

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

LEONARDO FLEURY ORLANDINI

Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos.



Ribeirão Preto

2021

LEONARDO FLEURY ORLANDINI

Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos.

Aluno: Leonardo Fleury Orlandini

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi

Ribeirão Preto

2021

LEONARDO FLEURY ORLANDINI

Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos.

Versão original

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Tocoginecologia

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi

Ribeirão Preto

2021

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Orlandini, Leonardo Fleury

Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos. / Leonardo Fleury Orlandini. - Ribeirão Preto. - 2020.

98 p.: il.

Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi.

1. Câncer de mama. 2. Obesidade. 3. Índice de massa corpórea
4. Relação neutrófilos/linfócitos 5. Relação plaquetas/linfócitos
I. Título. II. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da

Leonardo Fleury Orlandini

Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de concentração: Tocoginecologia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

A minha esposa Maria Renata pelo apoio incondicional durante os anos de realização desse trabalho, e pela compreensão durante os momentos que estive ausente.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, **Ademar** e **Patrícia**, por tantas oportunidades, conselhos e exemplos de como levar a vida de forma mais leve.

A minha família **Maria Renata** e **Rafaela**, por serem o porto seguro, onde é possível encontrar a paz e a tranquilidade durante momentos de cansaço e incertezas.

Ao Prof. **Dr. Daniel Guimarães Tiezzi**, meu orientador, pela oportunidade em realizar esse projeto, pela acessibilidade e generosidade com que sempre me recebeu em Ribeirão Preto, e por me permitir algumas experiências na pós-graduação que, com certeza, transformaram a minha visão acadêmica.

A amiga **Dra. Larissa Raquel Mouro Mandarano**, por ter realizado o primeiro contato com o Dr. Daniel e, em grande medida, ter possibilitado a realização do meu doutorado.

Ao **Dr. Franklin Fernandes Pimentel** pelas diversas considerações em relação ao trabalho e apresentações, e pela disponibilidade em ajudar sempre. Muito obrigado.

Ao Prof. **Dr. Omero Poli Neto** por ter participado da banca de qualificação e feito diversas sugestões e críticas ao projeto.

A Prof. **Dra. Patricia Maluf Cury** por ter sido minha primeira orientadora na iniciação científica, pelo exemplo de pesquisadora, e pelo incentivo em seguir para a pós-graduação, além de contribuir com críticas e sugestões acerca desta tese.

Aos grandes amigos **Gustavo** e **Nathália** pela amizade e companhia, e por abrirem a casa para me receber durante tantos finais de semana.

Aos funcionários do Serviço de arquivo médico (SAME) do Hospital das Clínicas, em especial a Carmen e Jandaci, por me ajudarem com a separação e organização dos prontuários, e entender as dificuldades decorrentes de eu não estar morando em Ribeirão Preto.

A todas as pacientes do HC que nos forneceram os dados, e em especial, as minhas pacientes do Hospital do Câncer de Ourinhos, a quem dedico boa parte do meu tempo e me motivam a evoluir.

A **Alexandra Elbakyan**, pela ousadia em idealizar uma ciência democrática e acessível, cujo trabalho foi de importância inestimável a realização desta tese.

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP e seu Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, pela oportunidade em realizar minha pós-graduação e possibilidade de ter acesso a alguns de seus renomados professores.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) por meio do Programa de Excelência Acadêmica (PROEX).

“The clinician, no matter how venerable, must accept the fact that experience, volumous as it might be, cannot be employed as a sensitive indicator of scientific validity in therapeutics.”

“O médico, por mais venerável que seja, deve aceitar o fato de que a experiência, por mais volumosa que seja, não pode ser utilizada como um indicador sensível de validade científica”

*Bernard Fisher**

* Fisher B. A commentary on the role of the surgeon in primary breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 1981;1:17-26.

RESUMO

ORLANDINI, L. F. **Associação entre câncer de mama e obesidade, e influência de dois biomarcadores inflamatórios no prognóstico de câncer de mama nesta população, a relação neutrófilo/linfócito e plaquetas/linfócitos.** 2021. 98 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Obesidade tem sido associada a um aumento de risco para desenvolvimento de câncer de mama, além de maior recorrência e mortalidade por esta neoplasia. Alguns biomarcadores séricos associados a inflamação sistêmica, por serem de baixo custo e fácil aquisição, têm sido estudados como fatores prognóstico em pacientes com câncer, entre eles a relação neutrófilo/linfócito (NLR) e a relação plaquetas/linfócitos (PLR). Este estudo tem como objetivo avaliar a associação entre o índice de massa corporal (IMC) e câncer de mama, e a influência do NLR e PLR no prognóstico dessas pacientes em uma coorte de mulheres brasileiras com longo tempo de seguimento. Trata-se de análise retrospectiva dos registros das pacientes atendidas e tratadas por câncer de mama no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) no período entre 1999 e 2013. Foram utilizados os dados clínicos e patológicos coletados antes do primeiro tratamento. Para análise de sobrevida foram realizados modelos de regressão de Cox. Das 1.831 pacientes incluídas, 620 (33,8%) eram obesas na ocasião do diagnóstico ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Obesas tinham tumores maiores comparadas as não-obesas (mediana 22mm versus 20mm, $p=0.01$). IMC acima de 30 foi associado a pior sobrevida livre de doença e maior mortalidade apenas em pacientes com doença inicial (estádio I), mas não em doença mais avançada. Valores elevados de NLR foram fator prognóstico independentes de maior recorrência e mortalidade. Um subgrupo de pacientes com alto NLR e alto IMC tiveram piores recorrência ($p=0.046$, log-rank), sobrevida específica ($p<0.001$, log-rank) e global ($p=0.006$, log-rank) entre as demais. A PLR elevada não se mostrou um fator prognóstico independente para câncer de mama na análise multivariada. Em conclusão, nós encontramos um efeito negativo da obesidade apenas em pacientes com câncer de mama estágio I, uma parcela de pacientes que geralmente apresentam bom prognóstico. Adicionalmente, NLR elevado foi considerado um fator prognóstico independente para pior sobrevida em 10 anos, principalmente em um subgrupo de mulheres com alto NLR e obesidade.

Palavras-chave: Câncer de mama, Obesidade, Índice de massa corporal, Relação neutrófilos/linfócitos, Relação plaquetas/linfócitos

ABSTRACT

ORLANDINI, L. F. **Body mass index and breast cancer, and the association with two inflammatory biomarkers, the neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio.** 2021. 98 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Obesity has been associated with an increased risk of breast cancer recurrence and death. Some readily available biomarkers associated with obesity and chronic systemic inflammation have been receiving attention as potential prognostic indicators of cancer, including neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR). This study aimed to explore the correlation between body mass index (BMI) and NLR and PLR in invasive breast cancer patients. We further investigated the association of NLR, PLR and BMI with breast cancer recurrence and survival in a long-term follow-up cohort. Retrospective analysis of patients treated for breast cancer at a Brazilian hospital between 1999 and 2013 was performed. Clinicopathological data was obtained before the first treatment. Cox regression models were used for survival analyses. Of the 1,831 patients included, 620 (33,8%) were obese (BMI \geq 30kg/m²). Obese women had larger tumors compared to non-obese women (median 22mm versus 20mm, p=0.01). Higher BMI was associated with worse overall survival and disease-free survival (DFS) in women with Stage I disease, but not in the more advanced stages. Higher NLR was found to be an independent prognostic factor for recurrence and mortality. A subgroup of patients with high NLR and high BMI had the worst DFS (p=0.046, log-rank), breast cancer specific survival (p<0.001, log-rank) and overall survival (p=0.006, log-rank), compared to the other groups. The PLR was not an independent prognostic factor in multivariate analysis. In conclusion, we found a negative impact of obesity only in stage I disease, a subgroup of patients with generally favorable prognostic features. Additionally, high NLR was found to be an independent prognostic factor for worse survival and recurrence of breast cancer, particularly, in a subgroup of women with high NLR and obesity.

Keywords: Breast cancer, Obesity, Body mass index, Neutrophil-to-lymphocyte ratio, Platelet-to-lymphocyte ratio

LISTA DE ABREVIações

AUC	Área sob a curva
DEXA	Densitometria por dupla emissão de raios-x
EUA	Estados Unidos da América
FISH	Hibridização in situ fluorescente
GLP-1	Peptídeo glucagon-símile do tipo 1
HER2	Fator de crescimento epidérmico humano do tipo 2
IGF-1	Fator de crescimento insulina-símile do tipo 1
IL	Interleucinas
IMC	Índice de massa corpórea
NLR	Relação neutrófilos-linfócitos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PLR	Relação plaquetas-linfócitos
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
RE	Receptores de estrogênio
ROC	Curva Característica de Operação do Receptor
RP	Receptores de progesterona
RR	Risco relativo
SHBG	Proteína ligadora de hormônios sexuais
TN	Triplo Negativo
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais fatores de risco para câncer de mama.....	20
Figura 2 – Associação não-linear entre o risco de desenvolver um câncer pelo índice de massa corpórea (IMC).....	22
Figura 3 – Modelo conceitual mostrando as possíveis interações entre obesidade e câncer de mama.....	25
Figura 4 – Diagrama das pacientes selecionadas para o estudo.....	38
Figura 5 – Distribuição dos estadiamentos iniciais de câncer de mama, estratificadas pelo índice de massa corpórea (IMC).....	40
Figura 6 – Curvas ROC para análise do ponto de corte dos marcadores inflamatórios NLR (relação neutrófilo/linfócito) e PLR (relação plaqueta/linfócito) para sobrevida global em pacientes com câncer de mama estágio I-III.....	41
Figura 7 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama na população total, estratificadas pelo índice de massa corporal (IMC).....	45
Figura 8 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida na população de mulheres menopausadas com câncer de mama, estratificadas pelo IMC.....	46
Figura 9 - Curvas de Kaplan-Meier para avaliar o efeito prognóstico do marcador inflamatório NLR (relação neutrófilo/linfócito) na recorrência e sobrevida de pacientes com câncer de mama estádios I a III.	47

- Figura 10** - Curvas de Kaplan-Meier para avaliar o efeito prognóstico do marcador inflamatório PLR (relação plaqueta/linfócito) na recorrência e sobrevida de pacientes com câncer de mama estádios I a III.....48
- Figura 11** - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama nas mulheres com estágio I ao diagnóstico, estratificadas pelo IMC.....49
- Figura 12** - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama nas mulheres com estágio I a III ao diagnóstico, estratificadas em grupos de acordo com o IMC e relação NLR.....50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	Câncer de mama	19
1.2	Fatores de risco	20
1.2.1	Fatores de risco modificáveis.....	21
1.3	Obesidade.....	22
1.3.1	Obesidade e câncer	23
1.4	Câncer de mama e obesidade	24
1.4.1	Etiopatogenia	25
1.5	Câncer de mama e o sistema imune	29
1.6	Considerações finais.....	30
2	OBJETIVOS.....	33
3	MÉTODOS.....	35
3.1	Seleção dos pacientes	35
3.2	Subtipos tumorais e IMC.....	35
3.3	Exames laboratoriais.....	36
3.4	Análise estatística.....	36
4	RESULTADOS	39
4.1	Características da população	39
4.2	Obesidade e parâmetros inflamatórios	42
4.3	Análise de recorrência e sobrevida	43
5	DISCUSSÃO.....	54
6	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	56

7	CONCLUSÕES.....	59
8	REFERÊNCIAS	60
	APÊNDICE A – RESULTADOS COMPLEMENTARES	69
	APÊNDICE B – ARTIGO ORIGINAL SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO	75
	ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP	92
	ANEXO B – Termo de isenção de TCLE	98

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de mama

Estima-se que em 2018 foram diagnosticados mais de 18 milhões de novos casos de câncer no mundo e mais de 9 milhões de mortes por esta doença (1). Destes, o câncer de mama representa 24,2% dos casos e 15% dos óbitos por câncer entre as mulheres, o que o coloca como o câncer mais incidente na população feminina (exceto pele não-melanoma) e também o mais letal (1,2). No Brasil, o câncer de mama representa um terço dos casos de câncer (29.7%), onde estima-se a ocorrência de 66.280 novos casos para cada ano do triênio 2020-2022 (3). Apesar de a taxa de incidência de câncer de mama no Brasil ainda ser mais baixa do que nos países desenvolvidos (59,5/100.000 mulheres no Brasil *versus* 92,9/100.000 nos Estados Unidos (EUA)) a mortalidade pela doença é tão elevada quanto naqueles (14,3 mortes/100.000 mulheres no Brasil *versus* 14.9/10.000 nos EUA) (1,4). Estes dados podem ser explicados pelos programas de rastreamento organizado e amplo acesso aos serviços de saúde e tratamentos nos países desenvolvidos, em contraste com a baixa cobertura do rastreamento mamográfico oportunístico, demora de acesso aos serviços de saúde e indisponibilidade das terapias-alvo a todas as pacientes brasileiras (5,6).

Atualmente o câncer de mama é considerado curável quando descoberto em estágios iniciais, alcançando uma sobrevida maior que 90% em cinco anos, quando diagnosticado em estágio I (7). Com as terapias multimodais atualmente disponíveis, mesmo pacientes diagnosticadas em estágios localmente avançados, ou até com doença metastática, podem ser beneficiadas com maior sobrevida, mantendo boa qualidade de vida (8). Grande parte deste sucesso terapêutico foi possível após a publicação de Perou e Sorlie em 2000 (9), na qual o câncer de mama foi classificado em quatro subtipos intrínsecos moleculares, posteriormente adaptados para uso clínico, utilizando estudo imunohistoquímico (10). São eles, em ordem crescente de prognóstico e agressividade: Luminal A (expressam receptores de estrogênio (RE) e/ou receptores de progesterona

(RP), com Ki67 < 20%); Luminal B (expressam RE e/ou RP, Ki67 >20% e podem ou não expressar o fator de crescimento epidérmico humano do tipo 2 (HER2)); HER2 (RE e RP negativos e HER2 superexpresso) e Triplo Negativo (TN), (RE, RP e HER2 negativos) (10). O desenvolvimento de terapias específicas para estes subtipos, substituindo o tratamento inicial baseado apenas na carga tumoral loco-regional, foi o principal responsável pelos ganhos de sobrevivência por câncer de mama observados nas últimas décadas (8).

1.2 Fatores de risco

O câncer de mama é uma doença heterogênea e multifatorial, podendo sofrer influências de diversas condições. A idade tem sido descrita como o principal fator de risco, com rápido crescimento da incidência ao longo dos anos na menarca, seguida de um crescimento mais lento durante os anos da menopausa (11). Cerca de 7% dos casos de câncer de mama ocorrem em mulheres antes dos 40 anos de idade (12), e aproximadamente 50% dos casos na faixa etária entre 55-74 anos (13).

O câncer de mama hereditário ou familiar compreende 5 a 10% dos casos e tem como principais genes acometidos por mutações germinativas os genes BRCA1 e BRCA2. As mutações de BRCA 1 e 2 correspondem a um quarto dos casos de câncer de mama hereditário e além de aumentar o risco de desenvolver a doença em até 75% ao longo da vida, estão relacionados ao diagnóstico em idades precoces, bilateralidade e carcinomas triplo negativos (14,15).

Outros fatores de risco importantes para o câncer de mama são os relacionados às variações hormonais ao longo da vida, sendo que quanto maior a exposição aos estrogênios e progesterona maior o risco de carcinogênese mamária (11,16). Os principais fatores de risco conhecidos estão apresentados no quadro 1.

Figura 1 – Principais fatores de risco para câncer de mama

FATOR	RISCO	FATOR	RISCO
Idade	RR aumenta rapidamente até 50 anos e mais lentamente depois	Fibroadenoma complexo	RR em torno de 3,0
Menarca Precoce	RR aumenta 1,05 para cada ano mais precoce	Terapia hormonal combinada na menopausa (5 anos)	HR = 2,7
Menopausa tardia	RR aumenta 1,03 para cada ano mais tardio	Mutação BRCA 1	44-78% de chance de ter câncer de mama até os 70 anos 31-56% de chance de ter câncer de mama até os 70 anos
Nuliparidade/Gestação tardia	RR entre 2,2 – 3,7	Mutação BRCA 2	RR = 1.8
Alta densidade mamária	RR entre 2,1 – 4,6 dependendo da densidade	Um parente de primeiro grau com câncer de mama	RR = 2.9
Biópsia prévia de lesões proliferativas sem atípias	RR = 1,9	Dois parentes de primeiro grau com câncer de mama	RR entre 4,7 a 5,6
Biópsia prévia de lesões proliferativas com atípias	RR = 4,2	Radioterapia torácica prévia	

Fonte: adaptado de Fabio Bagnoli *et al.*(17) (2017)

Nota: RR – Risco relativo. HR - Hazard Ratio.

1.2.1 Fatores de risco modificáveis

Fatores de risco modificáveis são aqueles que podem ser revertidos ou amenizados através da mudança de hábitos de vida e educação continuada. Estima-se que aproximadamente 20% das mortes por câncer de mama no mundo sejam atribuídos a estes fatores (18% em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento e 27% em países desenvolvidos) (18). Entre os principais fatores de risco modificáveis associados ao câncer de mama estão dieta (19), atividade física (20), tabagismo (21), consumo de álcool (22) e gordura corporal (23). Exceto o tabagismo, que apresenta um risco relativo (RR) modesto (RR~1,10) (21) e o uso de álcool (RR 2,83 para consumo elevado de álcool em relação as abstinências) (24), os demais fatores estão associados ao balanço energético (25,26). A gordura corporal merece um papel de destaque nesse cenário,

dados os números alarmantes e crescentes de obesidade observados nos últimos anos, e será discutida nas próximas seções.

1.3 Obesidade

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define obesidade como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que impacta na saúde do indivíduo (27). É considerada uma doença multifatorial, crônica, progressiva e recidivante, que necessita de intervenção (28,29) e resulta de um balanço energético positivo ao longo da vida, ou seja, quando as calorias consumidas superam o gasto energético do metabolismo e atividade física (30).

A prevalência da obesidade vem aumentando nas últimas décadas e é considerada uma pandemia, com mais de 1,3 bilhão de pessoas no mundo acima do peso (31). Estima-se que um terço da população mundial já seja classificada como obesa (32) e projeções de que um em cada dois adultos nos EUA serão obesos em 2030 (33). Na América Latina e Caribe, com a mudança no padrão alimentar (alimentos ultraprocessados e hipercalóricos) associados ao maior sedentarismo, observamos um aumento importante, desde os anos 80, nos níveis de sobrepeso e obesidade (mais de 50% da população em 2018) (34). Em 2014 o Brasil foi ranqueado como o terceiro país no mundo em número absoluto de obesos (atrás de EUA e China) e na quinta posição no número de mulheres obesas (18 milhões) (35). Dados da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2019, mostram que o percentual de mulheres obesas mais que dobrou nos últimos 17 anos no Brasil, indo de 12,2% em 2002 para 29,2% em 2019. A prevalência de mulheres com sobrepeso já ultrapassa os 60%, também segundo a PNS 2019 (36).

Existem diversas métricas disponíveis para avaliar a obesidade e o percentual de gordura corporal, entre eles, a densitometria por dupla emissão de raios-x (DEXA) (37), tomografia computadorizada (38), impedância bioelétrica (39) e índices antropométricos, como circunferência da cintura, relação cintura-quadril e dobras cutâneas (40). Porém, o método mais utilizado na literatura, principalmente em estudos populacionais e retrospectivos, é o índice de massa corporal (IMC). Apesar de não ser o método ideal,

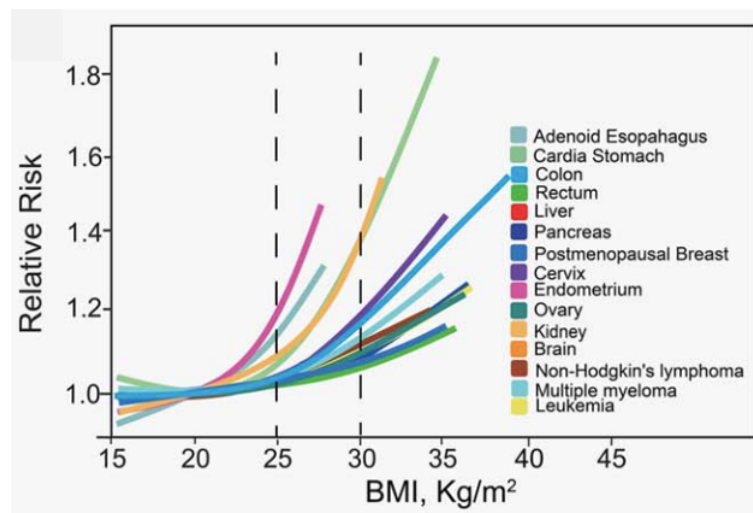
em grande medida por avaliar apenas peso e altura e não a composição corporal, é de baixo custo, disponível, e de fácil execução. Seu cálculo é realizado dividindo o peso em quilogramas (Kg) pela estatura ao quadrado, em metros (m). São considerados obesos indivíduos com IMC ≥ 30 kg/m² (41).

A obesidade é considerada um dos principais fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis, as quais são responsáveis por até 70% do número de mortes no Brasil e no mundo (42). Devido a sua alta prevalência e impacto na sobrevida, sua possível associação com o desenvolvimento e progressão do câncer torna-se inevitável.

1.3.1 Obesidade e câncer

O excesso de peso ou adiposidade tem sido considerado um importante fator de risco modificável para maior incidência e pior sobrevida por câncer, e vem motivando inúmeros trabalhos epidemiológicos nos últimos 40 anos (43). Obesidade é referida como fator de risco e progressão para até 15 tipos de câncer (23,44) e tem sido descrito como o segundo maior fator de risco modificável, atrás apenas do tabagismo (45). A figura 2 demonstra os principais sítios primários de câncer associados ao excesso de peso.

Figura 2 – Associação não-linear entre o risco de desenvolver um câncer pelo índice de massa corpórea (IMC) em uma metanálise recente. A associação mais robusta é com carcinoma de endométrio. Risco relativo para câncer de mama na pós menopausa nesta metanálise (RR 1,11, IC 95% 1,08-1,14).



Fonte: Xuexian Fang *et al.* (2018) (23)

Em um estudo de 2003, Calle et al. seguiram mais de 900.000 adultos Norte americanos por 16 anos e observaram que as mulheres mais pesadas apresentaram 62% maior risco de morte por câncer do que as mais magras (RR 1.62, IC95% 1.40-1.87) (46). Estima-se que 15-20% das mortes por câncer estejam associadas ao sobrepeso e obesidade (47). No Brasil, Rezende e colaboradores demonstraram que aproximadamente 15.000 (4%) casos de câncer diagnosticados em 2012 poderiam ser atribuídos a obesidade e estimaram que este número tenderia a dobrar para 29.000 casos (4,6%) em 2025 com o envelhecimento da população e aumento dos níveis de obesidade (48).

Por fim, apesar de ser o carcinoma endometrial o tipo de câncer mais fortemente associado a obesidade (23), a associação com o câncer de mama, devido a sua maior prevalência e mortalidade, e pelos motivos supracitados, tem sido a mais estudada.

1.4 Câncer de mama e obesidade

O primeiro estudo a relacionar obesidade a câncer de mama foi publicado em 1976, no qual Abe e colaboradores reportaram que pacientes obesas com câncer de mama tinham tumores maiores, mais invasão linfática e pior sobrevida global quando comparadas as pacientes com peso normal (49). Desde então vários estudos avaliaram esta associação complexa e multifatorial, a qual apresenta resultados heterogêneos, e muitas vezes conflitantes, a depender da metodologia e da população estudada (50–52).

Há uma grande quantidade de dados recente associando sobrepeso e obesidade com maior risco de câncer de mama na pós-menopausa, particularmente tumores que expressam receptores hormonais (53). Entre os estudos mais relevantes, Chen *et al.* avaliaram 31 estudos em metanálise, e mostraram um risco aumentado de 3,4% no desenvolvimento de câncer de mama na pós-menopausa para cada unidade de aumento no IMC (54). O motivo principal que explicaria esta associação positiva, seria a maior concentração sérica de estrogênios, decorrentes do aumento na aromatização periférica, devido a maior concentração de tecido adiposo (55).

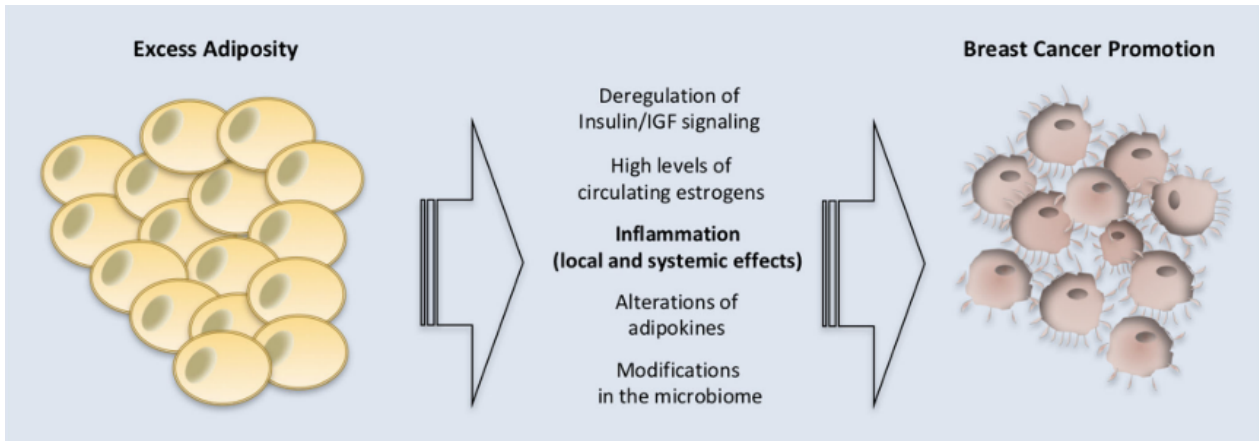
Com relação ao risco de câncer de mama na pré-menopausa e sua associação com a obesidade, os dados são bastante controversos e complexos (56). Há uma tendência a se observar uma relação inversa, ou seja, um efeito protetor da obesidade no risco de desenvolver câncer de mama na menacme. Em uma metanálise de estudos prospectivos, Liu et al. descreveram um efeito protetor da obesidade na incidência de câncer de mama pré-menopausa em 2% (RR 0,98, IC 95% 0,96–0,99, $p < 0.001$) (57). O principal motivo citado para explicar esta relação inversa seriam os ciclos anovulatórios observados em obesas jovens, porém esta questão é motivo de contestação e necessita de mais evidências (58). Apesar deste possível efeito protetor, tem sido descrito um maior risco de tumores mais agressivos (como o subtipo triplo negativo) em mulheres obesas na pré-menopausa (59,60).

Além do aumento de risco de desenvolver um câncer de mama, a obesidade tem sido associada a estadiamentos mais avançados no diagnóstico, mais complicações cirúrgicas, menor resposta a terapia sistêmica e maiores taxas de recorrência e mortalidade, independente do status menopausal (61).

1.4.1 Etiopatogenia

Até os anos de 1990, acreditava-se que o tecido adiposo funcionava apenas como um depósito de energia. Nas últimas décadas tem sido descrito como o maior órgão endócrino do corpo humano e também um órgão do sistema imune, sendo capaz de secretar até 50 diferentes substâncias e citocinas, com importante papel na homeostase, metabolismo e imunidade (62,63). O tecido adiposo compõe ainda 90% do volume mamário e possibilita uma íntima interação entre as células epiteliais da mama e os adipócitos (64). Diversos são os mecanismos que poderiam explicar a plausibilidade biológica na associação entre obesidade e câncer de mama. Os mais estudados serão descritos abaixo (figura 3).

Figura 3 – Modelo conceitual mostrando as possíveis interações entre obesidade e câncer de mama



Fonte: Daniel Argolo *et al.* (2018)(65)

1.4.1.1 Desequilíbrio do sistema insulina/IGF1

Adiposidade aumentada e resistência a insulina estão diretamente relacionados com os níveis circulantes de insulina e fator de crescimento insulina-símile do tipo 1 (IGF-1), e esses fatores parecem ter o potencial de criar um ambiente pró-carcinogênico (66). A ligação da insulina e IGF-1 a seus receptores celulares desencadeiam eventos que estimulam a proliferação celular, anti-apoptose e angiogênese, através da ativação das vias da fosfatidil inositol 3 quinase/ proteína quinase B/ alvo da rapamicina em mamíferos (PI3K/AKT/mTOR) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (67). Com relação ao câncer de mama, essas alterações têm sido associadas a maior recidiva a distância e mortalidade, quando comparadas a pacientes sensíveis a insulina (68).

1.4.1.2 Níveis elevados de estrogênios circulantes

Aproximadamente 70% dos casos de câncer de mama apresentam receptores de estrogênio positivos, e já está documentada a relação entre níveis séricos elevados de estrogênios e sua relação com a carcinogênese mamária (69,70). Após a falência ovariana e decorrente menopausa, a maior parte dos estrogênios circulantes são produzidos no tecido adiposo periférico, através da aromatização de androgênios, pela

ação da enzima aromatase (71). Em pacientes obesas, maiores níveis de estrogênios circulantes são observados, tanto pela produção aumentada periférica, quanto pela queda da proteína ligadora de hormônios sexuais (SHBG), decorrente da hiperinsulinemia (72). Há ainda a hipótese de que fatores imunes e inflamatórios, desencadeados pela obesidade, possam aumentar a expressão e função da enzima aromatase no tecido adiposo (73).

Acredita-se que o papel dos estrogênios na carcinogênese seja, principalmente, através de seu efeito proliferativo, mitogênico e mutagênico, pela ativação de vias de sinalização após se ligar aos receptores celulares de estrogênio no tecido mamário (71). Adicionalmente, Pequeux *et al.* demonstraram um efeito angiogênico dos estrogênios, através da ativação de receptores nas células estromais de tecido mamário, mesmo em tumores receptores hormonais negativos (74).

1.4.1.3 Flutuações nas adipocinas

Adipocinas são proteínas secretadas pelo tecido adiposo, e participam de diversas funções sistêmicas como metabolismo da fome e nutrição, sensibilidade a insulina, resposta ao estresse, metabolismo ósseo e inflamação. Algumas delas podem exercer um papel no desenvolvimento de neoplasias, notadamente a leptina e a adiponectina (75,76).

A leptina é a adipocina mais estudada e foi descoberta por Friedman *et al.* em 1994, o que possibilitou um grande avanço nos estudos da obesidade (77). Trata-se de hormônio responsável, entre outras funções, pela regulação da saciedade e controle energético, através de ação no sistema nervoso central. Com a obesidade, parece haver aumento na síntese e resistência central a leptina, levando a hiperleptinemia e hiperfagia (77,78). Acredita-se que a leptina aumentada possa favorecer a carcinogênese mamária estimulando fatores inflamatórios, proliferação e migração celular através da ativação de diversas vias intracelulares pelo receptor da leptina, além de aumentar a ação da aromatase (79).

A adiponectina é a adipocina mais abundante e sua concentração está inversamente associada ao IMC (80). Tem um efeito anti-inflamatório e sensibilizador de insulina e, quando em níveis normais ou aumentados, parece exercer um efeito protetor indireto para o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, entre eles o mamário. Em contrapartida, quando em quantidades reduzidas, por consequência da obesidade, pode contribuir para angiogênese e metástase (81).

1.4.1.4 Alterações na microbiota intestinal

A microbiota intestinal é uma população de micro-organismos que habitam o trato intestinal e participam de diversos processos no organismo hospedeiro, influenciando, entre outras coisas, o metabolismo energético, inflamação e o sistema imune (82). Alterações na microbiota (disbiose) foram descritas tanto em pacientes obesas quanto em portadores de câncer de mama e têm sido motivo de grande interesse. Apesar de ainda ser uma área em investigação, alguns estudos têm demonstrado que a flora intestinal pode contribuir de várias maneiras para aumento dos níveis de estrogênios circulantes, assim como estimular a liberação de diversas citocinas inflamatórias e favorecer a hiperinsulinemia e ganho de peso através da liberação de hormônios, em especial, o peptídeo glucagon-símile tipo 1 (GLP1) (45,83).

1.4.1.5 Microambiente inflamatório

A obesidade e o câncer compartilham uma característica em comum, a presença de um ambiente inflamatório. A inflamação é sabidamente um componente central do desenvolvimento e progressão tumoral, angiogênese e metástase (84). A obesidade, por sua vez, apresenta um estado de inflamação crônica subclínica, que pode influenciar sistêmica e localmente a carcinogênese (62).

Como parte de um mecanismo compensatório ao balanço energético positivo, os adipócitos desenvolvem hiperplasia (mais diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros) e hipertrofia (aumento de volume dos adipócitos maduros já existentes),

levando a dano tecidual, hipóxia e disfunção (66). A ação de macrófagos sobre estes adipócitos mortos ou danificados forma estruturas em coroa ou *crown-like structures* (CLS), as quais são fundamentais na manutenção do ambiente inflamatório no tecido adiposo, com intensa liberação de ácidos graxos livres e infiltração de células imunes como linfócitos, neutrófilos e mastócitos (85). Este ambiente disfuncional, favorece a expressão de diversas citocinas inflamatórias, entre elas, interleucinas (IL) 1 e 6, interferon-gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e proteína C reativa (PCR), as quais, acabam ativando diversas vias de sinalização intracelular, podendo estimular a carcinogênese promovendo proliferação celular, angiogênese, invasão e metástase (86,87).

1.5 Câncer de mama e o sistema imune

O microambiente tumoral é formado pelos ductos mamários, rodeados pelo estroma, que consiste em matriz extracelular, fibroblastos, adipócitos, microbioma, vasos sanguíneos e células imunes. Entre essas, os linfócitos T são as células mais comuns, seguidas das células da linhagem mielóide (macrófagos, células dendríticas e neutrófilos) (88).

No contexto da carcinogênese, células ductais com mutação ou instabilidade genômica, que iniciam um processo de proliferação desregulada, vão interagir com as células do microambiente tumoral e sinalizar o sistema imune a iniciar uma resposta inflamatória local e sistêmica (89).

Neutrófilos desempenham um importante papel na resposta imune, através da formação de espécies reativas de oxigênio, liberação de diversas citocinas, quimiocinas e fatores inflamatórios, os quais têm um papel supressor na ação de linfócitos T citotóxicos e efeito pró-tumoral. Recentemente, a neutrofilia foi descrita como um fator independente de pior prognóstico para câncer de mama (90).

Plaquetas também têm um importante papel na resposta inflamatória, por promoverem a liberação de diversos fatores de crescimento e angiogênese, IL 3 e 6 e citocinas, com um efeito estimulatório no crescimento tumoral e migração (91). Portanto,

elevação na contagem de plaquetas tem sido associada a um impacto negativo nas pacientes com neoplasia mamária (92).

Contrariamente, a linfopenia tem sido observada em 20% dos pacientes com câncer avançado e apenas em 3% com doença inicial, e tem sido relacionada a pior prognóstico por câncer geral (93). Uma das hipóteses para explicar essa queda nos linfócitos seria o reflexo sistêmico da redução do infiltrado linfocitário tumoral (TILs), decorrente da expressão de PD-L1 no tumor, um mecanismo utilizado para silenciar a resposta imune (94).

No intuito de avaliar clinicamente este ambiente inflamatório e identificar possíveis fatores prognósticos, alguns componentes de sangue periférico têm sido estudados clinicamente, por serem de fácil aquisição e baixo custo. Entre eles, a relação neutrófilos-linfócitos (NLR) e a relação plaquetas-linfócitos (PLR), que são calculados dividindo-se a contagem absoluta de neutrófilos e plaquetas pelo número absoluto de linfócitos, respectivamente. Ao contrário da contagem isolada de neutrófilos, leucócitos ou linfócitos, que podem sofrer variações decorrentes de diversos fatores fisiológicos e patológicos, a NLR se mostrou superior como fator prognóstico, devido a sua relativa estabilidade (95). O mesmo pode ser observado com o PLR (96).

A NLR é considerada um marcador de inflamação sistêmica e vem sendo descrita em diversas publicações recentes como um fator prognóstico para câncer de mama. Valores elevados de NLR são associados a maior recorrência e mortalidade por câncer de mama (97) e pior resposta a quimioterapia neoadjuvante (98), principalmente em tumores triplo negativos e HER2 positivos (99,100). Da mesma forma, valores elevados de PLR são associados a menor sobrevida global e maiores taxas de recorrência (101).

1.6 Considerações finais

Analisando as populações dos estudos que avaliaram a relação entre obesidade e câncer de mama podemos perceber que, em grande medida, são estudadas populações de países desenvolvidos. Sabendo que esta associação é complexa e sofre influências de diversos fatores genéticos e ambientais e considerando a escassez de estudos que

avaliaram a associação entre câncer de mama e obesidade e a influência dos marcadores inflamatórios (NLR e PLR) na nossa população, propusemos a realização deste trabalho.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

1. Avaliar a associação entre IMC, na ocasião do diagnóstico, com parâmetros clínico-patológicos, e com sobrevida e recorrência, em uma coorte de mulheres brasileiras com câncer de mama.

2. Avaliar a influência dos marcadores inflamatórios (NLR e PLR) no prognóstico das pacientes com câncer de mama e sua associação com IMC.

MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 Seleção dos pacientes

Foram selecionadas todas as mulheres diagnosticadas e tratadas por neoplasia maligna da mama, no Serviço de Mastologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no período entre 1999 e 2013. Os dados clínicos e patológicos foram obtidos através de análise dos prontuários médicos e sistema eletrônico da instituição e coletados durante o ano de 2018. O estudo recebeu aprovação do comitê de ética sob parecer 2.638.453/2018.

As variáveis obtidas foram: nome, idade, data de nascimento, data do diagnóstico, idade ao diagnóstico, tipo e grau histológico, tamanho tumoral, número total de linfonodos no anátomo-patológico e número de linfonodos positivos, estadiamento TNM, imunohistoquímica, data da última visita ou óbito, se apresentou recidiva e data da recidiva, raça, paridade, idade da menopausa, peso e altura e hemograma.

Os dados faltantes foram excluídos das análises sendo que nenhuma variável apresentou mais de 10% de dados faltantes. As informações foram coletadas da data do diagnóstico até a última visita documentada ou óbito. Pacientes com *status* menopausal desconhecido (n=129) foram consideradas menopausadas se idade \geq 51 anos, baseado em estudos disponíveis com a população da mesma região do presente estudo (102,103). Para as análises de sobrevida foram excluídas as pacientes com doença *in situ* e metastática. Sobrevida livre de doença foi definida como o tempo entre a data do diagnóstico e a data do exame que detectou a recorrência local ou a distância.

3.2 Subtipos tumorais e IMC

A amplificação/superexpressão do HER2 e expressão de receptores hormonais foram determinados por imunohistoquímica, de acordo com guidelines específicos (104,105). A positividade do HER2 foi estabelecida de acordo com o laudo anátomo-patológico em prontuário e as recomendações vigentes na época do diagnóstico. Nas pacientes com expressão de HER2 indeterminada (2+) foram utilizados os resultados da

hibridização in situ fluorescente (FISH). Os subtipos foram considerados como luminal-like se o RE e/ou RP eram positivos e HER2 negativo; luminal/HER2-like se RE e/ou RP eram positivos e HER2 positivo; HER2-like se RE e RP eram negativos e HER2 positivo e triplo-negativo quando RE, RP e HER2 eram negativos. Para estadiamento, foi utilizado o *American Joint Committee on Cancer Staging Manual*, 7ª edição (106). As pacientes diagnosticadas antes de 2009 tiveram o estadiamento reclassificado.

Valores de peso e altura foram coletados antes do primeiro tratamento. Para classificação de obesidade foi calculado o IMC, dividindo-se o peso corporal (em quilogramas) pela altura ao quadrado (em metros). Foram consideradas obesas as mulheres com $IMC \geq 30Kg/m^2$. O IMC foi inicialmente estudado como variável contínua, porém como não houve diferença nos resultados, optamos por analisar como variável categórica, em concordância com a maioria dos estudos.

3.3 Exames laboratoriais

Utilizando o sistema informatizado do hospital, foram obtidos os hemogramas das pacientes diagnosticadas com câncer de mama, antes do primeiro tratamento. Foram calculados a relação NLR dividindo o valor absoluto de neutrófilos pelo valor absoluto dos linfócitos e a relação PLR dividindo o valor absoluto de plaquetas pelo valor absoluto dos linfócitos. Os valores de corte foram avaliados utilizando curvas *receiver operating characteristic* (ROC) e baseados em estudos anteriores.

3.4 Análise estatística

Para análise entre os grupos foi utilizado teste de qui-quadrado para variáveis categóricas e Mann-Whitney ou Kuskall-Wallis para variáveis contínuas. A análise multivariada utilizando o modelo de regressão de Cox foi realizada para aquelas variáveis que se mostraram significativas no modelo univariado e IMC. Para avaliar recidiva, sobrevida específica por câncer de mama e mortalidade geral em 10 anos foram realizadas curvas de Kaplan-Meier e a significância foi estabelecida por teste de *log-rank*.

Foram considerados estatisticamente significativos os resultados com $p < 0,05$. As análises foram feitas com software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019).

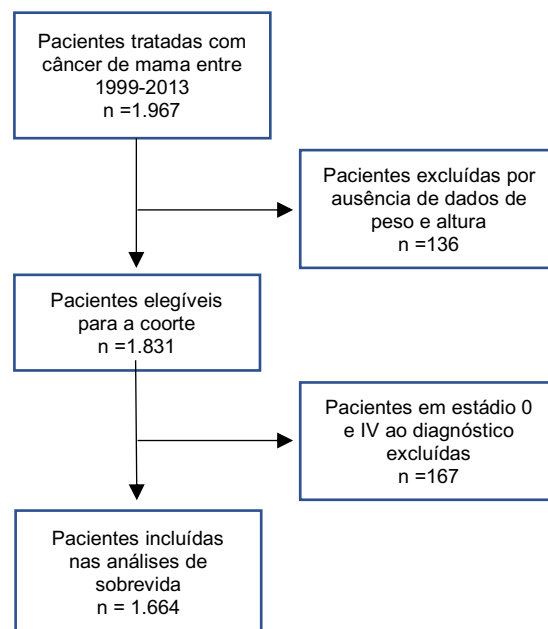
RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Características da população

Das 1.967 pacientes selecionadas no período estabelecido, 136 não tinham dados de peso e/ou altura disponíveis e foram excluídas (Figura 4).

Figura 4 – Diagrama das pacientes selecionadas para o estudo



Entre as 1.831 pacientes incluídas no estudo, 620 (33,8%) apresentavam IMC $\geq 30\text{Kg/m}^2$ na ocasião do diagnóstico. As pacientes obesas tinham idade mais avançada e status pós-menopausal mais frequente que as não-obesas ($p=0,03$ e $p=0,01$, respectivamente). Estas pacientes também se apresentavam com tamanhos medianos de tumor maiores (22mm versus 20mm; $p=0,01$). Não foram observadas diferenças significativas entre obesas e não-obesas com relação a tipo e grau histológico, estadiamento, receptores hormonais, HER2, NLR e PLR. Com relação as variáveis de tratamento, as pacientes obesas receberam discretamente mais radioterapia e terapia endócrina ao longo do tratamento, porém acreditamos que esta diferença possa ser atribuída a erro estatístico tipo 1, já que não foram observadas diferenças com relação a

estadiamento, abordagem cirúrgica e receptores hormonais entre os grupos. As características da população e dos tumores estão descritas na Tabela 1.

A figura 5 demonstra o estadiamento ao diagnóstico de toda a coorte, estratificados pelo IMC.

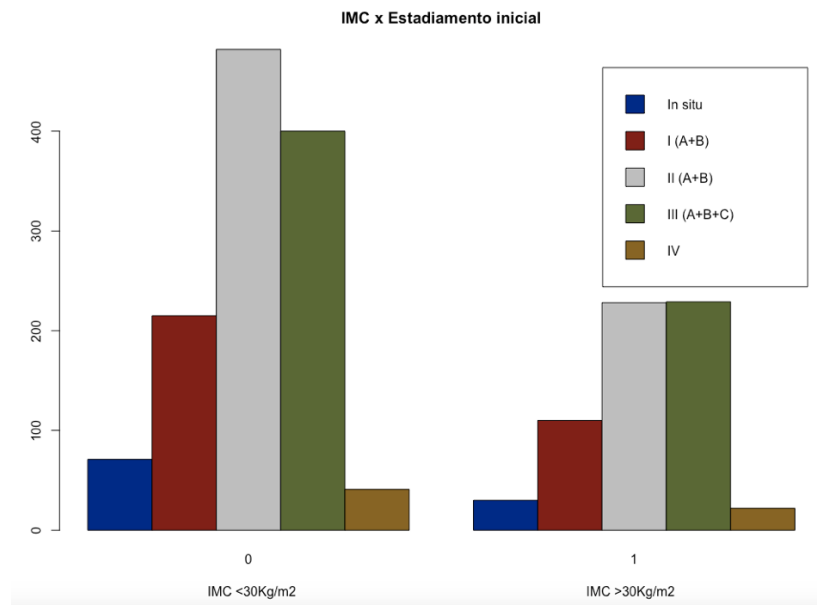
Tabela 1. Características da população, estratificadas pelo IMC

	IMC ≥ 30kg/m² n = 620	IMC < 30kg/m² n = 1211	valor de p
IMC , média (DP)	35,0 (4,5)	25,1 (3,1)	0,01
Idade (anos), mediana (min-max)	56,2 (25,8 – 89,7)	54,5 (22,6 – 93,9)	0,03
Tamanho (mm), mediana (min-max)	22 (0-154)	20 (0-140)	0,01
	n (%)	n (%)	
Pós-menopausa	412 (66)	722 (60)	0,01
Tipo histológico			
Ductal	531 (86)	1007 (84)	0,25
Lobular	26 (4)	49 (4)	
Outros	57 (9)	142 (12)	
Grau histológico^a			
1	125 (21)	236 (21)	
2	322 (54)	623 (55)	0,98
3	145 (24)	282 (25)	
Stadiamento (TNM)			
0	30 (5)	71 (6)	
I (A+B)	110 (18)	215 (18)	
II (A+B)	227 (37)	483 (40)	0,43
III (A+B+C)	229 (37)	399 (33)	
IV	22 (4)	42 (3)	
Subtipo			
Luminal-like	387 (63)	698 (59)	
Luminal/HER2-like	85 (14)	179 (15)	0,34
HER2-like	49 (8)	125 (11)	
Triplo negativo	89 (15)	181 (15)	
Receptor de estrogênio +	465 (76)	868 (73)	0,16
Receptor de progesterona +	399 (65)	718 (60)	0,06
HER2+	134 (22)	304 (26)	0,09
NLR mediana (min-max)	1,93 (0,23-15,17)	1,99 (0,18-31,67)	0,67
PLR mediana (min-max)	122,61 (26,35-875)	129,36 (15,29-655)	0,40
Primeiro tratamento			
Cirurgia	352 (57)	697 (58)	0,58
Quimioterapia NEO	243 (39)	459 (38)	

Terapia endócrina NEO	25 (4)	46 (4)	
Radioterapia NEO	0 (0)	5 (0)	
Tratamentos recebidos*			
Tipo de cirurgia			
Cirurgia conservadora	334 (56)	625 (54)	0,42
Mastectomia	262 (44)	534 (46)	
Cirurgia axilar			
Biópsia do linfonodo sentinela	200 (34)	365 (32)	0,44
Dissecção axilar	380 (66)	757 (68)	
Quimioterapia	421 (68)	826 (68)	0,93
Terapia endócrina	450 (73)	820 (68)	0,04
Radioterapia	457 (78)	830 (73)	0,02
Trastuzumabe (HER2+)	59 (10)	131 (11)	0,41

a: Classificação de Nottingham do Sistema Bloom e Richardson; * Número de pacientes que receberam o tratamento; IMC: índice de massa corporal; DP: desvio padrão; NLR relação neutrófilo/linfócito; PLR relação plaqueta/linfócito; NEO terapia neoadjuvante.

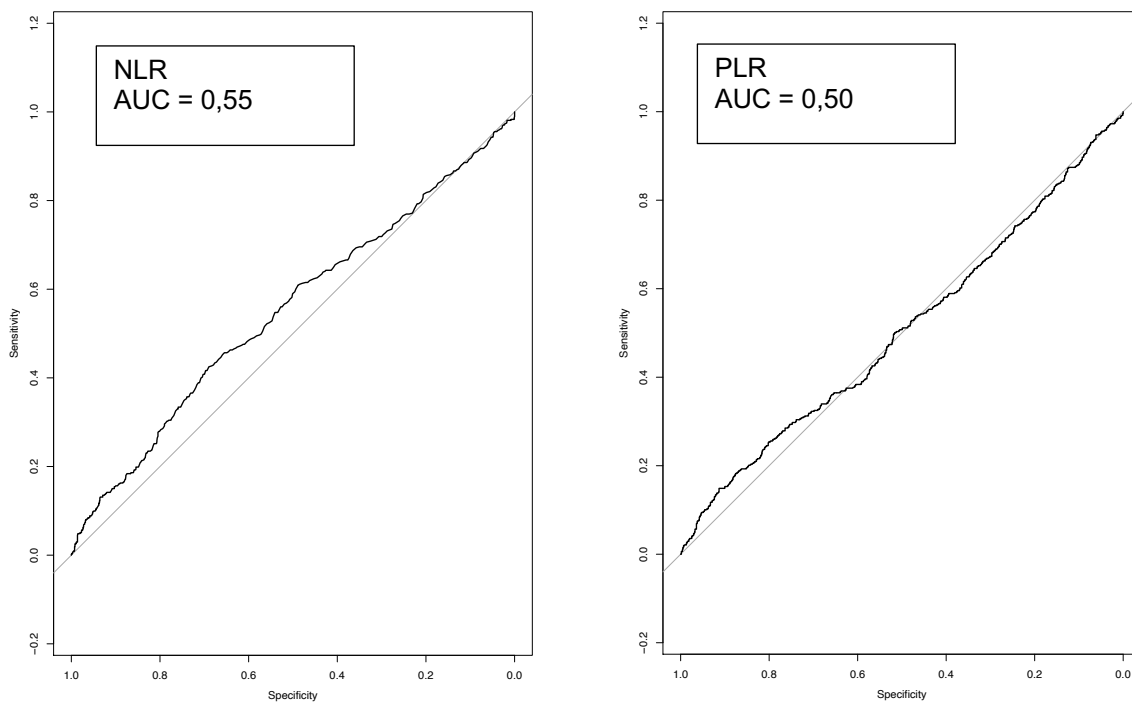
Figura 5 – Distribuição dos estadiamentos iniciais de câncer de mama, estratificadas pelo índice de massa corpórea (IMC).



4.2 Obesidade e parâmetros inflamatórios

Foi realizada análise do ponto de corte para os marcadores NLR e PLR utilizando curva ROC, nas quais não foi identificado um ponto de corte (área sob a curva (AUC) = 0.55 e 0.50, respectivamente). Foram testados diversos valores de corte para ambos os parâmetros em relação aos grupos de obesas e não obesas e definido como corte para NLR valores acima de quatro e para PLR valores acima de 150, os quais foram os valores com maior significância estatística e já utilizados como ponto de corte em trabalhos anteriores (Figura 5) (107,108). Consideramos ainda o fato de que o valor normal de NLR em adultos saudáveis encontra-se na faixa entre 0,78 e 3,58 (109).

Figura 6 – Curvas ROC para análise do ponto de corte dos marcadores inflamatórios NLR (relação neutrófilo/linfócito) e PLR (relação plaqueta/linfócito) para sobrevida global em pacientes com câncer de mama estágio I-III (n=1.664).



AUC: Área sob a curva

4.3 Análise de recorrência e sobrevida

O tempo mediano de seguimento foi 6,7 anos para o grupo de obesas e 6,9 anos para não-obesas ($p=0.91$). No período estudado, 253 pacientes tiveram recidivas, sendo 26.3% entre as não obesas e 26.5% entre as obesas ($p=0.93$). Com relação a óbito específico por câncer de mama e óbito geral, observamos 409 e 531 mortes no total, respectivamente, também sem diferença estatística entre os grupos. Os dados estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Dados de seguimento, estratificados pelo índice de massa corpórea (IMC)

	IMC \geq 30kg/m ² n=620 (%)	IMC < 30kg/m ² n=1,211 (%)	Valor de p
Tempo até recorrência, anos (min-max)	2,30 (0,20-16,6)	2,40 (0,0-17,4)	0,82
Mortalidade geral	181 (29,2)	350 (28,9)	0,89
Recorrência	127 (26,5)	126 (26,3)	0,93
Desfechos			
Viva ou perdeu seguimento	439 (70,8)	861 (71,1)	
Morte por câncer de mama	136 (21,9)	273 (22,5)	0,75
Morte por outras causas	45 (7,3)	77 (6,3)	
Tempo mediano até o óbito, anos (min-max)	3.5 (0,09-18)	3.2 (0,10-18)	0,52
Tempo mediano de seguimento, anos (min-max)	6,7 (0,08-18)	6,9 (0,10-18)	0,91

Foi realizada análise multivariada, incluindo IMC e as variáveis com significância estatística no modelo univariado. O IMC não foi significativo como fator independente de prognóstico para recidiva ou mortalidade. Para recidiva, idade, grau 3, estádios II e III e subtipo HER2 foram significativos ($p<0.05$). Para sobrevida específica e global, grau 3, estádios II e III, subtipos HER2 e triplo negativo e NLR alto foram preditores independentes de pior prognóstico, sendo que, para mortalidade geral, a idade é um fator significativo ($p=0.004$). A PLR não se mostrou um fator prognóstico independente para câncer de mama em nenhum dos cenários (Tabela 3).

Tabela 3 – Variáveis associadas a recidiva, mortalidade específica para câncer de mama e sobrevida global em análise multivariada por modelo de COX. Pacientes em estádios I-III, n=1.664.

Variáveis	Recidiva				Mortalidade específica				Mortalidade global			
	HR	IC 95%		p	HR	IC 95%		p	HR	IC 95%		p
Idade (anos)	0,98	0,98	0,99	<0,001	0,99	0,98	1,00	0,160	1,01	1,00	1,02	0,004
IMC ≥ 30 Kg/m ²	1,01	0,82	1,24	0,910	0,96	0,75	1,22	0,774	1,00	0,82	1,24	0,940
Grau^a (Ref: 1)												
Grau 2	1,29	0,95	1,76	0,104	1,42	0,98	1,01	0,06	1,23	0,92	1,67	0,164
Grau 3	1,47	1,05	2,11	0,027	1,56	1,02	2,34	0,04	1,41	1,00	1,99	0,050
Estadiamento^b (Ref: I (A+B))												
II (A+B)	1,75	1,18	2,61	0,005	1,72	1,04	2,84	0,036	1,64	1,12	2,41	0,010
III (A+B+C)	4,87	3,32	7,16	<0,001	5,86	3,62	9,48	<0,001	4,29	2,97	6,21	<0,001
Subtipo (Ref: Luminal)												
Luminal/HER2-like	0,88	0,65	1,19	0,401	0,80	0,55	1,15	0,225	0,97	0,72	1,31	0,867
HER2-like	1,47	1,09	1,99	0,012	1,67	1,19	2,36	0,003	1,42	1,03	1,95	0,030
Triplo Negativo	1,12	0,84	1,48	0,432	1,47	1,08	2,01	0,014	1,41	1,06	1,85	0,016
NLR > 4	1,36	0,95	1,96	0,092	1,77	1,19	2,62	0,004	1,56	1,09	2,24	0,015
PLR > 150	0,92	0,73	1,15	0,478	0,85	0,65	1,11	0,232	0,84	0,67	1,07	0,157

IMC: índice de massa corpórea; NLR: relação neutrófilo/linfócito; PLR: relação plaqueta/linfócito;

a: Classificação de Nottingham do Sistema Bloom e Richardson; b -. Estadiamento TNM segundo AJCC (*American Joint Committee on Cancer*), 7^a Edição.

Quando estratificado pelo *status* menopausal, o valor do IMC também não influenciou o prognóstico de mulheres na pós-menopausa. Na análise multivariada, incluindo apenas a população de mulheres menopausadas, o IMC não se mostrou um fator de pior prognóstico para óbito geral e específico. Com relação as demais variáveis, os resultados foram semelhantes (Tabela 4).

Tabela 4 - Variáveis associadas a recidiva, mortalidade específica para câncer de mama e sobrevida global em análise multivariada por modelo de COX. Pacientes na pós-menopausadas em estádios I-III, n=1.134.

Variáveis	Recidiva			Mortalidade específica			Mortalidade global		
	HR	IC 95%	p	HR	IC 95%	p	HR	IC 95%	p
Idade (anos)	0.98	0.97 0.99	0.019	0.99	0.97 1.01	0.343	1.02	1.00 1.03	0.003
IMC ≥ 30 Kg/m ²	1.08	0.82 1.41	0.593	0.963	0.70 1.32	0.818	1.06	0.82 1.37	0.653
Grau^a (Ref: 1)									
Grau 2	1.19	0.81 1.76	0.371	1.29	0.81 2.06	0.287	1.20	0.84 1.71	0.320
Grau 3	1.18	0.74 1.87	0.489	1.39	0.81 2.39	0.226	1.36	0.89 2.01	0.148
Estadiamento^b (Ref: I (A+B))									
II (A+B)	1.80	1.09 2.98	0.021	1.64	0.88 3.07	0.117	1.53	0.99 2.38	0.057
III (A+B+C)	5.12	3.14 8.33	<0.001	5.97	3.30 10.78	<0.001	3.84	2.50 5.88	<0.001
Subtipo (Ref: Luminal)									
Luminal/HER2-like	0.90	0.59 1.38	0.637	0.75	0.44 1.27	0.284	1.04	0.71 1.52	0.843
HER2-like	1.71	1.13 2.57	0.010	1.72	1.09 2.73	0.020	1.38	0.91 2.07	0.122
Triplo Negativo	1.47	1.00 2.15	0.045	1.89	1.26 2.83	0.002	1.55	1.09 2.21	0.014
NLR > 4	1.80	1.13 2.89	0.013	2.61	1.54 4.43	<0.001	2.12	1.34 3.34	0.001
PLR > 150	0.91	0.66 1.26	0.576	0.78	0.52 1.16	0.225	0.76	0.55 1.05	0.097

IMC: índice de massa corpórea; NLR: relação neutrófilo/linfócito; PLR: relação plaqueta/linfócito;

a: Classificação de Nottingham do Sistema Bloom e Richardson; b: Estadiamento TNM segundo AJCC (*American Joint Committee on Cancer*), 7^a Edição.

Foram realizadas curvas de Kaplan-Meier para sobrevida em 10 anos para analisar os principais desfechos descritos acima em relação ao IMC (Figuras 5 a 8).

Figura 7 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama na população total, estratificadas pelo índice de massa corporal (IMC) (n=1.664). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank.

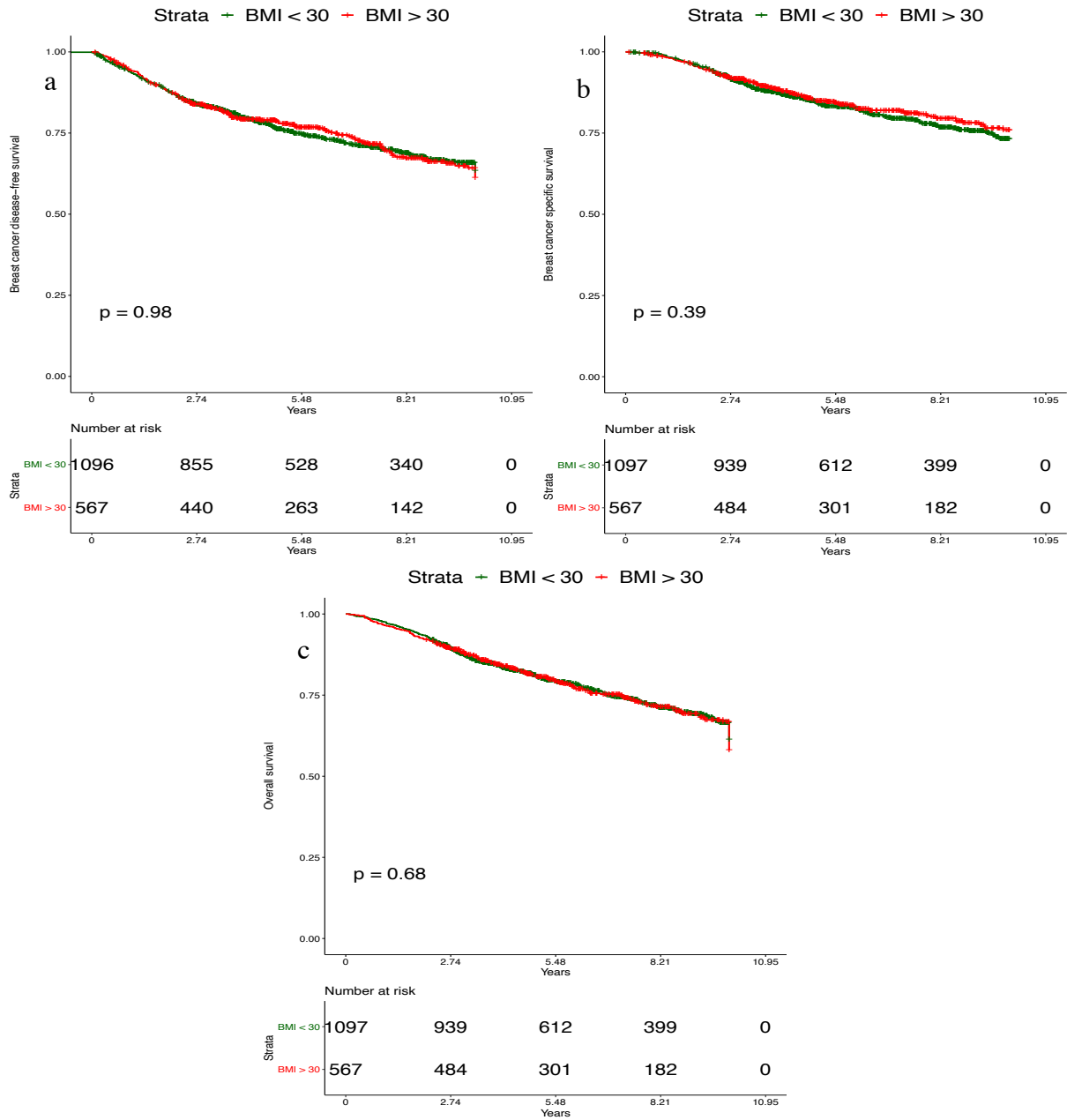


Figura 8 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida na população de mulheres menopausadas com câncer de mama, estratificadas pelo índice de massa corporal (IMC) (n=1.134). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank.

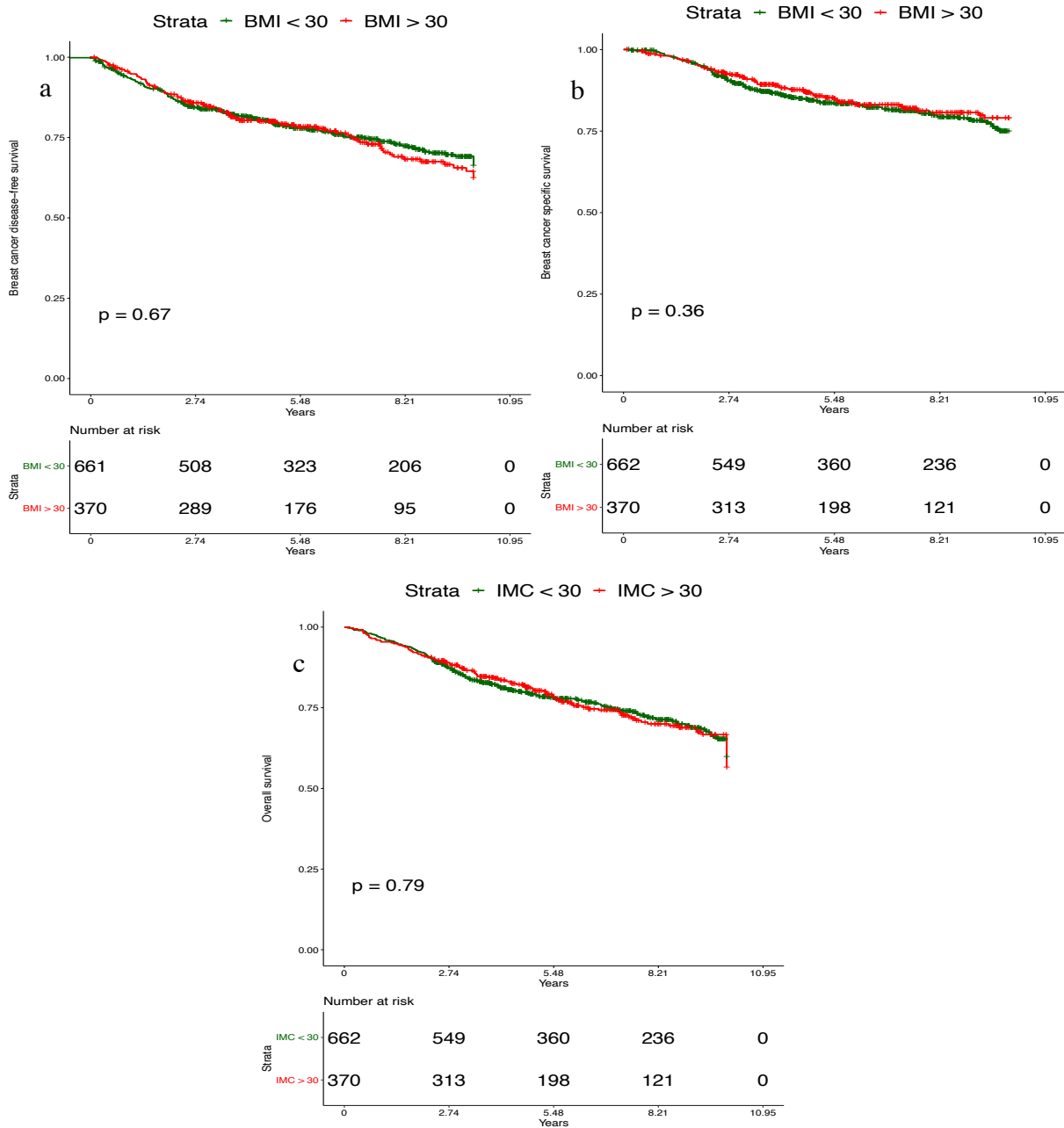


Figura 9 - Curvas de Kaplan-Meier para avaliar o efeito prognóstico do marcador inflamatório NLR (relação neutrófilo/linfócito) na recorrência e sobrevida de pacientes com câncer de mama estádios I a III (n=1.664). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank.

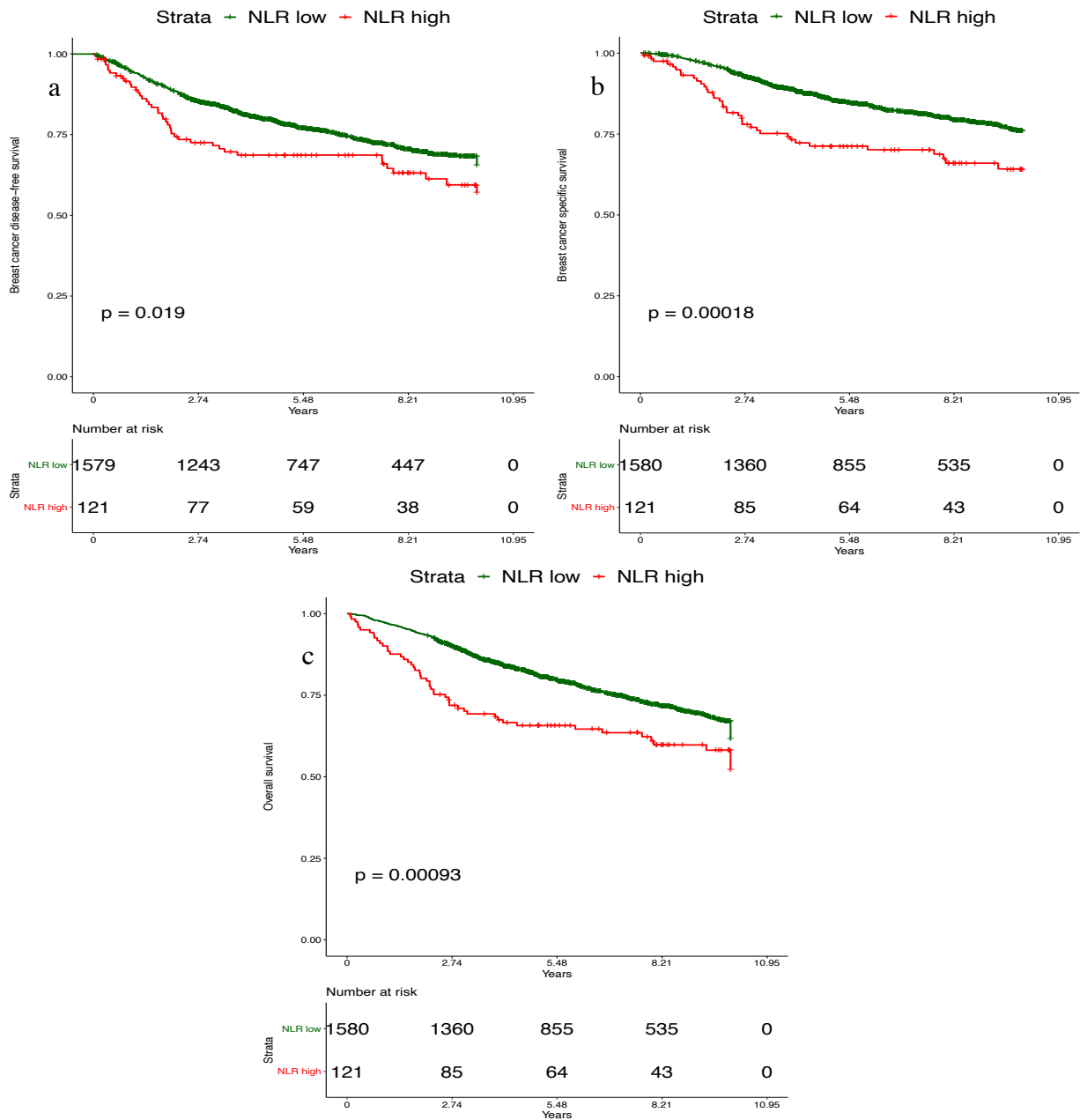
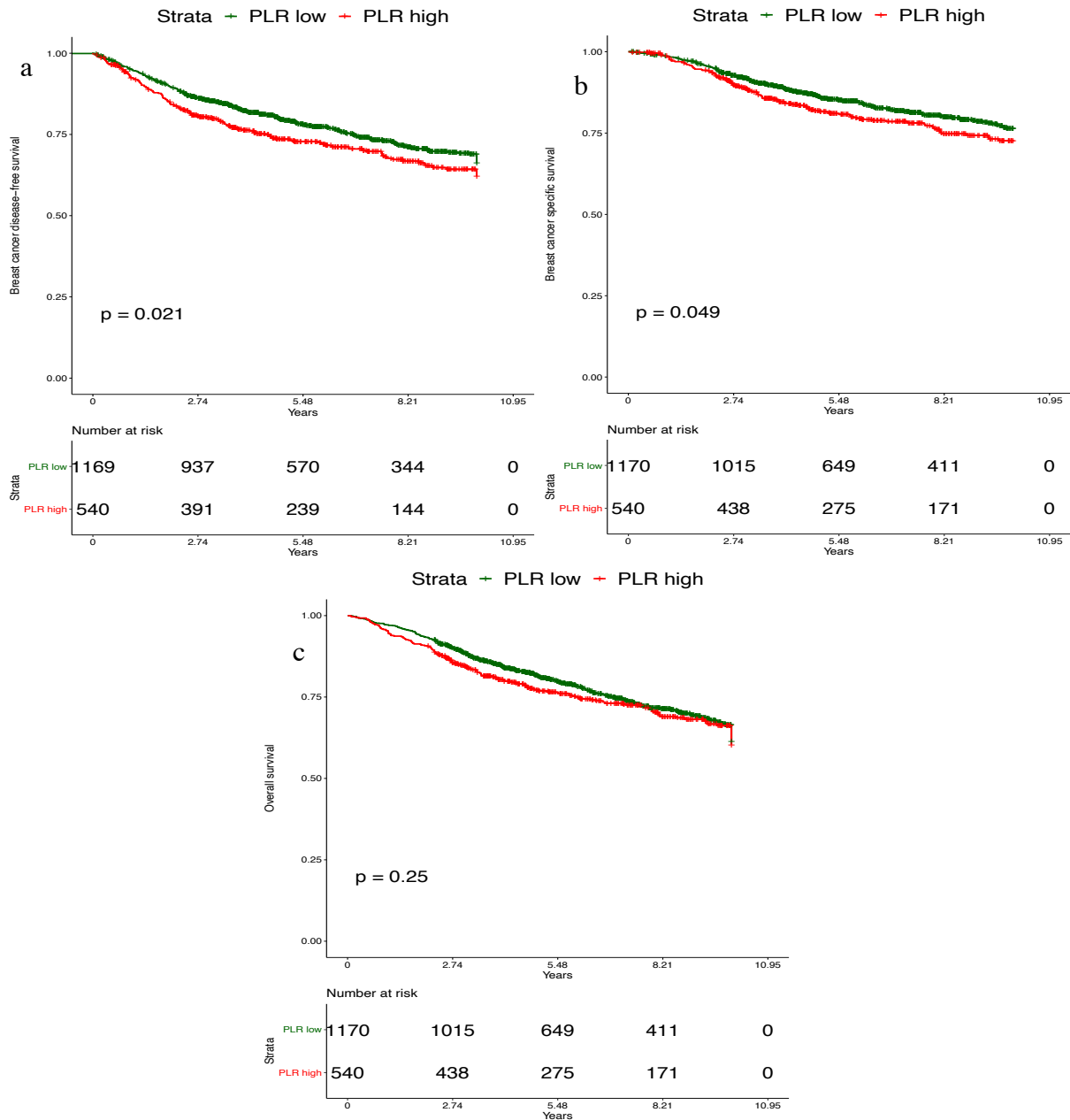
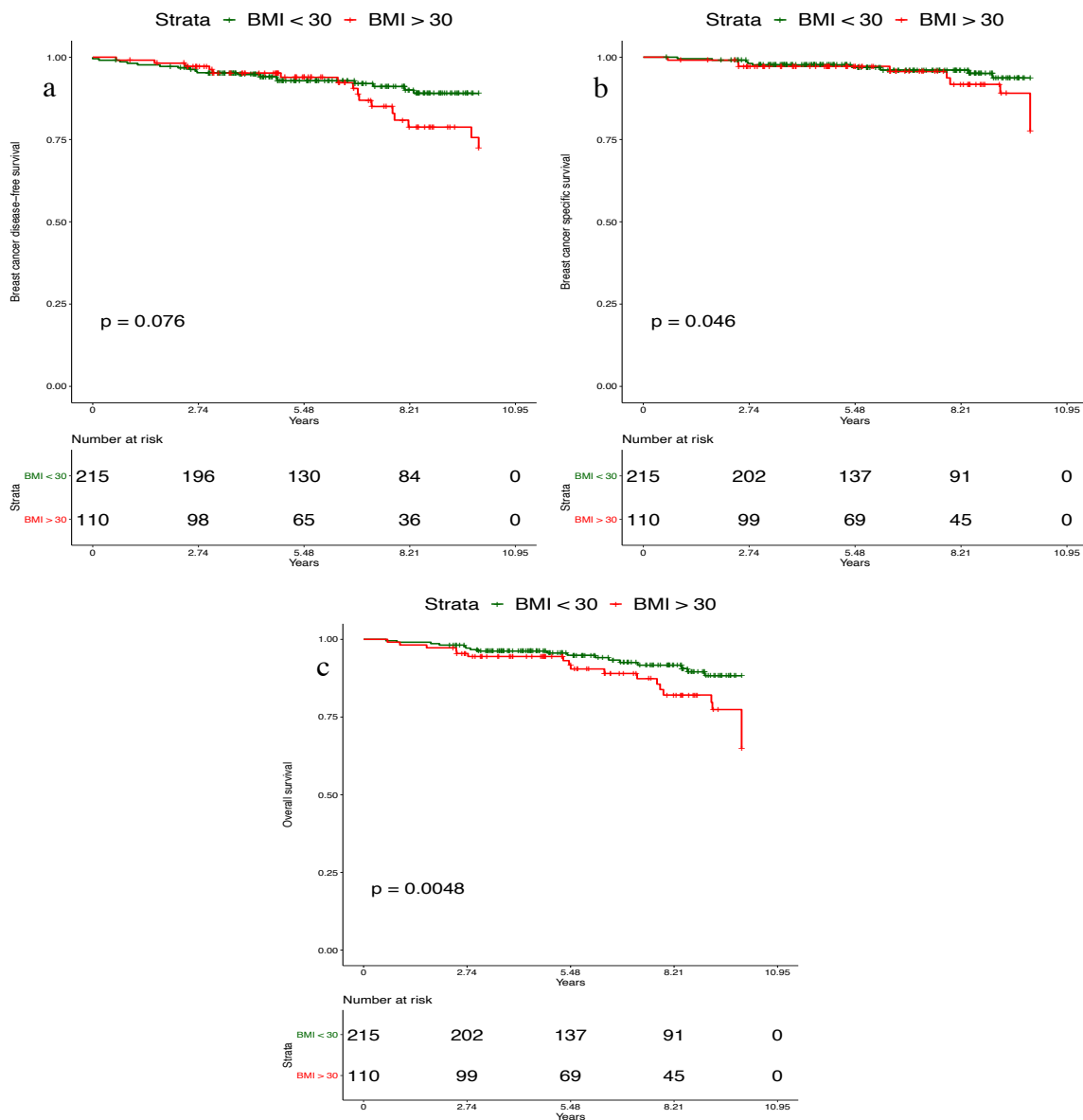


Figura 10 - Curvas de Kaplan-Meier para avaliar o efeito prognóstico do marcador inflamatório PLR (relação plaqueta/linfócito) na recorrência e sobrevida de pacientes com câncer de mama estádios I a III (n=1.664). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank. Apesar de estatisticamente significativo para sobrevida livre de doença e sobrevida específica, a PLR não se mostrou um marcador prognóstico independente na análise multivariada.



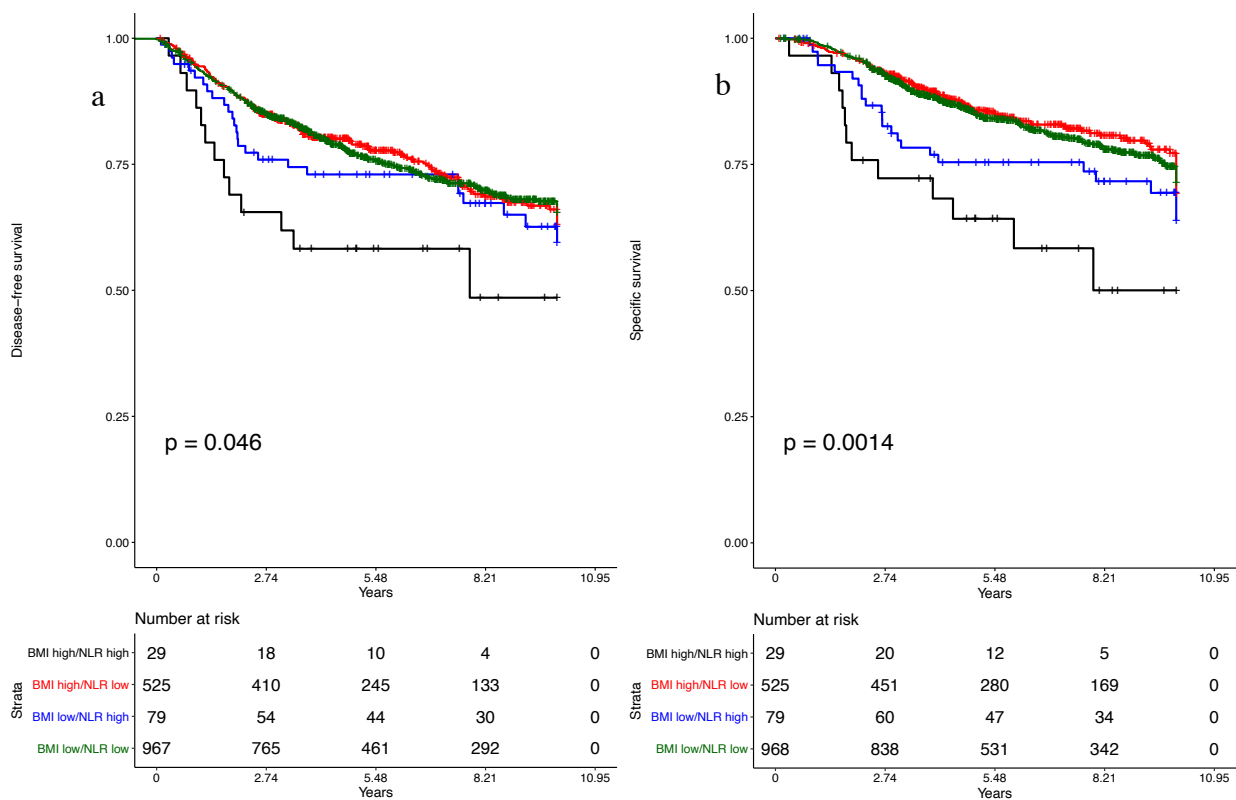
Ao avaliarmos se o impacto da obesidade no prognóstico de câncer de mama era diferente a depender do estadiamento inicial, observamos um impacto negativo da obesidade apenas em pacientes com doença inicial (estádio I), as quais apresentavam menores sobrevida livre de doença e maior mortalidade entre as obesas.

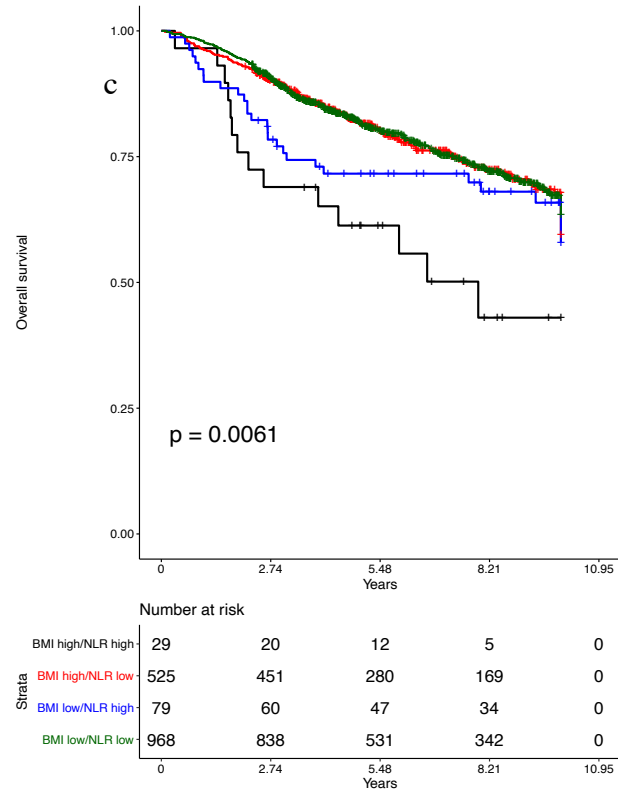
Figura 11 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama nas mulheres com estágio I ao diagnóstico, estratificadas pelo índice de massa corporal (IMC) (n=325). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank. Nos estádios mais avançados não foram observadas diferenças na sobrevida entre obesas e não obesas.



Ao examinar se havia alguma correlação da NLR com o IMC no prognóstico dessas pacientes, observamos que o subgrupo de mulheres com NLR > 4 e obesidade tinham os maiores riscos para recidiva (HR 2,04; IC 95% 1,15-3,62; p=0,015), mortalidade específica (HR 2,76; IC 95% 1,52-5,06; p<0,001) e mortalidade geral (HR 2,26; 1,30-3,93; p=0,004).

Figura 12 - Curvas de Kaplan-Meier para recorrência e sobrevida por câncer de mama nas mulheres com estágio I a III ao diagnóstico, estratificadas em grupos de acordo com o índice de massa corporal (IMC > 30Kg/m² = high) e relação neutrófilo/linfócito (NLR > 4 = high). a: sobrevida livre de doença b: sobrevida específica para câncer de mama, c: sobrevida global. Valor de p realizado por teste log-rank. A linha preta representa o grupo com NLR elevado e obesas, que apresenta pior prognóstico.





DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Avaliando o efeito da obesidade no diagnóstico e prognóstico de mulheres brasileiras com câncer de mama, foi possível identificar um impacto negativo da obesidade apenas em mulheres com doença inicial. Não houve diferença com relação ao status menopausal, PLR ou subtipos moleculares. Além disso, foi demonstrado que o NLR é um marcador independente de maior recidiva e mortalidade por câncer de mama, principalmente em um subgrupo de mulheres obesas.

A prevalência de obesidade encontrada na nossa coorte está de acordo com dados nacionais. Observamos 30% de obesas, com mediana de idade de 56 anos entre obesas e 54 anos entre as não obesas. Dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) 2018, mostravam 20% das mulheres na faixa de obesidade e 27,7% na faixa etária de 55 a 64 anos (IC 95% 25,6-29,7) (110). Já a PNS 2019 mostrava que 29,5% das mulheres eram consideradas obesas, sendo que na faixa entre 40 a 59 anos a prevalência subia para 38% (36).

Algumas metanálises recentes avaliaram a associação entre obesidade e câncer de mama. Chen *et al.* analisaram mais de três milhões de mulheres e demonstraram um maior risco de câncer de mama na pós menopausa em mulheres obesas (RR 1,33; IC 95% 1,20-1,48) (54). Chan *et al.* dividiram 213.075 mulheres em quatro categorias de IMC e concluíram que a mortalidade por câncer de mama era 35% maior no grupo com maior IMC comparado ao menor (RR 1,35; IC 95% 1,24-1,47) (111). Alguns anos antes, Protani *et al.* avaliaram 43 estudos e demonstraram que pacientes obesas com câncer de mama tinham as maiores mortalidade específica e global, comparadas as não obesas (HR 1,33; IC 95% 1,19-1,50) e (HR 1,33; IC 95% 1,21-1,47) respectivamente (112). Interessante notar que as metanálises supracitadas utilizaram dados, em grande medida, de estudos conduzidos em países desenvolvidos, nos quais, em torno de 80% das pacientes são diagnosticadas em estágio I, decorrente dos programas de rastreamento organizado e rápido e amplo acesso aos serviços de saúde (113). No Brasil, onde observamos um rastreamento oportunístico com baixa cobertura mamográfica e, principalmente, dificuldade de acesso ao serviço de referência para biópsia e tratamento

(114,115), aproximadamente 40% das pacientes são diagnosticadas em estádios localmente avançados ou com metástases (116). Adicionalmente, nosso achado é consistente com os estudos de Moore *et al.* que também demonstraram um impacto negativo da obesidade apenas em câncer de mama inicial (estádio I) (117) e Newman *et al.* que observaram maior mortalidade por câncer de mama em pacientes obesas apenas se axila negativa (118). A principal hipótese sugerida é que o efeito da obesidade no prognóstico de câncer de mama seja modesto e se torne aparente apenas no subgrupo de mulheres com melhor prognóstico e que recebem menos volume de tratamento. Além disso, o impacto do IMC parece ser pequeno, comparado a fatores prognósticos clássicos como tamanho tumoral e doença linfonodal (52).

Na população estudada, as mulheres obesas, na ocasião do diagnóstico, tinham tumores significativamente maiores que as não obesas, o que pode ser explicado pelo fato de obesas frequentemente terem mamas mais volumosas e de mais difícil palpação (119). Há ainda evidências de que mulheres obesas realizam menos exames de prevenção, devido a uma menor autoestima e sensação de inferioridade relacionada a imagem corporal (120). Com relação a idade, as mulheres obesas tiveram diagnóstico com mais idade e mais relacionadas a pós-menopausa, o que parece ser decorrente do ganho de peso frequente na menopausa (121), e do aumento de risco de câncer de mama com o avanço da idade (122).

Quando foram avaliados os biomarcadores no prognóstico de câncer de mama, foi observado que a NLR, mas não a PLR, é um fator prognóstico independente para maior recorrência e mortalidade na análise multivariada. Esta afirmação está em concordância com estudo prévio de Azab *et al.* que demonstraram que o NLR é superior ao PLR como fator prognóstico de câncer de mama (96). Ao contrário de duas metanálises recentes que mostraram maior associação desses marcadores com tumores HER2 e TN (97,101), não houve diferença nos desfechos quando estratificados pelo subtipo tumoral, possivelmente decorrente de um tamanho amostral insuficiente. Os tumores HER2 e TN têm sido os mais estudados recentemente, devido a sua maior imunogenicidade e conseqüente desenvolvimento de imunoterapias (123).

Apesar de diversas publicações recentes avaliarem as relações NLR e PLR, obtidas antes do tratamento, como fatores prognósticos de câncer de mama, os valores de corte não estão definidos e variam consideravelmente entre os estudos. Em metanálise recente de 100 estudos, incluindo pacientes com tumores sólidos de vários sítios, valores elevados de NLR foram associados a maior recidiva e mortalidade, porém os valores de corte variaram de 1,9 a 7,2 entre os estudos, com valor de corte mediano igual a 4,0 (124). Outra metanálise de 2019 avaliou tanto a NLR quanto a PLR em mulheres com câncer de mama e também observaram heterogeneidade com relação aos valores de corte, com variação de 1,3 a 4,0 em 28 estudos para NLR e variação de 147 a 250 em 12 estudos para PLR (101).

Nas análises de sobrevida, pudemos identificar um subgrupo de mulheres com NLR alto e IMC $>30\text{Kg/m}^2$ que tinham o pior prognóstico. Sugere-se um papel do microambiente disfuncional provocado pela obesidade e sua interferência no sistema imune como possível causa desta associação (125). É sabido também que mulheres obesas têm mais complicações cirúrgicas, recebem doses subótimas de quimioterapias, podem ter menor efeito protetor dos inibidores de aromatase e mais comorbidades associadas (61,65).

6 Limitações do estudo

O IMC é a medida de avaliação de obesidade mais utilizada nas publicações, principalmente em estudos retrospectivos, por ser de fácil aquisição e largamente disponível. Porém, ele parece não ser a melhor maneira de avaliar a adiposidade, especialmente em idosas, o grupo mais susceptível a desenvolver câncer de mama. Após a menopausa é comum que mulheres apresentem redução na estatura (126), perda de massa óssea e massa muscular, e acumulem gordura visceral (127), fatores estes, não medidos pelo IMC. Além disso, estudos têm demonstrado que o IMC pode subestimar a sarcopenia e a massa muscular, os quais podem ser preditores de maior mortalidade por câncer de mama, mesmo entre as mulheres na faixa normal de IMC (128). Iyengar *et al.*

avaliaram a gordura corporal por DEXA de 3.460 mulheres menopausadas com IMC normal e mostraram maior risco de câncer de mama invasivo em mulheres com maiores quartis de gordura corporal (HR 1,89; IC 95% 1,21-2,95) (129). Caan *et al.* estimaram a gordura corporal e massa muscular através de imagens de tomografia computadorizada de 3.706 mulheres com câncer de mama estádios II e III, e mostraram prevalência de sarcopenia de até 34% em todas as faixas de IMC e que esta subclassificação de obesidade pelo IMC, principalmente na faixa de IMC entre 30-35Kg/m² pode ser um dos motivos pelos quais alguns estudos falham em estabelecer uma associação entre IMC e sobrevida por câncer de mama (38). Outro estudo do mesmo grupo demonstrou ainda que menor massa muscular está associada a maiores concentrações sanguíneas de marcadores sistêmicos de inflamação relacionados a obesidade, como NLR e PLR (130). Há de ser considerado ainda a variação do peso corporal ao longo da vida. Dois estudos recentes sugerem que o ganho de peso quando adultos-jovens (após 18 anos) (131) ou na faixa entre 40-50 anos (132) foram preditores de risco para câncer de mama na pós-menopausa. Outro estudo recente mostrou que a redução de 5% do peso corporal em mulheres pós-menopausadas reduziu o risco de câncer de mama em 12% (HR 0,88; IC 95% 0,78-0,98), mostrando que talvez uma única medida, na ocasião do diagnóstico, possa não ser suficiente para estabelecer uma associação adequada (133).

Outra limitação está naquelas inerentes aos estudos retrospectivos e na impossibilidade de explorar possíveis associações como uso de hormônios ao longo da vida, circunferência abdominal e relação cintura/quadril, atividade física, tabagismo e dieta. Por fim, o estudo foi conduzido em uma única instituição, mas em uma coorte relativamente grande e longo tempo de seguimento.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

1. A relação entre obesidade e câncer de mama é complexa e multifatorial e pode apresentar associações diversas a depender da população e metodologia empregadas.

- a. Na nossa população, observamos um impacto negativo da obesidade apenas na população com doença inicial (estádio I). Sem diferenças com relação ao subtipo tumoral e status menopausal.
- b. O pior prognóstico e a terapia multimodal empregada em pacientes com estadiamentos mais avançados podem estar mitigando o moderado efeito da obesidade no prognóstico dessas pacientes.
- c. O IMC, principalmente quando aferido uma única vez, não parece ser o melhor método para avaliar adiposidade e sua correlação com incidência e prognóstico de câncer de mama. Outras formas de avaliar esta associação, como o índice de músculo esquelético por tomografia computadorizada, são recomendados.
- d. Outros elementos como síndrome metabólica, insulina e adipocinas podem representar melhores alvos para estudar esta associação.

2. Valores elevados de NLR são considerados como marcador de inflamação e fator prognóstico independente para pior sobrevida por câncer de mama.

- a. A NLR é superior a PLR como fator prognóstico de câncer de mama.
- b. Um subgrupo de mulheres com obesidade e valores elevados de NLR tiveram mais recorrência e mortalidade, mostrando uma associação importante entre inflamação e prognóstico em câncer de mama.

3. As altas taxas de diagnóstico de câncer de mama avançado observadas na nossa população, assim como os alarmantes dados de obesidade, podem servir como substrato para incentivar novos estudos e medidas de saúde pública visando a minimizar o número de óbitos associados a estas patologias no Brasil.

8 REFERÊNCIAS †

1. 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* [Internet]. 2018;68:394–424. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30207593>
2. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, editors (2020). *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://publications.iarc.fr/586>. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO.
3. *Estimate/2020 – Cancer Incidence in Brazil/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.* <https://www.inca.gov.br/estimativa>. Accessed 24 May 2020.
4. Dos-Santos-Silva I, De Stavola BL, Renna NL, Nogueira MC, Aquino EML, Bustamante-Teixeira MT, et al. Ethnoracial and social trends in breast cancer staging at diagnosis in Brazil, 2001–14: a case only analysis. *Lancet Glob Heal* [Internet]. The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an Open Access article under the CC BY 4.0 license; 2019;7:e784–97. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30151-2](http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30151-2)
5. Vieira R, Biller G, Uemura G, Ruiz C, Curado M. Breast cancer screening in developing countries. *Clinics* [Internet]. 2017;72:244–53. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5401614/?report=classic>
6. Tiezzi DG, Orlandini FL, Carrara HHA, Cândido dos Reis FJ, Andrade JM. Current Breast Cancer Screening Scenario in Brazil. *Rev Bras Ginecol e Obs / RBGO Gynecol Obstet* [Internet]. 2019;41:633–5. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0039-3399550>
7. Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment. *JAMA* [Internet]. 2019;321:288. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2018.19323>
8. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N, Poortmans P, et al. Breast cancer. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2019;5:66. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41572-019-0111-2>
9. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2000;406:747–52. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2017.19130>
10. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* [Internet]. 2013;24:2206–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419369649>
11. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* [Internet]. 2001;2:133–40. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204500002540>
12. Assi HA, Khoury KE, Dbouk H, Khalil LE, Mouhieddine TH, Saghier NS El. Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women. *J Thorac Dis*. 2013;5:S2.
13. National Institutes of Health; National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer stat facts: female breast cancer. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>. Accessed in July 20, 2020.
14. Baretta Z, Mocellin S, Goldin E, Olopade OI, Huo D. Effect of BRCA germline mutations

† De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

-
- on breast cancer prognosis. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2016;95:e4975. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005792-201610040-00034>
15. Nelson HD, Pappas M, Cantor A, Haney E, Holmes R. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA- Related Cancer in Women: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2019;322:666–85.
 16. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. *Menopausal Rev* [Internet]. 2015;3:196–202. Available from: <http://www.termedia.pl/doi/10.5114/pm.2015.54346>
 17. Bagnoli, F. et al. *Mastologia: do diagnóstico ao tratamento* [Livro eletrônico]. Goiânia: Conexão Propaganda e Editora, 2017.
 18. Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, Murray CJL, Ezzati M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet* [Internet]. 2005;366:1784–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673605677252>
 19. Buja A, Pierbon M, Lago L, Grotto G, Baldo V. Breast Cancer Primary Prevention and Diet: An Umbrella Review. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2020;17:4731. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/13/4731>
 20. Matthews CE, Moore SC, Arem H, Cook MB, Trabert B, Larsson SC, et al. Amount and Intensity of Leisure-Time Physical Activity and Lower Cancer Risk. *J Clin Oncol* [Internet]. 2019;38. Available from: <https://doi>.
 21. Macacu A, Autier P, Boniol M, Boyle P. Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* Springer US; 2015;154:213–24.
 22. Liu T, Nguyen N, Colditz GA. Links Between Alcohol Consumption and Breast Cancer. *Womens Heal* [Internet]. 2015;11:65–77. Available from: http://www.medscape.com/viewarticle/838694?src=wnl_edit_tpal&uac=31074DN
 23. Fang X, Wei J, He X, Lian J, Han D, An P, et al. Quantitative association between body mass index and the risk of cancer: A global Meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cancer* [Internet]. 2018;143:1595–603. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ijc.31553>
 24. Jayasekara H, MacInnis RJ, Room R, English DR. Long-term alcohol consumption and breast, upper aero-digestive tract and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Alcohol Alcohol.* 2016;51:315–30.
 25. Brown JC, Ligibel JA. Lifestyle Interventions for Breast Cancer Prevention. *Curr Breast Cancer Rep.* 2018;10:202–8.
 26. Ligibel JA, Basen-Engquist K, Bea JW. Weight Management and Physical Activity for Breast Cancer Prevention and Control. *Am Soc Clin Oncol Educ B.* 2019;e22–33.
 27. WHO - World Health Organization. Obesity and Overweight. <https://www.who.int/topics/obesity/en>. Accessed in March 24, 2020.
 28. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev* [Internet]. 2017;18:715–23. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/obr.12551>
 29. Müller MJ, Geisler C. Defining obesity as a disease. *Eur J Clin Nutr.* 2017;71:1256–8.
 30. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15:288–98.
 31. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9

-
- million children, adolescents, and adults. *Lancet* [Internet]. 2017;390:2627–42. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617321293>
32. Berry EM. The Obesity Pandemic—Whose Responsibility? No Blame, No Shame, Not More of the Same. *Front Nutr* [Internet]. 2020;7:1–4. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2020.00002/full>
 33. Ward ZJ, Bleich SN, Cradock AL, Barrett JL, Giles CM, Flax C, et al. Projected U.S. State-Level Prevalence of Adult Obesity and Severe Obesity. *N Engl J Med* [Internet]. 2019;381:2440–50. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMsa1909301>
 34. Popkin BM, Reardon T. Obesity and the food system transformation in Latin America. *Obes Rev* [Internet]. 2018;19:1028–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/obr.12694>
 35. Singh G, Danaei G, Farzadfar F, et al. Collaboration APCS, Gonzalez AB de, et al. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19·2 million participants. *Lancet* [Internet]. NCD Risk Factor Collaboration. Open Access article distributed under the terms of CC BY; 2016;387:1377–96. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361630054X> <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067361630054X>
 36. Pesquisa nacional de saúde : 2019 : atenção primária à saúde e informações antropométricas : Brasil / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro : IBGE, 2020.
 37. Vasan SK, Osmond C, Canoy D, Christodoulides C, Neville MJ, Di Gravio C, et al. Comparison of regional fat measurements by dual-energy X-ray absorptiometry and conventional anthropometry and their association with markers of diabetes and cardiovascular disease risk. *Int J Obes* [Internet]. Nature Publishing Group; 2018;42:850–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2017.289>
 38. Caan BJ, Cespedes Feliciano EM, Prado CM, Alexeeff S, Kroenke CH, Bradshaw P, et al. Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol*. 2018;4:798–804.
 39. Gonzalez MC, Heymsfield SB. Bioelectrical impedance analysis for diagnosing sarcopenia and cachexia: what are we really estimating? *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017;8:187–9.
 40. Tehard B, Clavel-Chapelon F. Several anthropometric measurements and breast cancer risk: Results of the E3N cohort study. *Int J Obes*. 2006;30:156–63.
 41. Cederholm T, Barazzoni R, Austin P, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr* [Internet]. 2017;36:49–64. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561416312420>
 42. Noncommunicable diseases country profiles 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
 43. Colditz GA, Lindsay L. Obesity and cancer: Evidence, impact, and future directions. *Clin Chem*. 2018;64:154–62.
 44. Sung H, Siegel RL, Torre LA, Pearson-Stuttard J, Islami F, Fedewa SA, et al. Global patterns in excess body weight and the associated cancer burden. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018;19:caac.21499. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3322/caac.21499>
 45. Avgerinos KI, Spyrou N, Mantzoros CS, Dalamaga M. Obesity and cancer risk: Emerging biological mechanisms and perspectives. *Metabolism* [Internet]. Elsevier Inc.;

-
- 2019;92:121–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.001>
46. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med* [Internet]. 2003;348:1625–38. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa021423>
 47. Ligibel JA, Wollins D. American society of clinical oncology obesity initiative: Rationale, progress, and future directions. *J Clin Oncol*. 2016;34:4256–60.
 48. Rezende LFM de, Arnold M, Rabacow FM, Levy RB, Claro RM, Giovannucci E, et al. The increasing burden of cancer attributable to high body mass index in Brazil. *Cancer Epidemiol* [Internet]. Elsevier; 2018;54:63–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.03.006>
 49. ABE R, KUMAGAI N, KIMURA M, HIROSAKI A, NAKAMURA T. Biological Characteristics of Breast Cancer in Obesity. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 1976;120:351–9. Available from: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.Journalarchive/tjem1920/120.351?from=CrossRef>
 50. Haakinson DJ, Leeds SG, Dueck AC, Gray RJ, Wasif N, Stucky CCH, et al. The impact of obesity on breast cancer: A Retrospective review. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:3012–8.
 51. Locatelli L, Cadamuro M, Spirli C, Fiorotto R, Morell CM, Popov Y, et al. Body mass index at diagnosis and breast cancer survival prognosis in clinical trial populations from NRG Oncology/ NSABP B-30, B-31, B-34, and B-38. *Hepatology*. 2017;63:965–82.
 52. Jiralerspong S, Goodwin PJ. Obesity and Breast Cancer Prognosis: Evidence, Challenges, and Opportunities. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016;34:4203–16. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2016.68.4480%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27903149>
 53. Vrieling A, Buck K, Kaaks R, Chang-Claude J. Adult weight gain in relation to breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2010;123:641–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10549-010-1116-4>
 54. Chen Y, Liu L, Zhou Q, Imam MU, Cai J, Wang Y, et al. Body mass index had different effects on premenopausal and postmenopausal breast cancer risks: a dose-response meta-analysis with 3,318,796 subjects from 31 cohort studies. *BMC Public Health*. *BMC Public Health*; 2017;17:936.
 55. GRODIN JM, SIITERI PK, MACDONALD PC. Source of Estrogen Production in Postmenopausal Women1. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1973;36:207–14. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-36-2-207>
 56. Rybinska I, Agresti R, Trapani A, Tagliabue E, Triulzi T. Adipocytes in Breast Cancer, the Thick and the Thin. *Cells* [Internet]. 2020;9:560. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/3/560>
 57. Liu K, Zhang W, Dai Z, Wang M, Tian T, Liu X, et al. Association between body mass index and breast cancer risk: evidence based on a dose-response meta-analysis. *Cancer Manag Res* [Internet]. 2018;Volume 10:143–51. Available from: <https://www.dovepress.com/association-between-body-mass-index-and-breast-cancer-risk-evidence-ba-peer-reviewed-article-CMAR>
 58. Sanderson M, Shu XO, Jin F, Dai Q, Ruan Z, Gao YT, et al. Weight at birth and adolescence and premenopausal breast cancer risk in a low-risk population. *Br J Cancer*. 2002;86:84–8.
 59. Pierobon M, Frankenfeld CL. Obesity as a risk factor for triple-negative breast cancers: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2013;137:307–14. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10549-012-2339-3>

-
60. Turkoz FP, Solak M, Petekkaya I, Keskin O, Kertmen N, Sarici F, et al. Association between common risk factors and molecular subtypes in breast cancer patients. *Breast* [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;22:344–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2012.08.005>
 61. Lee K, Kruper L, Dieli-Conwright CM, Mortimer JE. The Impact of Obesity on Breast Cancer Diagnosis and Treatment. *Curr Oncol Rep* [Internet]. Current Oncology Reports; 2019;21:41. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11912-019-0787-1>
 62. Deng T, Lyon CJ, Bergin S, Caligiuri MA, Hsueh WA. Obesity, Inflammation, and Cancer. Dannenberg AJ, Berger NA, editors. *Annu Rev Pathol Mech Dis* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2016;11:421–49. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-6819-6>
 63. Stolarczyk E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;37:35–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2017.08.006>
 64. D'Esposito V, Ambrosio MR, Giuliano M, Cabaro S, Miele C, Beguinot F, et al. Mammary Adipose Tissue Control of Breast Cancer Progression: Impact of Obesity and Diabetes. *Front Oncol*. 2020;10:1–8.
 65. Argolo DF, Hudis CA, Iyengar NM. The Impact of Obesity on Breast Cancer. *Curr Oncol Rep* [Internet]. Current Oncology Reports; 2018;20:47. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11912-018-0688-8>
 66. Matthews SB, Thompson HJ. The obesity-breast cancer conundrum: An analysis of the issues. *Int J Mol Sci*. 2016;17.
 67. Bowers LW, Rossi EL, O'Flanagan CH, DeGraffenried LA, Hursting SD. The Role of the Insulin/IGF System in Cancer: Lessons Learned from Clinical Trials and the Energy Balance-Cancer Link. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2015;6:1–16. Available from: http://www.frontiersin.org/Cancer_Endocrinology/10.3389/fendo.2015.00077/abstract
 68. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Madarnas Y, et al. Fasting Insulin and Outcome in Early-Stage Breast Cancer: Results of a Prospective Cohort Study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2002;20:42–51. Available from: <http://www.jco.org/cgi/doi/10.1200/JCO.20.1.42>
 69. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PHM, Biessy C, et al. Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocr Relat Cancer* [Internet]. 2005;12:1071–82. Available from: <https://erc.bioscientifica.com/view/journals/erc/12/4/0121071.xml>
 70. Yager JD, Davidson NE. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2006;354:270–82. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra050776>
 71. Travis RC, Key TJ. Oestrogen exposure and breast cancer risk. *Breast Cancer Res*. 2003;5:239–47.
 72. Renehan AG, Frystyk J, Flyvbjerg A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin–IGF axis. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2006;17:328–36. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276006001573>
 73. Wang X, Simpson ER, Brown KA. Aromatase overexpression in dysfunctional adipose tissue links obesity to postmenopausal breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;153:35–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.07.008>
 74. Pequeux C, Raymond-Letron I, Blacher S, Boudou F, Adlanmerini M, Fouque M-J, et al.

-
- Stromal Estrogen Receptor- Promotes Tumor Growth by Normalizing an Increased Angiogenesis. *Cancer Res* [Internet]. 2012;72:3010–9. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-11-3768>
75. Prado WL do, Lofrano MC, Oyama LM, Dâmaso AR. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. *Rev Bras Med do Esporte* [Internet]. 2009;15:378–83. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922009000600012&lng=pt&tlng=pt
 76. Khandekar MJ, Cohen P, Spiegelman BM. Molecular mechanisms of cancer development in obesity. *Nat Rev Cancer* [Internet]. Nature Publishing Group; 2011;11:886–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3174>
 77. Hamann A, Matthaei S. Regulation of energy balance by leptin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* [Internet]. 2009;104:293–300. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0029-1211457>
 78. Francisco V, Pino J, Campos-Cabaleiro V, Ruiz-Fernández C, Mera A, Gonzalez-Gay MA, et al. Obesity, fat mass and immune system: Role for leptin. *Front Physiol*. 2018;9:1–20.
 79. Chu, Phuong, Tien, Tran, Nguyen, Thanh, et al. The Effects of Adipocytes on the Regulation of Breast Cancer in the Tumor Microenvironment: An Update. *Cells* [Internet]. 2019;8:857. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/8/857>
 80. Ye J, Jia J, Dong S, Zhang C, Yu S, Li L, et al. Circulating adiponectin levels and the risk of breast cancer. *Eur J Cancer Prev* [Internet]. 2014;23:158–65. Available from: <http://journals.lww.com/00008469-201405000-00002>
 81. Macis D, Guerrieri-Gonzaga A, Gandini S. Circulating adiponectin and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2014;43:1226–36.
 82. Francescone R, Hou V, Grivennikov SI. Microbiome, Inflammation, and Cancer. *Cancer J* [Internet]. 2014;20:181–9. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130404-201405000-00004>
 83. Fernández M, Reina-Pérez I, Astorga J, Rodríguez-Carrillo A, Plaza-Díaz J, Fontana L. Breast Cancer and Its Relationship with the Microbiota. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2018;15:1747. Available from: <http://www.mdpi.com/1660-4601/15/8/1747>
 84. Simpson ER, Brown KA. Minireview: Obesity and Breast Cancer: A Tale of Inflammation and Dysregulated Metabolism. *Mol Endocrinol*. 2013;27:715–25.
 85. Cildir G, Akincilar SC, Tergaonkar V. Chronic adipose tissue inflammation: All immune cells on the stage. *Trends Mol Med*. 2013;19:487–500.
 86. van Kruijsdijk RCM, van der Wall E, Visseren FLJ. Obesity and Cancer: The Role of Dysfunctional Adipose Tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2009;18:2569–78. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-09-0372>
 87. Faria SS, Corrêa LH, Heyn GS, de Sant’Ana LP, Almeida RDN, Magalhães KG. Obesity and breast cancer: The role of crown-like structures in breast adipose tissue in tumor progression, prognosis, and therapy. *J Breast Cancer*. 2020;23:233–45.
 88. Ruffell B, Au A, Rugo HS, Esserman LJ, Hwang ES, Coussens LM. Leukocyte composition of human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2012;109:2796–801. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1104303108>
 89. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* [Internet]. 2002;420:860–7. Available from: <http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0->

-
- 0037180757&origin=inward&txGid=nrzriWhg2oR6fypyvyqK169:76
90. Qian Y, Tao J, Li X, Chen H, Lu Q, Yang J, et al. Peripheral inflammation/immune indicators of chemosensitivity and prognosis in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Onco Targets Ther* [Internet]. 2018;Volume 11:1423–32. Available from: <https://www.dovepress.com/peripheral-inflammation-immune-indicators-of-chemosensitivity-and-progn-peer-reviewed-article-OTT>
 91. Losada B, Guerra JA, Malón D, Jara C, Rodriguez L, Del Barco S. Pretreatment neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, lymphocyte/monocyte, and neutrophil/monocyte ratios and outcome in elderly breast cancer patients. *Clin Transl Oncol* [Internet]. Springer International Publishing; 2018; Available from: <https://doi.org/10.1007/s12094-018-1999-9>
 92. Zhu Y, Si W, Sun Q, Qin B, Zhao W, Yang J. Platelet-lymphocyte ratio acts as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8:1023–30.
 93. Ménétrier-Caux C, Ray-Coquard I, Blay JY, Caux C. Lymphopenia in Cancer Patients and its Effects on Response to Immunotherapy: An opportunity for combination with Cytokines? *J Immunother Cancer*. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*; 2019;7:1–15.
 94. Chew V, Toh HC, Abastado JP. Immune microenvironment in tumor progression: Characteristics and challenges for therapy. *J Oncol*. 2012;2012.
 95. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, Murukutla S, Kohn N, Terjanian T, et al. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:217–24.
 96. Azab B, Shah N, Radbel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrolio S, et al. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol*. 2013;30.
 97. Ethier JL, Desautels D, Templeton A, Shah PS, Amir E. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res* [Internet]. *Breast Cancer Research*; 2017;19:1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13058-016-0794-1>
 98. Cullinane C, Creavin B, O' Leary DP, O' Sullivan MJ, Kelly L, Redmond HP, et al. Can the Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predict Complete Pathological Response to Neoadjuvant Breast Cancer Treatment? Systematic Review and Meta- Analysis. *Clin Breast Cancer* [Internet]. Elsevier Inc.; 2020; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2020.05.008>
 99. Ding N, Huang J, Li N, Yuan J, Wang S, Xiao Z. Roles of neutrophil/lymphocyte ratio in prognosis and in differentiation of potential beneficiaries in HER2-positive breast cancer with trastuzumab therapy. *BMC Cancer*. *BMC Cancer*; 2020;20:1–8.
 100. Pistelli M, De Lisa M, Ballatore Z, Caramanti M, Pagliacci A, Battelli N, et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio may be a useful tool in predicting survival in early triple negative breast cancer patients. *BMC Cancer* [Internet]. ???; 2015;15:195. Available from: ???
 101. Guo W, Lu X, Liu Q, Zhang T, Li P, Qiao W, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio for breast cancer patients: An updated meta-analysis of 17079 individuals. *Cancer Med*. 2019;8:4135–48.
 102. Hachul H, Polesel DN, Nozoe KT, Sanchez ZM, Prado MCO, Andersen ML, et al. The Age of Menopause and their Associated Factors: A Cross-Sectional Population-Based Study. *J Women's Heal Care* [Internet]. 2016;5. Available from: <https://www.omicsgroup.org/journals/the-age-of-menopause-and-their-associated-factors-a-crosssectional-populationbased-study-2167-0420-1000335.php?aid=81037>
 103. Pedro AO, Pinto Neto AM, Paiva LHS da C, Osis MJ, Hardy E. Idade de ocorrência da

-
- menopausa natural em mulheres brasileiras: resultados de um inquérito populacional domiciliar. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2003;19:07–25. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2003000100003&lng=pt&tlng=pt
104. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. *J Clin Oncol*. 2013;31:3997–4013.
 105. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:2784–95.
 106. American Joint Committee on Cancer. Breast cancer staging, 7th edn. American Cancer Society, 2009.
 107. Asano Y, Kashiwagi S, Onoda N, Noda S, Kawajiri H, Takashima T, et al. Platelet-Lymphocyte Ratio as a Useful Predictor of the Therapeutic Effect of Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *PLoS One*. 2016;11:e0153459.
 108. Dirican A, Kucukzeybek BB, Alacacioglu A, Kucukzeybek Y, Erten C, Varol U, et al. Do the derived neutrophil to lymphocyte ratio and the neutrophil to lymphocyte ratio predict prognosis in breast cancer? *Int J Clin Oncol*. 2015;20:70–81.
 109. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes*. BioMed Central; 2017;10:1–4.
 110. Vigitel Brazil 2018: surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of frequency and sociodemographic distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian sta. Brasília Ministério da Saúde. 2019.
 111. Chan DSM, Vieira AR, Aune D, Bandera E V., Greenwood DC, McTiernan A, et al. Body mass index and survival in women with breast cancer-systematic literature review and meta-analysis of 82 follow-up studies. *Ann Oncol*. 2014;25:1901–14.
 112. Protani M, Coory M, Martin JH. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-Analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123:627–35.
 113. Iqbal J, Ginsburg O, Rochon PA, Sun P, Narod SA. Differences in breast cancer stage at diagnosis and cancer-specific survival by race and ethnicity in the United States. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2015;313:165–73.
 114. Abrahão KDS, Bergmann A, Aguiar SS De, Thuler LCS. Determinants of advanced stage presentation of breast cancer in 87,969 Brazilian women. *Maturitas* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2015;82:365–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2015.07.021>
 115. Medeiros GC, Bergmann A, de Aguiar SS, Thuler LCS. Análise dos determinantes que influenciam o tempo para o início do tratamento de mulheres com câncer de mama no Brasil. *Cad Saude Publica*. 2015;31:1269–82.
 116. Magario MB, Poli-Neto OB, Tiezzi DG, Angotti Carrara HH, Moreira de Andrade J, Candido dos Reis FJ. Mammography Coverage and Tumor Stage in the Opportunistic Screening Context. *Clin Breast Cancer* [Internet]. Elsevier Inc.; 2019;19:456–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2019.04.014>
 117. Moore AH, Trentham-Dietz A, Burns M, Gangnon RE, Greenberg CC, Vanness DJ, et al. Obesity and mortality after locoregional breast cancer diagnosis. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. Springer US; 2018;172:647–57. Available from:

-
- <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-018-4932-6>
118. Newman S, Lees A, Jenkins H. The effect of body mass index and oestrogen receptor level on survival of breast cancer patients. *Int J Epidemiol* [Internet]. 1997;26:484–90. Available from: <https://academic.oup.com/ije/article-lookup/doi/10.1093/ije/26.3.484>
 119. Cui Y, Whiteman MK, Flaws JA, Langenberg P, Tkaczuk KH, Bush TL. Body mass and stage of breast cancer at diagnosis. *Int J Cancer* [Internet]. 2002;98:279–83. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.10209>
 120. da Silva K, de Medeiros Silva F, Dutra Agrícola P, Oliveira-Neto L. Imagem corporal em adolescentes obesas: uma revisão. *RBONE - Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. 2017;11:217–23.
 121. Oluwole OB, Ibidapo OP, Adesioye TA, Agboola AA. Diet: Overweight and obesity. *Diets Dis Causes Prev*. 2016;137–48.
 122. Rosenberg J, Chia YL, Plevritis S. The effect of age, race, tumor size, tumor grade, and disease stage on invasive ductal breast cancer survival in the U.S. SEER database. *Breast Cancer Res Treat*. 2005;89:47–54.
 123. Makhoul I, Atiq M, Alwbari A, Kieber-Emmons T. Breast Cancer Immunotherapy: An Update. *Breast Cancer Basic Clin Res* [Internet]. 2018;12:117822341877480. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1178223418774802>
 124. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106:1–11.
 125. Agurs-Collins T, Ross SA, Dunn BK. The Many Faces of Obesity and Its Influence on Breast Cancer Risk. *Front Oncol*. 2019;9:1–14.
 126. Sorkin JD, Muller DC, Andres R. Longitudinal change in the heights of men and women: Consequential effects on body mass index. *Epidemiol Rev*. 1999;21:247–60.
 127. Banack HR, Wactawski-Wende J, Hovey KM, Stokes A. Is BMI a valid measure of obesity in postmenopausal women? *Menopause*. 2018;25:307–13.
 128. Caan BJ, Cespedes Feliciano EM, Prado CM, Alexeeff S, Kroenke CH, Bradshaw P, et al. Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol*. 2018;4:798–804.
 129. Iyengar NM, Arthur R, Manson JE, Chlebowski RT, Kroenke CH, Peterson L, et al. Association of Body Fat and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women With Normal Body Mass Index. *JAMA Oncol* [Internet]. 2019;5:155. Available from: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2018.5327>
 130. Feliciano EMC, Kroenke CH, Meyerhardt JA, Prado CM, Bradshaw PT, Kwan ML, et al. Association of Systemic Inflammation and Sarcopenia With Survival in Nonmetastatic Colorectal Cancer: Results From the C SCANS Study. *JAMA Oncol*. 2017;3:e172319.
 131. Rosner B, Eliassen AH, Toriola AT, Chen WY, Hankinson SE, Willett WC, et al. Weight and weight changes in early adulthood and later breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2017;140:2003–14.
 132. Cordina-Duverger E, Truong T, Anger A, Sanchez M, Arveux P, Kerbrat P, et al. Weight and weight changes throughout life and postmenopausal breast cancer risk: A case-control study in France. *BMC Cancer* [Internet]. *BMC Cancer*; 2016;16:1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-016-2793-0>
 133. Chlebowski RT, Luo J, Anderson GL, Barrington W, Reding K, Simon MS, et al. Weight loss and breast cancer incidence in postmenopausal women. *Cancer*. 2019;125:205–12.

APÊNDICE A – RESULTADOS COMPLEMENTARES

Tabela 1. Análise univariada para recidiva, sobrevida específica e sobrevida global por modelos de COX.

Variáveis	Recidiva				Sobrevida específica				Sobrevida global			
	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p
Idade (anos)	0.98	0.98	0.99	<0.001	0.98	0.98	0.99	0.008	1.01	1.00	1.01	<0.001
IMC ≥ 30 kg/m ²	1.82	0.93	3.57	0.081	1.03	0.78	1.22	0.81	1.00	0.99	1.01	0.84
Grau^a (Ref: 1)												
Grau 2	1.77	1.33	2.35	<0.001	2.06	1.46	2.92	<0.001	1.58	1.20	2.08	<0.001
Grau 3	2.54	1.87	3.45	<0.001	2.94	2.03	4.26	<0.001	2.21	1.65	2.97	<0.001
Estádio^b (Ref: I(A+B))												
II (A+B)	2.15	1.48	3.10	<0.001	2.45	1.51	3.96	<0.001	1.99	1.42	2.81	<0.001
III (A+B+C)	6.20	4.36	8.80	0,001	8.16	5.17	12.88	<0.001	4.90	3.53	6.80	<0.001
Receptor estrogênio+	0.54	0.45	0.65	<0.001	0.45	0.36	0.56	<0.001	0.55	0.46	0.67	<0.001
Receptor progesterone+	0.62	0.52	0.75	<0.001	0.58	0.48	0.72	<0.001	0.65	0.54	0.78	<0.001
HER2	1.33	1.09	1.63	0.005	1.33	1.05	1.68	0.01	1.25	1.03	1.54	0.022
Subtipo (Ref: Luminal)												
Luminal/HER2-like	1.11	0.84	1.47	0.444	1.09	0.78	1.51	0.620	1.18	0.91	1.53	0.211
HER2-like	2.22	1.70	2.91	<0.001	2.47	1.82	3.35	<0.001	1.91	1.45	2.53	<0.001
Triplo Negativo	1.65	1.30	2.11	<0.001	1.99	1.52	2.60	<0.001	1.74	1.38	2.20	<0.001
NLR > 4	1.45	1.06	1.99	0.021	1.83	1.31	2.57	<0.001	1.63	1.22	2.19	0.001
PLR > 150	1.25	1.03	1.52	0.024	1.22	0.97	1.53	0.08	1.11	0.92	1.35	0.25

IMC: índice de massa corpórea; NLR: relação neutrófilo/linfócito; PLR: relação plaqueta/linfócito;

a: Classificação de Nottingham do Sistema Bloom e Richardson;

b -. Estadiamento TNM segundo AJCC (*American Joint Committee on Cancer*), 7ª Edição.

Tabela 2 – Análise univariada entre os grupos de paciente obesas e não obesas e influência dos NLR (relação neutrófilo/linfócito) e PLR (relação plaqueta/linfócito) em pacientes com câncer de mama estádios I a III.

Variables	Relapse				Specific survival				Overall survival			
	HR	CI95%		p	HR	CI95%		p	HR	CI95%		p
NLR ^{high} / BMI ^{high}	2.04	1.15	3.62	0.015	2.76	1.52	5.06	<0.001	2.26	1.30	3.93	0.004
NLR ^{high} / BMI ^{low}	1.23	0.82	1.84	0.306	1.45	0.94	2.24	0.093	1.32	0.89	1.96	0.162
PLR ^{high} / BMI ^{high}	1.41	1.00	1.98	0.048	1.53	1.03	2.29	0.034	1.28	0.90	1.81	0.159
PLR ^{high} / BMI ^{low}	1.16	0.91	1.48	0.226	1.08	0.82	1.43	0.576	1.00	0.78	1.28	0.977

Figura 1. Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de doença (DFS), sobrevida específica para câncer de mama (SS) e sobrevida global (OS), apenas na população com estadiamento clínico III.

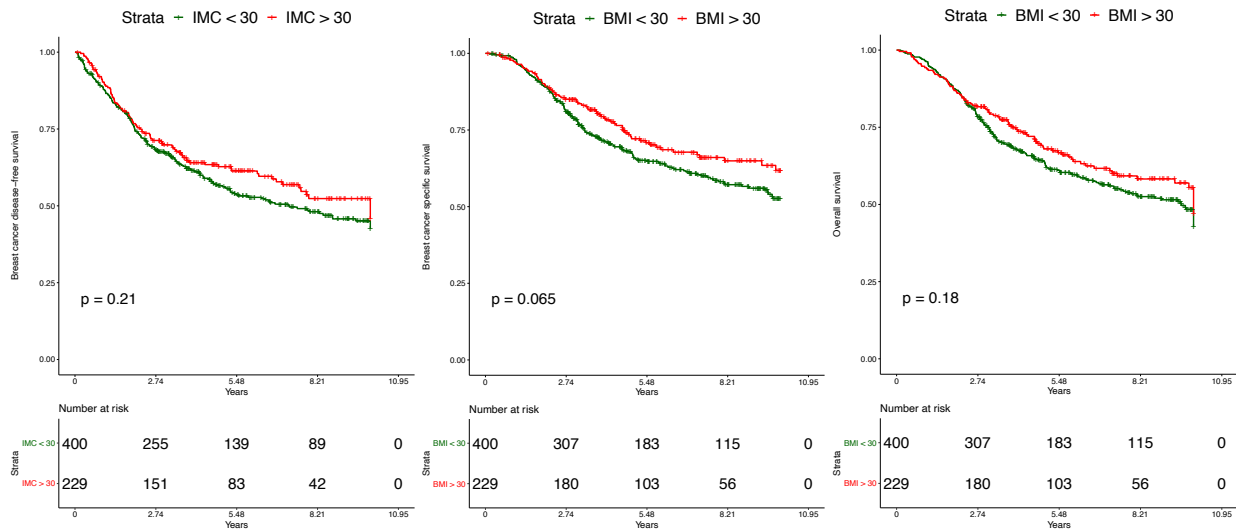
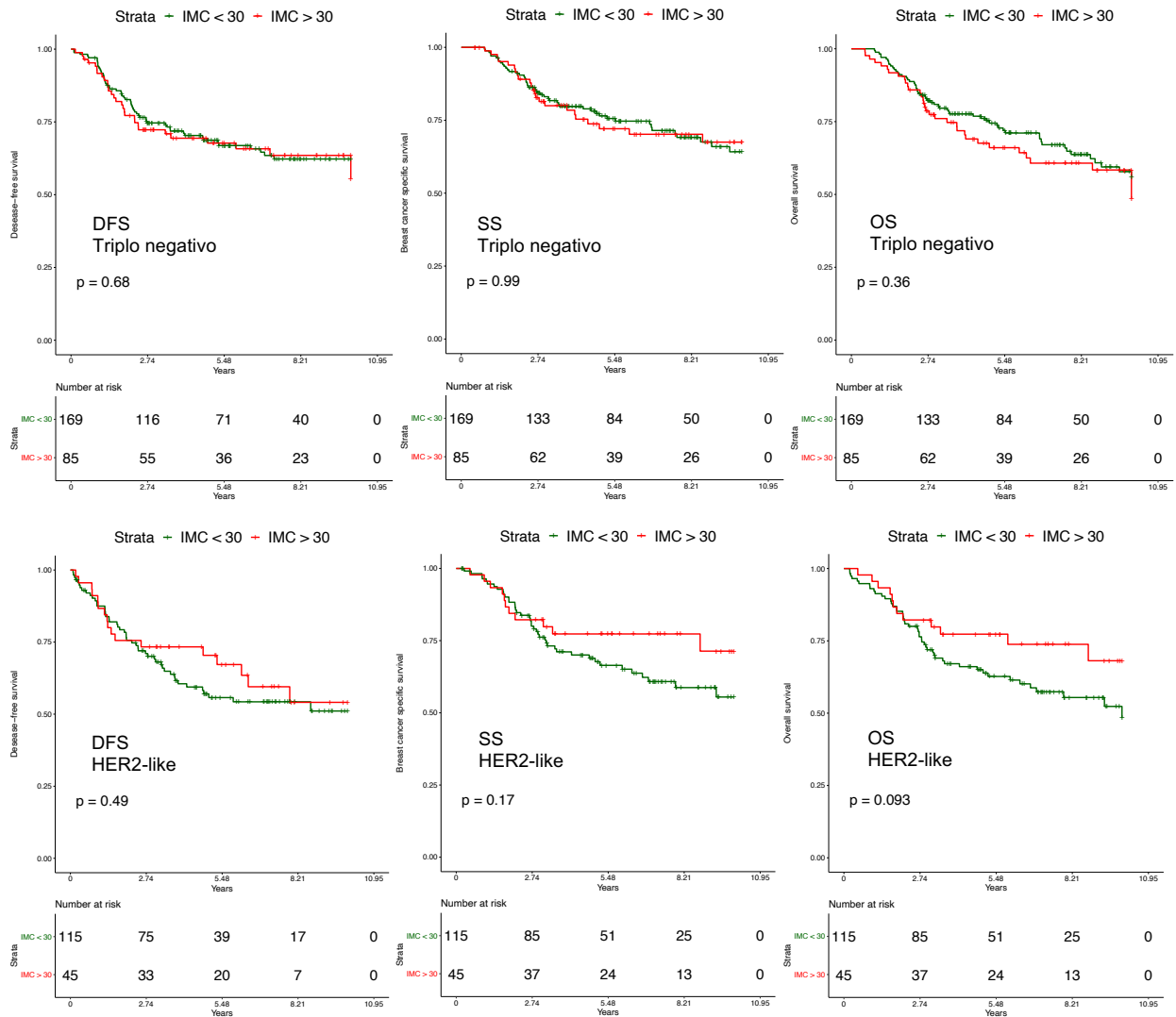


Figura 2. Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de doença (DFS), sobrevida específica para câncer de mama (SS) e sobrevida global (OS), estratificadas por subtipo tumoral.



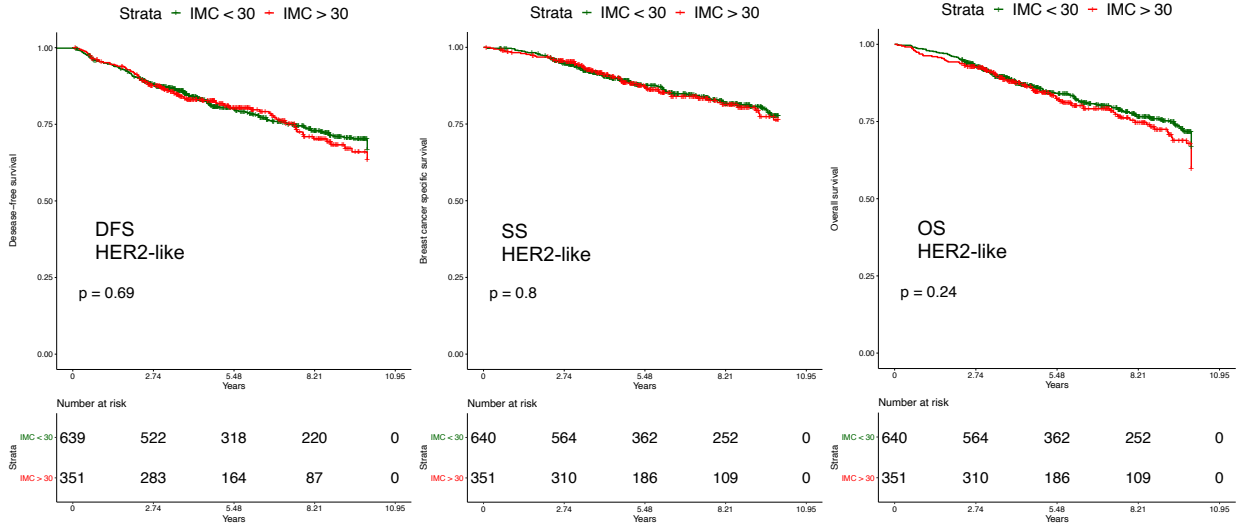


Figura 3. Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de doença (DFS), sobrevida específica para câncer de mama (SS) e sobrevida global (OS), avaliando o efeito da relação neutrófilos/linfócitos (NLR), apenas na população de obesas ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$).

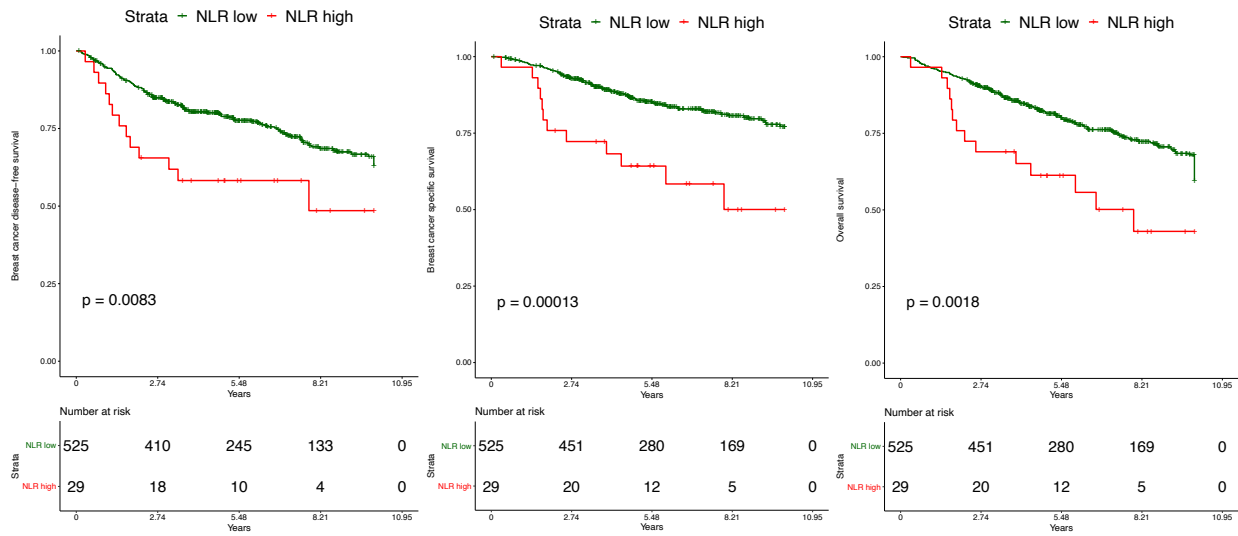
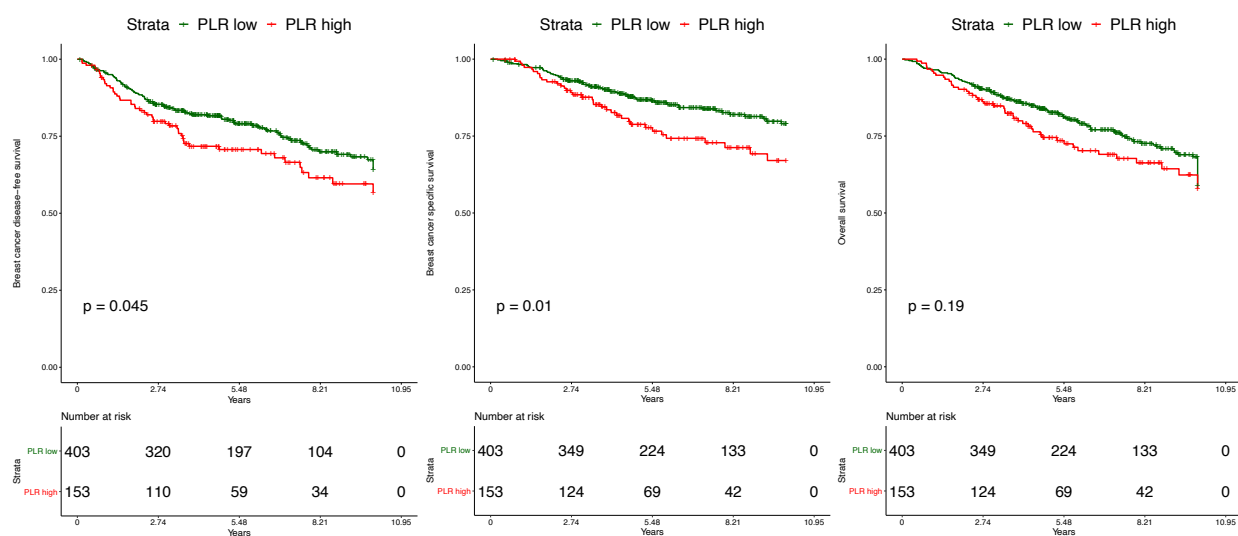


Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier para sobrevida livre de doença (DFS), sobrevida específica para câncer de mama (SS) e sobrevida global (OS), avaliando o efeito da relação plaquetas/linfócitos (PLR), apenas na população de obesas (IMC \geq 30).



APÊNDICE B – ARTIGO ORIGINAL SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

Original Research

Obesity and high neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) are prognostic factors in early-stage breast cancer patients

Leonardo Fleury Orlandini¹, Franklin Fernandes Pimentel¹, Jurandyr Moreira de Andrade¹, Francisco José Cândido dos Reis¹, Leticia De Mattos-Arruda², Daniel Guimarães Tiezzi^{1,3}

¹ Breast Disease Division, Department of Gynecology and Obstetrics, Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo (USP), Av. Bandeirantes, 3900, Ribeirão Preto, 14040-900, SP, Brazil.

² Iriscaixa, IrsiCaixa, Hospital Universitari Trias i Pujol, Ctra. de Canyet, s/n, 08916, Badalona, Spain.

³ Advanced Research Center in Medicine, Union of the Colleges of the Great Lakes (UNILAGO), R. Dr. Eduardo Nielsem, 960 - 15030-070, São José do Rio Preto, Brazil.

***Correspondence to:** Daniel G. Tiezzi; dtiezzi@usp.br and Leonardo F. Orlandini; leonardof.orlandini@gmail.com

Highlights

- Retrospective study of a cohort of 1,664 breast cancer patients and the association with body mass index was presented.
- Two inflammatory biomarkers were investigated as prognostic factors on breast cancer recurrence and survival.
- Higher BMI was associated with recurrence and worse survival only in patients with stage I disease.
- NLR > 4 was an independent prognostic factor for poorer outcomes in breast cancer, especially in a subgroup of obese patients.

Abstract

Background: Obesity has been associated with an increased risk of breast cancer recurrence and death. Some readily available biomarkers associated with systemic inflammation have been receiving attention as potential prognostic indicators of cancer, including neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR). This study aimed to explore the correlation between body mass index (BMI) and invasive breast cancer patients and the association of NLR, PLR and BMI with breast cancer recurrence and survival.

Patients and Methods: We undertook a single-centered retrospective study to evaluate patients treated for breast cancer over 14 years timeframe. Clinicopathological data was obtained before receiving any type of treatment. Cox regression models were used for survival analyses.

Results: Of the 1,664 patients included with stage I-III, 567 (34%) were obese (BMI \geq 30kg/m²). Obese patients had larger tumors compared to non-obese patients (median \pm SD: 22mm versus 20mm, $p=0.01$). Higher BMI was associated with worse disease-free survival (DFS) and overall survival only in patients with Stage I disease. The analysis was not significant in patients with stages II and III. NLR and PLR were classified into high and low level groups. The NLR^{high} was found to be an independent prognostic factor for recurrence and mortality. PLR^{high} on the other hand, was not significant on multivariate analysis. A subgroup of patients with NLR^{high} and BMI^{high} had the worst DFS ($p=0.046$, log-rank), breast cancer specific survival ($p<0.001$, log-rank), and overall survival ($p=0.006$, log-rank), compared to the other groups.

Conclusion: Patients with early stage breast cancer bearing NLR^{high} and BMI^{high} had worse outcomes, and this might be explained by the dysfunctional milieu of obesity in adipose tissue and its effects on the immune system. This study highlights the importance of lifestyle measures and the immune system interference with clinical outcomes in the early breast cancer setting.

Keywords: breast cancer, obesity, neutrophil-to-lymphocyte ratio, prognosis, survival

Introduction

Breast cancer is the most common malignant neoplasm among women, accounting for approximately 25% of new cancer cases and 15% of cancer deaths worldwide [1]. In Brazil alone, an estimated 66,280 new cases are expected to be diagnosed each year between 2020 and 2022 [2]. Breast cancer is known to be a heterogeneous disease, with different clinical presentations and molecular subtypes [3, 4].

Clinical and pathological staging, molecular profiling and environmental factors can influence breast cancer outcomes [5, 6]. Among environmental factors, obesity has been reported as one of the most prevalent modifiable risk factors associated with chronic disease, raising awareness of its relation to cancer [7, 8]. Despite numerous studies evaluating obesity and breast cancer mortality [9, 10], the mechanisms through which obesity exerts its effects on breast cancer survival have not been fully elucidated. Obesity seems to be particularly relevant in postmenopausal women and those with hormone receptor positive tumors [11, 12].

Obesity and carcinogenesis have an important feature in common, which is the involvement of the inflammatory pathways [13]. Dysregulated metabolism and a state of chronic subclinical inflammation, along with elevated levels of proinflammatory and immune mediators in the peripheral blood and local breast tissues, play important roles [14]. There is evidence that chronic inflammation could influence tumor initiation, promotion, invasion, and metastasis [15, 16].

Two inflammatory biomarkers recently described as prognostic factors for cancer are the peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) [17–19]. Although their significance has not been fully elucidated, there is evidence that an inflammatory stimulus may increase the production and release of neutrophils from the bone marrow, mediated by the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), interleukins (IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor- α (TNF α) [20]. IL-6 also stimulates the differentiation of megakaryocytes to platelets and thrombopoietin production, thus increasing the blood platelet count [21]. In contrast, neutrophilia, particularly due to TNF α and IL-1 β , has an inverse relationship with the lymphocyte count, while lymphopenia is also correlated with poor prognosis [19, 22]. NLR and PLR as biomarkers are cheap, easy to measure and monitor over time, and have been previously shown to

predict worse outcomes and decreased response to treatment in some breast cancer patients [23, 24].

Here, we explored the association between obesity, measured by body mass index (BMI), and early-stage breast cancer at presentation and survival. We further investigated the prognostic significance of NLR and PLR for breast cancer recurrence and survival and the influence of BMI on these biomarkers.

Material and methods

Study participants

We selected all patients diagnosed and treated for malignant breast neoplasms at the Breast Disease Division of Clinics Hospital of Ribeirão Preto School of Medicine, University of São Paulo (USP), between 1999 and 2013. The clinical and pathological data was obtained from the patients' files (including paper charts and electronic medical records). The study was approved by the local ethical committee (approval number 2.638.453/2018).

Of the 1,967 patients selected, 136 did not have available information about the height or weight and were not included in the study. We further restricted the cohort to those with stage I to III cancers. Other patients with missing variables were also excluded from the analyses; however, none of them had more than 10% of missing data. Data were collected from the date of diagnosis until death or until July 1, 2018, which was chosen as the final date of observation. In case of loss to follow-up, the time was censored at the date of the last information in the medical records. Disease-free survival (DFS) was defined as the time from the diagnosis to the development of locoregional or contralateral recurrence or evidence of distant metastasis. Patients with unknown menopausal status (n=129) were considered to be postmenopausal if they were ≥ 51 years old. This assumption was based on existing studies conducted in the same region [25] (Figure 1).

Tumor subtypes and BMI

The amplification/overexpression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) and the expression of hormonal receptors were determined by immunohistochemistry (IHC) in accordance with specific guidelines [26, 27]. The HER2 positivity was established in accordance with the pathology report and the protocols followed at the time of diagnosis, as recorded in the clinical

chart. Fluorescent in situ Hybridization (FISH) was used in patients with HER2 2+ IHC results. The subtype was considered to be luminal-like if the estrogen receptor (ER) and/or the progesterone receptor (PR) were positive and HER2 was negative; luminal/HER2-like if ER and/or PR were positive and HER2 was positive; HER2-like if ER and PR were negative and HER2 was positive; and triple negative (TN) when ER, PR, and HER2 were negative. For staging, we used the American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th edition [28].

Height and weight data were collected prior to the first cancer treatment. BMI was calculated as weight (kilograms) divided by height (meters) squared, and obesity was defined as $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$. BMI was initially explored as a continuous variable, but as there was no difference in the results, we chose to analyze it as a categorical variable, consistent with the majority of published studies.

Laboratory investigations

Hematologic samples collected prior to the first cancer treatment were considered in the analyses. Absolute blood counts of different cell types were determined. The ratios of NLR, which is the absolute number of neutrophils divided by the absolute number of lymphocytes, and PLR, which is the absolute value of platelets divided by the absolute value of lymphocytes, were calculated. We used receiver operating characteristic (ROC) curves analysis to estimate the best cut-off values for both parameters.

Statistical analysis

To evaluate the differences between the groups, we used the Chi-Square test for categorical variables and the Mann-Whitney or Kuskall-Wallis tests for continuous variables. We used the Cox multivariate regression model for analyzing variables considered significant on univariate analyses. Kaplan-Meier curves were used to estimate cancer recurrence, breast cancer specific survival (BCSS) and overall survival (OS) at 10 years, and the survival differences between the groups were tested by the log-rank test. We set the level of significance at 0.05 and conducted all analyses using R version 3.6.1 (R Core Team, Vienna, Austria).

Results

Population characteristics

Overall, 1,664 early breast cancer patients were included in the study, of which 567 (34%) had a BMI ≥ 30 Kg/m² at the time of diagnosis. Obese patients were older ($p=0.03$) and had a larger median tumor size (median 22mm versus 20mm, $p=0.01$) compared to non-obese patients. There were no significant differences between obese and non-obese women in terms of the histologic type and grade, cancer staging, hormone receptors, HER2. With regard to the treatment variables, obese patients were slightly more likely to receive radiotherapy during the course of the treatment ($p = 0.03$), but with no difference in type of surgery or stage. Table 1 describes the cohort characteristics according to the BMI.

Association between BMI, NLR, and PLR

The median pre-treatment NLR and PLR were 1.93 and 122.6 for obese patients and 1.99 and 129.3 for non-obese patients, respectively. ROC curves did not identify an ideal cut-off point for NLR and PLR (AUC= 0.53 and 0.51, respectively). Hence, we tested several cut-off values before deciding to use NLR > 4 (NLR^{high}) and PLR > 150 (PLR^{high}), since these values demonstrated the greatest statistical differences between the groups and were chosen in previously published studies [29, 30].

On univariate analysis, NLR greater than 4 had an impact on DFS, BCSS and OS only in obese patients, while a higher PLR showed an influence on DFS and BCSS, but not on OS in obese. Non-obese patients were not impacted by high NLR or PLR (Suppl. Table 1).

Recurrence and survival analysis

The median follow-up time was 6.7 years in obese patients and 6.9 years in non-obese patients ($p=0.91$). During the study period, 482 patients experienced a locoregional or distant recurrences; the proportion was 26.3% in non-obese patients and 26.5% in obese patients ($p=0.93$). In the total population, there were 409 deaths due to breast cancer, and 531 deaths due to all causes, with no differences between the two groups ($p=0.75$) (Suppl. table 2).

On performing multivariate analysis, including BMI and all variables with statistical significance on univariate analysis, BMI was not found to be a significant predictor of cancer recurrence, BCSS, and OS. The main independent predictors of worse outcomes were grade, stage III, HER2 and TN subtypes and NLR^{high}. The PLR was not statistically significant on multivariate analysis and was not considered an independent predictor of worse outcomes (Table 2). When patients were stratified by menopausal status, we found that BMI was not a predictor of more aggressive tumors

or worse outcomes in the population of postmenopausal women on multivariate analysis (Suppl. table 3).

Kaplan-Meier curves with log-rank tests for recurrence and overall survival at ten years showed that BMI did not influence outcomes in total population (Figure 2a and 2b). However, when stratified by stage, we observed a negative impact of obesity only in patients with stage I disease, where it was associated with worse OS (log-rank test $p = 0.0048$) and slightly shorter, but not significant, DFS (log-rank test $p = 0.076$,) (Figure 2 c and d). In more advanced breast cancer stages, we did not find any significant correlation. Additionally, Figure 3 (a and b) show recurrence and survival curves of NLR^{high} compared to NLR^{low} in total population (log-rank $p < 0.001$).

On examining the correlation of NLR and BMI with the outcomes, we observed that a subgroup of breast cancer patients with NLR^{high} and BMI $\geq 30\text{Kg/m}^2$ (BMI^{high}) had a significantly lower DFS ($p = 0.046$, log-rank) and OS ($p = 0.006$, log-rank) compared to the other groups (Figure 3 c and d).

Discussion

In this study, we explored the association between BMI and inflammatory biomarkers in a large cohort of patients with early-stage breast cancer. Here we show that patients with early-stage breast cancer bearing NLR^{high} and BMI^{high} had worse outcomes. NLR^{high} status at diagnosis was observed to be an independent prognostic factor associated with a shorter DFS and worse survival, particularly, in the subset of patients with a NLR^{high} and obesity.

Some recent meta-analyses have evaluated the association between obesity and breast cancer. Chen et al. analyzed 31 studies with more than three million subjects and described an increased risk of postmenopausal breast cancer among obese women (RR 1.33 (95% CI 1.20 - 1.48) [31]. Chan et al. evaluated four BMI categories among 213, 075 patients and concluded that the relative risk in obese versus non-obese patients was 1.41 (95% CI, 1.29 - 1.53) for all-cause mortality, and 1.35 (95% CI, 1.24 - 1.47) for BCSS [9]. Protani et al. pooled 43 studies and showed that obese patients had worse outcomes than non-obese patients, with a hazard ratio (HR) of 1.33 (95% CI, 1.21 - 1.47) for OS and 1.33 (95% CI, 1.19 - 1.50) for BCSS [32].

These meta-analyses were based mostly on studies conducted in high-income countries with established and structured screening programs and widespread access to healthcare services, as

demonstrated by the fact that up to 80% of these patients were diagnosed in early-stages of breast cancer [33].

To our knowledge, our study is the first to explore the association between BMI and inflammatory biomarkers in Brazilian breast cancer patients. In Brazil, where more than 20% of the women are considered to be obese [34], approximately 40% of breast cancer cases are diagnosed at locally advanced or metastatic stages [35]. This seems to be related to the absence of a well-structured population-based screening program as well as difficulties in accessing healthcare services [36]. Our findings are also consistent with a previous study by Moore et al. who found that obesity had a negative impact only in early-stage breast cancer patients [37]. This suggests that obesity has a negative impact on a group of women with favorable prognostic features, since the modest effect of obesity may be mitigated by the worse prognosis and the amount of therapies used in the more advanced stages [11, 37].

We did find larger tumors among the obese patients, which may be due to the fact that obese women often have larger breasts with less palpable masses [38]. These women may also be less likely to participate in breast cancer screening programs, due to low self-esteem and poor body image [39]. In terms of age and menopause, it is well known that women tend to gain weight after menopause [40], and that the breast cancer risk increases with age [41].

In this study, it was observed that PLR, despite having a negative association with recurrence and BCSS, was not an independent prognostic factor in multivariate analysis. This finding is in agreement with a previous study by Azab et al. who demonstrated that NLR was superior to PLR as a prognostic factor for worse outcomes in breast cancer [42]. We did not find an association between these biomarkers and breast cancer subtypes, although three recent meta-analyses have demonstrated that these biomarkers were more commonly associated with HER2 and TN breast cancers [17, 19, 43]. Although there is increasing evidence that these ratios, when obtained prior to treatment, can act as prognostic biomarkers of breast cancer, the cut-off values have not yet been established. In a recent meta-analysis with 8,563 breast cancer patients, it was demonstrated that a higher NLR was associated with worse OS (HR 2.56; 95% CI 1.96 – 3.35; $P < 0.001$) and DFS (HR 1.74; 95% CI 1.47 – 2.07; $P < 0.001$). The cut-off values for a high NLR ranged from 1.9 to 5.0 in the 15 studies included [44]. In line with our study, some previous studies have used a cut-off value

of 4.0 for NLR [30, 44]. Similarly, several cut-off values have been used for PLR, but no value has been established [19, 23].

Some previous studies have suggested that despite the increase in the number of both neutrophils and lymphocytes with weight gain, the NLR remains stable regardless of the BMI category, probably because both increase simultaneously [45, 46]. However, none of these studies were performed in patients with breast cancer.

In our study, we found that a subset of patients with a high NLR and high BMI had the shortest DFS and worst survival. These findings may be explained by the dysregulated metabolism of obesity and its effects on the immune response [47]. In addition, obese women are known to have more frequent surgical complications, chemotherapy under-dosing, and more baseline comorbidities [14, 16].

This study has some limitations. Although BMI is typically used in retrospective studies, it may not be ideal to measure obesity in elderly women, who are the primary age group at risk of breast cancer. This is because with menopause and advancing age, women lose height [48], bone mass, and muscle mass, as well as accumulate visceral fat [49], all factors which are not measured by BMI. Moreover, studies have shown that sarcopenia and muscle mass can be underestimated by BMI and can be important predictors of breast cancer mortality, even in the setting of a normal BMI [50]. Another limitation is that we could not evaluate the lifetime use of hormonal therapy because these data were not available. In addition, due to the inherent limitations of observational studies, we were unable to explore potentially interesting factors such as lifestyle, abdominal and hip circumference, physical activity, smoking status, and diet. Further studies are required to explore the role of obesity in breast cancer with more accurate measures of body fat and body mass. Thus, prospective studies are needed to validate standard cut-off values defining high PLR and NLR.

In conclusion, patients with early-stage breast cancer bearing NLR^{high} and BMI^{high} had worse outcomes, and this might be explained by the dysfunctional milieu of obesity in adipose tissue and its effects on the immune system. NLR^{high}, but not PLR^{high}, was an independent prognostic factor for worse breast cancer recurrence and survival, particularly, in a subgroup of patients with high NLR and obesity. This study highlights the importance of lifestyle measures and the immune system interference with outcomes in the early breast cancer setting.

Acknowledgements:

We would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)- Programa de Excelência Acadêmica (PROEX) - Brasil for Financial Support.

References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al (2019) Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 144:1941–1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
2. Estimate/2020 – Cancer Incidence in Brazil/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019. <https://www.inca.gov.br/estimativa>. Accessed 24 May 2020.
3. De Mattos-Arruda L, Shen R, Reis-Filho JS, Cortés J (2016) Translating neoadjuvant therapy into survival benefits: one size does not fit all. *Nat Rev Clin Oncol* 13:566–579. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.35>
4. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, et al (2019) Breast cancer. *Nat Rev Dis Prim* 5:66. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>
5. Gray JM, Rasanayagam S, Engel C, Rizzo J (2017) State of the evidence 2017: An update on the connection between breast cancer and the environment. *Environ Heal A Glob Access Sci Source* 16:1–61. <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0287-4>
6. Momenimovahed Z, Salehiniya H (2019) Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer Targets Ther Volume* 11:151–164. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>
7. Blair CK, Wiggins CL, Nibbe AM, et al (2019) Obesity and survival among a cohort of breast cancer patients is partially mediated by tumor characteristics. *npj Breast Cancer* 5:1–7. <https://doi.org/10.1038/s41523-019-0128-4>
8. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, et al (2016) Body Fatness and Cancer — Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med* 375:794–798. <https://doi.org/10.1056/NEJMsrl606602>
9. Chan DSM, Vieira AR, Aune D, et al (2014) Body mass index and survival in women with breast cancer-systematic literature review and meta-analysis of 82 follow-up studies. *Ann Oncol* 25:1901–1914. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu042>
10. Ligibel JA, Strickler HD (2013) Obesity and Its Impact on Breast Cancer: Tumor Incidence, Recurrence, Survival, and Possible Interventions. *Am Soc Clin Oncol Educ B* 33:52–59. https://doi.org/10.1200/edbook_am.2013.33.52
11. Jiralerspong S, Goodwin PJ (2016) Obesity and Breast Cancer Prognosis: Evidence, Challenges, and Opportunities. *J Clin Oncol* 34:4203–4216. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.68.4480>
12. van den Brandt PA, Ziegler RG, Wang M, et al (2020) Body size and weight change over adulthood and risk of breast cancer by menopausal and hormone receptor status: a pooled analysis of 20 prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol*. <https://doi.org/10.1007/s10654-020-00688-3>
13. Simpson ER, Brown KA (2013) Minireview: Obesity and Breast Cancer: A Tale of Inflammation and Dysregulated Metabolism. *Mol Endocrinol* 27:715–725.

-
- <https://doi.org/10.1210/me.2013-1011>
14. Argolo DF, Hudis CA, Iyengar NM (2018) The Impact of Obesity on Breast Cancer. *Curr Oncol Rep* 20:47. <https://doi.org/10.1007/s11912-018-0688-8>
 15. Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, Kroemer G (2017) The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol* 14:717–734. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.101>
 16. Kolb R, Zhang W (2020) Obesity and breast cancer: A case of inflamed adipose tissue. *Cancers (Basel)* 12:1–18. <https://doi.org/10.3390/cancers12061686>
 17. Guo W, Lu X, Liu Q, et al (2019) Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio for breast cancer patients: An updated meta-analysis of 17079 individuals. *Cancer Med* 8:4135–4148. <https://doi.org/10.1002/cam4.2281>
 18. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, et al (2013) The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 88:218–230. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.03.010>
 19. Zhu Y, Si W, Sun Q, et al (2017) Platelet-lymphocyte ratio acts as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncotarget* 8:1023–1030. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13714>
 20. Sadik CD, Kim ND, Luster AD (2011) Neutrophils cascading their way to inflammation. *Trends Immunol* 32:452–460. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.06.008>
 21. Klinger MHF, Jelkmann W (2002) Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interf Cytokine Res* 22:913–922. <https://doi.org/10.1089/10799900260286623>
 22. Orditura M, Galizia G, Diana A, et al (2016) Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) for prediction of distant metastasis-free survival (DMFS) in early breast cancer: A propensity score-matched analysis. *ESMO Open* 1:1–9. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2016-000038>
 23. Koh C-H, Bhoo-Pathy N, Ng K-L, et al (2015) Utility of pre-treatment neutrophil–lymphocyte ratio and platelet–lymphocyte ratio as prognostic factors in breast cancer. *Br J Cancer* 113:150–158. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.183>
 24. Corbeau I, Jacot W, Guiu S (2020) Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in breast cancer patients: A systematic review. *Cancers (Basel)* 12:. <https://doi.org/10.3390/cancers12040958>
 25. Hachul H, Polesel DN, Nozoe KT, et al (2016) The Age of Menopause and their Associated Factors: A Cross-Sectional Population-Based Study. *J Women’s Heal Care* 5:. <https://doi.org/10.4172/2167-0420.1000335>
 26. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al (2013) Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. *J Clin Oncol* 31:3997–4013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984>
 27. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, et al (2010) American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 28:2784–2795. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.6529>
 28. American Joint Committee on Cancer. Breast cancer staging, 7th edn. American Cancer Society, 2009.
 29. Asano Y, Kashiwagi S, Onoda N, et al (2016) Platelet-Lymphocyte Ratio as a Useful

-
- Predictor of the Therapeutic Effect of Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *PLoS One* 11:e0153459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153459>
30. Dirican A, Kucukzeybek BB, Alacacioglu A, et al (2015) Do the derived neutrophil to lymphocyte ratio and the neutrophil to lymphocyte ratio predict prognosis in breast cancer? *Int J Clin Oncol* 20:70–81. <https://doi.org/10.1007/s10147-014-0672-8>
 31. Chen Y, Liu L, Zhou Q, et al (2017) Body mass index had different effects on premenopausal and postmenopausal breast cancer risks: a dose-response meta-analysis with 3,318,796 subjects from 31 cohort studies. *BMC Public Health* 17:936. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4953-9>
 32. Protani M, Coory M, Martin JH (2010) Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-Analysis. *Breast Cancer Res Treat* 123:627–635. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0990-0>
 33. Iqbal J, Ginsburg O, Rochon PA, et al (2015) Differences in breast cancer stage at diagnosis and cancer-specific survival by race and ethnicity in the United States. *JAMA - J Am Med Assoc* 313:165–173. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.17322>
 34. (2019) Vigitel Brazil 2018: surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of frequency and sociodemographic distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian sta
 35. Abrahão KDS, Bergmann A, Aguiar SS De, Thuler LCS (2015) Determinants of advanced stage presentation of breast cancer in 87,969 Brazilian women. *Maturitas* 82:365–370. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2015.07.021>
 36. Dos-Santos-Silva I, De Stavola BL, Renna NL, et al (2019) Ethnoracial and social trends in breast cancer staging at diagnosis in Brazil, 2001–14: a case only analysis. *Lancet Glob Heal* 7:e784–e797. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30151-2](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30151-2)
 37. Moore AH, Trentham-Dietz A, Burns M, et al (2018) Obesity and mortality after locoregional breast cancer diagnosis. *Breast Cancer Res Treat* 172:647–657. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4932-6>
 38. Cui Y, Whiteman MK, Flaws JA, et al (2002) Body mass and stage of breast cancer at diagnosis. *Int J Cancer* 98:279–283. <https://doi.org/10.1002/ijc.10209>
 39. Lee K, Kruper L, Dieli-Conwright CM, Mortimer JE (2019) The Impact of Obesity on Breast Cancer Diagnosis and Treatment. *Curr Oncol Rep* 21:41. <https://doi.org/10.1007/s11912-019-0787-1>
 40. Oluwole OB, Ibidapo OP, Adesioye TA, Agboola AA (2016) Diet: Overweight and obesity. *Diets Dis Causes Prev* 137–148. <https://doi.org/10.1136/sbmj.c5260>
 41. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/csr/1975_2
 42. Azab B, Shah N, Radbel J, et al (2013) Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol* 30:. <https://doi.org/10.1007/s12032-012-0432-4>
 43. Ethier JL, Desautels D, Templeton A, et al (2017) Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res* 19:1–13. <https://doi.org/10.1186/s13058-016-0794-1>

44. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al (2014) Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 106:1–11. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>
45. Furuncuoğlu Y, Tulgar S, Dogan AN, et al (2016) 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* 20:1300–1306
46. Bahadir A, Baltaci D, Turker Y, et al (2015) Is the neutrophil-to-lymphocyte ratio indicative of inflammatory state in patients with obesity and metabolic syndrome? *Anatol J Cardiol* 15:816–822. <https://doi.org/10.5152/akd.2014.5787>
47. Agurs-Collins T, Ross SA, Dunn BK (2019) The Many Faces of Obesity and Its Influence on Breast Cancer Risk. *Front Oncol* 9:1–14. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00765>
48. Sorkin JD, Muller DC, Andres R (1999) Longitudinal change in the heights of men and women: Consequential effects on body mass index. *Epidemiol Rev* 21:247–260. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a018000>
49. Banack HR, Wactawski-Wende J, Hovey KM, Stokes A (2018) Is BMI a valid measure of obesity in postmenopausal women? *Menopause* 25:307–313. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000989>
50. Caan BJ, Cespedes Feliciano EM, Prado CM, et al (2018) Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol* 4:798–804. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.0137>

Figures

Figure 1. Flow diagram showing enrollment of women in the study

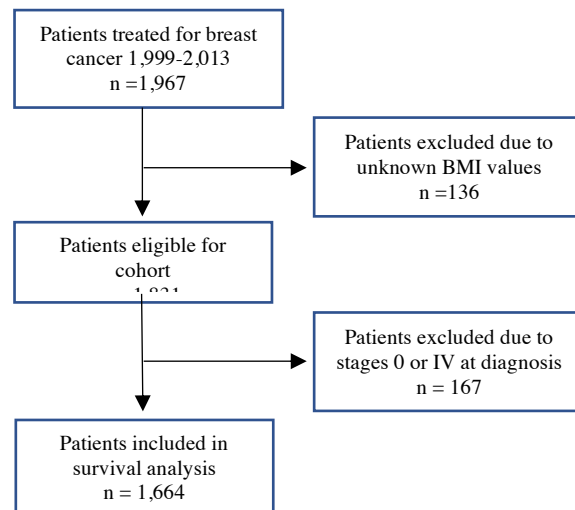


Figure 2. Survival analysis of stage I to III breast cancer patients, according to the body mass index (BMI). (a) Disease-free survival in all patients, (b) Overall survival in all patients, (c) Disease-free survival in stage I patients at diagnosis, (d) Overall survival in stage I patients at diagnosis.

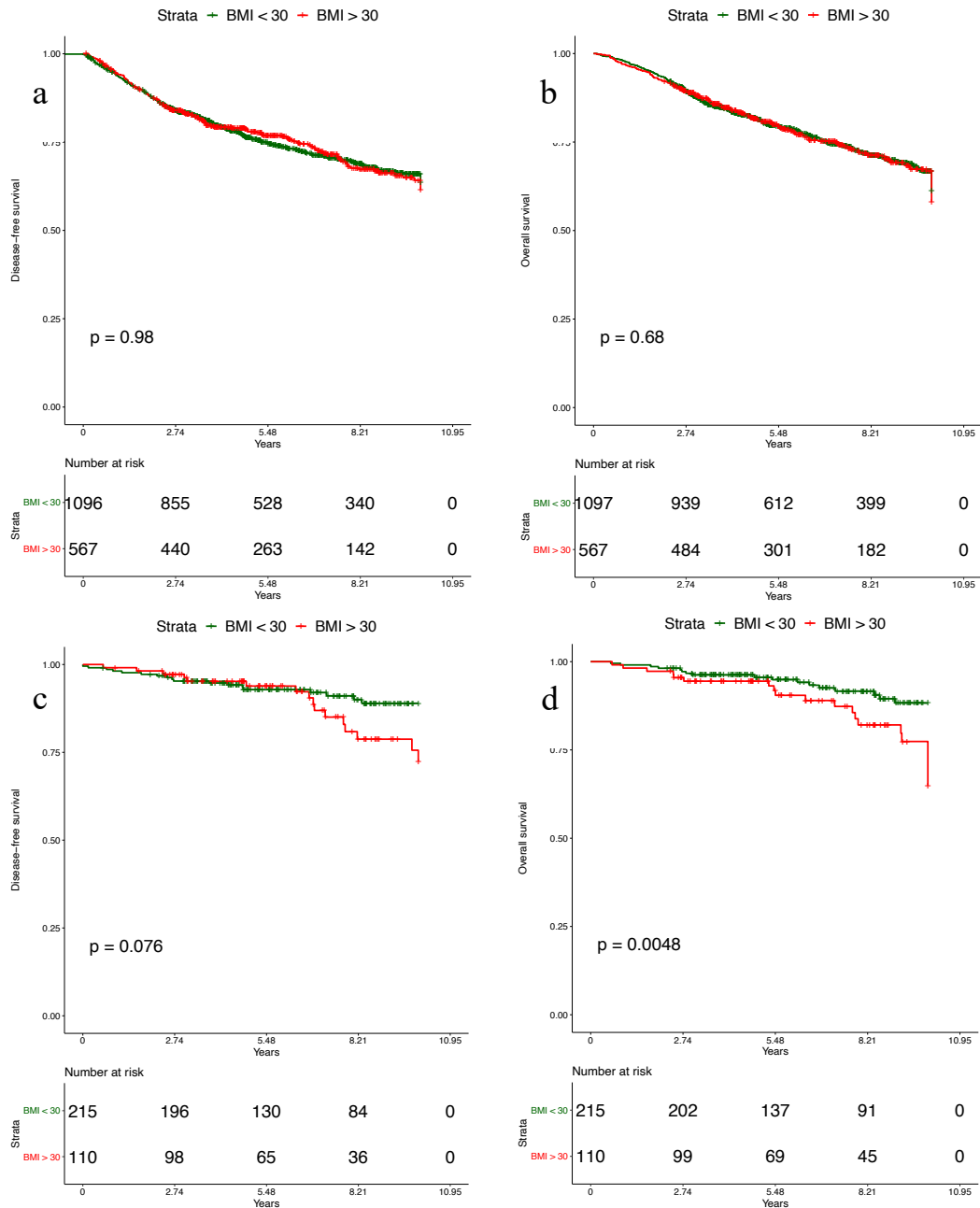
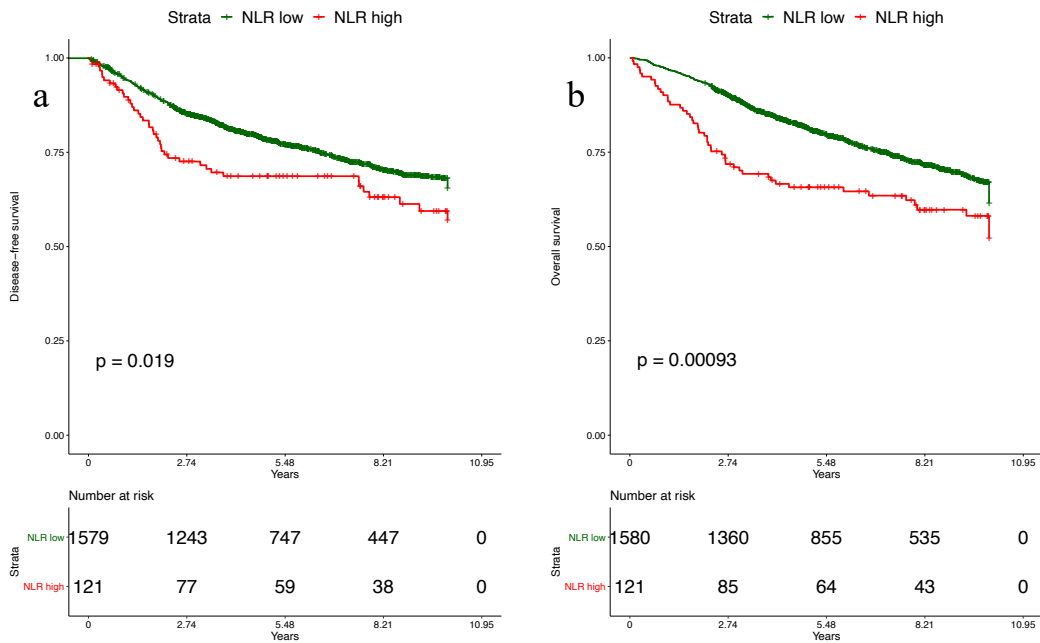


Figure 3. Survival analysis of stage I to III breast cancer patients, according to the neutrophil–to-lymphocyte ratio (NLR) (a) Disease-free survival, (b) Overall survival. Curves c and d shows disease free survival and overall survival for combined groups of NLR and body mass index (BMI), respectively. The black line indicates the patients with both NLR^{high} (> 4) and BMI^{high} ($\geq 30\text{Kg/m}^2$), who had the worst outcomes.



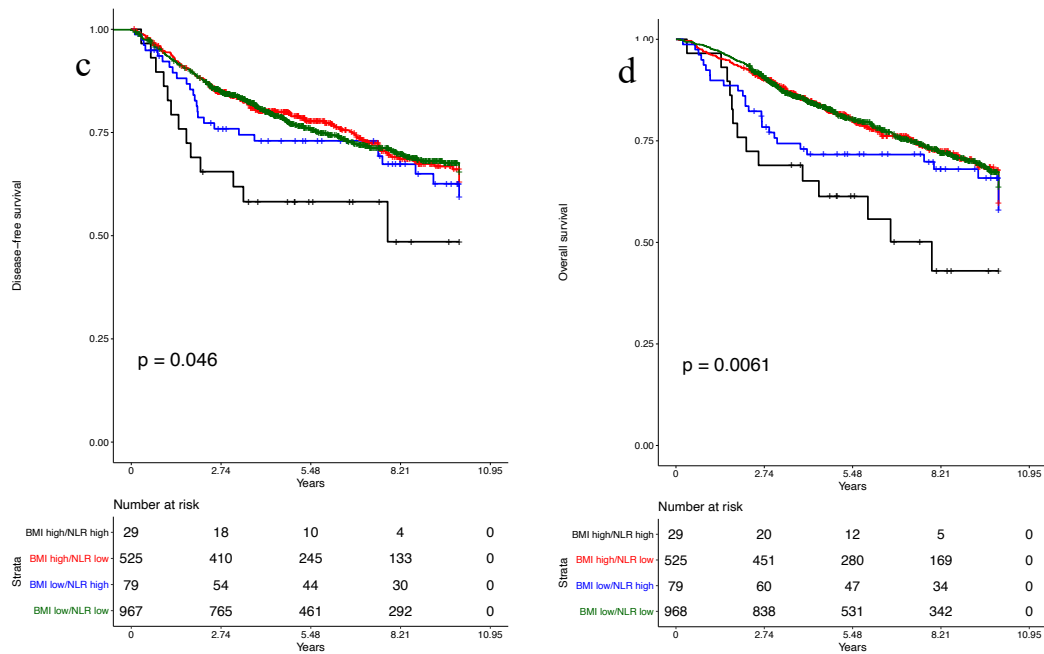


Table 1: Baseline characteristics of all patients with breast cancer (n=1,664), stratified by the body mass index (BMI)

	BMI \geq 30kg/m ² n = 567	BMI < 30kg/m ² n = 1097	p-value
BMI, average (SD)	35.0 (4.5)	25.1 (3.1)	0.01
Age (years), median (range)	56 (25.0 – 89.0)	54.2 (23.6 – 93.8)	0.03
Tumor size (mm), median (range)	22 (0-154)	20 (0-140)	0.01
Postmenopausal status	n (%) 370 (65)	n (%) 662 (60)	0.05
Histology			
Ductal	506 (89)	967 (88)	
Lobular	25 (4)	45 (4)	
Other	31 (6)	77 (7)	0.46
Unknown	5 (1)	8 (1)	
Grade^a			
1	118 (21)	224 (20)	
2	304 (54)	585 (53)	0.96
3	132 (23)	246 (22)	
Unknown	13 (2)	42 (4)	
Stage (TNM)			
I (A+B)	110 (20)	215 (20)	
II (A+B)	228 (40)	482 (44)	0.25

III (A+B+C)	229 (40)	400 (36)	
Subtype			
Luminal-like	351 (62)	640 (59)	
Luminal/HER2-like	77 (14)	157 (15)	0.32
HER2-like	45 (8)	115 (10)	
Triple negative	85 (15)	169 (15)	
Unknown	9 (1)	16 (1)	
Estrogen receptor status			
Positive	423 (75)	789 (73)	
Negative	138 (24)	297 (26)	0.25
Unknown	6 (1)	11 (1)	
Progesterone receptor status			
Positive	360 (64)	645 (59)	
Negative	201 (35)	440 (40)	0.07
Unknown	6 (1)	12 (1)	
HER2 status			
Positive	122 (22)	272 (25)	
Negative	437 (77)	809 (74)	0.15
Unknown	8 (1)	16 (1)	
NLR median (range)	1.93 (0.23-15.17)	1.99 (0.18-31.67)	0.67
PLR median (range)	122.61 (26.35-875)	129.36 (15.29-655)	0.40
First treatment			
Upfront surgery	352 (56)	697 (58)	
Neoadjuvant chemotherapy	243 (39)	459 (38)	0.58
NEO endocrine therapy	25 (4)	46 (4)	
NEO Radiotherapy	0 (0)	5 (0)	
Treatment*			
Surgery approach			
Conservative surgery	312 (56)	577 (54)	0.34
Mastectomy	240 (44)	493 (46)	
Axillary approach			
Sentinel node biopsy	181 (34)	325 (32)	0.36
Axillary node dissection	369 (66)	738 (68)	
Chemotherapy	401 (68)	792 (68)	0.93
Endocrine therapy	411 (73)	751 (68)	0.08
Radiotherapy	433 (78)	783 (73)	0.03
Trastuzumab	57 (10)	121 (11)	0.56

* Number of patients who received therapy; BMI body mass index; NLR neutrophil-to-lymphocyte ratio; PLR platelet-to-lymphocyte ratio; NEO neoadjuvant; a: Nottingham histologic score system.

Table 2: Variables associated with recurrence, breast cancer specific survival, and overall survival in multivariate Cox regression analysis in stage I to III breast cancer patients (n=1,664).

Variables	Relapse			Specific survival			Overall survival					
	HR	CI95%	P value	HR	CI95%	P value	HR	CI95%	P value			
Age at diagnosis (years)	0.98	0.98	0.99	< 0.001	0.99	0.98	1.00	0.160	1.01	1.00	1.02	0.004
BMI \geq 30 Kg/m ²	1.01	0.82	1.24	0.910	0.96	0.75	1.22	0.774	1.00	0.82	1.24	0.940
Grade (Ref: 1)												
Grade 2	1.29	0.95	1.76	0.104	1.42	0.98	1.01	0.06	1.23	0.92	1.67	0.164
Grade 3	1.47	1.05	2.11	0.027	1.56	1.02	2.34	0.04	1.41	1.00	1.99	0.050
Stage (Ref: I (A+B))												
II (A+B)	1.75	1.18	2.61	0.005	1.72	1.04	2.84	0.036	1.64	1.12	2.41	0.010
III (A+B+C)	4.87	3.32	7.16	< 0.001	5.86	3.62	9.48	< 0.001	4.29	2.97	6.21	< 0.001
Subtype (Ref: Luminal)												
Luminal/HER2-like	0.88	0.65	1.19	0.401	0.80	0.55	1.15	0.225	0.97	0.72	1.31	0.867
HER2-like	1.47	1.09	1.99	0.012	1.67	1.19	2.36	0.003	1.42	1.03	1.95	0.030
Triple Negative	1.12	0.84	1.48	0.432	1.47	1.08	2.01	0.014	1.41	1.06	1.85	0.016
NLR high	1.36	0.95	1.96	0.092	1.77	1.19	2.62	0.004	1.56	1.09	2.24	0.015
PLR high	0.92	0.73	1.15	0.478	0.85	0.65	1.11	0.232	0.84	0.67	1.07	0.157

BMI Body mass index; NLR neutrophil-to-lymphocyte ratio; PLR platelet-to-lymphocyte ratio.

Suppl. table 1. Effect of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) on outcomes according to body mass index (BMI) in stage I to III breast cancer patients, univariate analysis.

Variables	Relapse				Specific survival				Overall survival			
	HR	CI95%	p	p	HR	CI95%	p	p	HR	CI95%	p	p
NLR ^{high} /BMI ^{high}	2.04	1.15	3.62	0.015	2.76	1.52	5.06	< 0.001	2.26	1.30	3.93	0.004
NLR ^{high} /BMI ^{low}	1.23	0.82	1.84	0.306	1.45	0.94	2.24	0.093	1.32	0.89	1.96	0.162
PLR ^{high} /BMI ^{high}	1.41	1.00	1.98	0.048	1.53	1.03	2.29	0.034	1.28	0.90	1.81	0.159
PLR ^{high} /BMI ^{low}	1.16	0.91	1.48	0.226	1.08	0.82	1.43	0.576	1.00	0.78	1.28	0.977

Suppl. table 2. Follow-up variables for obese and non-obese women.

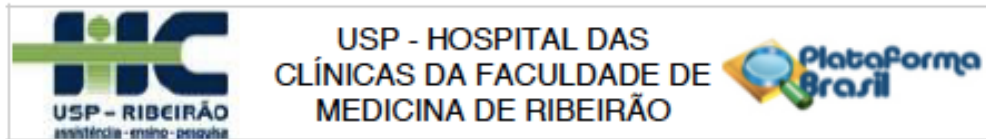
	BMI \geq 30kg/m ² n=620 (%)	BMI < 30kg/m ² n=1,211 (%)	p value
Time to recurrence, years (range)	2.30 (0.20-16.6)	2.40 (0.0-17.4)	0.821
All-cause mortality	181 (29.2%)	350 (28.9%)	0.896
Recurrence	127 (26.5%)	126 (26.3%)	0.93
Mortality			
Alive or lost for follow-up	439 (70.8%)	861 (71.1%)	
Death due to breast cancer	136 (21.9%)	273 (22.5%)	0.752
Death due to other cause	45 (7.3%)	77 (6.3%)	
Median time to death, years (range)	3.5 (0.09-18)	3.2 (0.10-18)	0.523
Median time of follow up, years (range)	6.7 (0.08-18)	6.9 (0.10-18)	0.911

Suppl. table 3. Variables associated with relapse, specific and overall survival in multivariate Cox regression analysis in stage I to III postmenopausal breast cancer patients.

Variables	Relapse			Specific survival			Overall survival					
	HR	CI95%	p	HR	CI95%	p	HR	CI95%	p			
Age at diagnosis (years)	0.98	0.97	0.99	0.019	0.99	0.97	1.01	0.343	1.02	1.00	1.03	0.003
BMI > 30 Kg/m ²	1.08	0.82	1.41	0.593	0.963	0.70	1.32	0.818	1.06	0.82	1.37	0.653
Grade (Ref: 1)												
Grade 2	1.19	0.81	1.76	0.371	1.29	0.81	2.06	0.287	1.20	0.84	1.71	0.320
Grade 3	1.18	0.74	1.87	0.489	1.39	0.81	2.39	0.226	1.36	0.89	2.01	0.148
Stage (Ref: I (A+B))												
II (A+B)	1.80	1.09	2.98	0.021	1.64	0.88	3.07	0.117	1.53	0.99	2.38	0.057
III (A+B+C)	5.12	3.14	8.33	<0.001	5.97	3.30	10.78	<0.001	3.84	2.50	5.88	<0.001
Subtype (Ref: Luminal)												
Luminal/HER2	0.90	0.59	1.38	0.637	0.75	0.44	1.27	0.284	1.04	0.71	1.52	0.843
HER2	1.71	1.13	2.57	0.010	1.72	1.09	2.73	0.020	1.38	0.91	2.07	0.122
Triple Negative	1.47	1.00	2.15	0.045	1.89	1.26	2.83	0.002	1.55	1.09	2.21	0.014
NLR > 4	1.80	1.13	2.89	0.013	2.61	1.54	4.43	<0.001	2.12	1.34	3.34	0.001
PLR > 150	0.91	0.66	1.26	0.576	0.78	0.52	1.16	0.225	0.76	0.55	1.05	0.097

BMI Body mass index; NLR neutrophil-to-lymphocyte ratio, PLR platelet-to-lymphocyte ratio.

ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Câncer de mama e obesidade: avaliação dos parâmetros clínicos, anatomo-patológicos e subtipos moleculares em uma coorte de casos de câncer de mama no Brasil.

Pesquisador: Daniel Guimarães Tiezzi

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 87883118.9.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

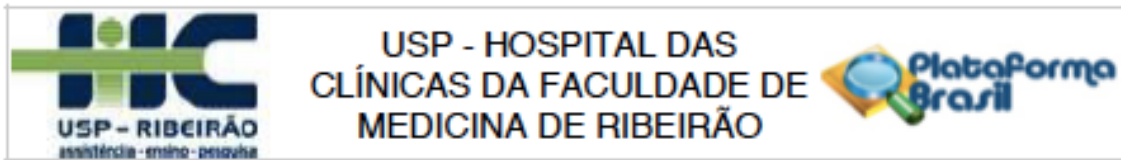
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.638.453

Apresentação do Projeto:

As doenças crônicas como diabetes e câncer, estão entre as principais causas de morte da população ocidental, e cada vez mais estas condições estão sendo associadas ao sobrepeso e a obesidade. Sendo o câncer de mama a principal causa de morte por doença maligna na mulher em todo o mundo, é natural que estas condições estejam conectadas por diversos fatores. Este trabalho foi pensado no intuito de entender melhor a relação entre os parâmetros clínicos, histológicos e subtipos moleculares de mulheres obesas diagnosticadas com câncer de mama em uma população brasileira, e contribuir, em alguma medida, na orientação de programas futuros, visando a promoção de saúde através da manutenção do peso corporal ideal. Serão incluídas todas as pacientes diagnosticadas e tratadas por câncer de mama no Setor de Oncologia Ginecológica e Mastologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto no período compreendido entre de 1999 até 2013 para que se tenha ao menos 5 anos de seguimento. Serão coletadas as seguintes variáveis: raça, idade da menarca, paridade, idade da menopausa, história familiar de câncer de mama, tempo entre primeiro sintoma e diagnóstico, peso, altura e IMC, comorbidades, data e qual o primeiro tratamento, data e tipo de cirurgia realizada, realização de radioterapia, idade ao diagnóstico, tamanho do tumor, número de linfonodos axilares comprometidos, grau histológico do tumor, expressão dos receptores de estrogênio, expressão do marcador HER-2, tipo de tratamento recebido, condição atual (viva ou óbito), tempo de sobrevivência, além de marcadores

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 2.638.453

bioquímicos como hemograma completo e glicemia. As lâminas da histologia arquivadas no Serviço de Patologia serão escaneadas para análise digital. Os dados obtidos serão analisados e comparados estatisticamente a fim de responder as questões que motivaram o presente estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Analisar a influência e o papel da obesidade na gênese e na progressão do câncer de mama, através de parâmetros clínicos, anátomo-patológicos e imunohistoquímicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Pesquisa que apresenta risco mínimo, pois não haverá intervenção direta ou indireta em indivíduos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo para avaliação da relação entre sobrepeso/obesidade e câncer de mama nas pacientes tratadas no Serviço de Mastologia Oncológica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCRP-USP). Os dados serão obtidos através de revisão de prontuários de aproximadamente 2200 pacientes (diagnosticadas com neoplasias malignas da mama entre 1999 e 2013) no Serviço de Arquivo Médico (SAME) do HCFMRP-USP. Os resultados de exames laboratoriais e anatomopatológicos serão obtidos através do sistema informatizado do Hospital. Serão coletadas as seguintes variáveis: raça, idade da menarca, paridade, idade da menopausa, história familiar de câncer de mama, tempo entre primeiro sintoma e diagnóstico, peso, altura e IMC, comorbidades, data e qual o primeiro tratamento, data e tipo de cirurgia realizada, realização de radioterapia, idade ao diagnóstico, tamanho do tumor, número de linfonodos axilares comprometidos, grau histológico do tumor, expressão dos receptores de estrogênio, expressão do marcador HER-2, tipo de tratamento recebido, condição atual (viva ou óbito), tempo de sobrevivência, além de marcadores bioquímicos como hemograma completo e glicemia. Os dados obtidos serão analisados e comparados estatisticamente a fim de responder as questões que motivaram o presente estudo. As lâminas da histologia arquivadas no Serviço de Patologia serão escaneadas para análise digital e submetidas a técnicas de aprendizado de máquina profundo a fim de identificar padrões e relação com prognóstico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos foram devidamente apresentados. Solicita a dispensa do uso de TCLE se

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO		CEP: 14.048-900
Bairro: MONTE ALEGRE		
UF: SP	Município: RIBEIRÃO PRETO	
Telefone: (16)3602-2228	Fax: (16)3633-1144	E-mail: cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO



Continuação do Parecer: 2.638.453

fundamenta: I) por ser um estudo observacional, analítico ou descritivo retrospectivo, que empregará apenas informações de prontuários médicos, sistemas de informação institucionais e/ou demais fontes de dados e informações clínicas disponíveis na instituição; II) porque todos os dados serão manejados e analisados de forma anônima, sem identificação nominal dos participantes de pesquisa; III) porque os resultados decorrentes do estudo serão apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação individual dos participantes, e IV) porque se trata de um estudo não intervencionista (sem intervenções clínicas) e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa, e conseqüentemente sem adição de riscos ou prejuízos ao bem-estar dos mesmos. O investigador principal e demais colaboradores envolvidos no estudo acima se comprometem, individual e coletivamente, a utilizar os dados provenientes deste, apenas para os fins descritos e a cumprir todas as diretrizes e normas regulamentadoras descritas na Res. CNS Nº 468/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados.

Recomendações:

não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 468/2012, o projeto de pesquisa, assim como a solicitação de dispensa e aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1026842.pdf	17/04/2018 22:15:37		Acerto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_leonardo_2018.docx	17/04/2018 22:14:34	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
Outros	dec_acette.pdf	17/04/2018	LEONARDO	Acerto

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO



Continuação do Parecer: 2.638.453

Outros	dec_acette.pdf	22:12:52	ORLANDINI	Acerto
Outros	dec_UPC.pdf	17/04/2018 22:10:30	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
Outros	parecerdepartamento.pdf	17/04/2018 22:09:15	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	isencaoconsentimento.pdf	17/04/2018 22:08:33	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
Orçamento	orcamento.pdf	17/04/2018 22:08:12	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
Cronograma	cronograma.pdf	17/04/2018 22:07:52	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	17/04/2018 21:38:58	LEONARDO FLEURY ORLANDINI	Acerto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 07 de Maio de 2018

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

ANEXO B – Termo de isenção de TCLE

Solicitação de Isenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Referência: Câncer de mama e obesidade: avaliação dos parâmetros clínicos, anatomo-patológicos e subtipos moleculares em uma coorte de casos de câncer de mama no Brasil.

Pesquisadores Responsáveis:

Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi (Docente FMRP-USP)
Leonardo Fleury Orlandini (Aluno PG – FMRP-USP)
Prof. Dr. Lucas Baggio Figueira (Docente FATEC-RP)
Prof. Dr. Francisco José Cândido dos Reis (Docente FMRP-USP)
Prof. Dr. Alfredo Ribeiro da Silva (Docente FMRP-USP)

Vimos por meio deste documento solicitar a dispensa de obtenção de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para o estudo intitulado “Câncer de mama e obesidade: avaliação dos parâmetros clínicos, anatomo-patológicos e subtipos moleculares em uma coorte de casos de câncer de mama no Brasil”, proposto por Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi.

A dispensa do uso de TCLE se fundamenta: i) por ser um estudo observacional, analítico ou descritivo retrospectivo, que empregará apenas informações de prontuários médicos, sistemas de informação institucionais e/ou demais fontes de dados e informações clínicas disponíveis na instituição; ii) porque todos os dados serão manejados e analisados de forma anônima, sem identificação nominal dos participantes de pesquisa; iii) porque os resultados decorrentes do estudo serão apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação individual dos participantes, e iv) porque se trata de um estudo não intervencionista (sem intervenções clínicas) e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa, e conseqüentemente sem adição de riscos ou prejuízos ao bem-estar dos mesmos.

O investigador principal e demais colaboradores envolvidos no estudo acima se comprometem, individual e coletivamente, a utilizar os dados provenientes deste, apenas para os fins descritos e a cumprir todas as diretrizes e normas regulamentadoras descritas na Res. CNS Nº 466/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados.

Ribeirão Preto, 16 de abril de 2018.


Leonardo Fleury Orlandini