

Variação dinâmica dos marcadores inflamatórios e seu valor prognóstico em doentes com carcinoma da laringe e hipofaringe submetidos a faringolaringectomia total

Artigo Original

Autores

Cátia Azevedo

Hospital de Braga, Portugal

Fernando Milhazes Mar

Hospital de Braga, Portugal

Guilherme Rios

Hospital de Braga, Portugal

Carla Ribeiro

Hospital de Braga, Portugal

Daniel Miranda

Hospital de Braga, Portugal

Sérgio Vilarinho

Hospital de Braga, Portugal

Luís Dias

Hospital de Braga, Portugal

Correspondência:

Cátia Azevedo

catiaazevedo@gmail.com

Artigo recebido a 5 de Maio 2022.

Aceite para publicação a 22 de Agosto de 2022.

Resumo

Introdução: A utilização de marcadores de prognóstico para delinear as estratégias terapêuticas mais adequadas a cada caso (cirurgia, quimiorradioterapia e/ou radioterapia) assume-se como um dos pilares da abordagem ao doente com carcinoma espinocelular (CEC) da hipofaringe e laringe. Para além dos estadios clínico e patológico determinado pelo TNM, já há evidência que a resposta inflamatória sistémica (RIS) relacionada com o tumor tem implicações na agressividade e progressão tumoral. No entanto, o seu valor como fator de prognóstico independente ainda continua ambíguo.

Objetivos: Analisar a RIS tumoral, a sua variação dinâmica perioperatória e após tratamento adjuvante e o seu valor prognóstico em doentes com CEC da laringe e hipofaringe submetidos a faringolaringectomia total.

Material e Métodos: Análise retrospectiva dos dados clinico-patológicos dos doentes submetidos a faringolaringectomia total entre janeiro de 2013 e dezembro de 2018 num hospital de nível terciário. A RIS foi avaliada utilizando os seguintes parâmetros: rácios linfócitos-monócitos (RLM), plaquetas-linfócitos (RPL), neutrófilos-linfócitos (RNL) e índice imuno-inflamatório sistémico (IIS). Foram utilizadas a análise de Kaplan-Meier e regressão de Cox para analisar os resultados de sobrevivência e riscos associados.

Resultados: Foram incluídos 59 doentes no estudo, com uma média de idades de 59.2 anos. O tempo médio de seguimento dos doentes foi de 49.2 meses. O RPL pré-operatório foi o melhor preditor da sobrevivência global (SG) a 5 anos (area under the curve (AUC) 0.796, $p < 0.005$). Determinou-se o valor de cutoff ótimo para cada parâmetro inflamatório analisado no período pré-operatório, pós-operatório e após tratamento adjuvante (RLM: 2.6, 2.8 e 2.2, respetivamente; RPL: 125.0, 162.6 e 57.2, respetivamente; RNL: 2.3, 2.8 e 3.9, respetivamente; IIS: 931.4, 732.8 e 931.43, respetivamente). A análise

de sobrevivência multivariada ajustada para possíveis fatores de confundimento evidenciou que a SG e a sobrevivência livre de metastização à distância (SLM) foi estatisticamente inferior nos doentes com RPL pré-operatório >125.0 (HR 4.39, $p < 0.005$ e HR 17.65, $p < 0.005$, respetivamente). Verificou-se um decréscimo significativo da RIS após tratamento completo com cirurgia com ou sem quimioradioterapia adjuvante. No entanto, o padrão de variação dos parâmetros com o tratamento instituído não teve influência na SG ou SLM. Os doentes com RPL pré-operatória >125.0 tendem a apresentar RNL e IIS mais elevados ($p < 0.005$), embora estes não evidenciaram ser fatores preditivos independentes de sobrevivência. Conclusões: Um elevado RPL pré-operatório foi significativamente associado a pior SG e SLM em doentes submetidos a faringolaringectomia total. Ainda assim, a utilização deste marcador na nossa prática clínica para prever os resultados pós-operatórios deve ser realizada de forma crítica. Palavras-chave: Resposta inflamatória sistémica; carcinoma da laringe; carcinoma da hipofaringe; rácio plaquetas-linfócitos; Sobrevivência

Introdução

O carcinoma da área da cabeça e pescoço é, mundialmente, a sexta neoplasia mais comum, sendo o carcinoma de células escamosas o tipo histológico mais prevalente^{1,2}. Especificamente em relação aos carcinomas da laringe e hipofaringe, estima-se que tenham uma incidência anual na Europa de 5,9 casos por cada 100 000 habitantes e que estejam associados a uma taxa de sobrevivência a 5 anos aproximada de 60%³. A utilização de marcadores de prognóstico para delinear as estratégias terapêuticas mais adequadas a cada caso (cirurgia, quimioradioterapia e/ou radioterapia) assume-se como um dos pilares da abordagem a estes doentes.

Existem vários fatores preditivos dos outcomes em doentes com neoplasias da laringe e hipofaringe, relacionados com as características do próprio doente, do próprio tumor e das atitudes terapêuticas implementadas. Relacionados com o tumor, a sua localização, o seu estadiamento clínico e patológico TNM e o seu tipo e grau histológico já são universalmente reconhecidos como determinantes do prognóstico e utilizados para a seleção da modalidade terapêutica mais adequada⁴. No entanto, começa a

ser evidente que estes parâmetros clínicos são insuficientes para a caracterização holística deste tipo de neoplasias, não tendo em conta a agressividade biológica do tumor nem a resposta imunológica do hospedeiro⁴. Nesse contexto surge o conceito de microambiente tumoral, que tem em consideração as células neoplásicas, células não malignas integradas numa matriz extracelular circundante (que inclui vários tipos de linfócitos, macrófagos, neutrófilos, células endoteliais e fibroblastos) e as suas interações, que desempenhará um papel fundamental no crescimento e progressão tumoral^{2,5}. Perceber este mecanismo de invasão do sistema imunológico do hospedeiro no microambiente tumoral e o seu papel, poderá permitir o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas e terapêuticas que nos poderão auxiliar na melhoria dos cuidados que prestamos a estes doentes. Assim, tem-se verificado um progresso científico evidente em múltiplos tumores sólidos, incluindo os da área da cabeça e pescoço, no sentido da identificação de marcadores inflamatórios facilmente obtidos na nossa prática clínica que possam explicar a agressividade e o risco de progressão tumoral, e, assim, auxiliar na previsão precoce dos desfechos clínicos destes doentes¹.

Nesse sentido, já existe investigação clínica que indica que resposta inflamatória sistémica (RIS) relacionada com as neoplasias, avaliada através dos rácios linfócitos-monócitos (RLM), neutrófilos-linfócitos (RNL), plaquetas-linfócitos (RPL) e o índice de imuno-inflamatório sistémico (IIS), reflete a agressividade e o risco de progressão tumoral, com impacto no prognóstico destes doentes, tendo essas correlações sido comprovadas em muitos tipos e localizações tumorais, incluindo os tumores da área da cabeça e pescoço⁶⁻¹¹.

Estes rácios de valores analíticos, facilmente calculados através da análise do hemograma, refletem as complexas interações entre a resposta imunológica local do tumor e a resposta sistémica associada, sendo expectável a sua variação após tratamento eletivo com

cirurgia. No entanto, a sua variação dinâmica com o tratamento e o seu impacto clínico permanecem desconhecidos nos doentes com CEC da laringe e hipofaringe. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar e caracterizar longitudinalmente a RIS tumoral, clarificar a sua variação dinâmica perioperatória e após tratamento adjuvante e estabelecer o seu valor prognóstico em doentes com CEC da laringe e hipofaringe submetidos a faringolaringectomia total.

Material e Métodos

Amostra

Este estudo analisou retrospectivamente os dados clínico-patológicos dos doentes submetidos a faringolaringectomias total por CEC da laringe e hipofaringe, entre janeiro de 2013 e dezembro de 2018 num hospital de nível terciário. Foram excluídos do estudo os doentes que (1) realizaram tratamento neoadjuvante; (2) apresentavam doenças imunológicas; (3) não realizaram uma avaliação analítica com hemograma no período pré- e pós-operatório, (4) tinham registo de intercorrência infecciosa aguda aquando da colheita do estudo analítico; (5) apresentavam um segundo tumor primário ou metastização à distância ao diagnóstico; (6) possuíam registos clínicos incompletos ou imprecisos; e (7) doentes com perda de seguimento após a cirurgia.

A caracterização da amostra relativamente ao estadiamento patológico pós-operatório foi realizada de acordo com as normas de orientação da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN Guidelines®)* para os tumores da Cabeça e Pescoço¹².

Análise dos marcadores inflamatórios

Para a análise da RIS foram calculados os RLM, RNL, RPL e o IIS, utilizando o valor absoluto da contagem de linfócitos (L), neutrófilos (N), monócitos (M) e plaquetas (P) obtidos através do hemograma completo. O IIS resulta da equação $(N \times P) / L$. Esta RIS foi avaliada em várias fases do seguimento da nossa amostra: (1) pré-operatória, através estudo analítico realizado nos 7 dias prévios à cirurgia; (2) pós-operatória,

através estudo analítico realizado previamente ao tratamento adjuvante (quando aplicável) ou até às 6 semanas após a cirurgia; (3) após concluído o tratamento adjuvante.

Na análise da variação dos valores dos marcadores com os tratamentos instituídos, apenas se comparam os valores após tratamento adjuvante com os valores pré- e pós-operatórios na mesma amostra (n=49).

Análise estatística

Para a determinação dos valores de cutoff ideais dos rácios selecionados para determinar a RIS foi realizada uma análise da curva *Receiver Operating Characteristic (ROC)* correspondente para a sobrevivência global a 5 anos em cada momento de avaliação da nossa amostra (pré-operatória, pós-operatória e após tratamento adjuvante). Os valores de cutoff obtidos para cada rácio e em cada momento de avaliação foram usados para categorizar os doentes em dois grupos para avaliar o seu significado prognóstico.

As proporções das variáveis categóricas entre dois grupos foram analisadas e comparadas através do teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher; para a comparação de variáveis quantitativas nas diversas fases de seguimento utilizou-se o teste *t-student* para amostras emparelhadas ou a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas.

Para analisar os resultados de sobrevivência e riscos associados foram utilizadas a análise de Kaplan-Meier e regressão de Cox, respetivamente.

A análise estatística descritiva e inferencial foi realizada com recurso ao programa *Statistical Package for the Social Science (SPSS®)*, versão 26, e foi estabelecido um nível de significância estatística para $p < 0.05$.

Resultados

Caracterização da amostra

Foram incluídos 59 doentes no nosso estudo, dos quais 56 (94.9%) eram do sexo masculino e 3 (5.1%) do sexo feminino. A média de idades foi de 59.2 ± 10.9 anos. O tempo médio de seguimento dos doentes foi de

49.2 meses. Relativamente às características da doença, a maioria (86.4%) apresentava uma neoplasia primariamente da laringe e em 13.6% a neoforção tinha origem na hipofaringe. Relativamente ao estadio TNM, 5 (8.5%) dos doentes apresentava doença no estadio II, 10 (16.9%) no estadio III, 40 (67.8%) no estadio IVa e 4 (6.8%) no estadio IVb. Em 49 (83.1%) doentes foi realizado tratamento adjuvante, maioritariamente (71.4%) com quimioradioterapia.

Determinação dos valores *cutoff* dos marcadores inflamatórios

Determinou-se o valor de *cutoff* ótimo através da análise da curva ROC para cada parâmetro inflamatório avaliado (RLM, RPL, RNL e IIS) no período pré-operatório, pós-operatório e após tratamento adjuvante tendo-se obtido os seguintes valores, respetivamente: RLM - 2.6, 2.8 e 2.2; RPL - 125.0, 162.6 e 57.2; RNL - 2.3, 2.8 e 3.9; IIS - 931.4, 732.8 e 931.4. O RPL no período pré-operatório foi o melhor preditor

da sobrevivência global (SG) a 5 anos (*area under the curve* (AUC) 0.796, $p < 0.005$).

Análise prognóstica da RIS e da sua variação dinâmica com o tratamento instituído

Na análise univariada da RIS da amostra analisada (tabela 1), verificamos a SG e a sobrevivência livre de metastização à distância (SLM) foi estatisticamente inferior nos doentes com RPL pré-operatório ≥ 125.0 (HR 4.13, $p = 0.001$ e HR 8.27, $p = 0.006$, respetivamente). De facto, na análise de Kaplan-Meier, os doentes com RPL superior a 125 exibiram um prognóstico a longo prazo significativamente pior (SG a 5 anos de 32.6% e SLM de 57.2%) comparativamente aos doentes com RPL baixo (SG a 5 anos de 78.8% e SLM de 93.9%) ($p < 0,001$) (Figuras 1 e 2, respetivamente).

Na análise univariada, um IIS pré-operatório ≥ 931.4 também se mostrou preditivo de uma pior SLM (HR 4.5, $p = 0.023$ (tabela 1). Os restantes parâmetros inflamatórios analisados no período pré-operatório, assim como a sua

Figura 1
Associação entre RPL pré-operatório e sobrevivência global

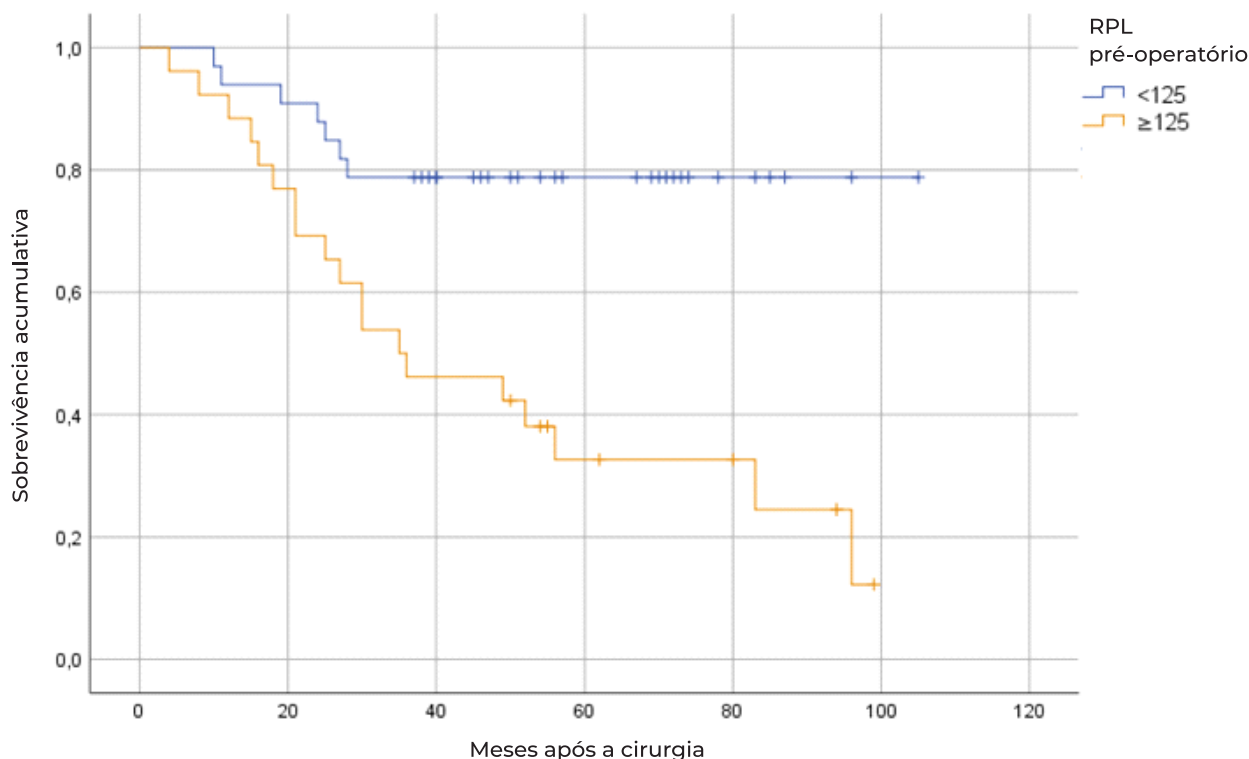
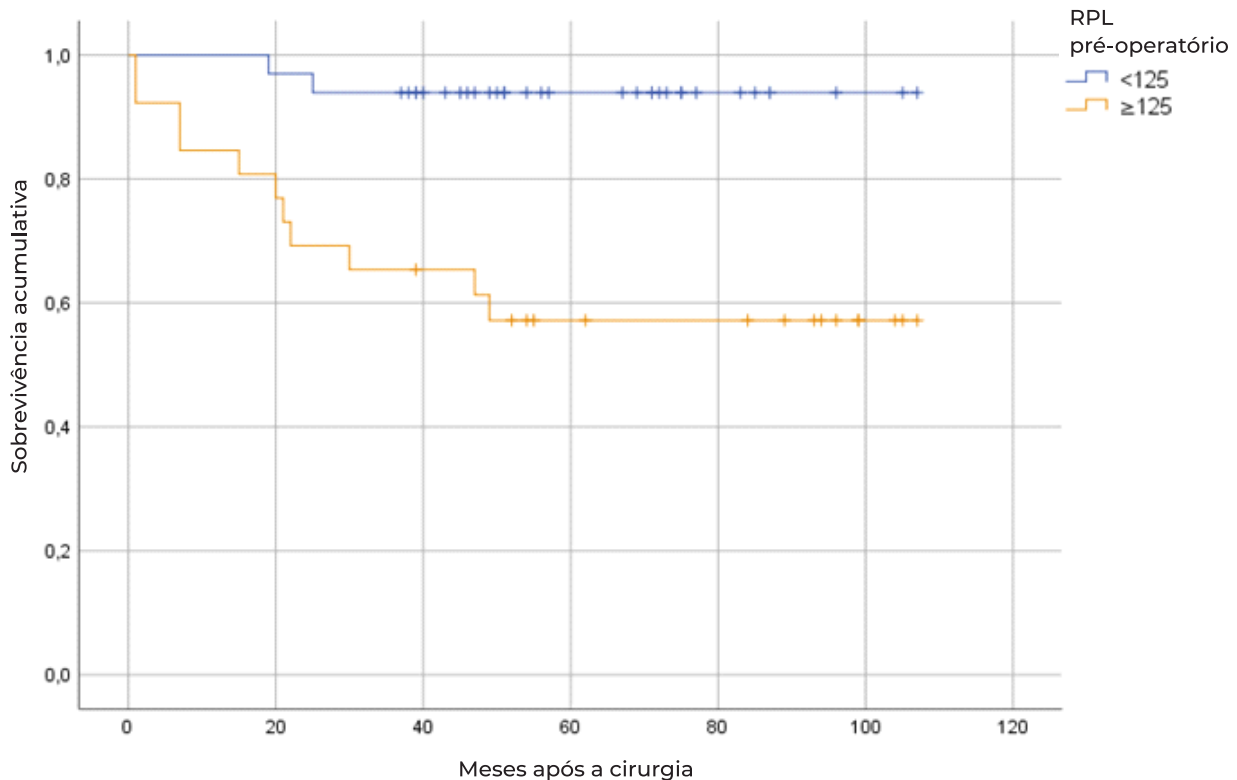


Figura 2

Associação entre RPL pré-operatório e sobrevivência livre de metastização à distância



avaliação nos períodos pós-operatório e após tratamento adjuvante não se mostraram preditivos da sobrevivência. No seguimento dos resultados obtidos anteriormente, incluímos a avaliação do RPL e IIS pré-operatórios num modelo multivariado onde consideramos outros fatores com impacto na SG e SLM destes doentes, nomeadamente a idade ao diagnóstico, a localização primária e o estadiamento patológico TNM (tabela 2) e verificamos que o apenas RPL pré-operatório se manteve como um preditor significativo independente da SG e SLM (HR 5.78, $p=0.001$ e HR 14.49, $p=0.008$, respetivamente). Adicionalmente, um estadio patológico IVb também se evidenciou como um preditor independente de pior SG comparativamente aos doentes com estadio II (HR 16.26, $p=0.025$). De seguida, analisamos a variação da RIS com os tratamentos instituídos (cirurgia e tratamento adjuvante), que se encontra esquematizada na figura 3. No RLM (figura 3a) mostrou um padrão em

decrecendo com tratamento instituído, tendo esse decréscimo sido significativo após tratamento completo com cirurgia e tratamento adjuvante. Relativamente ao RPL (figura 3b), este apresentou um padrão em crescendo-decrescendo após a cirurgia e tratamento adjuvante, respetivamente, tendo esses valores variado significativamente comparativamente ao estado inicial ($p<0.05$). Nos RNL e IIS (figura 3c e 3d, respetivamente), embora se tenha verificado um decréscimo significativo dos seus valores após a cirurgia, a verdade é que os rácios após tratamento completo não variaram de forma significativa comparativamente ao período pré-operatório. Uma vez que o RPL pré-operatório foi o único marcador inflamatório com impacto na SG e SLM na análise multivariada, apresentando ainda variações significativas dos seus valores após tratamento cirúrgico e tratamento adjuvante, exploramos o efeito da sua variação dinâmica no prognóstico clínico destes doentes. Para tal, e considerando os valores

Tabela 1

Análise univariada, com risco relativo, dos parâmetros inflamatórios sistêmicos nos vários momentos de avaliação na sobrevivência global, sobrevivência livre de doença e sobrevivência livre de metastização

	SG			SLD		SLM	
	Análise univariada			Análise univariada		Análise univariada	
	n	HR (IC 95%)	p valor	HR (IC 95%)	p valor	HR (IC 95%)	p valor
Pré-operatório							
RLM							
<2.6	19	Ref.	0.229	Ref.	0.969	Ref.	0.260
≥2.6	40	1.75 (0.70-4.42)		0.34 (0.08-1.54)		0.54 (0.18-1.59)	
RPL							
<125	33	Ref.	0.001*	Ref.	0.108	Ref.	0.006*
≥125	26	4.13 (1.73-9.85)		2.51 (0.82-7.67)		8.27 (1.83-37.34)	
RNL							
<2.3	20	Ref.	0.088	Ref.	0.070	Ref.	0.411
≥2.3	39	0.51 (0.23-1.11)		0.37 (0.12-1.09)		1.72 (0.47-6.25)	
IIS							
<931.4	32	Ref.	0.500	Ref.	0.825	Ref.	0.023*
≥931.4	27	1.30 (0.60-2.82)		1.13 (0.38-3.37)		4.50 (1.24-16.36)	
Pós-operatório							
RLM							
<2.8	24	Ref.	0.194	Ref.	0.157	Ref.	0.376
≥2.8	35	1.75 (0.75-4.07)		2.54 (0.70-9.24)		0.61 (0.21-1.82)	
RPL							
<162.6	30	Ref.	0.120	Ref.	0.425	Ref.	0.155
≥162.6	29	0.53 (0.23-1.18)		0.63 (0.21-1.94)		0.43 (0.11-1.38)	
RNL							
<2.8	38	Ref.	0.205	Ref.	0.650	Ref.	0.397
≥2.8	21	0.63 (0.26-1.50)		0.76 (0.23-2.47)		1.60 (0.54-4.78)	
IIS							
<732.8	32	Ref.	0.300	Ref.	0.494	Ref.	0.485
≥732.8	27	0.65 (0.29-1.47)		1.56 (0.49-4.35)		1.48 (0.50-4.40)	
Após tratamento adjuvante							
RLM							
<2.2	30	Ref.	0.262	Ref.	0.65	Ref.	0.386
≥2.2	19	0.60 (0.24-1.47)		0.76 (0.22-2.58)		0.56 (0.15-2.10)	
RPL							
<57.2	23	Ref.	0.080	Ref.	0.975	Ref.	0.749
≥57.2	26	0.46 (0.19-1.10)		0.98 (0.20-3.22)		1.21 (0.37-3.98)	
RNL							
<3.9	24	Ref.	0.245	Ref.	0.656	Ref.	0.366
≥3.9	25	1.66 (0.71-3.93)		1.31 (0.40-4.29)		1.76 (0.52-6.02)	
IIS							
<931.4	28	Ref.	0.071	Ref.	0.335	Ref.	0.335
≥931.4	21	2.30 (0.93-5.40)		1.79 (0.46-5.89)		1.79 (0.55-5.89)	

Legenda: SG sobrevivência global; SLD sobrevivência livre de doença; SLM sobrevivência livre de metastização; HR hazard ratio (risco relativo); IC intervalo de confiança; RLM rácio linfócitos-monócitos; RPL rácio plaquetas-linfócitos; RNL rácio neutrófilos-linfócitos IIS índice imuno-inflamatório sistémico

Tabela 2

Análise multivariada, com risco relativo, das variáveis clínico-patológicas na sobrevivência global e sobrevivência livre de metastização

Variáveis Clínico-patológicas	SG			SLM	
	Análise multivariada			Análise multivariada	
	n	HR (IC 95%)	p valor	HR (IC 95%)	p valor
Idade					
< 60 anos	34	Ref.	0.100	Ref.	0.820
≥ 60 anos	25	1.99 (0.88-4.53)		0.87 (0.27-2.84)	
Localização tumoral					
Laringe	51	Ref.	0.830	Ref.	0.189
Hipofaringe	8	1.12 (0.40-3.10)		2.30 (0.67-7.92)	
Estadiamento patológico					
II	5	Ref.		Ref.	
III	10	4.81 (0.49-46.81)	0.176	1.42 (0.21-10.92)	0.865
IVa	40	2.47 (0.31-19.76)	0.394	1.89 (0.12-6.43)	0.765
IVb	4	16.26 (1.43-184.72)	0.025*	5.40 (0.31-14.53)	0.654
RPL pré-operatório					
<125	33	Ref.	0.001*	Ref.	0.008*
≥125	26	5.78 (2.15-15.51)		14.49 (2.01-104.46)	
IIS pré-operatório					
<931.4	32	-	-	Ref.	0.476
≥931.4	27	-		1.72 (0.39-7.67)	

Legenda: SG sobrevivência global; SLM sobrevivência livre de metastização; HR hazard ratio (risco relativo); IC intervalo de confiança; RPL rácio plaquetas-lintócitos; IIS índice imuno-inflamatório sistémico

Tabela 3

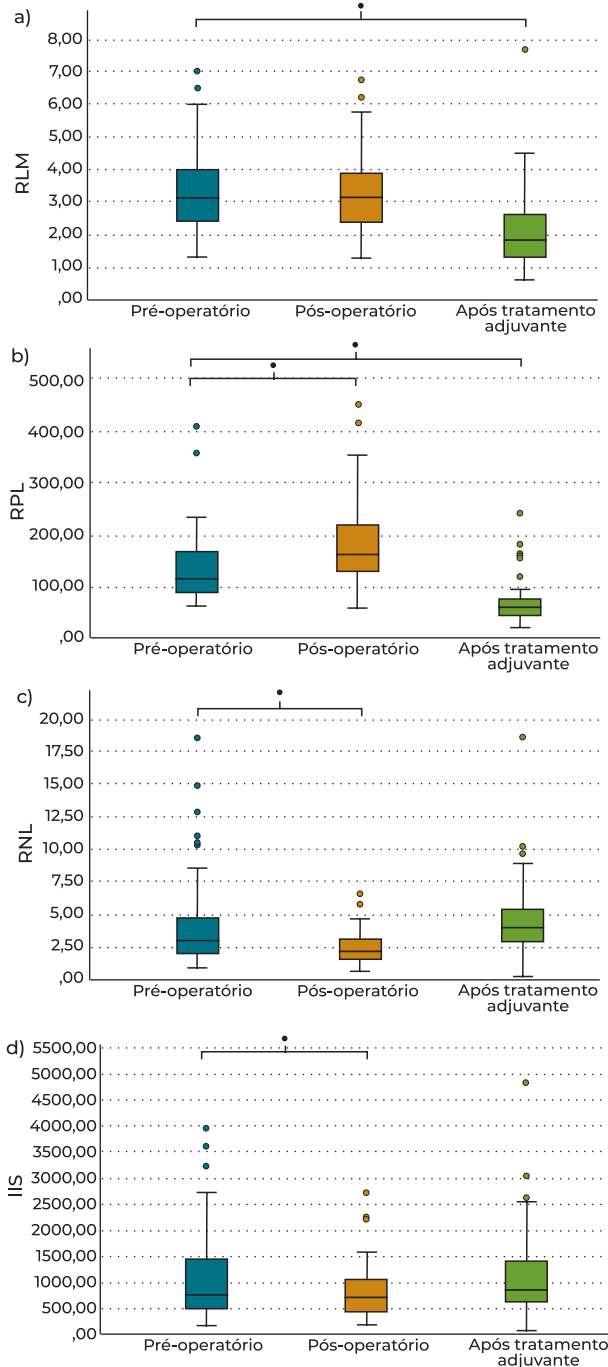
Correlação do RPL pré-operatório com as variáveis clínico-patológicas

Variáveis Clínico-patológicas	RPL pré-operatório (<i>cutoff</i> 125)				p valor
	Baixo (n=33)		Elevado (n=26)		
	n	%	n	%	
Idade					
< 60 anos	20	60.6	14	53.8	0.791
≥ 60 anos	13	39.4	12	42.4	
Localização tumoral					
Laringe	30	90.9	21	80.8	0.284
Hipofaringe	3	9.1	5	19.2	
Estadiamento patológico					
II ou III	12	36.4	3	11.5	0.038*
IV	21	63.6	23	88.5	
RLM pré-operatório					
<2.6	9	27.3	10	38.5	0.410
≥2.6	24	72.7	16	61.5	
RNL pré-operatório					
<2.3	15	45.5	5	19.2	0.032*
≥2.3	18	54.4	21	80.8	
IIS pré-operatório					
<931.4	25	75.8	7	26.9	<0.001*
≥931.4	8	24.2	19	73.1	

Legenda: n número de doentes; RPL rácio plaquetas-lintócitos; RLM rácio linfócitos-monócitos; RNL rácio neutrófilos-linfócitos; IIS índice imuno-inflamatório sistémico

Figura 3

Variação dinâmica do RLM (a), RPL (b), RNL (c) e IIS (d) após tratamento cirúrgico e após tratamento adjuvante em doentes com carcinoma da laringe e hipofaringe submetidos a faringolaringectomias total.



de *cutoff* previamente determinados para o período pré-operatório, pós-operatório e após tratamento adjuvante e dividimos os doentes nos seguintes grupos: (1) elevado RPL pré-operatório - elevado RPL após tratamento

completo; (2) elevado RPL pré-operatório - baixo RPL após tratamento completo; (3) baixo RPL pré-operatório - elevado RPL após tratamento completo; (4) baixo RPL pré-operatório - baixo RPL após tratamento completo. No entanto, o padrão de variação do RPL com o tratamento instituído não teve impacto significativo na SG ou SLM.

Associação do RPL com variáveis clínico-patológicas

Por fim, avaliou-se a correlação entre as variáveis clínico-patológicas e o RPL pré-operatório. Verificou-se que os doentes com RPL pré-operatória >125 tendem a apresentar estádios patológicos mais elevados (estadio IV) ($p < 0.05$) e, relativamente aos parâmetros inflamatórios, RNL e IIS mais elevados ($p < 0.05$) (tabela 3).

Discussão

A taxa sobrevivência global a 5 anos nos carcinomas da laringe e hipofaringe varia, sobretudo, de acordo com a localização e estadio tumoral determinado pelo TNM.

No entanto, a própria idade, o estado geral e nutricional do doente e comorbilidades associadas, nomeadamente a imunossupressão, parecem também ter impacto no prognóstico clínico 4. Os sistemas de estadiamento atualmente utilizados na nossa prática clínica para a decisão e orientação terapêutica são sobretudo anatómicos, sem considerarem estes últimos fatores, a agressividade biológica tumoral nem a resposta imunológica do hospedeiro. Assim, a capacidade desses sistemas de estadiamento predizerem com exatidão os desfechos a longo prazo e em cada caso individualizado ainda são limitados e têm vindo a ser questionados. Nesse sentido, estudos mais recentes têm sido desenvolvidos, com o objetivo de identificar novos marcadores que nos possam auxiliar na avaliação prognóstica e na tomada da decisão terapêutica, na identificação de fatores potencialmente modificáveis por uma intervenção precoce e, eventualmente, no desenvolvimento de imunoterapia

dirigida como uma abordagem terapêutica complementar. O valor da utilização de marcadores inflamatórios na avaliação destes doentes prende-se com facto de, para além de serem o reflexo da resposta do hospedeiro no combate às células cancerígenas comprovado com factos de que doentes imunodeprimidos têm um maior risco de desenvolver neoplasia^{13,14}, estes serem baratos, facilmente obtidos e estarem rotineiramente disponíveis. Neste estudo avaliamos o impacto clínico da resposta inflamatória sistémica utilizando marcadores inflamatórios obtidos por avaliação quantitativa do hemograma. Embora a literatura já tenha mostrado alguma evidência no assunto, o mecanismo através do qual estes biomarcadores têm impacto prognóstico e de que forma podem prever os desfechos destes doentes ainda parece confuso e pouco esclarecedor dada heterogeneidade dos estudos realizados na área^{1,6,8}. Dos parâmetros inflamatórios analisados (RLM, RPL, RNL e IIS), verificámos que o RPL pré-operatório é o que melhor prediz a SG a 5 anos, sendo um rácio >125 um fator preditivo independente, comprovado na análise multivariada, de pior SG e de SLD (HR 5.8 e 14.5, respetivamente). A verdade é que existe evidência científica que diferentes estados imunológicos tem efeitos significativos no prognóstico dos doentes com tumores sólidos da área da cabeça e pescoço e estes rácios analisados refletem precisamente esta RIS do hospedeiro no microambiente tumoral^{1,5}.

Relativamente ao RPL nos tumores da cabeça e pescoço incluindo os da laringe e hipofaringe, já existem múltiplos estudos que correlacionam níveis elevados pré-operatórios com uma pior SG, como evidenciado em duas metanálises recentes sobre a temática¹⁵. Nessas metanálises, o *cutoff* de RPL determinado para estimar a SG variou 111-186, onde se incluí o nosso *cutoff* determinado (125). A infiltração tumoral por linfócitos, sobretudo linfócitos T citotóxicos CD8+, parece estar associada a uma melhor resposta ao tratamento instituído e aumento da sobrevivência^{16,17} sendo que a linfopenia é um reflexo do comprometimento

do sistema imunológico de neutralizar a progressão tumoral e, conseqüentemente, está associada a pior sobrevivência^{17,18}. Por oposição, os neutrófilos e plaquetas fornecem as moléculas bioativas necessárias, incluindo fatores de crescimento angiogénicos, epiteliais e estromais, e as enzimas de remodelação da matriz extracelular, responsáveis pela progressão neoplásica¹⁹. Por estes motivos, a combinação de neutrófilos, plaquetas e linfócitos, como marcadores inflamatórios, têm sido identificados como fatores de prognóstico independentes^{17,20,21}. Foi, neste sentido, que se excluíram doentes com doenças imunológicas e inflamatórias agudas, uma vez que poderiam alterar falaciosamente o significado das alterações nas contagens de leucócitos e plaquetas.

Investigamos também a variação dinâmica destes parâmetros inflamatórios ao longo do tempo e com o tratamento instituído e verificamos que o RLM e RPL foram estatisticamente menores após tratamento completo (após cirurgia e tratamento adjuvante). No entanto, o padrão de variação do RPL com os tratamentos instituídos não se revelou como sendo um fator preditivo do prognóstico clínico, ou seja, o preditor mais importante da sobrevivência foi o RPL pré-operatório, sendo que a sua variação ao longo do tempo (se houve ou não uma descida ou subida do rácio com os tratamentos) não influenciou a sobrevivência destes doentes. Ainda assim, este estudo é um dos primeiros, na área da cabeça e pescoço, a avaliar e analisar a variação dinâmica destes marcadores com o tratamento instituído. A verdade é que a literatura acerca da evolução destes índices durante e após terapêutica é, no geral, muito escassa e ainda não está bem esclarecido de que forma é que os tratamentos (cirurgia e quimiorradioterapia) modificam o microambiente tumoral e a resposta inflamatória sistémica associada e qual o seu impacto no prognóstico clínico. Adicionalmente, concluímos que na nossa amostra níveis mais elevados de RPL pré-operatórios tendem a acontecer sobretudo

em doentes com a doença em estadios avançados (IV) e com RNL e IIS pré-operatórios mais elevados, embora estes últimos não se tenham evidenciado como fatores preditivos independentes de sobrevivência. Ainda assim, já existe evidência científica que um elevado RNL pré-tratamento é um fator preditor negativo nos tumores da cabeça e pescoço^{21,22}. O que pode contribuir para esta diferença é grande heterogeneidade que existe na literatura relativamente à definição dos *cutoff's* ideais para determinar um rácio elevado e baixo para se determinar as sobrevivências⁶. Essa variação poderá ser atribuída ao método utilizado para a sua determinação. Num estudo sobre neoplasias laríngeas realizado por Du *et al.*²¹, onde foi demonstrado a associação entre um RLN elevado e um pior prognóstico na análise de sobrevivência, foi utilizado o método CART (*classification and regression tree*) tendo sido determinado o valor de 3.18 como *cutoff*. Relativamente ao IIS, um *score* semelhante que reflete uns níveis aumentados em circulação de neutrófilos e monócitos (SIRI - *Systemic Inflammation Response Index*), já mostrou estar associado a um aumento da mortalidade em doentes com tumores da cabeça e pescoço (HR de 3.3)¹⁸. Ainda assim, e embora pareça haver correlação entre a RIS e o prognóstico clínico destes doentes, a utilização destes marcadores para a previsão prognóstica deve ser realizada de forma crítica uma vez que os marcadores inflamatórios analisados representam uma avaliação da atividade do sistema imunitário num momento exato e único e, como tal, não refletem as variações dinâmicas que ocorrem ao longo do tempo. Adicionalmente, também é importante ter em conta que o tipo de perfil imunológico analisado ser uma avaliação sistémica e global da resposta inflamatória e, como tal, pode não refletir necessariamente o microambiente tumoral e as subpopulações específicas de células envolvidas. Consideramos serem limitações deste estudo, primariamente, o tamanho amostral que, por ser reduzido em cada subgrupo analisado, não nos permitiu mostrar que, por exemplo,

a localização tumoral (hipofaringe vs. laringe) influencia o prognóstico clínico do doente, conforme já comprovado¹⁸, nem permite fazer inferência sobre os restantes marcadores inflamatórios analisados que poderiam revelar-se como preditores da sobrevivência assim como já aconteceu noutros estudos. Adicionalmente, o facto de se tratar de um estudo retrospectivo não permite um rigor nos *timings* de colheita dos nossos estudos analíticos (pré- e pós-tratamento). A variedade dos tratamentos realizados também conferiu alguma heterogeneidade à amostra que poderão, por si só, influenciar os desfechos clínicos dos doentes.

Ainda assim e, apesar das limitações apresentadas, concluímos que na nossa amostra um elevado RPL mostrou ser um fator prognóstico negativo, assim como acontece numa ampla gama de outras neoplasias, nomeadamente pulmonares, esofágicas e renais²³⁻²⁵, que mostra alguma coerência e fortalece a ideia de que o microambiente tumoral e, conseqüentemente, a resposta inflamatória sistémica associada, tem, de facto, impacto na agressividade e progressão tumoral.

Futuramente seria pertinente a realização de um estudo prospetivo multicêntrico para determinar que marcador inflamatório, ou combinação de vários, prediz melhor os desfechos clínicos destes doentes, avaliar com precisão a sua variação dinâmica com os tratamentos instituídos e determinar fiabilidade estatística (teste-reteste) destes parâmetros inflamatórios. Será também importante definir valores de *cutoffs* fixos, de modo a avaliar a sua aplicabilidade na prática clínica. Por fim, poderia revelar-se interessante a avaliação adicional de outros fatores, nomeadamente da albumina e da relação albumina/globulina, que reflete o estado nutricional do doente e que já se terá mostrado como preditor dos desfechos clínicos nos tumores da cabeça e pescoço e noutras neoplasias¹⁸.

Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que o RPL pré-operatório, como um índice de RIS, poderá vir a prever o prognóstico em doentes com carcinomas da laringe e hipofaringe submetidos a faringolaringectomia total. Assim, este marcador juntamente com os restantes que têm mostrado evidência científica na literatura relativamente ao seu impacto no prognóstico clínico destes doentes, por serem acessíveis e facilmente obtidos, podem representar, no futuro, uma ferramenta adicional na estratificação de risco e na decisão terapêutica em doentes com tumores da cabeça e pescoço, nomeadamente da laringe e hipofaringe.

Conflito de Interesses

Os autores declaram que não têm qualquer conflito de interesse relativo a este artigo.

Confidencialidade dos dados

Os autores declaram que seguiram os protocolos do seu trabalho na publicação dos dados de doentes.

Proteção de pessoas e animais

Os autores declaram que os procedimentos seguidos estão de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos diretores da Comissão para Investigação Clínica e Ética e de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial.

Política de privacidade, consentimento informado e Autorização do Comité de Ética

Os autores declaram que têm o consentimento por escrito para o uso de fotografias dos doentes neste artigo.

Financiamento

Este trabalho não recebeu qualquer contribuição, financiamento ou bolsa de estudos.

Disponibilidade dos Dados científicos

Não existem conjuntos de dados disponíveis publicamente relacionados com este trabalho.

Referências bibliográficas

1. Bardash Y, Olson C, Herman W, Khaymovich J, Costantino P, Tham T. Platelet-lymphocyte ratio as a predictor of prognosis in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Oncol Res Treat.* 2019;42(12):665-677. doi: 10.1159/000502750.
2. Elmusrati A, Wang J, Wang CY. Tumor microenvironment and immune evasion in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Oral Sci.* 2021 Aug 2;13(1):24. doi: 10.1038/s41368-021-00131-7
3. Machiels JP, René Leemans C, Golusinski W, Grau C, Licitra L, Gregoire V. et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHS-ESMO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2020 Nov;31(11):1462-1475. doi: 10.1016/j.annonc.2020.07.011.
4. Bradford CR, Ferlito A, Devaney KO, Mäkitie AA, Rinaldo A. Prognostic factors in laryngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2020 Jan 27;5(1):74-81. doi: 10.1002/lio2.353.
5. Huo M, Zhang Y, Chen Z, Zhang S, Bao Y, Li T. Tumor microenvironment characterization in head and neck cancer identifies prognostic and immunotherapeutically relevant gene signatures. *Sci Rep.* 2020 Jul 7;10(1):11163. doi: 10.1038/s41598-020-68074-3.
6. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocana A. et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis *J Natl Cancer Inst.* 2014 May 29;106(6):dju124. doi: 10.1093/jnci/dju124.
7. Yokota M, Katoh H, Nishimiya H, Kikuchi M, Kosaka Y, Sengoku N. et al. Lymphocyte-monocyte ratio significantly predicts recurrence in papillary thyroid cancer. *J Surg Res.* 2020 Feb;246:535-543. doi: 10.1016/j.jss.2019.09.034.
8. Nishijima TF, Muss HB, Shachar SS, Tamura K, Takamatsu Y. Prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2015 Dec;41(10):971-8. doi: 10.1016/j.ctrv.2015.10.003.
9. Ishizuka M, Oyama Y, Abe A, Kubota K. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients undergoing surgery for gastric cancer. *J Surg Oncol.* 2014 Dec;110(8):935-41. doi: 10.1002/jso.23753.
10. Tham T, Olson C, Khaymovich J, Herman SW, Costantino PD. The lymphocyte-to-monocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2018 Jul;275(7):1663-1670. doi: 10.1007/s00405-018-4972-x.
11. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K. et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer: A meta-analysis. *Head Neck.* 2018 Mar;40(3):647-655. doi: 10.1002/hed.24986.
12. Caudell JJ, Gillison ML, Maghami E, Spencer S, Pfister DG, Adkins D. et al. NCCN Guidelines® Insights: Head and Neck Cancers, Version 1.2022. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022 Mar;20(3):224-234. doi: 10.6004/jnccn.2022.0016.
13. D'souza G, Carey TE, William WN Jr, Nguyen ML, Ko EC, Riddell J 4th. et al. Epidemiology of head and neck squamous cell cancer among HIV-infected patients. *J*

Acquir Immune Defic Syndr. 2014 Apr 15;65(5):603-10. doi: 10.1097/QAI.0000000000000083.

14. Rabinovics N, Mizrachi A, Hadar T, Ad-El D, Feinmesser R, Guttman D. et al. Cancer of the head and neck region in solid organ transplant recipients. *Head Neck*. 2014 Feb;36(2):181-6. doi: 10.1002/hed.23283.

15. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K. et al. Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck*. 2018 Dec;40(12):2714-2723. doi: 10.1002/hed.25366.

16. Gooden MJ, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: A systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer*. 2011 Jun 28;105(1):93-103. doi: 10.1038/bjc.2011.189.

17. Tham T, Wotman M, Chung C, Ahn S, Dupuis H, Gliagias V. et al. Systemic immune response in squamous cell carcinoma of the head and neck: a comparative concordance index analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2019 Oct;276(10):2913-2922. doi: 10.1007/s00405-019-05554-x.

18. Saroul N, Puechmaillie M, Lambert C, Hassan AS, Biau J, Lapeyre M. et al. Prognosis in head and neck cancer: importance of nutritional and biological inflammatory status. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2022 Jan;166(1):118-127. doi: 10.1177/01945998211004592.

19. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):883-99. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.025.

20. Guthrie GJ, Charles KA, Roxburgh CS, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013 Oct;88(1):218-30. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.03.010.

21. Du J, Liu J, Zhang X, Chen X, Yu R, Gu D. et al. Pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts survival in patients with laryngeal cancer. *Oncol Lett*. 2018 Feb;15(2):1664-1672. doi: 10.3892/ol.2017.7501.

22. Tham T, Bardash Y, Herman SW, Costantino PD. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2018 Nov;40(11):2546-2557. doi: 10.1002/hed.25324.

23. Zhang X, Ran Y. Prognostic role of elevated platelet count in patients with lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Apr 15;8(4):5379-87.

24. Men H, Liang C, Yu M. Thrombocytosis as a prognostic factor in patients with renal cell carcinoma: a meta-analysis of literature. *J Cancer Res Ther*. Jan-Mar 2015;11(1):67-72. doi: 10.4103/0973-1482.150345.

25. Feng JF, Huang Y, Zhao Q, Chen QX. Clinical significance of preoperative neutrophil lymphocyte ratio versus platelet lymphocyte ratio in patients with small cell carcinoma of the esophagus. *ScientificWorldJournal*. 2013 Sep 5;2013:504365. doi: 10.1155/2013/504365.