeong O, Seon JW, Ryu SY, Kim DY, Kim YJ. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor survival following resection in late stage gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2011;104(5):504-10.
146. Choi Y, Kim JW, Nam KH, Han SH, Kim JW, Ahn SH, Park DJ, Lee KW, Lee HS, Kim HH. Systemic inflammation is associated with the density of immune cells in the tumor microenvironment of gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2017;20(4):602-11.
147. Watson EK, Rose PW, Neal RD, Hulbert-Williams N, Donnelly P, Hubbard G, Elliott J, Campbell C, Weller D, Wilkinson C. Personalised cancer follow-up: risk stratification, needs assessment or both? *Br J Cancer*. 2012;106(1):1-5.
148. Hu D, Zhang H, Lin X, Chen G, Li C, Liang B, Chen Y, Cui Z, Peng F, Zheng X, Niu W. Elevated preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio can predict poor survival in early stage gastric cancer patients receiving radical gastrectomy: The Fujian prospective investigation of cancer (FIESTA) study. *J Cancer*. 2017;8(7):1214-22.

149. Lee DY, Hong SW, Chang YG, Lee WY, Lee B. Clinical significance of preoperative inflammatory parameters in gastric cancer patients. *J Gastric Cancer*. 2013;13(2):111-6.
150. Maruyama K. The most important prognostic factors for gastric cancer patients: a study using univariate and multivariate analyses. *Scan J Gastroenterol*. 1987;22(sup133):63-8.
151. Yu X, Hu F, Li C, Yao Q, Zhang H, Xue Y. Clinicopathologic characteristics and prognosis of proximal and distal gastric cancer. *OncoTargets and therapy*. 2018;11:1037-44. PubMed PMID: 29520154. Pubmed Central PMCID: PMC5833755. Epub 2018/03/10. eng.
152. P Pacelli F, Papa V, Caprino P, Sgadari A, Bossola M, Doglietto GB. Proximal compared with distal gastric cancer: multivariate analysis of prognostic factors. *Am Surg*. 2001;67(7):697-703.
153. Van Cutsem E, Arends J. The causes and consequences of cancer-associated malnutrition. *Eur J Oncol Nurs*. 2005;9(Suppl 2):S51-63.
154. Ataseven B, du Bois A, Reinthaller A, Traut A, Heitz F, Aust S, Prader S, Polterauer S, Harter P, Grimm C. Pre-operative serum albumin is associated with post-operative complication rate and overall survival in patients with epithelial ovarian cancer undergoing cytoreductive surgery. *Gynecol Oncol*. 2015;138(3):560-5.

## **APÊNDICES**

## Apêndice A - Artigo publicado

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed Advanced Search Help

Format Abstract Send to

*J Surg Oncol*. 2018 Apr;117(5):851-857. doi: 10.1002/jso.25036. Epub 2018 Mar 6.

**Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients who underwent potentially curative resection for gastric cancer.**

Szor Du<sup>1</sup>, Roncon Dias A<sup>1</sup>, Pereira MA<sup>1</sup>, Ramos MFKP<sup>1</sup>, Zilberstein B<sup>1</sup>, Cecconello J<sup>1</sup>, Ribeiro U Jr<sup>1</sup>.

**Author information**

1 Cancer Institute, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.

**Abstract**

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** The role of inflammation in cancer development is a well-known phenomenon that may be represented by the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR). The present research intends to determine the impact of NLR on the survival outcome of patients with gastric cancer (GC), and to evaluate its use as a stratification factor for the staging groups.

**METHODS:** Data regarding clinical characteristics, surgery, pathology, and follow-up were retrospectively collected from our single-center prospective database. Blood samples were obtained before surgery.

**RESULTS:** A total of 383 patients (231 males) who underwent gastrectomy with lymphadenectomy were evaluated between 2009 and 2016. NLR established cutoff was 2.44, and patients were divided in NLR  $\geq 2.44$  (hNLR) and  $< 2.44$  (iNLR). hNLR patients (38.4% of the cases) had lower disease-free survival and overall survival (OS) compared to iNLR patients ( $P = 0.047$  and  $P = 0.045$ , respectively). Risk stratification according to NLR value was done in same tumor depth (T4 and  $< T4$ ), stage (III and  $< III$ ) and lymph node status (N+ and N-) group of patients. The OS was significantly lower when NLR was high in same tumor depth ( $P = 0.032$ ) and stage ( $P = 0.020$ ), but not in same lymph node status patients ( $P = 0.184$ ). In a multivariate analysis, NLR was an independent factor of worse OS (HR 1.50 95%CI 1.27-4.21,  $P = 0.048$ ).

**CONCLUSION:** A high NLR was an independent risk factor for reduced survival in GC patients submitted to potentially curative resection. Calculating NLR is easily reproducible and may be incorporated in pre-operative evaluation.

© 2018 Wiley Periodicals, Inc.

**KEYWORDS:** gastrectomy, gastric cancer, neutrophil-lymphocyte ratio

**Full text links**

WILEY Full Text Article

**Save items**

Add to Favorites

**Similar articles**

Prognostic value of preoperative neutrophils to lymphocytes ratio in patients re [Am J Surg. 2015]

The Platelet-to-Lymphocyte Ratio Versus Neutrophil-to-Lymphocyte [Ann Surg Oncol. 2015]

Application of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte rat [Cancer Biomark. 2015]

Pretreatment Neutrophil to Lymphocyte Ratio Independently Predicts Disease [Ann Surg. 2016]

**Review** Systematic Review and Meta-Analysis of the Prognostic Si [J Gastrointest Cancer. 2018]

See reviews... See all...

**Cited by 2 PubMed Central articles**

The preoperative modified Glasgow prognostic score for the predi [Contemp Oncol (Pozn). 2018]

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29509963>>

## Apêndice B - Demais artigos relacionados

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed Advanced Search Help

Format Abstract - Send to -

Clinics (Sao Paulo), 2018;73:e360. doi: 10.6061/clinics/2018/e360. Epub 2018 Jun 18.

**Prognostic Role of Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Resected Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis.**

Szor DJ<sup>1</sup>, Dias AR<sup>1</sup>, Pereira MA<sup>1</sup>, Ramos MFKP<sup>1</sup>, Zilberstein B<sup>1</sup>, Cecconello J<sup>1</sup>, Ribeiro-Junior U<sup>1</sup>.

**Author information**

1 Instituto do Cancer do Estado de Sao Paulo (ICESP), Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, SP, BR.

**Abstract**

High levels of inflammatory markers and the neutrophil-lymphocyte ratio appear to be associated with worse overall survival in solid tumors. However, few studies have analyzed the role of the neutrophil-lymphocyte ratio in gastric cancer patients scheduled to undergo curative resection. In the present study, a systematic review and meta-analysis was performed to analyze the relationship between the neutrophil-lymphocyte ratio and overall survival in patients with gastric cancer submitted to curative resection and to identify the clinicopathological features (age, gender, tumor depth, nodal involvement and tumor differentiation) that are correlated with high neutrophil-lymphocyte ratios. A literature search of PubMed, Scopus, Cochrane and EMBASE through November 2017 was conducted. Articles that included gastric cancer patients submitted to curative resection and preoperative neutrophil-lymphocyte ratio values were included. A total of 7 studies comprising 3264 patients from 5 different countries were included. The meta-analysis revealed an association of high neutrophil-lymphocyte ratios with older age, male gender, lower 5-year overall survival, increased depth of tumor invasion, positive nodal involvement but not with histological differentiation. Evaluation of the neutrophil-lymphocyte ratio is a cost-effective method that is widely available in preoperative settings. Furthermore, it can effectively predict prognosis, as high values of this biomarker are related to more aggressive tumor characteristics. This ratio can also be used to stratify risk in patients within the same disease stage and may be used to assist in individualized follow-up and treatment.

PMID: 29924187 PMCID: PMC5996440 DOI: 10.6061/clinics/2018/e360  
[Indexed for MEDLINE] [Free PMC Article](#)

Full text links  
free full text available at [SciELO.org](#) [PMC Full text](#)

Save items  
Add to Favorites

Similar articles  
Application of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratio [Cancer Biomark. 2015]  
**Review** Systematic Review and Meta-Analysis of the Prognostic Significance of the Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Gastric Cancer [J Gastrointest Cancer. 2018]  
High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer [Gastric Cancer. 2010]  
Prognostic Role of Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Ovarian Cancer [Technol Cancer Res Treat. 2018]  
**Review** Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in biliary tract cancer [Oncotarget. 2017]

See reviews...  
See all...

Cited by 3 PubMed Central articles

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29924187>>

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed Advanced Search Help

Format Abstract - Send to -

J Surg Oncol. 2018 Jun;117(8):1855. doi: 10.1002/jso.25069. Epub 2018 Jun 7.

**Reply to: "Association between neutrophil-lymphocyte ratio and prognosis after potentially curative resection for gastric cancer".**

Szor DJ<sup>1</sup>, Dias AR<sup>1</sup>, Pereira MA<sup>1</sup>, Ramos MFKP<sup>1</sup>, Zilberstein B<sup>1</sup>, Cecconello J<sup>1</sup>, Ribeiro U Jr<sup>1</sup>.

**Author information**

1 Cancer Institute, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.

**Comment on**

Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients who underwent potentially curative resection for gastric cancer. [J Surg Oncol. 2018]

PMID: 29878352 DOI: 10.1002/jso.25069  
[Indexed for MEDLINE]

Full text links  
[WILEY Full Text Article](#)

Save items  
Add to Favorites

Similar articles  
Prognostic Role of Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Resected Gastric Cancer [Clinics (Sao Paulo). 2018]  
The role of preoperative neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratio in gastric cancer [Biomarkers. 2014]  
Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients who underwent curative resection for gastric cancer [J Surg Oncol. 2018]  
**Review** Systematic Review and Meta-Analysis of the Prognostic Significance of the Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Gastric Cancer [J Gastrointest Cancer. 2018]

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29878352>



São Paulo, 26 de agosto de 2019.

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o artigo protocolo *AO-4860: Evolução da relação neutrófilo-linfócito após gastrectomia curativa por câncer gástrico: análise de subgrupos* de autoria de *Daniel José Szor, André Roncon Dias, Marina Alessandra Pereira, Marcus Fernando Kodama Pertille Ramos, Bruno Zilberstein, Ivan Ceconello, Ulysses Ribeiro Junior*, foi aceito para publicação na seção *Artigo Original* em 07/06/2019 e será publicado em uma próxima edição da **einstein** (São Paulo).

Atenciosamente,

Prof. Dr. Sidney Glina  
Editor Responsável

Apêndice C - Trabalhos apresentados

XVI Semana Brasileira do Aparelho Digestivo

**CERTIFICADO** **XVI SBAD**

11 a 15 de novembro de 2017  
CICB | Brasília | DF  
www.sbad2017.com.br

**CERTIFICADO DE MENÇÃO HONROSA**

Conferimos ao trabalho **VALOR PROGNÓSTICO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS/LINFÓCITOS NO CÂNCER GÁSTRICO** dos autores **Daniel José Szor; André Roncon Dias; Marcus Fernando Kodama Pertille Ramos; Bruno Zilberstein; Ulysses Ribeiro Junior; Marina Alessandra Pereira; Ivan Ceconello**; esta menção honrosa em reconhecimento pelo excelente trabalho científico apresentado na modalidade **Tema Livre** durante a XVI Semana Brasileira do Aparelho Digestivo, realizada de 11 de novembro a 15 de novembro de 2017, no Centro Internacional de Convenções do Brasil, em Brasília - DF.

Brasília, 15 de novembro de 2017.

  
**DR. FLAVIO EJIMA**  
Presidente XVI SBAD e Presidente SOBED

  
**DR. FLAVIO QUILICI**  
Presidente FBG

  
**DR. NICOLAU GREGORI CZECKO**  
Presidente CBCD

  
Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva

  
Federacao Brasileira de Gastroenterologia

  
Centro Brasileiro de Colôscopia Digestiva

XVII SEMANA BRASILEIRA DO APARELHO DIGESTIVO

**XVII SBAD**

XXXVI SEMANA PANAMERICANA DE LAS ENFERMEDADES DIGESTIVAS | **XXXVI SPED**

17 a 20 novembro | 2018 | Transamérica Expo Center | São Paulo | SP

**CERTIFICADO**

Conferimos ao trabalho  
**VALOR PROGNÓSTICO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITOS PERIOPERATÓRIA EM PACIENTES COM CÂNCER GÁSTRICO SUBMETIDOS À GASTRECTOMIA CURATIVA**  
dos autores **DANIEL; ANDRE RONCON DIAS; MARINA ALESSANDRA PEREIRA; MARCUS FERNANDO KODAMA PERTILLE RAMOS; BRUNO ZILBERSTEIN; IVAN CECCONELLO; ULYSSES RIBEIRO JUNIOR** a "Menção Honrosa" pelo trabalho apresentado na modalidade Aprovado para Tema Livre - CBCD, durante o XVII Semana Brasileira do Aparelho Digestivo & XXXVI Semana Panamericana de las Enfermedades Digestivas, realizado de 17 a 20 de novembro de 2018 no Transamerica Expo Center em São Paulo/SP.  
São Paulo, 20 de novembro de 2018

  
**FLAVIO ANTONIO QUILICI**  
Presidente da FBG e do XVII SBAD  
Presidente FBG y XVII SBAD

  
**FLAVIO HAYATO EJIMA**  
Presidente do SOBED  
Presidente SOBED

  
**NICOLAU GREGORI CZECKO**  
Presidente do CBCD  
Presidente CBCD

  
**JOSÉ ROBERTO DE ALMEIDA**  
Presidente do OPGE e do XXXVI SPED  
Presidente OPGE y XXXVI SPED

  
**JULIO CARLOS PEREIRA LIMA**  
Presidente do SIED  
Presidente SIED

Realização / Realización








Organização / Organización





**GP3: Neutrophil-lymphocyte Ratio is Associated with Prognosis in Patients who Underwent Potentially Curative Resection for Gastric Cancer**

**DATE & TIME**  
 Thursday, March 22  
 9:30am - 7:30pm

**LOCATION**  
 Global Partner Poster Area, Exhibit Hall D1

**SPEAKERS**  
 **Daniel José Szor, MD**  
 Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo São Paulo, Brazil

**DESCRIPTION**  
 Szor, Daniel José; Roncon Dias, André; Pereira, Marina; Ramos, Marcus; Zilberstein, Bruno; Ceconello, Ivan; Ribeiro Jr, Ulysses.  
 Background and Objectives The role of inflammation in cancer development is a well-known phenomenon that may be represented by the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR). The present research intends to answer whether NLR is an independent factor of overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) and if patients with the same pathological status have different prognosis depending on their NLR level. Methods Data regarding clinical characteristics, surgery, pathology, and follow-up were retrospectively collected from our unicentric prospective database. Blood samples were obtained before surgery. Results 423 patients (245 males) submitted to D1 or D2 gastrectomy were evaluated between 2009 and 2016. NLR established cutoff was 2.44 and patients were divided in NLR  $\geq$ 2.44 (nNLR) and

