



SAPIENZA

Università di Roma

Scuola di Dottorato in Scienze Mediche, Sperimentali e Cliniche

Dipartimento di Scienze Medico Chirurgiche e Medicina Traslazionale

DOTTORATO DI RICERCA IN ONCOLOGIA

XXXII ciclo

Coordinatore: Ch.mo Prof. Bruno Annibale

Curriculum "Scienze Ginecologiche e Ostetriche"

Tesi di Dottorato

**IMPATTO PROGNOSTICO DI MARCATORI INFIAMMATORI
SIEROLOGICI IN COMBINAZIONE CON ESPRESSIONE TISSUTALE
DI IL-6 IN PAZIENTI AFFETTE DA CARCINOMA DELLA CERVICE**

Relatore

Ch.mo Prof. Pierluigi Benedetti Panici

Dottoranda

Dr.ssa Lavinia Domenici

Correlatore

Ch.ma Prof.ssa Donatella Caserta

INDICE

1 – IL CARCINOMA DELLA CERVICE	4
1.1 – Epidemiologia	4
1.2 - Processo di carcinogenesi nel carcinoma della cervice	9
1.3 - Diagnosi e stadiazione clinica	13
1.4 – Trattamento	17
1.4.1 – Chirurgia	17
1.4.2 – Radioterapia	20
1.4.3 – Chemioterapia	27
2 – CORRELAZIONE TRA CARCINOMA DELLA CERVICE E PROCESSI DI INFIAMMAZIONE SISTEMICA	31
3 – OBIETTIVI DELLO STUDIO	42
4 – MATERIALI E METODI	43
5 – RISULTATI	47
6 – DISCUSSIONE	60
7 – CONCLUSIONI	63
8 – BIBLIOGRAFIA	64

1 – IL CARCINOMA DELLA CERVICE

1.1 - EPIDEMIOLOGIA

Il carcinoma della cervice uterina è al secondo posto nel mondo, dopo la mammella, tra i tumori che più frequentemente colpiscono il sesso femminile. Si ritiene che l'infezione sostenuta da un pool di ceppi ad alto rischio di Papilloma Virus umano a trasmissione per via sessuale (HPV 6, 11, 16 e 18 in particolare) abbia un potere oncogenico fondamentale nello sviluppo ed evoluzione di questa neoplasia [1]. La cancerogenesi è un processo di lunga durata e il carcinoma rappresenta la fase evolutiva finale di una serie di lesioni a rischio progressivamente più alto che particolarmente nelle fasi iniziali possono peraltro regredire spontaneamente. I fattori di rischio riguardano fondamentalmente tutte le condizioni di trasmissione del virus e di progressione delle lesioni precancerose. Queste condizioni sono favorite dal basso livello socio-economico (con scarso accesso alla prevenzione), numero di partner, giovane età di inizio dell'attività sessuale e parità. Ulteriori fattori di rischio sono stati individuati negli stati immunodepressivi, nel fumo di sigaretta e nella contraccezione ormonale [2]. Una componente familiare del rischio è stata riconosciuta, pur nella difficoltà di discriminare tra fattori propriamente genetici (immunodeficienza) [3] e condivisione di fattori ambientali [4-6]. La componente del rischio associata ai diversi gruppi sociali tende a non variare con la migrazione. Nella popolazione del mondo occidentale una sottostima dell'incidenza deriva dal numero di donne a cui è stato asportato l'utero per patologie non tumorali [7]. La percentuale di donne isterectomizzate varia per età, etnia e area geografica e rappresenta una significativa quota di popolazione "impossibilitata" ad ammalarsi, che concorre alla

riduzione del numero dei nuovi casi. L'istotipo squamocellulare è il più diffuso tra i carcinomi cervicali (oltre i 2/3 dei casi). L'adenocarcinoma rappresenta una forma meno frequente (13% in Italia). In Italia sono poco più di 60.000 le donne con pregressa diagnosi di carcinoma cervicale. Le strategie di prevenzione, da tempo diffuse, fanno sì che solo il 7% si trovi a meno di due anni dalla diagnosi, un 13% tra i 5 e 10 anni e ben il 50% oltre i 20 anni. La proporzione di donne prevalenti è massima oltre i 75 anni di età (607 x 100.000 residenti) 1,4 volte più della proporzione tra i 60 e i 75 anni e 2,4 volte più di quella tra i 40 e i 59 anni (*Figura 1 e 2*). Si stima che nell'intero corso della vita 1 donna su 170 contrarrà un carcinoma cervicale [9].

Secondo le ultime stime AIOM; sono circa 2.100 i nuovi casi di tumore della cervice all'anno e l'incidenza del tumore della cervice uterina, di cui è diffusa da tempo la diagnosi precoce, è in costante calo nell'ultimo decennio (-2,9%/anno).

Figura 1 – Mortality rate standardizzati per età in Europa su 100.000 donne – Credit Cancer Research UK.

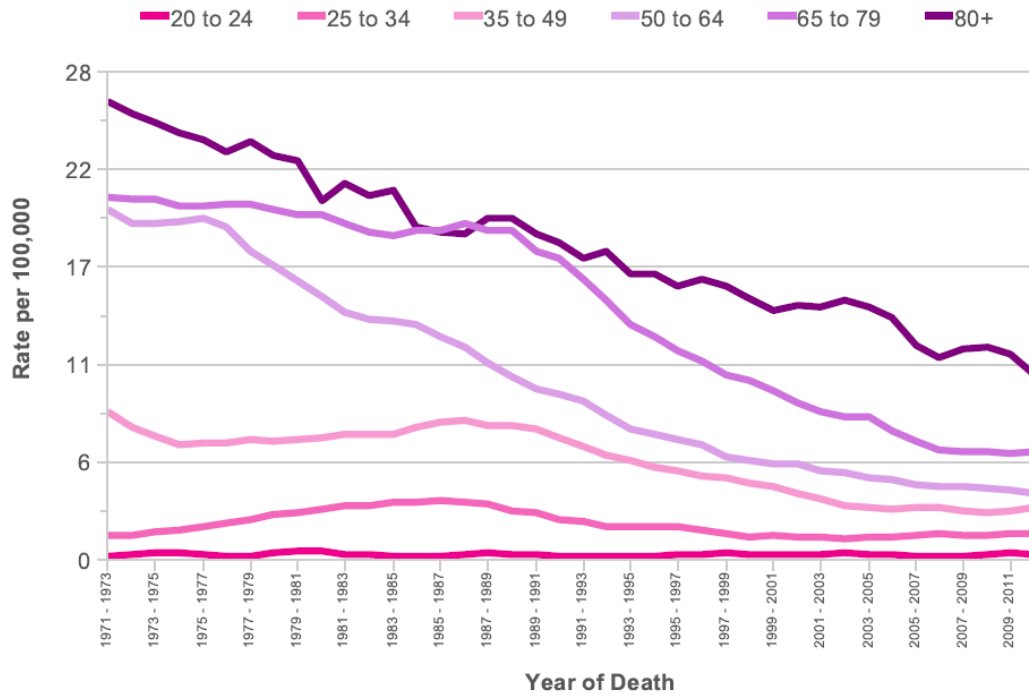
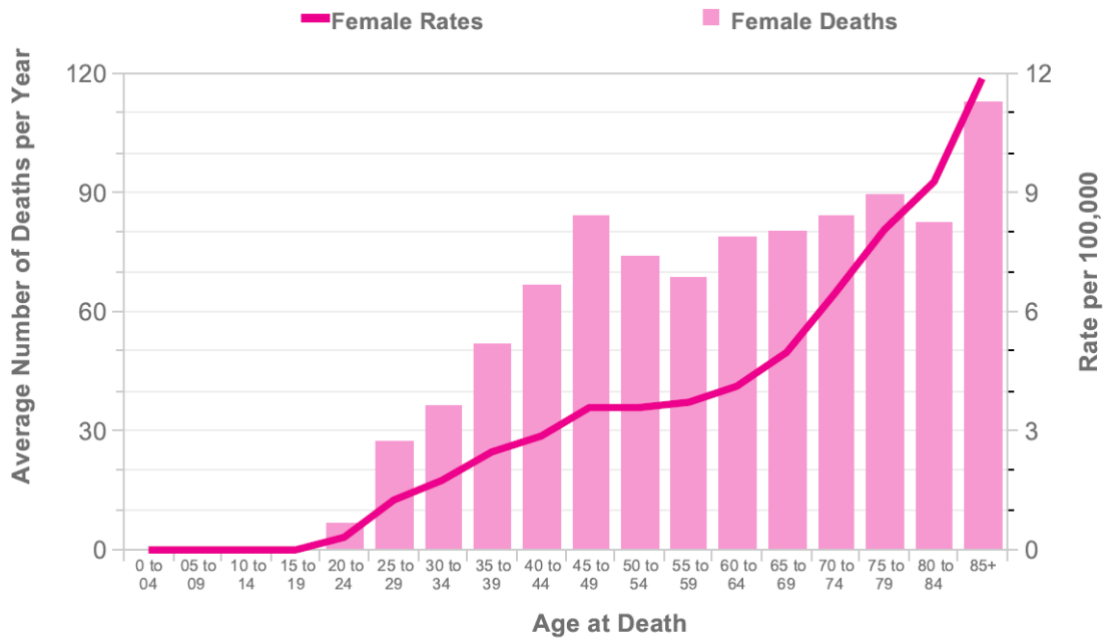


Figura 2 – Numero medio di decessi per anno dovuti a carcinoma della cervice e mortality età correlata – Credit Cancer Research UK.



La diagnosi precoce rappresenta l'arma più efficace nella prevenzione del carcinoma della cervice uterina. In Italia la diffusione del Pap-test a livello spontaneo a partire dagli anni '60 e, soprattutto, l'avvio dei programmi di screening organizzato, negli ultimi due decenni, hanno rappresentato il principale fattore di riduzione dell'incidenza e ancor più della mortalità per questa neoplasia. I programmi di screening regionali coprono attualmente (dati 2012) l'84% della popolazione femminile in età 25-64 anni, con un 77% di donne che ricevono effettivamente la lettera d'invito [10]. La lunga fase preclinica della malattia e la possibilità di trattare efficacemente lesioni precancerose, che ne caratterizzano la progressione, costituiscono i punti di forza di questo programma di prevenzione secondaria che raggiunge un rapporto costo/beneficio estremamente favorevole. Il carcinoma della cervice uterina riconosce nella displasia severa (H-SIL) la sua lesione preneoplastica. Più del 90% dei casi asintomatici di H-SIL può essere accertato in fase preclinica con l'esame citologico del Pap-test ottenuto direttamente dalla cervice. La presenza di un Pap-test alterato richiede un'ulteriore valutazione sulla base della diagnosi descrittiva del Pap-test e dei fattori di rischio della paziente. Le lesioni cervicali sospette devono essere sempre biopsiate. Se non c'è una lesione chiaramente invasiva, può essere utilizzata la colposcopia per identificare le aree che richiedono una biopsia e per localizzare la lesione. La biopsia guidata dalla colposcopia, di solito, fornisce un'evidenza clinica sufficiente per una diagnosi accurata. Se la valutazione colposcopica non è soddisfacente o è inconcludente, è necessaria una biopsia con conizzazione della cervice, eseguita mediante escissione con ansa (*Loop Electrical Excision Procedure*, LEEP), con il laser o con il bisturi a lama fredda. Queste procedure consentono inoltre l'eradicazione della quasi totalità delle lesioni preinvasive e di una discreta quota di carcinomi in fase iniziale. L'antigene SCC (*squamous cell carcinoma*)

è l'unico marcatore utilizzato non per la diagnosi ma per il controllo dell'evoluzione clinica di malattia [11]. Il test per la ricerca del DNA di ceppi di HPV ad alto rischio è stato fino a poco tempo fa solo marginalmente utilizzato dai programmi di screening per follow-up post-trattamento di lesioni intraepiteliali e post-colposcopia negativa o come triage nei quadri citologici di basso grado o incerto significato. Diversi studi e trial di popolazione hanno tuttavia evidenziato una maggiore sensibilità del test HPV nell'individuazione di lesioni CIN2+ rispetto al Pap-test [12-13], con una riduzione di lesioni al round successivo, ancora maggiore per i cancri invasivi [14]. Oltre alla maggiore protezione, i trial hanno evidenziato che l'uso del test HPV come primo test di screening, con triage citologico ed eventualmente colposcopia in caso di citologia positiva conserva la stessa efficacia dei protocolli tradizionali, ma con minore tasso di accertamenti non necessari. Non è invece emerso alcun vantaggio dell'uso dell'HPV test in parallelo con il Pap-test tradizionale. Attualmente in Europa diversi documenti di indirizzo propongono l'HPV test come test primario (Linee Guida in corso di pubblicazione) e in Italia tale protocollo è al vaglio della Conferenza Stato-Regioni per la sua adozione a livello nazionale [15-16].

La vaccinazione contro i ceppi di HPV correlati allo sviluppo di carcinoma rappresenta un'ulteriore strategia per limitare prospetticamente l'incidenza delle lesioni premaligne e maligne della cervice uterina. La campagna vaccinale per l'HPV è offerta da alcuni anni alle ragazze dodicenni di tutte le Regioni d'Italia (e localmente anche a fasce di età successive), a partire dalla coorte di nascita 1997: la sua copertura varia da Regione a Regione e tra le diverse coorti di nascita [14].

1.2 – PROCESSO DI CARCINOGENESI NEL CARCINOMA DELLA CERVICE

I fattori di rischio, di cui attualmente si conosce l'associazione con questa neoplasia, sono molteplici, ma la maggior parte hanno attinenza con l'attività sessuale della donna tanto da far considerare la patologia quasi una malattia sessualmente trasmessa.

È stato dimostrato che accertato che il pericolo di insorgenza del tumore è tanto più elevato quanto più precoce (prima dei 16 anni) è l'inizio dell'attività sessuale, soprattutto se con partner multipli (più di quattro) e ancora di più se i rapporti si sono abitualmente verificati senza l'uso dei metodi contraccettivi di barriera. Tuttavia anche una donna con un unico partner può essere a rischio, se il partner è portatore di un virus oncogenico o altri di agenti infettivi che possano favorire l'insorgenza del tumore. Tuttavia, l'associazione da lungo tempo affermata tra l'insorgenza di un tumore alla cervice uterina e le abitudini sessuali hanno suggerito l'ipotesi, oramai accreditata, dell'esistenza di un agente sessualmente trasmissibile, individuato nello Human Papilloma Virus (HPV), come fattore causale principale [17-19]. Alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato come l'infezione da virus HPV sia il più importante fattore di rischio per lo sviluppo di neoplasie intraepiteliali ed invasive del carcinoma squamoso [17, 18]. Inoltre nelle lesioni invasive e preinvasive l'HPV-DNA sembra avere una prevalenza superiore al 90% con una documentata attività di trascrizione dell'HPV all'interno delle cellule neoplastiche [17-19].

Nonostante siano molti i tipi di HPV associati con neoplasie ano-genitali, i tipi 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 e 58 sono più aggressivi e strettamente associati alle forme neoplastiche [20] e alle forme precancerose più severe come l'HSIL, mentre i sierotipi 6 e 11 sono spesso associati a lesioni benigne, quali condilomi genitali e solo

occasionalmente possono essere associati a lesioni cervicali invasive. Si è quindi delineata sulla base di alcuni studi la divisione dei vari sierotipi di HPV attualmente isolati in tipi ad alto (16, 18, 45, 56), medio (31, 33, 35) e basso (6, 11, 42, 43, 44) rischio di cancerogenesi (*Tabella 1*), in base alla frequenza di associazione con la malattia.

Tabella 1 – Sierotipi di HPV e loro stratificazione per rischio oncogenico.

HPV (sottotipo)	Categoria di rischio
16, 18, 45, 56	Alta
30, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 58, 66	Intermedia
6, 11, 42, 43, 44, 53, 54, 55	Bassa

La capacità di trasformare le cellule in coltura che distingue i ceppi ad alto rischio da quelli meno aggressivi (ad esempio 6, 11, 42 e 44) è correlata alla presenza di specifici oncogeni virali (geni E6 ed E7) che mostrano una spiccata affinità per i prodotti dei geni oncosoppressori umani. L'oncoproteina E6 si lega al gene oncosoppressore p53 e ne accelera la degradazione proteolitica; la proteina E7 si lega al gene RB e sposta i fattori di trascrizione normalmente impegnati da questo gene. In questo modo entrambi i meccanismi possono modificare la regolazione del ciclo cellulare. L'introduzione di queste parti del DNA virale nelle cellule squamose in coltura può indurre modificazioni citologiche simili a quelle che si osservano nelle lesioni preneoplastiche. Lo stato fisico del virus nel carcinoma però, essendo questo completamente integrato nel genoma delle

cellule, è diverso da quello dei condilomi e della maggior parte delle lesioni precancerose, in cui il DNA virale si trova in una forma episomica. [21].

A conferma dell'importanza dell'integrazione del DNA virale con quello umano nella genesi del carcinoma cervicale sta il fatto che l'inibizione reversibile dell'espressione di E6/E7 in linee cellulari di carcinoma cervicale HPV 18-positivo (SW 756) ostacola lo sviluppo del fenotipo maligno [22-24].

I dati più consolidati attribuiscono ai sottotipi 16 e 18 la maggiore capacità oncogena. Il sierotipo 18 è stato, infatti, associato a carcinomi scarsamente differenziati, ad un'aumentata incidenza di metastasi linfonodali, ad una più scarsa risposta al trattamento e ad una maggiore frequenza di recidiva di malattia.

Il sierotipo 16 è stato invece, associato ad un tumore a grandi cellule cheratinizzate e ad una bassa frequenza di recidiva. Il rischio relativo della progressione di una lesione squamosa intraepiteliale ad un'invasiva è stato stimato sino ad un valore di 296.1 per sottotipi di HPV ad elevato rischio [25]. Inoltre, anche il rischio relativo di morte varia con il sottotipo associato, essendo 4.4 volte maggiore per le neoplasie associate all'HPV 18 rispetto a quelle associate con altri sottotipi.

Sono stati individuati altri fattori che possono contribuire alla carcinogenesi tra cui la coesistenza di malattie sessualmente trasmesse, il numero di gravidanze, l'abitudine del fumo di tabacco e l'uso di anticoncezionali orali. In particolare il fumo di sigaretta si è rivelato essere l'unico fattore indipendente per lo sviluppo di un carcinoma cervicale, dopo l'HPV, avendo un'azione cancerogena diretta sull'epitelio cervicale [26]; alcuni studi, infatti, hanno dimostrato come le sostanze cancerogene presenti nelle sigarette, in particolar modo gli idrocarburi policiclici, si ritrovino nel muco cervicale, alterando probabilmente l'immunità locale [27, 28]. Anche l'uso di anticoncezionali orali per più

di 5 anni sembra associato ad un modesto aumento del rischio (circa 2 volte) di sviluppare il cancro della cervice considerando le donne con infezione persistente da HPV.

Infine, alcuni studi hanno evidenziato una certa predisposizione genetica allo sviluppo del carcinoma della cervice uterina. Infatti, un locus genico mutato frequentemente nel cancro cervicale è situato nella regione cromosomica 3p14.2 che contiene il gene FHIT (fragile histidine triad gene) [29, 30].

Conformemente a questa interpretazione, uno studio svedese basato su una vasta popolazione [31-33] ha ipotizzato una predisposizione genetica nello sviluppo di cancro cervicale valutando, in particolar modo il ruolo del polimorfismo del gene p53. Tuttavia, questa correlazione non è stata confermata in altri studi.

Il principale test di screening per il carcinoma della cervice è rappresentato dal Pap-test (striscio colpo-citologico). Lo striscio deve essere eseguito in donne che non abbiano effettuato lavande vaginali o che non abbiano utilizzato lubrificanti da almeno 24 ore, che non abbiano sanguinamenti in atto o processi infiammatori intensi e che non abbiano svolto pratiche sessuali nelle 24 ore precedenti. L'affidabilità del Pap-test è sensibilmente influenzata dal grado di esperienza del citologo esaminatore e dal modo con cui viene prelevato e allestito il preparato nei diversi vetrini. La modalità di refertazione del Pap-test può essere effettuata attraverso diversi sistemi di classificazione.

Il sistema attualmente più utilizzato è rappresentato dal Bethesda System (revisionato nel 2001) [32, 33] secondo il quale il Pap-test deve fornire:

- Informazioni sull'adeguatezza del preparato
- Informazioni sulla normalità/anormalità del materiale raccolto
- Informazioni sulla presenza di infezioni o alterazioni di natura non neoplastica
- Informazioni sulla anormalità delle cellule epiteliali squamose (ASC):

- Di significato indeterminato (ASC-US).
- Lesioni intraepiteliali squamose di basso grado (LSIL), includente HPV/displasia lieve/CIN1.
- Lesioni intraepiteliali squamose di alto grado (HSIL), includente displasia moderata e grave/CIN2 -CIN3/CIS.
- HSIL in cui l'invasione non può essere esclusa.
- Carcinoma squamocellulare.

- Informazioni sulla anormalità delle cellule epiteliali ghiandolari:

- Cellule ghiandolari atipiche (AGC) endometriali, endocervicali o NOS.
- Cellule ghiandolari atipiche (AGC) suggestive di neoplasia endometriali, endocervicali o NOS.
- Adenocarcinoma endocervicale in situ (AIS).

1.3 – DIAGNOSI E STADIAZIONE CLINICA

Il sospetto diagnostico di neoplasia cervicale nei casi iniziali si pone sulla base di un referto dubbio o positivo al Pap-test, che rappresenta l'esame di I livello. La colposcopia fa seguito ad una citologia anormale: come esame di II livello consente di eseguire una biopsia mirata ed un esame istologico accurato nella maggior parte dei casi. Nei casi più avanzati il sospetto di neoplasia si può porre anche sulla sola base clinica, tuttavia la diagnosi necessita comunque di conferma istologica [34].

Le più frequenti forme istologiche sono quelle di natura epiteliale che comprendono i seguenti istotipi:

- Squamoso (85%): cheratinizzante, non cheratinizzante, ad istotipo speciale (verrucoso, fusato)
- Adenocarcinoma (10-12%): endometrioide, a cellule chiare, sieroso, tipo intestinale
- Adenosquamoso (3-5%)
- Adenocistico (3-5%)
- Indifferenziato

Alla conferma istologica di neoplasia cervicale, si avvia un complesso processo di indagini cliniche e strumentali che deve assicurare, all'interno del processo diagnostico, una corretta valutazione dell'estensione della malattia. Alcune delle procedure indicate costituiscono presupposto o parte integrante del sistema di stadiazione FIGO, maggiormente utilizzato in oncologia ginecologica [35-37], tra queste lo staging mediante imaging viene eseguito con le seguenti modalità:

- RMN addomino-pelvica con mdc. Questo esame assicura elevati livelli di sensibilità (93%) e accuratezza diagnostica (86%) e consente di valutare il volume tumorale, la preservazione dell'anello stromale cervicale, l'estensione vaginale, l'invasione di strutture e organi adiacenti, la presenza di adenopatie pelviche e retro-peritoneali, l'idronefrosi. Insieme alla ecoflussimetria rappresenta inoltre un esame fondamentale per la valutazione del volume tumorale, della distanza del tumore dall'orifizio uterino interno e la lunghezza del canale cervicale, indispensabili per la eventuale chirurgia conservativa nelle donne giovani.

- Visita ginecologica in narcosi (valutazione del coinvolgimento parametricale) con biopsia di mappature cervicali e vaginali. In caso di sospetta infiltrazione è necessario eseguire cistoscopia e/o rettoscopia con biopsie delle mucose.
- TAC total body o TAC torace con mdc, nelle lesioni localmente avanzate, per lo studio di malattia a distanza e per un corretto riferimento basale nei casi di terapia neoadiuvante.

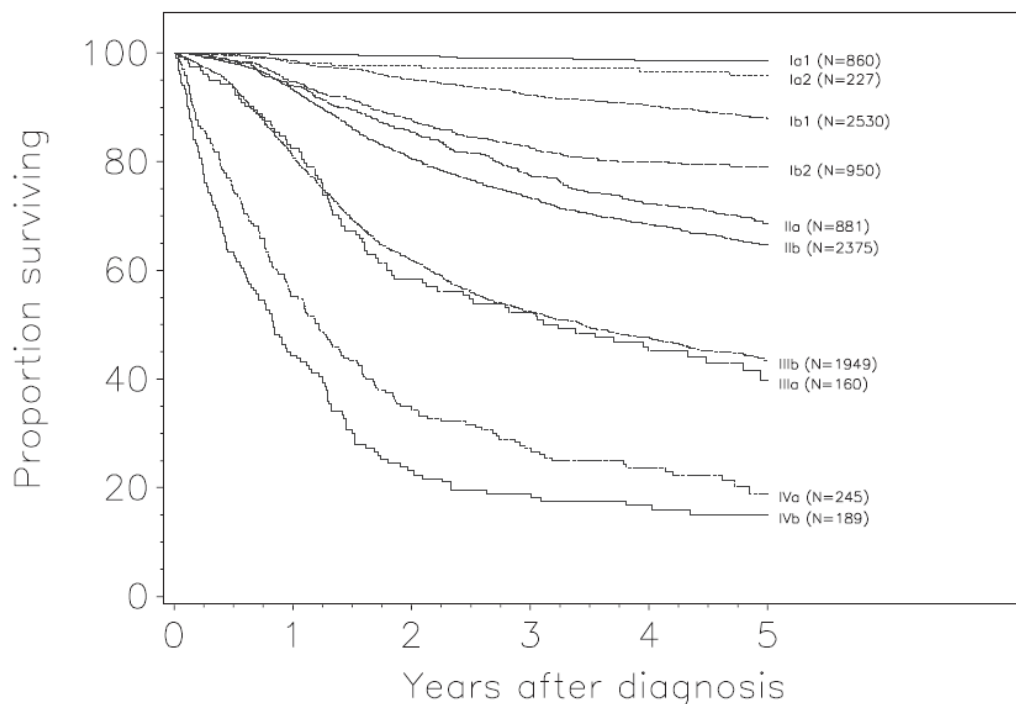
Recentemente è stato proposto l'impiego della 18 FDG PET-TC, in sostituzione della TC *total body* con mdc. Rispetto alla TAC, questo esame migliora la definizione delle lesioni dubbie, del coinvolgimento linfonodale e della risposta al trattamento neoadiuvante. Tuttavia, la non completa accessibilità sul territorio e la mancanza di esperienze cliniche consolidate, fanno della PET-TC un esame diagnostico ancora non routinario [38].

La stadiazione clinica viene eseguita secondo i criteri FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) come mostrato in *Tabella 2* e *Figura 3* [39].

Tabella 2 – Stadiazione FIGO 2009.

<p>Stadio I – carcinoma confinato al collo dell’utero</p> <p>IA – Carcinoma invasive diagnosticato microscopicamente con profondità di invasione ≤ 5 mm e massima estensione in larghezza ≥ 7 mm IA1 Invasione stromale ≤ 3.0 mm in profondità e estensione ≤ 7.0 mm IA2 Invasione stromale > 3.0 mm ma non > 5.0 mm ed estensione non > 7.0 mm</p> <p>IB – Lesioni clinicamente visibili limitate alla cervice o neoplasie pre-cliniche maggiori dello stadio IA IB1 Lesione clinicamente visibile ≤ 4.0 cm nel suo diametro maggiore IB2 Lesione clinicamente visibile > 4.0 cm nel suo diametro maggiore</p>
<p>Stadio - Carcinoma della cervice che invade l’utero ma che non raggiunge la parete pelvica o il terzo inferiore della vagina</p> <p>IIA – Assenza di coinvolgimento parametricale IIA1 Lesione clinicamente visibile ≤ 4.0 cm nel suo diametro maggiore IIA2 Lesione clinicamente visibile > 4.0 cm nel suo diametro maggiore</p> <p>IIB – Presenza di invasione parametricale</p>
<p>Stadio III – Tumore esteso fino alla parete pelvica e/o al terzo inferiore della vagina e/o che causa idronefrosi o insufficienza renale</p> <p>IIIA – Tumore che coinvolge il terzo inferiore della vagina, senza raggiungere la parete pelvica</p> <p>IIIB – Estensione alla parete pelvica e/o idronefrosi e/o insufficienza renale</p>
<p>Stage IV – Tumore esteso oltre la pelvi o che coinvolge (conferma istologica) la mucosa della vescica o del retto. Edema bolloso da solo non consente inserimento nello Stadio IV</p> <p>IVA – Diffusione agli organi adiacenti</p> <p>IVB – Diffusione a distanza</p>

Figura 3 – Sopravvivenza in funzione dello stadio di malattia (modificata da Quinn MA, *Int J Gynaecol Obstet* 2006).



1.4 – TRATTAMENTO

1.4.1 - Chirurgia

Il trattamento chirurgico del carcinoma invasivo della cervice uterina rappresenta un campo elettivo di modulazione della radicalità chirurgica, che può andare (a seconda dello stadio di malattia e dei fattori di rischio patologici) da trattamenti conservativi di conizzazione e trachelectomia, all'isterectomia radicale classica e modificata, e fino ad interventi demolitivi di eviscerazione pelvica. Le vie di accesso chirurgico sono la via laparotomica, la via laparoscopica \pm assistenza vaginale e, più recentemente, la via endoscopica con approccio robotico.

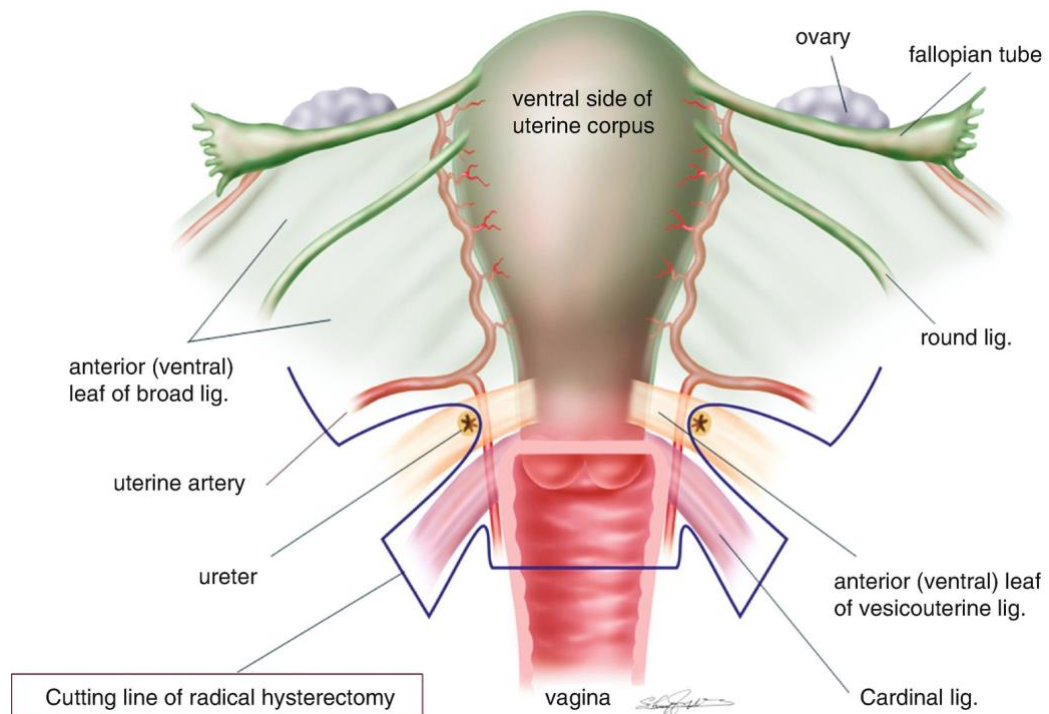
La pietra angolare del trattamento chirurgico primario del cervicarcinoma in stadio precoce rimane l'isterectomia radicale (con gradi variabili di parametrectomia); la linfadenectomia pelvica è indicata in tutte le pazienti con neoplasie allo stadio IA1 ed invasione degli spazi linfo-vascolari e dallo stadio IA2 in poi [40, 41] (Livello di evidenza: 1+). L'annessiectomia rappresenta una procedura abitualmente effettuata nelle pazienti in postmenopausa e negli stadi avanzati, mentre nelle pazienti giovani con carcinoma squamoso in stadio iniziale, in casi selezionati, può non essere praticata (Livello di Evidenza: 3) [42, 43].

La nuova classificazione dell'isterectomia radicale di Querleu-Morrow, rispetto alla precedente di Piver-Rutledge, sostituisce il termine "parametrio" con "paracervice", rielabora una serie di landmark anatomici e classifica le sempre più diffuse tecniche "nerve-sparing" di preservazione delle principali vie nervose viscerali [44]. Questi, nel dettaglio, i tipi di isterectomia radicale [45].

- Tipo A (minima resezione della paracervice medialmente all'uretere): isterectomia extrafasciale e colpectomia < 10 mm
- Tipo B (resezione della paracervice a livello dell'uretere): isolamento degli ureteri con resezione parziale dei legamenti utero-sacrali / vescico-uterini e colpectomia > 10 mm, con (B2) o senza (B1) asportazione dei linfonodi paracervicali laterali
- Tipo C (resezione dei legamenti utero-sacrali a livello del retto e dei vescico-uterini a livello della vescica): completa mobilizzazione degli ureteri e colpectomia di 15-20 mm con asportazione del relativo paracolpo, con (C1) o senza (C2) preservazione dei nervi autonomici (*Figura 4*)

- Tipo D (resezione della paracervice a livello della parete pelvica): eviscerazione pelvica, con (D2) o senza (D1) resezione delle strutture muscolo-fasciali adiacenti

Figura 4 – Isterectomia radicale (modificata da Fujii S, *Precise Neurovascular Anatomy for Radical Hysterectomy* 2019).



L'isterectomia radicale negli stadi localmente avanzati del carcinoma della cervice uterina (IB2-IVA) costituisce uno degli elementi di un approccio multidisciplinare in quanto le opzioni terapeutiche sono rappresentate dal trattamento radio-chemioterapico concomitante esclusivo, attualmente considerato lo standard terapeutico in termini di efficacia versus la sola radioterapia come da una metaanalisi di 13 RCT [46] (Livello di

Evidenza: 1++) oppure dal trattamento chemioterapico neoadiuvante seguito da chirurgia radicale rivelatosi efficace versus la sola chirurgia come da una metanalisi di 6 RCT [47] (Livello di Evidenza: 1+), allo stato attuale opzioni sostanzialmente sovrapponibili in termini di sopravvivenza, in attesa della conclusione del trial randomizzato EORTC 55994.

Nuove prospettive chirurgiche sono rappresentate dalla tecnica del linfonodo sentinella una recente meta-analisi riporta una detection rate del 95% ed una sensibilità del 100% nel carcinoma della cervice uterina stadio IA2+IB diametro inferiore a 2 cm, e dall'introduzione nella chirurgia mini-invasiva della tecnologia 3D [48].

1.4.2 – Radioterapia

Radioterapia esterna

Somministrata con raggi X di alta energia (6-25 MV) prodotti da acceleratori lineari. Il campo di irradiazione deve comprendere utero (quando presente), parametri, III superiore della vagina e stazioni linfonodali pelviche; in caso di positività dei linfonodi iliaci comuni o lombo aortici il campo viene esteso a comprendere i linfonodi lomboaortici. In caso di interessamento del terzo inferiore della vagina (stadio IIIA) c'è indicazione a comprendere nel campo i linfonodi inguinali.

I volumi di interesse devono essere delineati su sezioni TC o RM acquisite nella posizione di trattamento, impiegando idonei mezzi per garantire un'adeguata ripetibilità del trattamento.

Sono disponibili linee guida condivise sulla modalità di definizione dei volumi di interesse per radioterapia esterna [44].

L'utilizzo della PET- TC può contribuire a migliorare la qualità del piano di radioterapia consentendo una più precisa definizione dei volumi, evidenziando in particolare la presenza di metastasi linfonodali [49, 50].

Le immagini devono essere elaborate con sistemi di pianificazione 3D in grado di fornire una valutazione precisa sulla distribuzione di dose ai volumi di interesse (bersaglio e organi critici) mediante la produzione di mappe di dose e istogrammi dose volume.

Per poter erogare dosi elevate al bersaglio, limitando quelle agli organi critici (in particolare intestino tenue, retto e vescica) si può ricorrere a tecniche particolari come la radioterapia conformazionale 3D, la radioterapia a intensità modulata (IMRT) e la radioterapia modulata per archi (VMAT).

Queste metodiche evolute (da usarsi preferibilmente per la radioterapia adiuvante) comportano la necessità di accurate verifiche della corrispondenza tra le immagini acquisite in fase di simulazione, e quelle rilevate prima o durante il trattamento tramite il posizionamento di reperi fiduciali rilevabili su *flat panel* o mediante *cone beam TC* (radioterapia guidata dalle immagini, *IGRT*). Le apparecchiature dedicate esclusivamente alla radioterapia guidata dalle immagini, come *Thomotherapy* e *Cyberknife*, non comportano significativi vantaggi in ambito ginecologico.

Il trattamento viene erogato con frazioni giornaliere e dose singola dell'ordine di 1.8-2 Gy fino a raggiungere dosi complessive dell'ordine di 45-50 Gy; nel trattamento con finalità radicale delle neoplasia della cervice uterina la radioterapia transcutanea va integrata con la brachiterapia cervico vaginale: non è opportuno somministrare dosi più elevate al focolaio centrale, in quanto ciò comporta un aumento del rischio di tossicità e una riduzione dei tassi di controllo locale [51], riducendo il vantaggio derivato dalla favorevole distribuzione di dose propria della brachiterapia; questa di regola viene

somministrata nelle ultime settimane o al termine del trattamento transcutaneo, su un volume tumorale ridotto e con un'anatomia più favorevole.

In presenza di interessamento dei parametri o di metastasi linfonodali pelviche è indicato somministrare una sovradosi di radioterapia a fasci esterni alla pelvi laterale, fino a raggiungere dosi di circa 60 Gy. Se sono presenti metastasi linfonodali iliache comuni o lomboaortiche, è indicato irradiare anche queste ultime con dosi di almeno 45 Gy, e sovradosi sulle metastasi macroscopiche fino a 55-60 Gy, compatibilmente con la tolleranza di organi critici quali i reni, il midollo spinale e l'intestino tenue.

Brachiterapia

La brachiterapia è un elemento cardine nel trattamento esclusivo delle neoplasie cervicali e costituisce un fattore prognostico significativo [52, 53]; prevalentemente viene utilizzata come brachiterapia endocavitaria, con sonda endocervicale e colpostati nei fornici vaginali. La modalità interstiziale può essere usata come integrazione all'endocavitaria in caso di significativa malattia residua pericervicale o in sostituzione di questa per situazioni anatomiche particolari.

Il trattamento, in tecnica remote loading, può essere praticato con metodica a bassa intensità di dose (LDR), a dose pulsata (PDR) o ad alta intensità di dose (HDR); quest'ultima è attualmente la metodica più utilizzata e viene somministrata con dosi di 30 Gy in frazioni da 6 Gy o di 28 Gy in frazioni da 7 Gy (equivalenti come effetto biologico a circa 40 Gy di brachiterapia LDR), dosi singole più elevate aumentano il rischio di tossicità. La dose complessiva (radioterapia esterna più brachiterapia), deve essere molto elevata (80 Gy equivalenti per le neoplasie IB1-IIA1, 90-95 Gy equivalenti per le neoplasie più voluminose) [54].

Non è mai giustificato sostituire la fase di brachiterapia con radioterapia transcutanea: infatti la brachiterapia risulta migliore della IMRT e della radioterapia a intensità modulata con protoni sia in termini di dosi al bersaglio che per la dose agli organi critici [55].

La pianificazione della brachiterapia dovrebbe essere basata su immagini RM, con contornamento dei volumi di interesse, e definizione della dose da erogare al bersaglio e agli organi critici; l'utilizzo di immagini TC è comunque considerato adeguato. Il piano di trattamento, elaborato con software 3D, consente l'analisi degli istogrammi dose-volume e la conseguente ottimizzazione delle dosi [56]. Questa procedura va ripetuta per ogni frazione consentendo quindi un trattamento "adattivo".

Sono disponibili linee guida aggiornate sulle modalità di esecuzione della brachiterapia HDR, LDR e PDR [57-59] e in particolare per la brachiterapia guidata dalle immagini [60-62].

Il tempo complessivo del trattamento deve essere contenuto in 7-8 settimane: diversi studi hanno dimostrato un impatto significativo di questo fattore sulla prognosi, con riduzione del controllo locale e della sopravvivenza nell'ordine di 0.5 – 1% per ogni giorno di trattamento oltre i 50 – 55 giorni [63-65] senza che questo comporti un aumento della tossicità [66].

Un altro fattore con impatto sulla prognosi delle pazienti trattate con radioterapia è rappresentato dalla concentrazione di emoglobina, con differenze significative in termini di sopravvivenza globale (74% con Hb \geq 12 g/dl contro 45% con Hb < 11 g/dl) [67].

Nel trattamento adiuvante si impiega di regola la radioterapia transcutanea, con estensione dei campi in relazione al reperto anatomico-patologico. Le dosi complessive sono dell'ordine di 45 – 54 Gy con frazionamento standard di 1.8–2 Gy.

La brachiterapia viene associata solo in casi selezionati (interessamento vaginale esteso o margini vaginali coinvolti).

Radioterapia esclusiva

Le neoplasie della cervice in fase localizzata (stadio FIGO IB1 – IIA1) possono essere adeguatamente trattate dalla chirurgia radicale (isteroannessiectomia radicale con linfadenectomia sistematica pelvica) come dalla radioterapia esclusiva.

L'unico studio randomizzato pubblicato nel 1997 [68] aggiornato a 20 anni dalla sua chiusura [69, 70] conferma che i risultati in termini di controllo locale, sopravvivenza libera da malattia, sopravvivenza globale e tossicità, non sono significativamente diversi per le due metodiche (Livello di evidenza: 1+).

Di regola le pazienti dovrebbero essere trattate con una sola modalità terapeutica, evitando di associare programmaticamente chirurgia e radioterapia per ridurre il rischio di tossicità.

La scelta del trattamento dipende da ragioni cliniche (età e condizioni generali della paziente, stato pre o postmenopausale, obesità), oncologiche (istologia, rischio di localizzazioni linfonodali), esperienza e filosofia delle singole istituzioni.

Fattori che potrebbero far propendere per la chirurgia sono il basso rischio anestesilogico, l'età premenopausale (con possibilità di preservazione degli annessi), il basso rischio di terapia adiuvante; negli altri casi dovrebbe essere preferibile la radioterapia. Il trattamento radiante per essere adeguato deve comprendere la radioterapia a fasci esterni e la brachiterapia endocavitaria cervico-vaginale [71]. Dosi complessive (RT esterna più brachiterapia) dell'ordine di 80–85 Gy possono essere considerate adeguate. Se il trattamento radiante viene effettuato con metodiche allo stato dell'arte

(pianificazione 3D sia per la RT transcutanea che per la brachiterapia, dosi e tempi adeguati), le probabilità di controllo locale e di sopravvivenza libera da malattia superano il 90%, con tossicità tardiva significativa inferiore al 3-4% [72].

Allo stato attuale non vi sono evidenze riguardanti l'associazione chemio radioterapica in queste pazienti. Per le neoplasie in stadio FIGO \geq IB2, la radioterapia (sempre e necessariamente comprensiva della brachiterapia [73-75] rappresenta il trattamento di scelta; a questa va associata una chemioterapia concomitante, preferibilmente basata sui derivati del platino (lo schema più utilizzato prevede la somministrazione settimanale di 40 mg/mq di cisplatino per tutta la durata della radioterapia). I vantaggi dell'associazione radio chemioterapica rispetto alla sola radioterapia sono stati evidenziati da numerosi studi clinici [75, 76], riconfermati da revisioni dei risultati con follow-up più lunghi [77, 78] e da successive metanalisi [79, 80]. In particolare la più recente revisione sistematica con metanalisi [81] su 18 trials randomizzati valutabili per radiochemioterapia vs la stessa RT (3104 pz), 2 radiochemioterapia + chemioterapia adiuvante vs RT (348 pz) e 3 RT + idrossiurea vs RCT (1155 pz), basata sui dati individuali dei pazienti, riporta i seguenti risultati, come beneficio assoluto in termini di sopravvivenza a 5 anni a favore della terapia combinata: OS 6%, DFS 8 %, DFS locoregionale 9%, sopravvivenza libera da metastasi 7%. La tossicità è scarsamente valutabile (Livello di evidenza: 1++).

La radioterapia deve comunque essere somministrata in modo ottimale con dosi elevate (dell'ordine di 85 – 95 Gy), tempo complessivo contenuto, livelli ottimali di emoglobina [81].

Negli stadi IIIB con presenza di idroureteronefrosi per coinvolgimento dell'uretere il transito urinario deve essere assicurato, mediante il posizionamento di stent endoureterali

o il confezionamento di nefrostomia; questo anche per consentire la chemioterapia concomitante con farmaci nefrotossici come il cisplatino.

L'utilizzo della radiochemioterapia concomitante ha consentito di migliorare significativamente la prognosi di queste pazienti, con controllo locale della malattia in circa il 70-80% dei casi e sopravvivenza globale attorno al 50/70% a 5 anni.

Date le dosi più elevate ed i campi più estesi necessari per il trattamento delle neoplasie localmente avanzate, il rischio di tossicità è maggiore: in particolare quella ematologica precoce può raggiungere livelli superiori al 50%, ma utilizzando risorse tecnologiche adeguate in centri con casistica sufficiente gli effetti collaterali cronici che influenzano la qualità di vita della paziente non superano il 4-6% [82].

Ci sono riscontri che la radioterapia somministrata in centri di riferimento rispetti maggiormente i parametri di buona qualità, con impatto significativo sui risultati [83].

Radioterapia adiuvante

L'impiego della radioterapia adiuvante alla chirurgia è strettamente correlato alla presenza di fattori di rischio evidenziati dall'esame istologico del pezzo operatorio.

Le indicazioni per una brachiterapia esclusiva sono limitate ai casi di dubbia o mancata radicalità a livello del margine di sezione vaginale, in assenza di altri fattori di rischio; la dose è di circa 50 Gy.

Il trattamento prevede una radioterapia esterna sulla pelvi, estesa alle stazioni lomboaortiche in caso di adenopatie in questa sede o a livello iliaco comune.

Si riconoscono fattori di rischio minori (volume neoplastico, interessamento degli spazi linfovaskolari, infiltrazione in profondità dello stroma cervicale), in presenza dei quali la

sola radioterapia transcutanea pelvica con dosi di circa 50 Gy è in grado di garantire tassi di controllo locale e di sopravvivenza di circa l'80-90% [84-85].

In presenza invece di fattori di rischio maggiori (margini interessati o minimi, stadio patologico \geq T2b o linfonodi positivi), alla stessa radioterapia va associata una chemioterapia concomitante [86], anche se l'impatto sulla sopravvivenza sembra di minor entità se la neoplasia è di piccole dimensioni o in presenza di un solo linfonodo positivo [87] (Livello di evidenza: 1+).

Se ai fattori di rischio elencati si associa un quadro di mancata o dubbia radicalità a livello del margine vaginale, può essere associata una fase di brachiterapia (con dosi dell'ordine di 10 Gy). Le percentuali di sopravvivenza sono dell'ordine del 70-80% [88-89].

1.4.3 - Chemioterapia

Nella cura del tumore della cervice uterina localmente avanzato il trattamento chemioterapico svolge un ruolo importante e complementare alla chirurgia ed alla radioterapia, mentre nella malattia metastatica la chemioterapia a base di platino continua ad avere un intento solo palliativo.

Trattamento radio – chemioterapico concomitante

La chemioterapia potenzia l'effetto della radioterapia e la combinazione dei due trattamenti permette di ottenere dei benefici sia in termini di OS (sopravvivenza globale) che di PFS (sopravvivenza libera da progressione). La dose di Cisplatino raccomandata è di 30-40 mg/mq/settimana da avviare con l'inizio della radioterapia e proseguire per tutto il periodo del trattamento radiante (circa sei settimane).

Da una recente metanalisi è emerso che il beneficio fornito dalla chemioterapia non è limitato all'utilizzo di regimi a base di platino ma è presente anche quando vengono utilizzati altri chemioterapici e il vantaggio aumenta quando si fa seguire un trattamento sistemico adiuvante [90].

Lo studio pubblicato da Gonzales [91] nel 2011 ha confrontato, in due bracci di trattamento, cisplatino vs cisplatino associato a gemcitabina seguiti da ulteriori due cicli di gemcitabina e cisplatino in 515 pazienti con malattia avanzata (IIB-IVA), confermando che la combinazione seguita da 2 cicli della stessa chemioterapia sistemica è più efficace della monochemioterapia. Il PFS a 3 anni è stato del 74% nel braccio della combinazione mentre è stato del 65% nel braccio cisplatino ($p=0.029$). Anche la sopravvivenza globale ed il tempo alla progressione sono risultati migliori nel braccio della combinazione. Tuttavia, come atteso, le pazienti sottoposte alla doppietta di farmaci hanno sviluppato un profilo di tossicità peggiore, con due eventi 'morte' che hanno reso questo regime difficile da accettare (Livello di evidenza: 1+).

Un'altra scheda proposta da Ryu SY [92] ha confrontato la somministrazione di Cisplatino 40 mg/mq settimanale versus la somministrazione di Cisplatino 75 mg/mq ogni 3 settimane. In questo studio non ci sono state differenze significative in termini di compliance. Il Cisplatino settimanale è lo schema terapeutico più utilizzato in tutto il mondo in combinazione con la radioterapia. Nugent [93] ha riportato un'analisi retrospettiva dei fattori prognostici in 118 pazienti trattati con radio-chemioterapia concomitante (cisplatino con scheda settimanale 40 mg/mq) per malattia localmente avanzata (stadio IB2-IVA). Solo il 72% delle pazienti considerate ha concluso i 6 cicli di chemioterapia. Dall'analisi multivariata è emerso che un numero di cicli inferiori a 6 è predittivo di un peggior PFS e OS. Altri fattori peggiorativi sono risultati essere lo stadio

avanzato, un lungo tempo per concludere il trattamento radioterapico programmato, e la mancata esecuzione della brachiterapia. Altri studi invece hanno valutato la possibilità di aggiungere al cisplatino altri chemioterapici come ad esempio il paclitaxel.

In uno studio clinico di fase I dose finding di paclitaxel con dosi fisse di cisplatino (30 mg/mq), la MTD del paclitaxel è stata raggiunta alla dose di 50 mg/mq associata al 30 mg/mq di cisplatino, con diarrea come dose limitante. La risposta ottenuta è stata del 92.3% [94].

Chemioterapia neoadiuvante alla chirurgia

La chemioterapia neoadiuvante (NACT) nel trattamento della malattia localmente avanzata deve essere considerata come un metodo di “debulking chimico” prima del trattamento locale definitivo.

L'intento della chemioterapia neoadiuvante è quello, infatti, di ridurre il volume della neoplasia, di eliminare foci di micrometastasi e di rendere, quindi, possibile una chirurgia inizialmente considerata non indicata.

Nel 2013 Kim, dall'analisi di 5 studi randomizzati e 4 studi osservazionali che hanno valutato il ruolo della chemioterapia neoadiuvante seguita da chirurgia verso chirurgia primaria in pazienti con carcinoma della cervice uterina IB1-IIA, conclude che la chemioterapia neoadiuvante riduce la necessità di un trattamento adiuvante al termine della chirurgia riducendo le dimensioni della neoplasia e le metastasi linfonodali, ma non determina un miglioramento della sopravvivenza globale rispetto alle pazienti sottoposte a chirurgia primaria [95].

Nel 2012 la revisione Cochrane di 6 studi ha valutato il ruolo della chemioterapia neoadiuvante seguita da chirurgia verso chirurgia nelle pazienti con carcinoma della

cervice uterina sia negli stadi precoci sia in quelli avanzati [96]. Dai risultati della review è emerso che la chemioterapia neoadiuvante determina un vantaggio sia in termini di OS OS (HR 0,77, intervallo di confidenza 95% (CI) 0.62-0.96, p=0.02) e di sopravvivenza libera da progressione (HR 0,75, 95% CI 0.61-0.93, p=0.008) rispetto alla chirurgia primaria (Livello di evidenza: 1++).

Per quanto riguarda il tipo di regime da utilizzare, dallo studio SNAP1 [97] è emerso che l'aggiunta del paclitaxel alla combinazione cisplatino-ifosfamide (IP) nel trattamento neoadiuvante dei LACC, si traduce in una maggior efficacia rispetto alla doppietta IP, che è risultata però avere un miglior profilo di tossicità. Lo studio SNAP2 [98] ha sottolineato l'importanza dell'ifosfamide nel trattamento dei LACC: la tripletta paclitaxel, ifosfamide, cisplatino (TIP) permette di ottenere un tasso di risposte superiore rispetto alla doppietta paclitaxel, cisplatino (TP), a fronte però di una maggior tossicità ematologica (Livello di evidenza: 1+). Trattandosi di una fase II randomizzata, non è possibile esprimere considerazioni conclusive sul vantaggio in termini di sopravvivenza. Sebbene il cisplatino e l'ifosfamide siano da tempo considerati i chemioterapici più attivi, diversi studi hanno cercato nuove combinazioni efficaci ed associate ad un migliore profilo di tossicità.

Tra le associazioni proposte, la vinorelbina associata al cisplatino sembra essere promettente. La combinazione topotecan 0.75 mg/mq gg1-3 seguita da cisplatino 75 mg/mq gg1 ogni 21 giorni per 3 cicli seguita da chirurgia (radicale con linfadenectomia) ha permesso di ottenere un tasso di risposte complessive del 89.5% (CR=15.8% - PR=73.3%), e la tossicità ematologica è stato l'evento avverso più frequente [99].

Il timing e la dose intensità della chemioterapia a base di platino sembrano giocare un ruolo importante. La strategia “dose dense” (breve durata-alta intensità) è attualmente oggetto di studi prospettici.

2 – CORRELAZIONE TRA CARCINOMA DELLA CERVICE E PROCESSI DI INFIAMMAZIONE SISTEMICA

Recenti evidenze hanno dimostrato che l'infiammazione gioca un ruolo centrale nei processi di induzione e progressione in vari tipi di neoplasie, compreso il carcinoma della cervice [100].

I processi di infiammazione correlati alla neoplasia (*cancer-related inflammation*) possono infatti influenzare la proliferazione delle cellule tumorali, promuovendo fenomeni di invasione, metastasi, neoangiogenesi e attivando, nelle stesse, processi di resistenza ai meccanismi di apoptosi [101].

I tumori solidi sono costituiti da cellule neoplastiche, cellule stromali non maligne e cellule ematopoietiche migratorie. Interazioni complesse tra questi vari tipi di cellule nel microambiente tumorale regolano la crescita, la progressione, le metastasi e l'angiogenesi della neoplasia. Le interazioni tra cellule tumorali e mediatori dell'infiammazione sono alla base della creazione di un microambiente tumorale favorevole alla progressione della malattia. In alcuni tumori, l'attivazione di un processo di infiammazione sistemica precede addirittura lo sviluppo della neoplasia. In altri, il cambiamento oncogenico guida lo sviluppo di un microambiente infiammatorio che induce e sostiene la crescita e lo sviluppo del tumore stesso. Qualunque sia la sua origine, questo processo infiammatorio sistemico promuove la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule maligne, stimola l'angiogenesi e la metastatizzazione, sovvertendo l'immunità adattativa e alterando la risposta al trattamento medico.

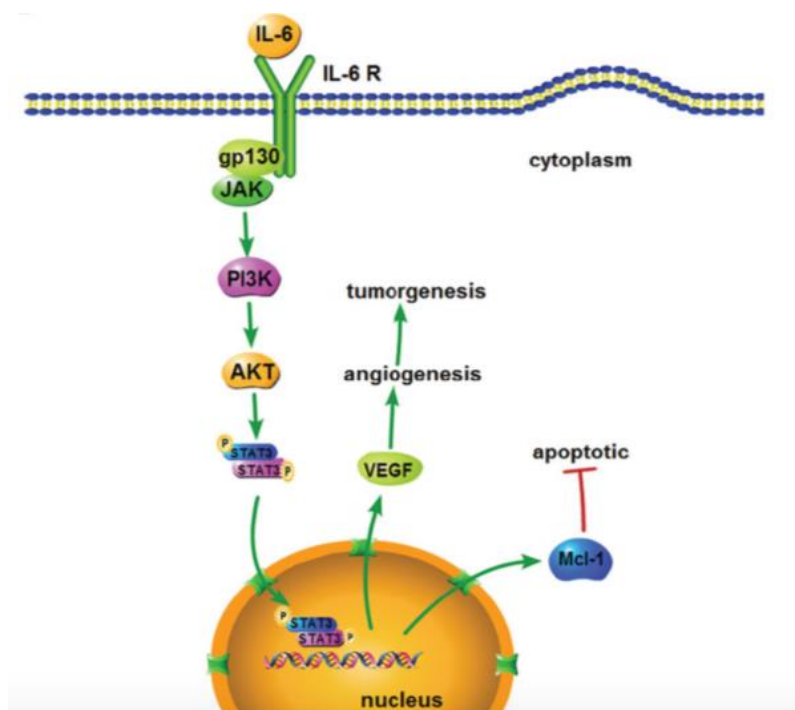
Le citochine sono i principali mediatori infiammatori coinvolti nella comunicazione con le cellule del microambiente tumorale. È noto che le cellule neoplastiche spesso a loro volta aumentano l'espressione di molecole pro-infiammatorie tra cui proteasi, eicosanoidi, citochine e chemochine, creando un circuito di "auto-alimentazione". Diverse citochine come il fattore inibitorio migratorio dei macrofagi (MIF), TNF- α , IL-6, IL-17, IL-12, IL-23, IL-10 e TGF- β sono state dimostrate in grado di controllare e promuovere lo sviluppo di vari tipi di tumori [100-102].

In particolare, di recente è stato evidenziato un potenziale ruolo promotore dell'interleuchina 6 (IL-6) nello sviluppo del carcinoma cervicale. IL-6, è una interleuchina pleiotropica di 23-30 kDa, attore cardine nel processo infiammatorio. È secreta da varie cellule quali linfociti T, macrofagi, fibroblasti per modulare la risposta immunitaria. Infatti, essa agisce sia come citochina pro-infiammatoria che come citochina antinfiammatoria, regolando la risposta immunitaria. A livello tumorale, IL-6 è nota per essere capace di regolare la crescita delle cellule tumorali e i processi anti-apoptosi. Alcuni studi hanno dimostrato che IL-6 facilita la crescita del tumore della cervice attraverso la promozione del processo di angiogenesi dipendente dal fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) [103] o modulando la soglia di apoptosi delle cellule neoplastiche [104] (*Figura 5*).

Pertanto, l'attivazione di processi di neoangiogenesi sarebbe alla base della attività cancerogena indotta da una iperespressione di IL-6 nei pazienti con carcinoma della cervice [105]. Tale processo di promozione della proliferazione e metastasi tumorale sarebbe attuato da IL-6 attivando la via di segnalazione JAK-STAT3 e la via di segnalazione Ras-MAPK [106]. È stato ipotizzato che l'attivazione di STAT3 mantenga l'attività NF- κ B e migliori l'espressione di geni correlati all'angiogenesi come il VEGF

[107]. Tuttavia, il meccanismo di azione di IL-6 nella cancerogenesi non è stato ancora completamente chiarito ma è stato ipotizzato che possa correlarsi all'interazione che sviluppa coi processi di attivazione piastrinica.

Figura 5 – IL-6: promozione della crescita tumorale e riduzione dell'apoptosi mediato da VEGF e Mcl-1, tramite il pathway di STAT3 (modificata da Wei LH, *Oncogene* 2003).



IL-6, infatti, gioca un ruolo chiave nell'indurre l'attivazione delle piastrine oltre che aumentare la loro produzione, promuovendo la maturazione dei megacariociti e la loro proliferazione. L'*up-regulation* di IL-6 ha dimostrato di provocare un aumento significativo della conta piastrinica. L'IL-6 altera anche la funzione piastrinica e migliora

l'attivazione piastrinica indotta dalla trombina. Pertanto, stimolando i meccanismi di emostasi sia primaria che secondaria, IL-6 sembra essere un importante mediatore in grado di celare le cellule tumorali al sistema immunitario dell'individuo.

Tra gli altri processi pro-infiammatori correlati alla promozione dello sviluppo della crescita tumorale, alterazioni della conta piastrinica e il rapporto piastrinico-linfocitario (PLR), hanno recentemente attirato l'attenzione come indicatori prognostici nei pazienti oncologici [108–123].

La prima correlazione tra neoplasia e trombocitosi, in particolare con la tromboflebite, fu identificata già nel 1865 dal Professor Armand Trousseau [124]. Trousseau fu il primo a individuare una correlazione tra cancro e trombosi (*phlegmasia alba dolens*).

Molto in anticipo sui tempi, Trousseau osservò che una "condizione particolare" nel sangue, ipotizzata essere "eccesso di fibrina e aumento dei globuli bianchi", era la causa principale della trombosi e che il cambiamento (stato di ipercoagulabilità) era evidente anche in molti altri disturbi [124]. Il termine sindrome di Trousseau è stato successivamente coniato per riferirsi alla tromboflebite migratoria come un segno di malignità *Figura 6*. La correlazione tra trombocitosi, in particolare, e neoplasia fu successivamente confermata nel 1872 [125].

Il primo studio di coorte sull'argomento fu pubblicato nel 1951, documentando una incidenza del 9% di neoplasia occulta in pazienti che si presentavano con patologia tromboembolica [126].

Da allora, un numero crescente di studi ha riportato trombocitosi in pazienti con tumore di varie origini e ha dimostrato che è stato correlato a una prognosi sfavorevole [125-130]. Per quanto ne sappiamo, 13 studi hanno studiato le implicazioni prognostiche della trombocitosi e dell'indice PLR (*Platelet to Lymphocyte Ratio*) nei pazienti con carcinoma

cervicale, con circa la metà che suggerisce che la trombocitosi sia un fattore prognostico indipendente nei pazienti affetti da carcinoma della cervice (*Tabella 3*).

Un recente studio sul carcinoma ovarico ha osservato che la trombocitosi paraneoplastica era correlata all'aumentata produzione di trombopoietina epatica indotta da IL-6 di origine tumorale, confermando la presenza di una effettiva associazione precedentemente ipotizzata tra IL-6 e piastrine.

Livelli plasmatici elevati di IL-6 e trombopoietina venivano osservati nei pazienti con trombocitosi paraneoplastica e associati a un peggior *outcome* (stadio avanzato o ridotta sopravvivenza alla malattia). Inoltre, l'inibizione della sintesi di trombopoietina mediata da IL-6 inibiva la trombocitosi in topi affetti da tumore migliorando significativamente l'efficacia terapeutica del paclitaxel testata su modelli murini affetti da carcinoma ovarico [131]. Questi risultati supportano l'esistenza di un circuito paracrino in cui un aumento della produzione di citochine trombopoietiche nel tumore e nel tessuto ospite porterebbe allo sviluppo di una trombocitosi paraneoplastica, che a sua volta promuoverebbe la proliferazione delle cellule tumorali.

Il ruolo delle piastrine nell'induzione della crescita tumorale avverrebbe attraverso diversi meccanismi come mostrato in *Figura 7* [132], in particolare sostenendo segnali proliferativi, attivando meccanismi di resistenza all'apoptosi, supportando le cellule staminali tumorali, favorendo l'invasione e la metastatizzazione grazie a fenomeni di occultamento al sistema immunitario, attivando processi di neoangiogenesi.

Tabella 3 – Piastrine e biomarcatori di infiammazione nel carcinoma della cervice.

Review della letteratura.

Bibliografia	No.	Stadio	TRT	Piastrine (P) or PLR	Cut-off	Risultati	MVA
Hernandez 1992 [102]	113	I-IV	RT	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	IPI di 5-ys OS	Si
Rodriguez 1994 [108]	219	Ib	Chirurgia	Piastrine	300 x 10 ³ /μl	IPI di 5-ys OS	Si
Hernandez 1994 [110]	623	Ib	Chirurgia	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	IPI di 5-ys OS	Si
Lopes 1994 [111]	643	I-IV	Chirurgia o RT	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	PI di 5-ys OS	No
De Jonge 1999 [112]	93	Ib	Chirurgia	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	IPI di OS	Si
Hernandez 2000 [113]	291	Ib-IVa	RT	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	IPI di OS	Si
Gadducci 2010 [114]	46	Ib2-IIb	Chirurgia	Piastrine	272 x 10 ³ /μl	IPI di OS ma non di PFS	Si
Gadducci 2010 [115]	140	I-IV	Chirurgia	Piastrine	270 x 10 ³ /μl	No IPI di OS e PFS	No
Qiu 2010 [116]	318	I-IV	NA	Piastrine	400 x 10 ³ /μl	No PI di OS	No
Wang 2012 [117]	111	Ib2-IIb	Chirurgia	Piastrine	266 x 10 ³ /μl	No PI di OS e PFS	No
Zhang 2014 [118]	460	I-II	Chirurgia	PLR	150	No PI di OS e PFS	No
Kawano 2015 [119]	286	Ib-IVa	RT	Piastrine	350 x 10 ³ /μl	IPI di OS	Si
Xiao 2015 [120]	238	I-IV	CCRT	Piastrine	200 x 10 ³ /μl	No PI di OS e PFS	No
Zhao 2015 [121]	220	I-IIa	Chirurgia	Piastrine	300 x 10 ³ /μl	No PI di OS	Si
Nakamura 2015 [122]	32	NA	CCRT	Piastrine	322	IPI di 200-days S	Si
Zheng 2016 [123]	795	Ia-IIa	Chirurgia	Piastrine	128.3	IPI of OS	Si

Chen 2016	407	Ib-IIa	Chirurgia	Piastrine	138.3 PFS; 143.4 OS	IPI of OS e PFS	Si
Kozasa 2017	684	Ia-IVa	Chirurgia	Piastrine, PLR	350 x 10 ³ /μl 125.2 PFS; 131.4 OS	IPI of OS e PFS	Si

LEGENDA – RT: radioterapia; TRT: trattamento; MVA: analisi multivariata; PFS: progression free survival; OS: overall survival;
IPI: independent prognostic indicator; CCRT: chemioradioterapia concomitante.

Figura 6 – Sindrome di Trousseau: ipercoagulabilità e cancro (modificata da Khorana AA, *J Thromb Haemost* 2003).

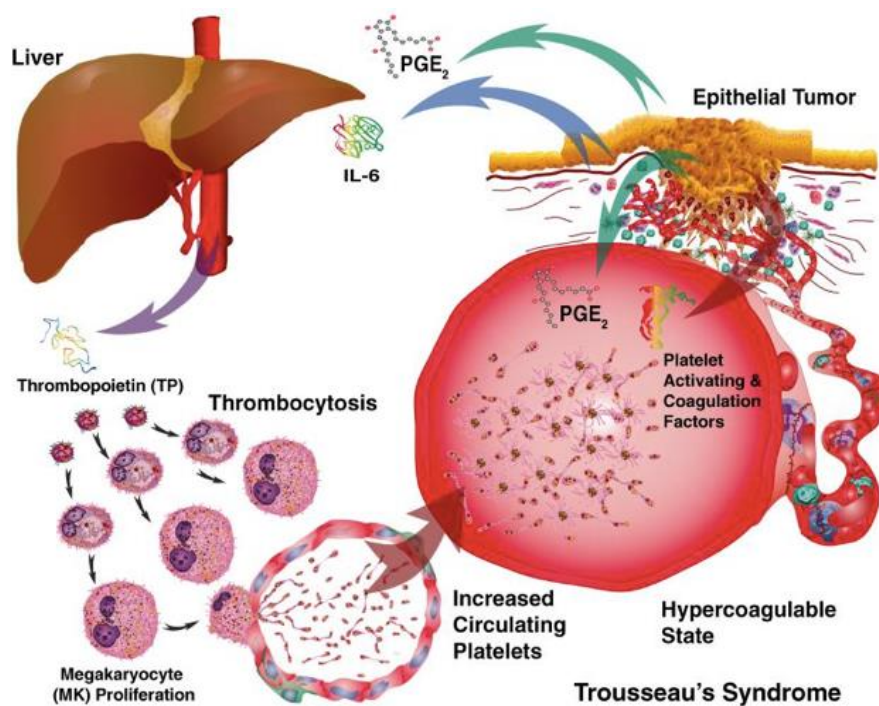
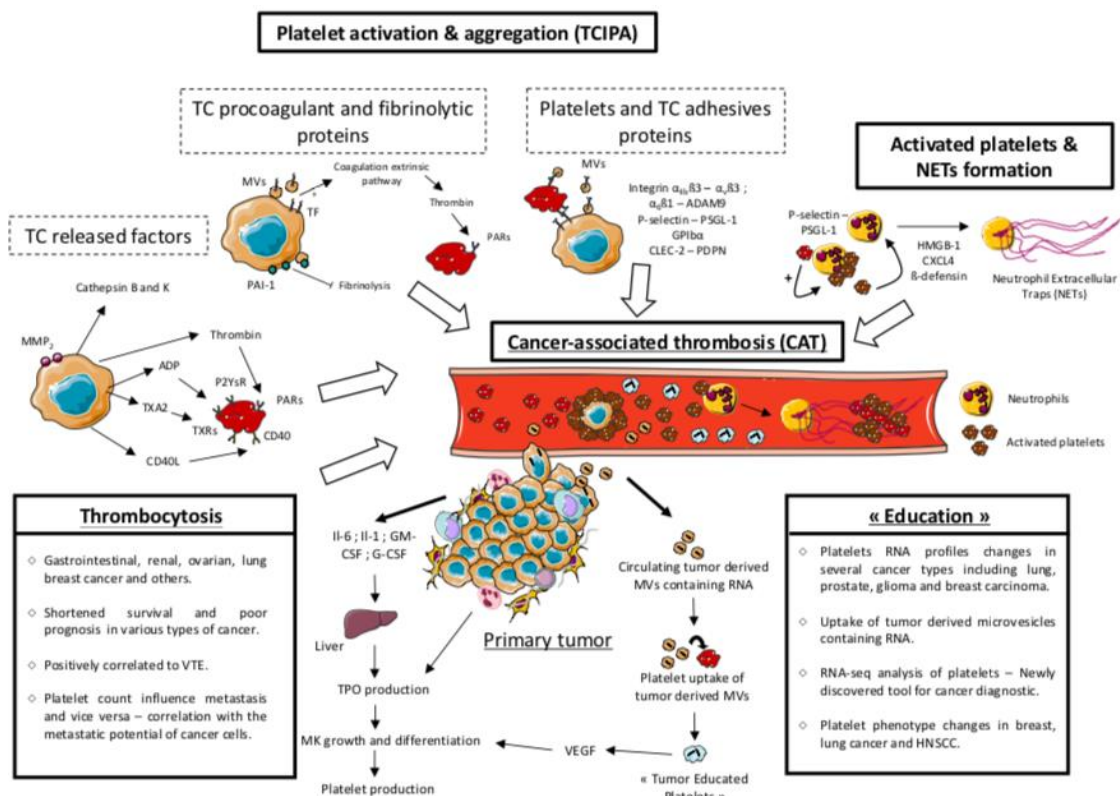


Figura 7 – Piastrine e meccanismi di promozione dello sviluppo tumorale (modificata da Plantureux L, *Cancers* 2018).



Le interazioni tra cellule tumorali, piastrine e altri fattori circolanti sono molto complesse (Figura 8) [133]. La prostaciclina (PGI₂) prodotta dalle cellule endoteliali inibisce l'attivazione piastrinica. Le cellule tumorali producono molecole in grado di determinare l'attivazione delle piastrine attraverso una cascata molecolare. La stimolazione progressiva del complesso costituito da trombossano A₂, acido arachidonico, adenosina difosfato e 5-idrossi triptofano (TxA₂-12 (S)-HETE-ADP-5HT) insieme al rilascio di calcio sono gli eventi che attivano questa reazione. La formazione di complessi costituiti da fattore di Von Willebrand e glicoproteina Ib (vWF-GpIb) promuove la

movimentazione e il *rolling* cellulare, la formazione di grandi molecole di vWF, richiama le piastrine e ne induce il legame. Lungo la stessa cascata, GPIb-GPVI stabilizza l'adesione e attiva il complesso costituito dalle integrine α Ib β 3 e α 2 β 1 attraverso cui vengono promossi processi di diffusione, aggregazione e invasione cellulare. Al contempo, la generazione di trombina promuove la formazione del mantello piastrinico e la creazione di emboli che consentono alle cellule tumorali di eludere l'immunità cellulo-mediata. I prodotti delle cellule tumorali includono varie molecole che agiscono a loro volta come promotori dell'attivazione piastrinica. La retrazione delle cellule endoteliali associata all'invasione operata delle cellule tumorali espone i componenti della membrana basale quali laminina, collagene di tipo IV, fibronectina e vitronectina che partecipano all'induzione della interazione cellula tumorale-piastrine.

Cicli successivi di attivazione piastrinica, adesione, diffusione, migrazione, aggregazione e stabilizzazione inducono la formazione di un trombo che viene bloccato in una rete e che a sua volta intrappola altre cellule del sangue. Poiché le piastrine svolgono la loro normale funzione emostatica, tendono ad avviare eventi trombotici che possono facilitare la progressione del tumore.

Pertanto, alla luce di queste recenti osservazioni, la trombocitosi andrebbe ora considerata non solo un indicatore prognostico, ma anche un potenziale bersaglio terapeutico da utilizzare nel trattamento delle neoplasie.

Come mostrato nella *Tabella 3*, quattro studi hanno evidenziato le implicazioni prognostiche dell'aumento del PLR nei pazienti con carcinoma cervicale, di questi tre suggeriscono che un aumento del PLR risulta essere un fattore predittivo indipendente di sopravvivenza.

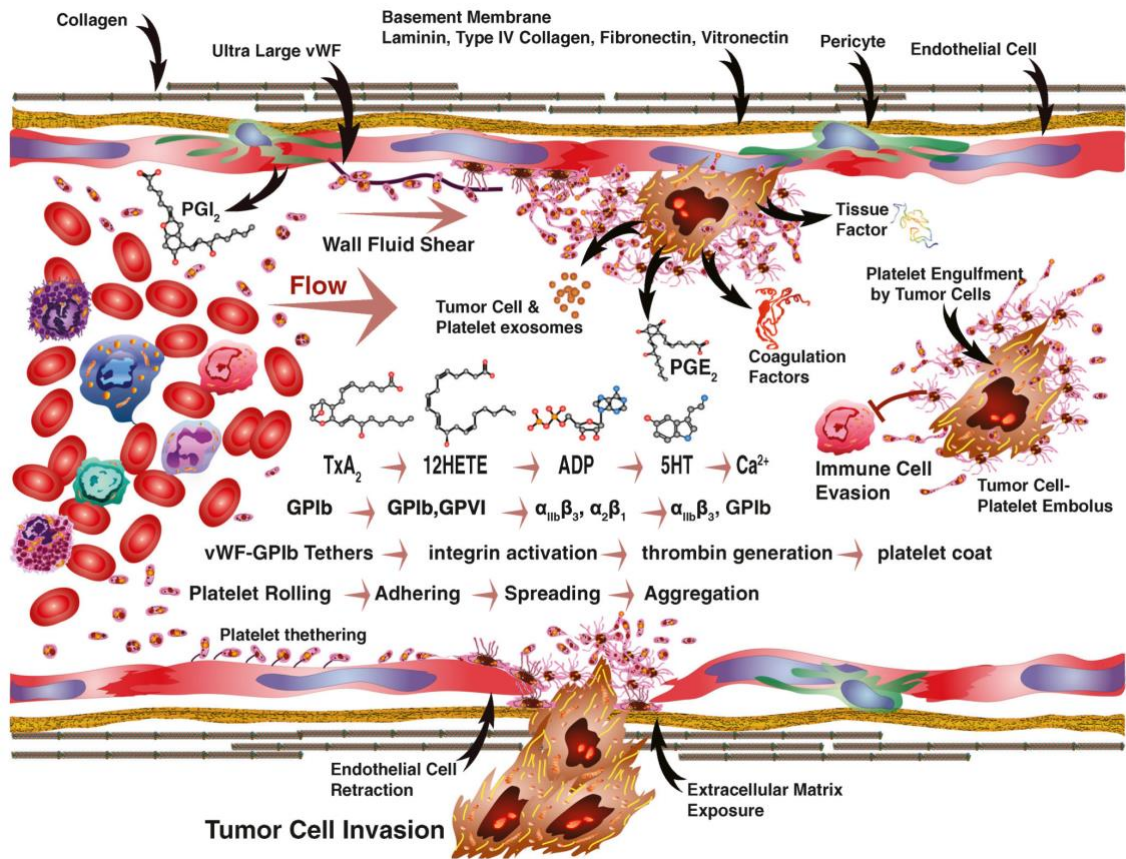
Tuttavia, poiché la maggior parte degli studi sopra descritti includeva solo pazienti con carcinoma cervicale in stadio iniziale sottoposti a chirurgia radicale, il significato prognostico del PLR nel carcinoma cervicale rimane da chiarire.

Inoltre, le utilità cliniche della conta piastrinica e del PLR non sono ancora state dimostrate e attualmente non ci sono correlazioni tra conta piastrinica e PLR effettivamente applicabili alla pratica clinica nei pazienti affetti da carcinoma della cervice [134].

Anche il NLR (*Neutrophil to Lymphocyte Ratio*) quale marcatore di infiammazione sistemica, è stato correlato alla prognosi in diversi tipi di neoplasie solide e in particolare si è dimostrato maggiormente elevato nelle pazienti con carcinoma cervicale invasivo rispetto ai controlli [135]. È stato dimostrato che un'aumentata concentrazione di neutrofili è in grado di sostenere la progressione neoplastica e può reprimere le proprietà antineoplastiche dei linfociti. Di conseguenza, l'indice NLR può essere riconosciuto come marker dell'equilibrio tra stato infiammatorio precanceroso e stato immunitario canceroso e un NLR più elevato potrebbe essere indicativo di aumentata proliferazione tumorale [135].

Analogamente, ridotti livelli di albumina sierica, proteina negativa di fase acuta coinvolta nei processi infiammatori, hanno dimostrato essere associati a prognosi peggiore in pazienti affetti da neoplasia [136], associandosi molto spesso anche ad alterazioni nutrizionali severe. Generalmente, il livello sierico di albumina diminuisce nella fase acuta dell'infiammazione, in quanto, essendo di piccole dimensioni, la maggiore permeabilità indotta dalla flogosi ne induce il passaggio attraverso gli spazi extra-vascolari.

Figura 8 – Attivazione piastrinica attivazione dei processi di metastatizzazione
 (modificata da Jain S, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010).



3 – OBIETTIVI DELLO STUDIO

L'obiettivo primario di questo progetto di ricerca è stato di valutare il significato prognostico di marcatori di infiammazione sistemica (elevata conta piastrinica, PLR, NLR) in combinazione con un'elevata espressione tissutale di IL-6 correlandolo con i parametri clinico-patologici delle pazienti affette da carcinoma della cervice.

L'obiettivo a lungo termine del progetto consiste nell'identificazione di nuovi fattori prognostici per il carcinoma della cervice, nel tentativo di migliorare la comprensione della biologia del processo di carcinogenesi e delle modificazioni del microambiente tumorale mediate dalla reazione infiammatoria sistemica stimolata dal tumore stesso, in modo da poter ottenere una stratificazione e un'identificazione precoce delle pazienti ad alto rischio di recidiva dopo trattamento standard.

4 – MATERIALI E METODI

Il progetto è stato eseguito in maniera prospettica su pazienti affette da carcinoma della cervice afferenti al Dipartimento di Scienze Ginecologico-Ostetriche e Scienze Urologiche dell'Università "Sapienza" di Roma tra il 2016 e il 2019, in collaborazione con il Dipartimento di Ginecologia della Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana e l'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa. I criteri di inclusione delle pazienti nello studio sono stati età superiore ai 18 anni, ECOG performance status ≤ 2 , aspettativa di vita superiore a 3 mesi, neoplasia cervicale primaria documentata istologicamente o citologicamente. Al fine di eliminare gli effetti dei fattori di confondimento che avrebbero potuto influenzare le misurazioni di laboratorio, i pazienti con patologie ematologiche, malattie cardiovascolari, neoplasia progressa o in atto diversa da quella in studio, malattia epatica o renale avanzata, diabete mellito, asma allergica e quelli con infezioni attive non sono stati inclusi nello studio. Sono state inoltre escluse pazienti in cui non è stato possibile raccogliere tutti i dati necessari per il completamento dello studio o che non hanno prestato consenso informato alla raccolta e all'analisi dei dati.

I dati relativi alle caratteristiche cliniche e ai test di laboratorio di pretrattamento comprendenti conta dei globuli bianchi (WBC), emoglobina, larghezza di distribuzione dei globuli rossi, conta piastrinica (PLT) e volume globulare medio (MCV) di tutte le pazienti sono stati raccolti e archiviati in un database.

Il PLR è stato calcolato dividendo la conta piastrinica assoluta per la conta assoluta dei linfociti, mentre il NLR è stato calcolato dividendo la conta assoluta dei neutrofilo per la conta assoluta dei linfociti.

Tutte le pazienti sono state sottoposte a trattamento chirurgico associato o meno a chemioterapia neoadiuvante (NACT). Le pazienti sono state stadiate secondo la

classificazione FIGO del 2009 [39]. Le informazioni sono state raccolte dalle cartelle cliniche delle pazienti ed includevano: anno della diagnosi, età alla diagnosi, *body mass index* (BMI), classificazione istologica, grado, stadio, grandezza del tumore alla diagnosi/dopo la terapia neoadiuvante/alla chirurgia, eventuale trattamento neoadiuvante, tipo di chirurgia (Tipo B o C secondo Querleu-Morrow), numero di linfonodi asportati, numero dei linfonodi positivi, stato dei parametri (interessamento generico e/o dei margini di resezione), presenza o meno di recidiva, tempo dall'ultimo contatto, stato vitale all'ultimo follow-up e causa di morte. Sulla base di questi dati sono stati calcolati *Progression Free Survival* (PFS) e *Overall Survival* (OS).

La classificazione istologica è stata eseguita secondo le linee guida della *World Health Organization* per il carcinoma della cervice [137]. I campioni chirurgici sono stati analizzati con il seguente metodo: il volume tumore è stato definito incorporando le tre dimensioni, il grado architetturale per ogni caso è stato definito sulla base della percentuale delle componenti presenti: fino al 5% di componenti grado 1 (G1); dal 6 al 50% grado 2 (G2); più del 50% grado 3 (G3). I preparati allestiti dei campioni chirurgici delle pazienti N+ sono stati rivisti e rivalutati dai colleghi anatomo-patologi secondo metodi standardizzati [137, 138] e l'immunoistochimica mediante pancitocheratina (diluizione di 1:50) è stata effettuata per dimostrare l'eventuale invasione degli spazi linfovaskolari. *Lympho-Vascular Space Involvement* (LVSI) è stato conseguentemente definito come la presenza di cellule tumorali all'interno o adese alla parete dei vasi sanguigni o linfatici utilizzando i metodi di analisi sovradescritti.

È stato deciso di valutare l'espressione tissutale a livello tumorale e del tessuto limitrofo dell'interleuchina 6 ipotizzando una migliore specificità rispetto al dosaggio sierico di IL-6 che risulta essere aumentato in varie condizioni cliniche quali ad esempio patologie

autoimmuni (artrite reumatoide, artrite giovanile idiopatica, sindrome di Castleman), obesità, patologie cardiovascolari, sindrome dell'intestino irritabile, patologia infiammatoria cronica intestinale, carcinoma del colon-retto [139].

È stato usato un metodo immunistochimico standard per valutare l'espressione di IL-6 nel tessuto tumorale e nei tessuti adiacenti. In breve, il tessuto tumorale è stato fissato in formalina al 10%, quindi tagliato in sezioni da 4 µm. Tutte le sezioni di tessuto da 4 µm sono state de-paraffinate e reidratate, rispettivamente. Le sezioni sono state lavate con soluzione tampone per 5 minuti e quindi è stato aggiunto l'anticorpo primario a 4 °C e lasciato in posa durante la notte. Successivamente, le sezioni sono state nuovamente lavate e aggiunto il secondo anticorpo. Le sezioni sono state quindi lavate con soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) e la reazione cromogena è stata verificata con 3,3'-diamminobenzidina (DAB) per 5 minuti. Infine, tutte le sezioni sono state contro-colorate con ematossilina e valutate al microscopio ottico da due diversi operatori; qualsiasi discrepanza nell'immunistochimica è stata risolta per consenso. La colorazione nucleare è stata registrata calcolando la media del numero di nuclei positivi in quattro campi microscopici a un valore fisso ingrandimento. La colorazione è stata valutata in base all'intensità (0, +1, +2, +3).

Tutte le pazienti incluse nello studio sono state sottoposte a follow-up fino a ottobre 2019 o fino alla data del decesso. Periodicamente le pazienti sono state sottoposte a esame clinico e colposcopico, analisi citologica del fondo vaginale e valutazione strumentale ogni 3-4 mesi nei primi due anni, ogni 6 mesi nei 3 anni successivi e a seguire annualmente. Le morti sono state classificate come secondarie alla neoplasia, le pazienti con decesso per cause secondarie sono state escluse dallo studio.

Analisi statistica

La sopravvivenza è stata valutata come l'intervallo di tempo tra la chirurgia e il decesso o l'ultimo controllo per le pazienti in vita (OS). L'intervallo libero da malattia è stato valutato come l'intervallo di tempo tra la chirurgia e la ripresa di malattia o coincidente con la sopravvivenza per le pazienti senza evidenza di malattia (PFS). L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software dedicato *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, Chicago, IL) stimando le curve di sopravvivenza con il metodo di Kaplan-Meier.

Le variabili continue sono state presentate come media + deviazione standard (SD) e le variabili categoriali sono state presentate come frequenza (n) e percentuale (%).

Il coefficiente di correlazione di Pearson è stato utilizzato per esaminare l'associazione tra le variabili selezionate e la presenza di carcinoma cervicale. È stata costruita una curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) per determinare il ruolo predittivo di conta piastrinica, PLR, NLR e albuminemia nell'identificazione di pazienti con carcinoma cervicale a prognosi peggiore. I valori cut-off sono stati calcolati per ciascuna variabile in studio ricercando la migliore sensibilità e specificità mediante test di Youden, sia per PFS che per OS. Sono state considerate statisticamente significative le correlazioni con $p < 0.05$.

5 – RISULTATI

Un totale di 108 pazienti su 159 con carcinoma cervicale clinicamente e istologicamente confermato sono stati inclusi nella presente analisi (41 pazienti escluse per comorbidità concomitanti, 6 pazienti per decesso secondario ad altre cause, 4 pazienti per mancato consenso al trattamento dei dati).

L'età media delle pazienti era di 45.5 ± 10.6 , con un periodo di follow-up medio di 20.2 ± 10.0 mesi. Dall'ultimo follow-up, 45 pazienti avevano avuto una recidiva (41.7%) e 15 pazienti erano decedute (13.9%).

I parametri clinico-patologici delle pazienti, quali età, *Body Mass Index* (BMI), dimensioni del tumore, stadio FIGO, invasione stromale, differenziazione, invasione parametricale, coinvolgimento linfonodale e tipologia di trattamento sono riportati nella *Tabella 4*. I valori preoperatori dei biomarcatori sierologici di infiammazione oggetto di studio sono mostrati nella *Tabella 5*.

In accordo con le curve ROC, i migliori valori di cut-off per valore piastrinico, PLR, NLR e albumina corrispondenti alla massima sensibilità e specificità erano rispettivamente per $270 \times 10^3 /\mu\text{l}$, 130.5, 2.65 e 38 g/L in correlazione con PFS, mentre erano $276.5 \times 10^3 /\mu\text{l}$, 185.9, 2.65 e 38 g/L in associazione ad OS (*Figure 9 e 10*).

Le pazienti con conta piastrinica più elevata presentavano OS e DFS peggiori rispetto a coloro con conta piastrinica preoperatoria più bassa (OS $p < 0.001$ e DFS $p < 0.001$, rispettivamente) come mostrato in *Figura 11*.

I tassi cumulativi di OS e DFS nel gruppo a basso PLR e NLR erano superiori ai tassi nel gruppo ad alto PLR (OS $p < 0.001$ e DFS $p = 0.032$ per PLR; OS $p < 0.001$ e DFS $p < 0.001$ per NLR – *Figura 12 e 13*).

Le pazienti con valori sierici ridotti di albumina avevano OS e DFS più brevi rispetto al gruppo con valori di albumina più alta ($p < 0.001$ e $p < 0.001$, rispettivamente), come evidenziato in *Figura 14*.

È stata analizzata l'espressione a livello tumorale e peri-tumorale di IL-6 e stratificate le pazienti sulla base dell'entità della stessa (bassa espressione: 0, +1; marcata espressione: +2, +3). L'analisi di sopravvivenza ha dimostrato che il tasso di sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza cumulativa del cancro cervicale nei pazienti con espressione ridotta di IL-6 era significativamente migliore rispetto a quello dei pazienti con marcata espressione tissutale (PFS $p < 0.001$; OS $p < 0.001$ – *Figura 15*).

Mediante correlazione di Pearson sono state confrontate le caratteristiche clinico-patologiche delle pazienti stratificate secondo valori alti/bassi di conta piastrinica, PLR, NLR e albumina sierica. In tutti i casi sono state osservate correlazioni significative tra valori prognostici negativi caratteristici del carcinoma della cervice (stadio avanzato di malattia, dimensione del tumore, grading elevato, LVSI positivi, positività linfonodale, coinvolgimento parametricale) e valori elevati delle variabili in oggetto (*Tabelle 6, 7 e 8*).

Tabella 4 – Caratteristiche clinico-patologiche delle pazienti.

Numero delle pazienti (n, %)	108 (100%)
Età, media ± SD (range)	45.5 ± 10.6 (25-80)
BMI, media ± SD (range)	25.3 ± 5.2 (17-36.3)
Stadio FIGO (n, %)	
IA2	5 (4.6%)
IB1	22 (20.4%)
IB2	18 (16.7%)
IIA	16 (14.8%)
IIB	30 (27.8%)
IIIA	8 (7.4%)
IIIB	7 (6.5%)
IVA	2 (1.8%)
Grading (n, %)	
G1	7 (6.5%)
G2	28 (25.9%)
G3	73 (67.6%)
Trattamento (n, %)	
NACT + Chirurgia	67 (62.0%)
Chirurgia radicale primaria	41 (38.0%)

Tabella 5 – Analisi dei biomarcatori infiammatori.

Conta piastrinica, media ± SD (range)	272.0 x 10 ³ /μl ± 54.7 (163-414)
PLR, media ± SD (range)	145.2 ± 56.7 (62.5-295.8)
NLR, media ± SD (range)	2.8 ± 1.1 (1.2-6.7)
Albumina, media ± SD (range)	39.5 ± 2.9 g/L (33-46)
Emoglobina, media ± SD (range)	11.9 ± 0.9 g/dL (8.8-14.2)
MCV, media ± SD (range)	89.0 ± 2.1 fL (78-93)
RDW, media ± SD (range)	13.3 ± 0.7 % (12.2-14.8)

Figura 9 – Curve ROC per conta piastrinica (PLT), PLR, NLR e albumina su PFS.

Le curve per PLT, PLR e NLR presentano $AUC > 0.7$ (AUC 0.751, 0.769, 0.794 rispettivamente), indicando che il dato è accurato secondo la classificazione di Swets. Tale dato non è invece riscontrato considerando i valori di albuminemia (AUC 0.246).

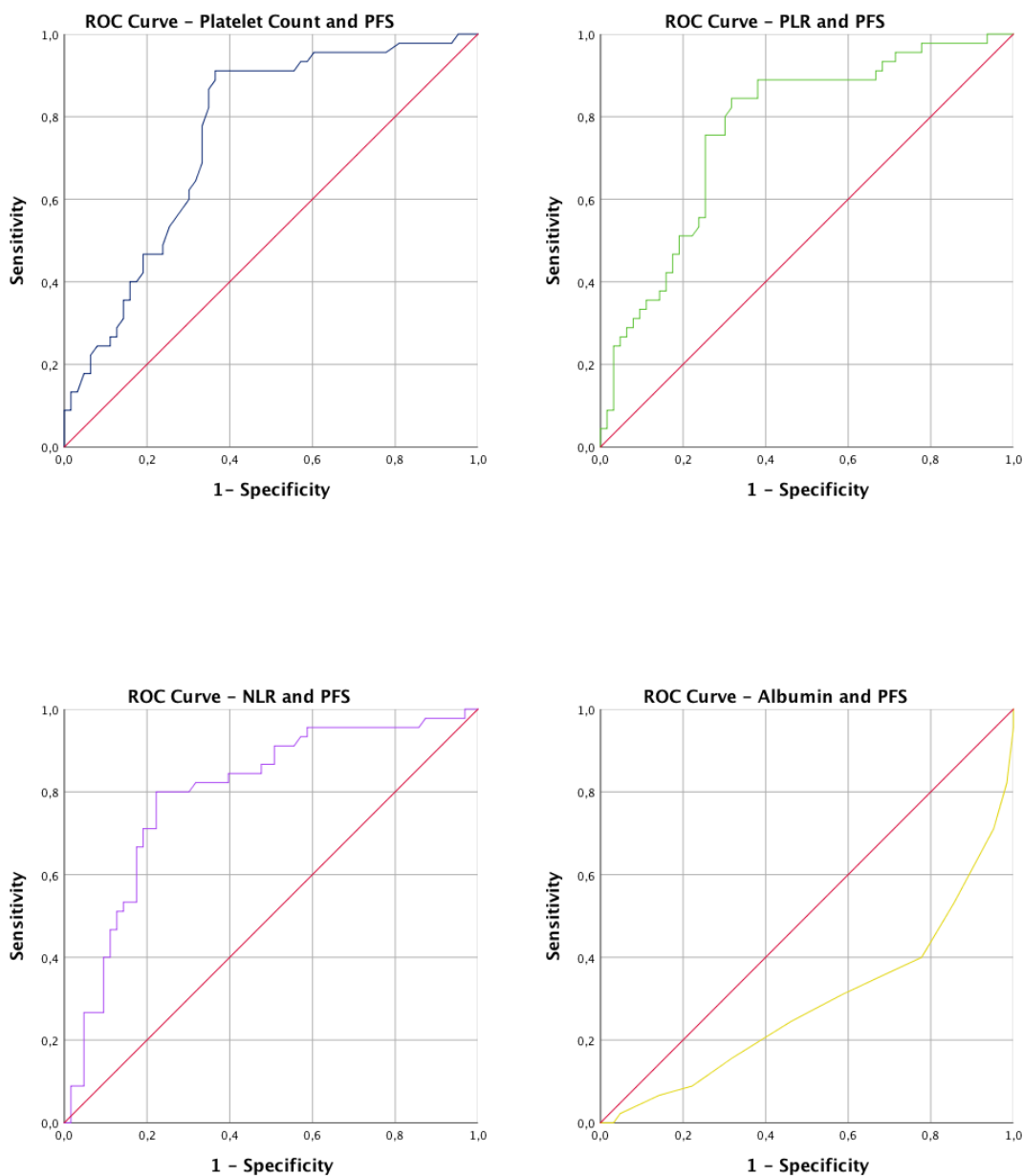


Figura 10 – Curve ROC per conta piastrinica (PLT), PLR, NLR e albumina su OS.

Le curve per PLT, PLR e NLR presentano $AUC > 0.7$ (AUC 0.839, 0.887, 0.837 rispettivamente), indicando che il dato è molto accurato per *overall survival* secondo la classificazione di Swets. Tale dato non è invece riscontrato considerando i valori di albuminemia (AUC 0.093).

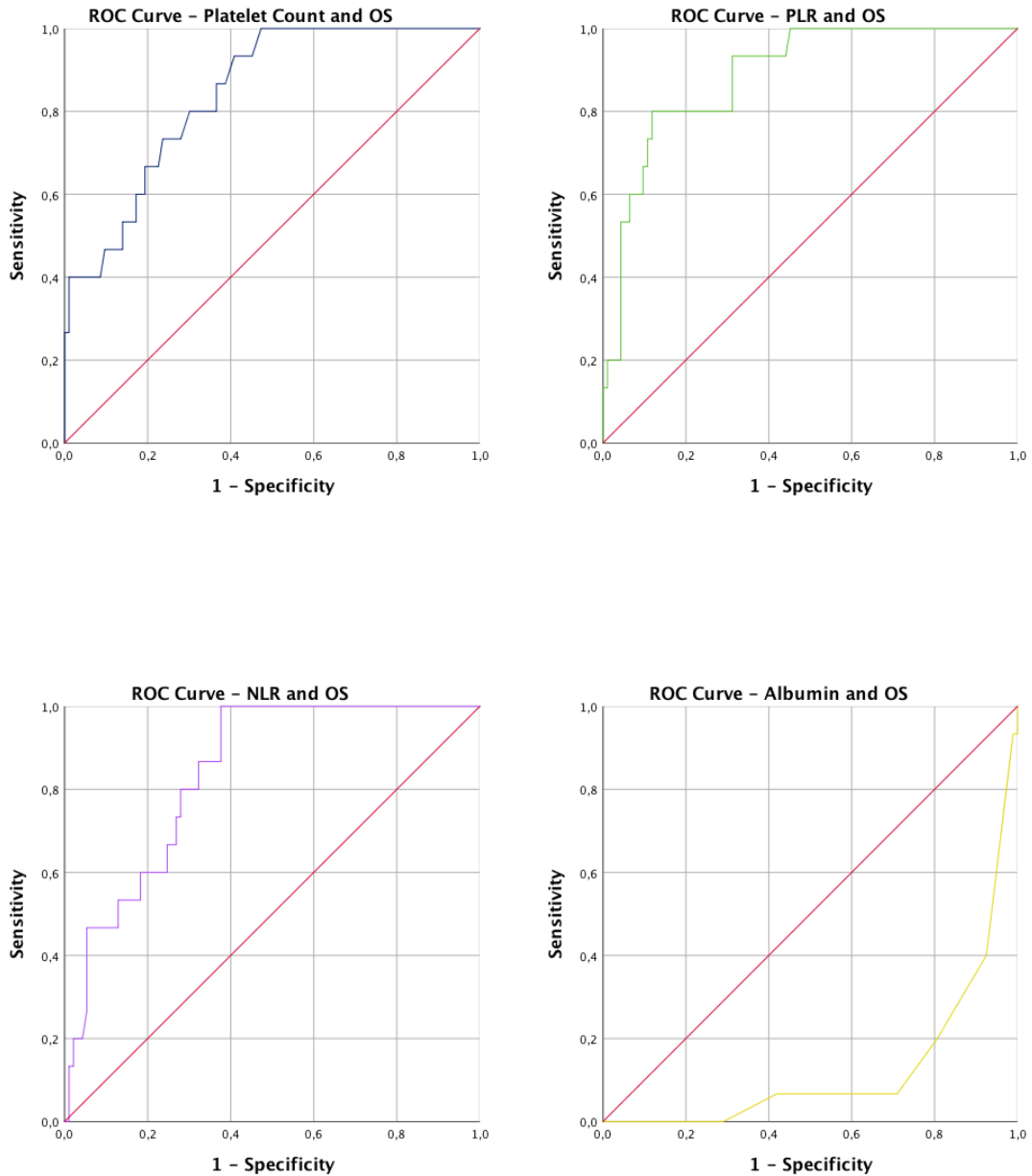


Figura 11 - Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier: relazione tra tempo di progressione della malattia (PFS) e sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con carcinoma cervicale e conta piastrinica preoperatoria.

Le pazienti sono state stratificate in gruppi con conta piastrinica elevata e non, usando il valore di cut-off calcolato per PFS ($270 \times 10^3 /\mu\text{l}$) e per OS ($276.5 \times 10^3 /\mu\text{l}$) mediante indice di Youden. Le pazienti con conta piastrinica più elevata avevano PFS e OS più brevi ($p < 0.001$ e $p < 0.001$, rispettivamente).

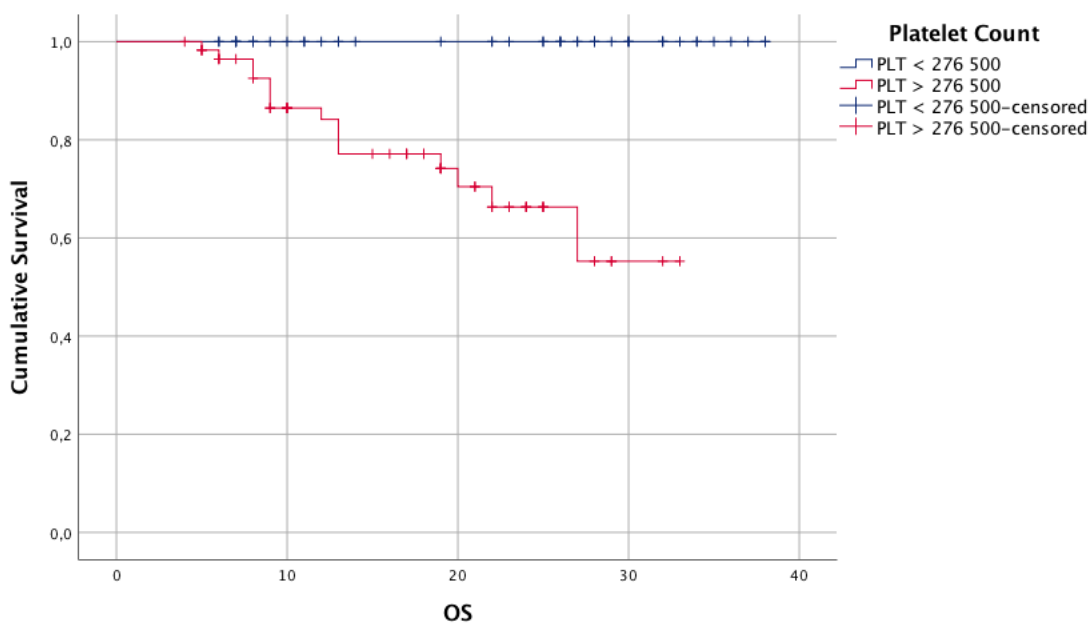
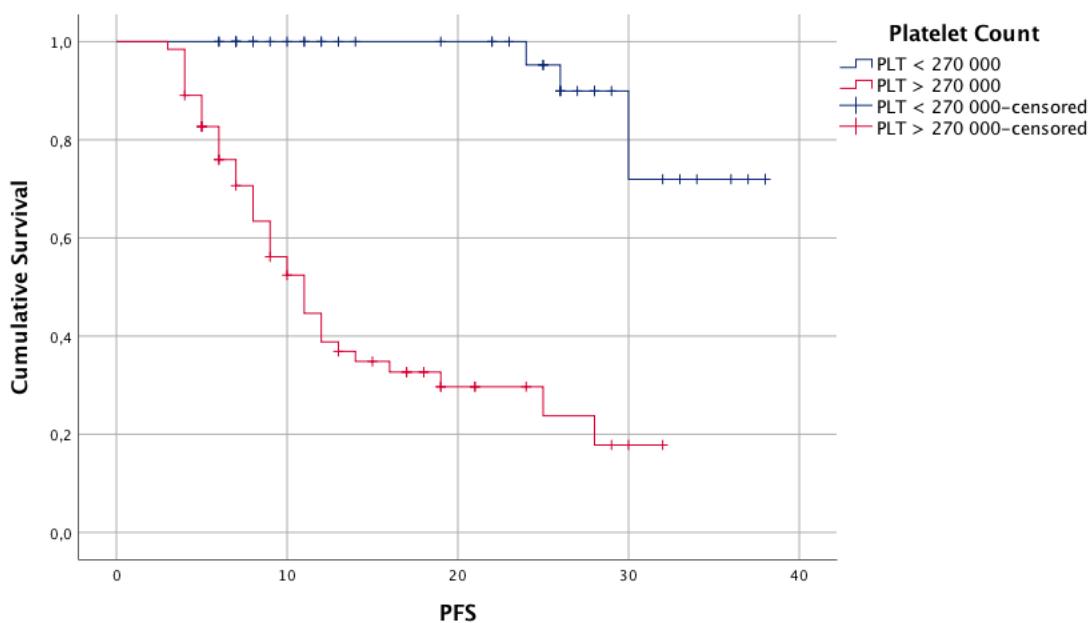


Figura 12 - Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier: relazione tra tempo di progressione della malattia (PFS) e sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con carcinoma cervicale e PLR.

Le pazienti sono state stratificate in gruppi PLR alti e bassi, usando il valore di cut-off calcolato per PFS (130.5) e per OS (185.9) mediante indice di Youden. Le pazienti con conta piastrinica più elevata avevano PFS e OS più brevi ($p=0.032$ e $p<0.001$, rispettivamente).

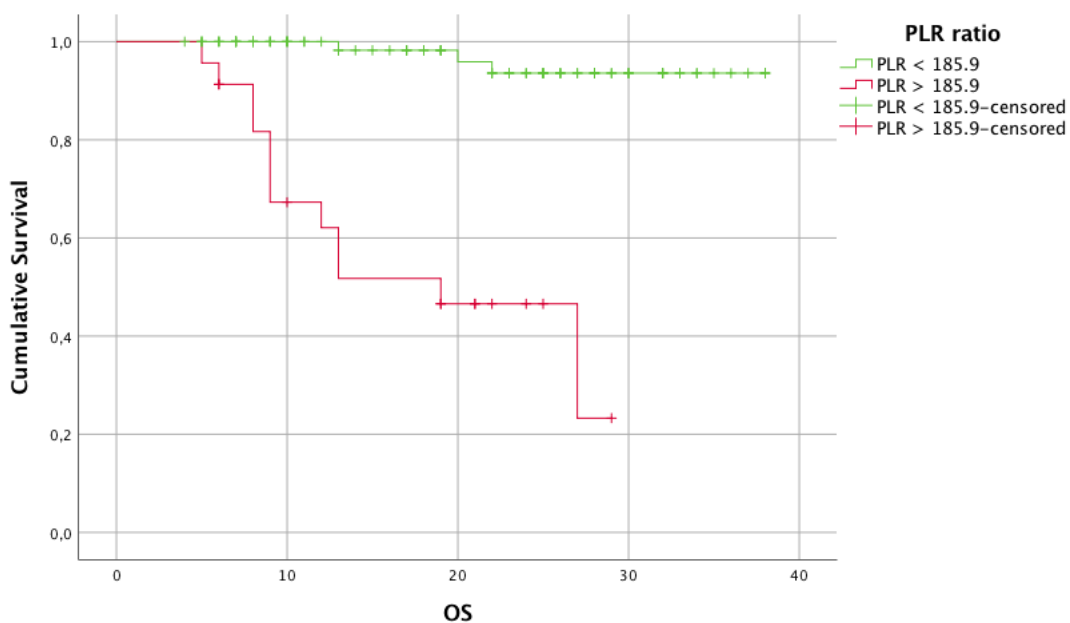
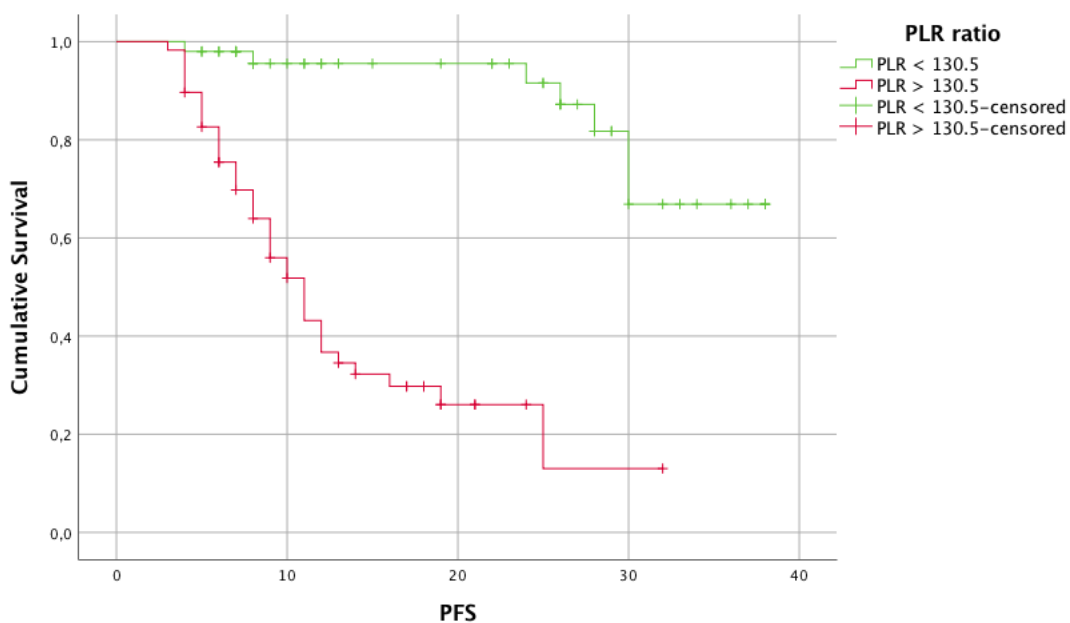


Figura 13 - Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier: relazione tra tempo di progressione della malattia (PFS) e sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con carcinoma cervicale e NLR.

Le pazienti sono state stratificate in gruppi NLR alti e bassi, usando il valore di cut-off calcolato per PFS e per OS (2.65) mediante indice di Youden. Le pazienti con valori di $NLR > 2.65$ mostravano PFS e OS più brevi ($p < 0.001$ e $p < 0.001$, rispettivamente).

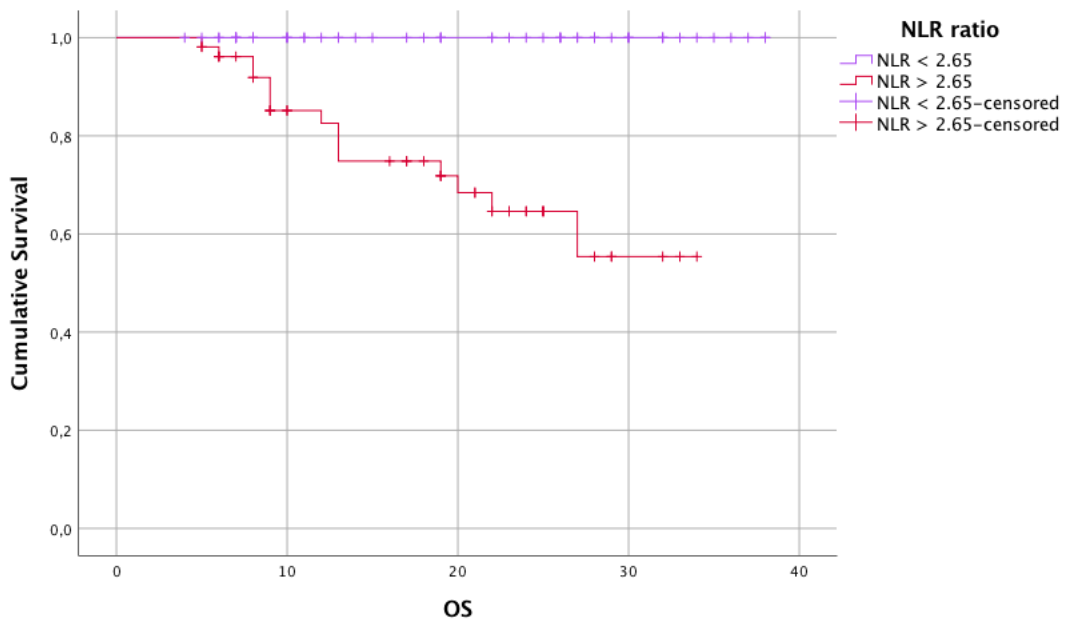
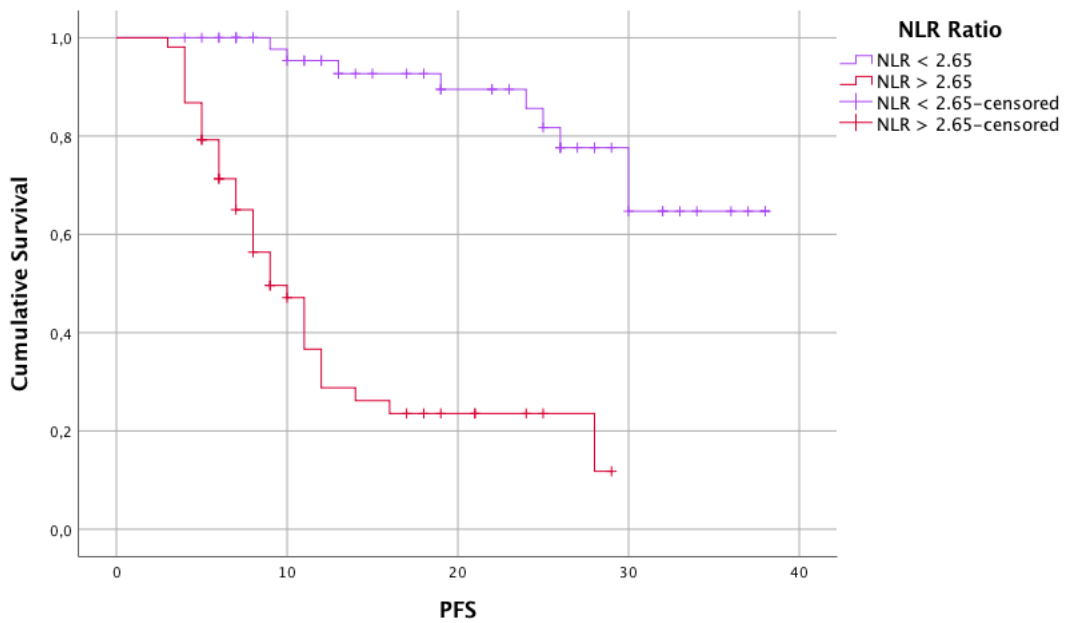


Figura 14 - Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier: relazione tra tempo di progressione della malattia (PFS) e sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con carcinoma cervicale e albuminemia.

Le pazienti sono state stratificate in gruppi con albuminemia $<$ e $>$ di 38 g/L, valore di cut-off calcolato per PFS e per OS utilizzando l'indice di Youden. Le pazienti con valori di albuminemia preoperatoria $>$ 38 g/L mostravano PFS e OS migliori ($p<0.001$ e $p<0.001$, rispettivamente).

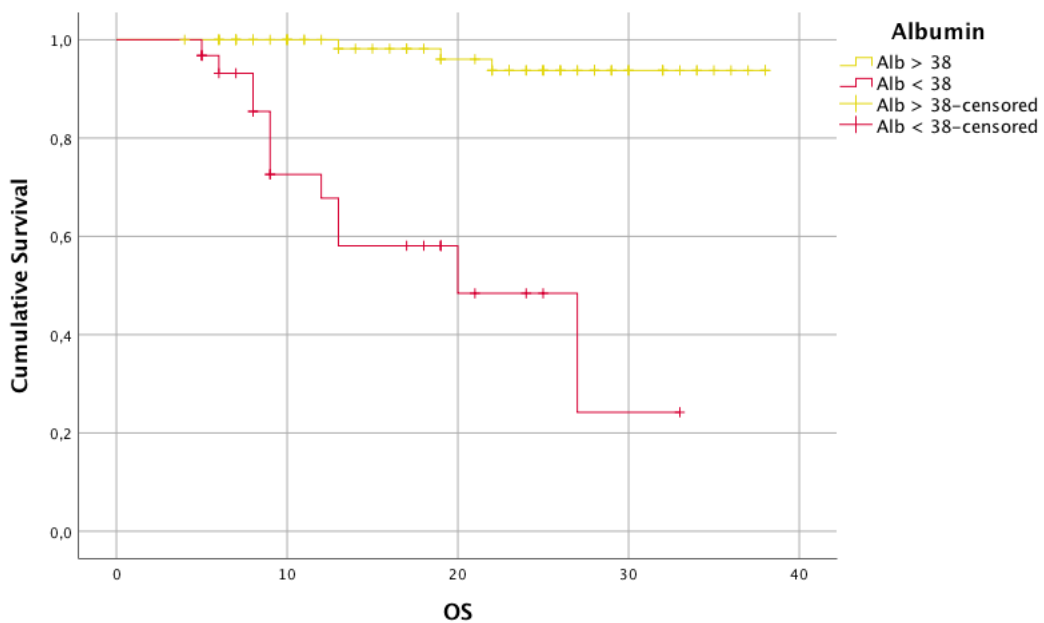
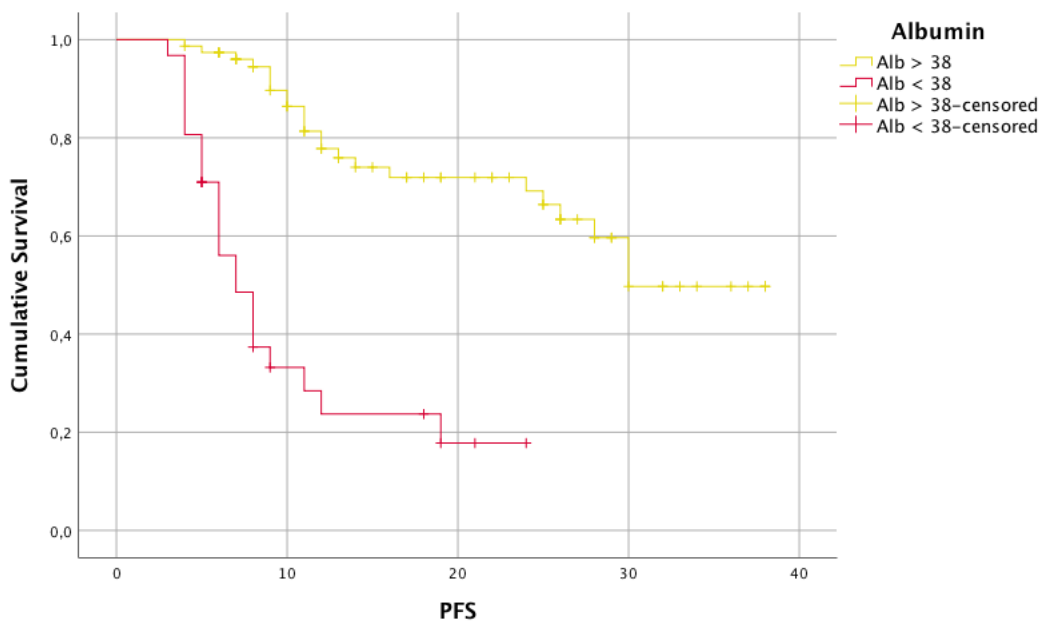


Figura 15 – Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier: relazione tra tempo di progressione della malattia (PFS) e sopravvivenza globale (OS) nei pazienti con carcinoma cervicale e marcata espressione di IL-6 a livello del tessuto tumorale.

Le pazienti sono state stratificate in gruppi con aumentata espressione a livello del tessuto tumorale di IL-6 (+2; +3) e non (0; +1). Le pazienti con iper-espressione di IL-6 mostravano PFS e OS significativamente inferiori ($p < 0.001$ e $p < 0.001$, rispettivamente).

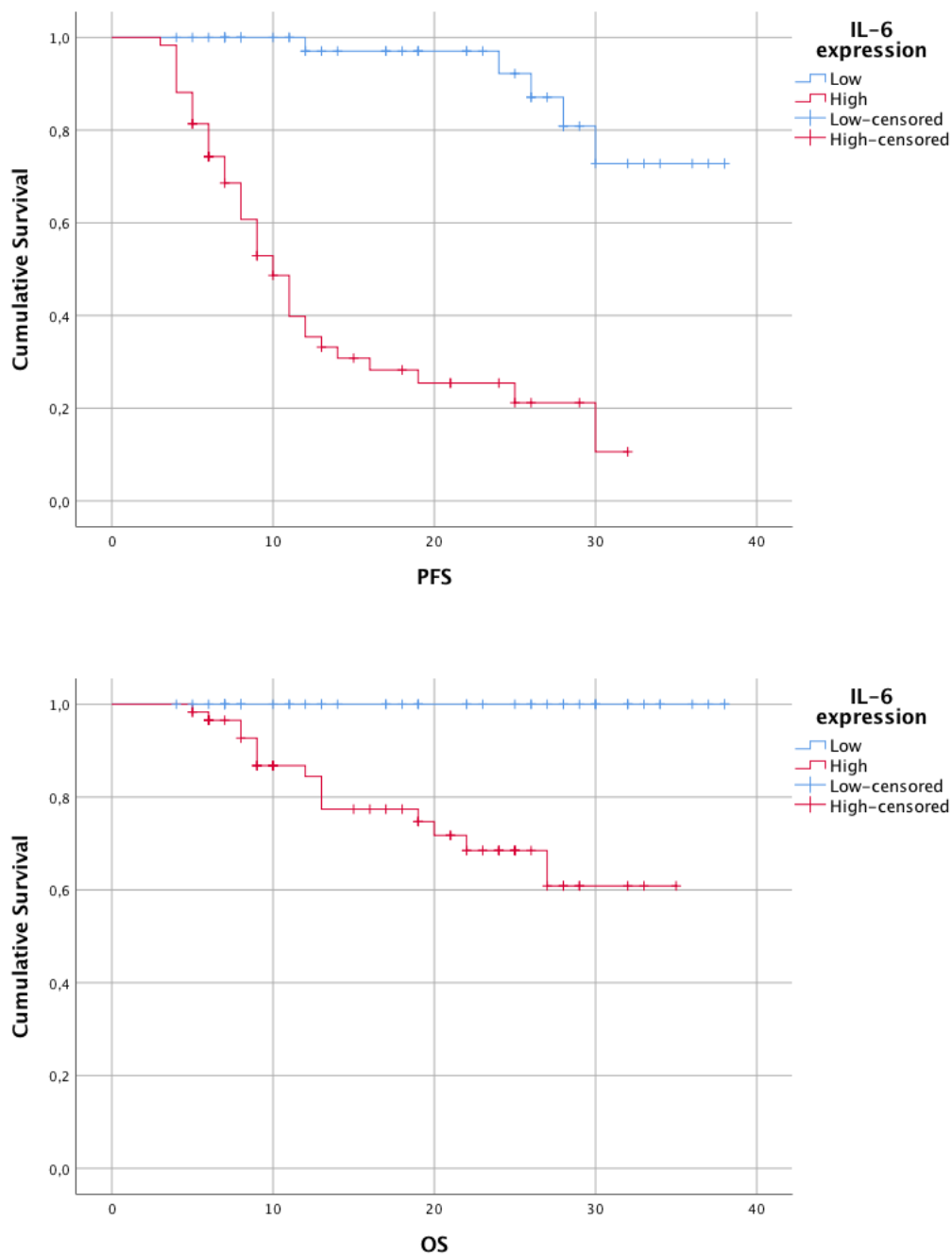


Tabella 6 – Correlazione di Pearson tra conta piastrinica e variabili clinico-patologiche delle pazienti.

Una elevata conta piastrinica si associa significativamente a fattori prognostici negativi quali stadio avanzato di malattia, volume > 4 cm, scarsa differenziazione, coinvolgimento spazi linfo-vascolari, linfonodi positivi, invasione parametricale, ridotti livelli di emoglobina, ridotta albuminemia, aumentata espressione di IL-6 a livello del tumore e ridotta sopravvivenza libera da malattia. Non si associa a modificazioni significative dell'*overall survival*.

<i>Variabile dipendente</i>	<i>R</i>	<i>p-value</i>
Stadio	0.645	<0.001
Volume	0.643	<0.001
Grading	0.319	0.001
LVSI	0.405	<0.001
Stato linfonodale	0.557	<0.001
Coinvolgimento parametricale	0.356	<0.001
Emoglobina	-0.334	<0.001
Albumina	-0.630	<0.001
Espressione tissutale IL-6	0.558	<0.001
PFS	-0.365	<0.001
OS	-0.181	0.060

Tabella 7 – Correlazione di Pearson tra valore di PLR e variabili clinico-patologiche delle pazienti.

Un elevato valore di PLR si associa significativamente a fattori prognostici negativi quali stadio avanzato di malattia, volume > 4 cm, scarsa differenziazione, coinvolgimento spazi linfo-vascolari, linfonodi positivi, invasione parametricale, ridotti livelli di emoglobina, ridotta albuminemia, aumentata espressione di IL-6 a livello del tumore, ridotta sopravvivenza libera da malattia e globale.

<i>Variabile dipendente</i>	<i>R</i>	<i>p-value</i>
Stadio	0.683	<0.001
Volume	0.669	<0.001
Grading	0.280	0.003
LVSI	0.477	<0.001
Stato linfonodale	0.637	<0.001
Coinvolgimento parametricale	0.459	<0.001
Emoglobina	-0.372	<0.001
Albumina	-0.665	<0.001
Espressione tissutale IL-6	0.623	<0.001
PFS	-0.469	<0.001
OS	-0.296	0.002

Tabella 8 – Correlazione di Pearson tra valore di NLR e variabili clinico-patologiche delle pazienti.

Un elevato valore di NLR si associa significativamente a fattori prognostici negativi quali stadio avanzato di malattia, volume > 4 cm, scarsa differenziazione, coinvolgimento spazi linfo-vascolari, linfonodi positivi, invasione parametricale, ridotti livelli di emoglobina, ridotta albuminemia, aumentata espressione di IL-6 a livello del tumore, ridotta sopravvivenza libera da malattia e globale.

<i>Variabile dipendente</i>	<i>R</i>	<i>p-value</i>
Stadio	0.542	<0.001
Volume	0.557	<0.001
Grading	0.281	0.003
LVSI	0.515	<0.001
Stato linfonodale	0.626	<0.001
Coinvolgimento parametricale	0.438	<0.001
Emoglobina	-0.356	<0.001
Albumina	-0.526	<0.001
Espressione tissutale IL-6	0.596	<0.001
PFS	-0.510	<0.001
OS	-0.279	0.003

6 – DISCUSSIONE

Nonostante la crescente consapevolezza del ruolo cruciale della genetica nello sviluppo delle neoplasie, un numero considerevole di studi ha recentemente evidenziato che la risposta immunitaria dell'organismo ha un impatto fondamentale sia nello sviluppo che nella progressione del cancro. I parametri che mostrano l'attivazione di una risposta infiammatoria sistemica, come un aumento della proteina C reattiva (CRP) e una riduzione dei livelli di albumina, sono stati dimostrati essere significativi fattori prognostici in vari tipi di neoplasie, in particolare nei pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC), adenocarcinoma pancreatico, carcinoma gastrico, tumori del colon-retto e carcinoma del rene [140].

Alcuni studi hanno evidenziato che la trombocitosi costituiva un indicatore prognostico sfavorevole nei pazienti con carcinoma cervicale. In uno studio retrospettivo di De Jonge et al., il tasso cumulativo di sopravvivenza per le 93 pazienti con conta piastrinica normale era del 65%, mentre era del 25% per le 20 pazienti con trombocitosi [112].

Nello studio di Kawano et al., è stato dimostrato che la trombocitosi si associava alla giovane età ($p=0.0003$), ad uno stadio clinico avanzato ($p<0.0001$), ad un maggiore volume tumorale ($p=0.0025$), a livelli più bassi di emoglobina ($P <0.0001$) e più frequentemente a recidiva ($p=0.0015$) [119]. I dati di questo studio confermano che una più elevata conta piastrinica si associa a *outcomes* peggiori (ridotta PFS e OS) e correla con fattori prognostici negativi.

Non solo le piastrine ma anche i linfociti sono associati alla sorveglianza immunitaria [141]. Pertanto, il PLR, un indice combinato di piastrine e conta linfocitaria, è stato studiato come fattore prognostico in vari tumori [142]. Recentemente, una meta-analisi comprendente 12 754 pazienti ha dimostrato che un alto PLR era associato a OS più breve

in vari tumori solidi [143]. Il valore prognostico del PLR nel carcinoma cervicale non è ancora stato chiarito. In un recente studio, è stato dimostrato che il PLR può fornire informazioni utili relativi all'aggressività del tumore della cervice, analizzando l'invasività del tumore e correlandola con il PLR in 75 pazienti con neoplasia non invasiva e 30 pazienti con malattia invasiva [144]. Al contrario, nello studio di Wang et al., è stato suggerito che il PLR pretrattamento non costituiva un fattore prognostico significativo [145]. Tuttavia, questo studio includeva solo 111 pazienti in stadio FIGO IB2-IIB sottoposti a chemioterapia neoadiuvante e sottoposti a isterectomia radicale [145]. In uno studio condotto su 460 pazienti affetti da carcinoma cervicale in stadio FIGO I o II, Zhang et al. ha evidenziato che l'indice NLR, ma non PLR, costituiva un marker prognostico indipendente per PFS, ma non per OS [118]. Nonostante questo dato, affermava che il PLR è un biomarcatore economico e facilmente disponibile che può essere un predittore indipendente di prognosi sfavorevole nei pazienti con carcinoma cervicale [146].

Nel presente studio, valori di PLR maggiori non solo si sono associati a una ridotta PFS, ma anche ad una ridotta OS ($p=0.032$ e $p<0.001$, rispettivamente). Un elevato PLR, inoltre, si correla significativamente con stadio FIGO IIB-IVA ($p<0.001$), dimensione del tumore > 4 cm ($p<0.001$), tumori scarsamente differenziati ($p=0.003$), invasione linfovascolare ($p<0.001$), coinvolgimento parametrico ($p<0.001$) e linfonodale ($p<0.001$), valori più bassi di emoglobina preoperatoria ($p<0.001$), ridotti livelli di albuminemia ($p<0.001$) e marcata espressione di IL-6 a livello del tessuto tumorale ($p<0.001$).

Recentemente, in letteratura, è stata evidenziata anche un'importante correlazione tra un altro parametro biochimico (rapporto neutrofili su linfociti) e infiammazione. L'aumentata concentrazione di neutrofili è infatti associata a fenomeni di promozione e sostegno della crescita tumorale, in particolare mediate dall'inibizione delle proprietà

antitumorali dei linfociti. Pertanto, un NLR più elevato potrebbe essere un promotore della crescita tumorale [147]. I risultati di studi precedenti suggeriscono che il NLR è significativamente associato alla sopravvivenza globale in pazienti con vari tipi di tumori, come quelli originati dal polmone, dal fegato e dall'ovaio [135, 148, 149].

I dati di questo studio evidenziano che un NLR più basso si associa a migliore sopravvivenza nelle pazienti con carcinoma della cervice ($p < 0.001$) e si correla negativamente con fattori prognostici negativi associati alla malattia in maniera statisticamente significativa, confermando quanto già dimostrato in letteratura sull'argomento.

Analogamente, la diminuzione del livello sierico di l'albumina, proteina negativa di fase acuta anch'essa implicata nei processi infiammatori sistemici, è stato dimostrato essere associato a ridotta sopravvivenza e prognosi più sfavorevole in pazienti oncologici [136, 150-153]. Tuttavia, pochi studi fino ad oggi hanno considerato la relazione tra albumina preoperatoria e sopravvivenza nella paziente affetta da carcinoma della cervice. In uno studio su 238 pazienti sottoposti a chemio-radioterapia come trattamento primario, un elevato valore del *Modified Glasgow Prognostic Score* (mGPS), uno score basato sui valori sierici preoperatori di proteina C reattiva (CRP) e albumina, era correlato ad uno stadio avanzato di malattia e veniva identificato come indicatore prognostico indipendente per OS e PFS [120].

Coerentemente con studi precedenti, questo studio ha quindi dimostrato che una riduzione dell'albumina si associava a ridotta OS e PFS ($p < 0.001$ e $p < 0.001$, rispettivamente) nei pazienti con carcinoma cervicale trattato chirurgicamente.

7 – CONCLUSIONI

In conclusione, nonostante la limitata numerosità del campione e un breve periodo di follow-up, questo studio evidenzia il ruolo potenzialmente significativo di conta piastrinica, PLR, NLR e albuminemia come fattori prognostici discriminanti per OS e DFS nei pazienti con carcinoma cervicale. Tali marcatori potrebbero essere d'aiuto nell'identificazione dei pazienti con carcinoma cervicale, nella loro stratificazione e quindi nella gestione del loro trattamento.

Inoltre, secondo i dati preliminari forniti dal seguente progetto di ricerca, una marcata espressione di IL-6 a livello del tessuto tumorale potrebbe essere investigata come effettivo marcatore prognostico ed eventuale bersaglio terapeutico nelle pazienti affette da carcinoma della cervice.

8 – BIBLIOGRAFIA

1. International Agency for Research on Cancer. IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Human Papillomaviruses. IARC Lyon 1995. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol64/volume64.pdf>
2. Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Green J. Comparison of risk factors for squamous cell and adenocarcinomas of the cervix: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2004; 90:1787-1791.
3. Hemminki K, Dong C, Vaittinen P. Familial risks in cervical cancer: is there an hereditary component? *Int J Cancer* 1999; 82:775-781.
4. Hemminki K, Li X, Mutanen P. Familial risks in invasive and in situ cervical cancer by histological type. *Eur J Cancer Prev* 2001; 10:83-9.
5. Couto E, Hemminki K. Heritable and environmental components in cervical tumors. *Int J Cancer* 2006; 119:2699-2701.
6. Hemminki K, Chen B. Familial risks for cervical tumors in full and half siblings: etiologic apportioning. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15:1413-4.
7. Redburn JC, Murphy MFG. Hysterectomy prevalence and adjusted cervical and uterine cancer rates in England and Wales. *Brit J Obstet Gynaecol* 2001; 108:388-95.
8. I numeri del cancro in Italia. Linee guida AIOM 2016.
9. Osservatorio nazionale Screening. <http://www.osservatorionazionalecreening.it/content/i-numeri-degli-screening>

10. Jeong BK, Choi DH, Huh SJ, et al. The role of squamous cell carcinoma antigen as a prognostic and predictive factor in carcinoma of uterine cervix. *Radiat Oncol J* 2011; 29:191-8.
11. Bulkmans NW, Berkhof J, Rozendaal L, et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet* 2007; 370:1764-72.
12. Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Bulkmans NW, Heideman DA, Kenter GG, Cuzick J, Snijders PJ, Meijer CJ. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trial. *Lancet Oncol* 2012; 13:78-88.
13. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, et al.; New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) Working Group. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11:249-57.
14. Stato di avanzamento della campagna vaccinale per l'HPV: dati di copertura vaccinale al 30/06/2012 – Rapporto semestrale. Documento a cura del CNESPS-ISS, in collaborazione con il Coordinamento Interregionale della Sanità Pubblica (a cura di Cristina Giambi, Reparto di Epidemiologia di Malattie Infettive del ISS; http://www.epicentro.iss.it/problemi/hpv/pdf/Aggiornamento_HPВ_30062012_validato.pdf).
15. Lopez M. *Oncologia Medica Pratica*. Società Editrice Universo II edizione 2005, Tumori ginecologici pp 1439-49.

16. Burghardt E & Holzer E. Diagnosis and treatment of micro-invasive carcinoma of the cervix uteri. *Obstet Gynecol* 1977; 49:641–653.
17. Pillai MR, Halabi S, McKalip A, et al. The presence of human papillomavirus-16/-18 E6, p53, and Bcl-2 protein in cervicovaginal smears from patients with invasive cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5:329.
18. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998; 153:1741-8.
19. Harnish DG, Belland LM, Scheid EE, Rohan TE. Evaluation of human papillomavirus-consensus primers for HPV detection by the polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1999; 13:9-21.
20. Koutaky LA, Holmes KK, Crichlow CW, et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327:1272- 1278.
21. Robbins et al, *Le basi patologiche delle malattie, Apparato Genitale Femminile*, Edizioni Piccin 2000.
22. Chen TM, Pecoraro G, Defendi V. Genetic analysis of in vitro progression of human papillomavirus-transfected human cervical cells. *Cancer Res* 1993; 53:1167-71.
23. Venturini F, Braspenning J, Homann M, Gissmann L, Sczakiel G. Kinetic selection of HPV 16 E6/E7-directed antisense nucleic acids: anti-proliferative effects on HPV 16-transformed cells. *Nucleic Acids Res* 1999; 27:1585-92.
24. Watanabe S, Kanda T, Yoshiike K. Growth dependence of human papillomavirus 16 DNA-positive cervical cancer cell lines and human papillomavirus 16-

- transformed human and rat cells on the viral oncoproteins. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84:1043-9.
25. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79:328-37.
 26. Lambert PF, Pan H, Pitot HC et al, Epidermal cancer associate with expression of human papilloma virus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5583-7.
 27. Melikian AA, Sun P, Prokopczyk B, El-Bayoumy K, Hoffmann D, Wang X, Waggoner S. Identification of benzo[a]pyrene metabolites in cervical mucus and DNA adducts in cervical tissues in humans by gas chromatography-mass spectrometry. *Cancer Lett* 1999; 146:127-34.
 28. Prokopczyk Cox J, Hu P et al, Identification of tobacco specific carcinogens un the cervical mucus of smokers and non-smokers, *J Natl Cancer Inst* 1997; 89; 868-93.
 29. Magnusson PK, Sparen P, Gyllensten UB. Genetic link to cervical tumours. *Nature* 1999; 400:29-30.
 30. Larson RA, Williams SF, Le Beau MM, Bitter MA, Vardiman JW, Rowley JD. Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv(16) or t(16;16) has a favorable prognosis. *Blood* 1986; 68:1242-9.
 31. Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, Quarforth-Tubbin P, Ponten J, Adami HO, Gyllensten UB. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Nature* 1998; 396:531.

32. Heitman ER and Harper D. Prophylactic HPV Vaccines and prevention of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Curr Obstet Gynecol Rep* 2012; 1:95-105
33. Giambi C. Stato di avanzamento per la campagna vaccinale per l'HPV: dati di copertura vaccinale al 31/12/2012. Rapporto semestrale. Istituto Superiore di Sanità, <http://www.epicentro.iss.it>.
34. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. *JAMA* 2002; 287:2114-9.
35. Greer BE, Koh WJ, Abu-Rustum N, Bookman MA, Bristow RE, Campos S, Cho KR, Copeland L, Eifel P, Huh WK, Jaggernauth W, Kapp DS, Kavanagh J, Lipscomb GH, Lurain JR 3rd, Morgan M, Morgan RJ Jr, Powell CB, Remmenga SW, Reynolds RK, Secord AA, Small W Jr, Teng N. National Comprehensive Cancer Network. Cervical cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2008; 6:14-36.
36. Colombo N, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Rollo D, Sessa C. ESMO Guidelines Working Group. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7:vii27-32.
37. Sala E, Wakely S, Senior E, Lomas D. MRI of malignant neoplasms of the uterine corpus and cervix. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 188:1577-87.
38. Magné N, Chargari C, Vicenzi L, Gillion N, Messai T, Magné J, Bonardel G, Haie-Meder C. New trends in the evaluation and treatment of cervix cancer: the role of FDG-PET. *Cancer Treat Rev* 2008; 34:671-81.
39. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet* 2009; 105:103-4.

40. Jones WB, Mercer GO, Lewis JL Jr, et al.: Early invasive carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1993; 51: 26-32.
41. Creasman WT, Zaino RJ, Major FJ, et al.: Early invasive carcinoma of the cervix (3 to 5 mm invasion): risk factors and prognosis. A Gynecologic Oncology Group study. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:62-5.
42. Landoni F, Zanagnolo V, Lovato-Diaz L, et al, Ovarian metastases in early-stage cervical cancer (IA2-IIA): abmulticenter retrospective study of 1965 patients (a Cooperative Task Force study). *Int J of Gynecol Cancer* 2007; 17 :623-8.
43. Shimada M, Kigawa J, Nishimura R et al, Ovarian metastasis in carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2006; 101:234-7.
44. Chen C, Li W, Li F, Liu P, et al. Classical and nerve-sparing radical hysterectomy: an evaluation of the nerve trauma in cardinal ligament. *Gynecol Oncol* 2012; 125:245-51
45. Querleu D, Morrow CP. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol* 2008; 9:297-303.
46. Chemoradiotherapy for Cervical Cancer Meta-Analysis Collaboration. Reducing uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 18 randomized trials. *J Clin Oncol* 2008; 26:5802-12.
47. Rydzewska L, Tierney J, Vale CL, Symonds PR. Neoadjuvant chemotherapy plus surgery versus surgery for cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;12.
48. Lukas R, Helena R, Jiri HM, Martin H, Petr S. Current status of sentinel lymph node mapping in the management of cervical cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013; 13:861-70.

49. Lim K, Small W, Portelance L, et al. Consensus guidelines for delineation of clinical target volume for intensity-modulated pelvic radiotherapy for the definitive treatment of cervix cancer *Int. J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 79: 348–355.
50. Haie-Meder C, Mazon R, Magné N. Clinical evidence on PET-CT for radiation therapy planning in cervix and endometrial cancers. *Radiother Oncol* 2010; 96:351-55.
51. Tejwani A, Lavaf A, Parikh K, Mokhtar B, Swamy U, Emmolo J, Guirguis A, Ashamalla H. The role of PET/CT in decreasing inter-observer variability in treatment planning and evaluation of response for cervical cancer. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 2:307-13.
52. Logsdon MD, Eifel PJ. Figo IIIB squamous cell carcinoma of the cervix: an analysis of prognostic factors emphasizing the balance between external beam and intracavitary radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 43:763-75.
53. Tanderup K, Eifel PJ, Yashar CM, Pötter R, Grigsby PW. Curative radiation therapy for locally advanced cervical cancer: brachytherapy is NOT optional. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 88:537-9.
54. Lanciano RM, Martz K, Coia LR, Hanks GE. Tumor and treatment factors improving outcome in stage III-B cervix cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20:95-100.
55. Dimopoulos JC, Pötter R, Lang S, Fidarova E, Georg P, Dörr W, Kirisits C. Dose-effect relationship for local control of cervical cancer by magnetic resonance image-guided brachytherapy. *Radiother Oncol* 2009; 93: 311-5.

56. Georg D, Kirisits C, Hillbrand M, Dimopoulos J, Pötter R. Image-guided radiotherapy for cervix cancer: high-tech external beam therapy versus high-tech brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71:1272-8.
57. Viswanathan AN, Dimopoulos J, Kirisits C, Berger D, Pötter R. Computed tomography versus magnetic resonance imaging-based contouring in cervical cancer brachytherapy: results of a prospective trial and preliminary guidelines for standardized contours. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68:491-8.
58. Viswanathan AN, Thomadsen B; American Brachytherapy Society consensus guidelines for locally advanced carcinoma of the cervix. Part I: general principles. *Brachytherapy* 2012; 11:33-46.
59. Viswanathan AN, Beriwal S, De Los Santos JF, Demanes DJ, Gaffney D, Hansen J, Jones E, Kirisits C, Thomadsen B, Erickson B; American Brachytherapy Society consensus guidelines for locally advanced carcinoma of the cervix. Part II: high-dose-rate brachytherapy. *Brachytherapy* 2012; 11:47-52.
60. Lee LJ, Das IJ, Higgins SA, Jhingran A, Small W Jr, Thomadsen B, Viswanathan AN, Wolfson A, Eifel P; American Brachytherapy Society consensus guidelines for locally advanced carcinoma of the cervix. Part III: low-dose-rate and pulsed-dose-rate brachytherapy. *Brachytherapy* 2012; 11:53-7.
61. Nag S, Cardenes H, Chang S, et al. Proposed guidelines for image-based intracavitary brachytherapy for cervical carcinoma: report from image-guided brachytherapy working group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 1160–72.
62. Haie-Meder C, Pötter R, Van Limbergen E, Briot E, De Brabandere M, Dimopoulos J, Dumas I, Hellebust TP, Kirisits C, Lang S, Muschitz S, Nevinson J, Nulens A, Petrow P, Wachter-Gerstner N; Gynaecological (GYN) GEC-

- ESTRO Working Group. Recommendations from Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group (I): concepts and terms in 3D image based 3D treatment planning in cervix cancer brachytherapy with emphasis on MRI assessment of GTV and CTV. *Radiother Oncol* 2005; 74:235-45.
63. Pötter R, Haie-Meder C, Van Limbergen E, et al. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working group (II): Concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy—3D dose volume parameters and aspects of 3D image-based anatomy, radiation physics, radiobiology. *Radiother Oncol* 2006; 78: 67–77.
64. Lanciano RM, Pajak TF, Martz K, Hanks GE. The influence of treatment time on outcome for squamous cell cancer of the uterine cervix treated with radiation: a patterns-of-care study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 25:391-7.
65. Petereit DG, Sarkaria JN, Chappell R, Fowler JF, Hartmann TJ, Kinsella TJ, Stitt JA, Thomadsen BR, Buchler DA. The adverse effect of treatment prolongation in cervical carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32:1301-7.
66. Perez CA, Grigsby PW, Castro-Vita H, Lockett MA. Carcinoma of the uterine cervix. I. Impact of prolongation of overall treatment time and timing of brachytherapy on outcome of radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32:1275-88.
67. Perez CA, Grigsby PW, Castro-Vita H, Lockett MA. Carcinoma of the uterine cervix. II. Lack of impact of prolongation of overall treatment time on morbidity of radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 34:3-11.
68. Sedlis A, Bundy BN, Rotman MZ, Lentz SS, Muderspach LI, Zaino RJ. A randomized trial of pelvic radiation therapy versus no further therapy in selected

- patients with stage IB carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy: A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol* 1999; 73:177-83.
69. Landoni F, Maneo A, Colombo A et al. Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage IB-IIA cervical cancer. *Lancet* 1997; 350:535-40.
 70. Maneo A, Colombo A, Mangioni C, Landoni F: Randomized study between radical surgery and radiotherapy for the treatment of stage IB-IIA cervical cancer. 20-year update. *ESGO Meeting Proceedings, Milan, 2011.*
 71. Baalbergen A, Veenstra Y, Stalpers L. Primary surgery versus primary radiotherapy with or without chemotherapy for early adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cochrane Database Syst Rev* 2013.
 72. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: cervical cancer, April 1-3, 1996. National Institutes of Health Consensus Development Panel. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 1996;(21): VII-XIX
 73. Pötter R, Georg P, Dimopoulos JCA, Grimm M, Berger D, Nesvacil N, Georg D, Schmid MP, Reinthaller A, Sturdza A, Kirisits C.: Clinical outcome of protocol based image (MRI) guided adaptive brachytherapy combined with 3D conformal radiotherapy with or without chemotherapy in patients with locally advanced cervical cancer. *Radiother Oncol* 2011; 100:116-23.
 74. Keys H, Gibbons SK. Optimal management of locally advanced cervical carcinoma. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1996; 21:89-92.
 75. Lanciano R, Thomas G, Eifel PJ Over 20 years of progress in radiation oncology: Cervical cancer. *Seminars Radiat Oncol* 1997; 7:121-126.

76. Morris, M, Eifel, PJ, Lu, J, et al. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 340:1137.
77. Rose, PG, Bundy, BN, Watkins, EB, et al. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 340:1144.
78. Whitney, CW, Sause, W, Bundy, BN, et al. Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1999; 17:1339.
79. Eifel PJ, Winter K, Morris M, Levenback C, Grigsby PW, Cooper J, Rotman M, Gershenson D, Mutch DG. Pelvic irradiation with concurrent chemotherapy versus pelvic and para-aortic irradiation for high-risk cervical cancer: an update of radiation therapy oncology group trial (RTOG) 90-01. *J Clin Oncol* 2004; 22:872-80.
80. Rose PG, Ali S, Watkins E, Thigpen JT, Deppe G, Clarke-Pearson DL, Insalaco S; Long-term follow-up of a randomized trial comparing concurrent single agent cisplatin, cisplatin-based combination chemotherapy, or hydroxyurea during pelvic irradiation for locally advanced cervical cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2007; 25:2804-10.
81. Chemoradiotherapy for Cervical Cancer Meta-Analysis Collaboration. Reducing Uncertainties About the Effects of Chemoradiotherapy for Cervical Cancer: A

- Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient Data From 18 Randomized Trials. *J Clin Oncol* 2008; 26:5802-12.
82. Pearcey R, Brundage M, Drouin P, Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancer of the cervix *J Clin Oncol* 2002; 20: 966-972.
83. Lorvidhaya V, Chitapanarux I, Sangruchi S, Lertsanguansinchai P, Kongthanasart Y, Tangkaratt S, Visetsiri E, Concurrent mitomycin C, 5-fluorouracil, and radiotherapy in the treatment of locally advanced carcinoma of the cervix: a randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55:1226-32.
84. Eifel P, Moughan J, Erickson B, et al. Patterns of radiotherapy practice for patients with carcinoma of the uterine cervix: A patterns of care study *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60:1144-1153.
85. Neoadjuvant Chemotherapy for Cervical Cancer Meta-analysis Collaboration. Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 21 randomised trials, *European Journal of Cancer* 2003; 39:2470–2486.
86. Rotman M, Sedlis A, Piedmonte MR, Bundy B, Lentz SS, Muderspach LI, Zaino RJ. A phase III randomized trial of postoperative pelvic irradiation in Stage IB cervical carcinoma with poor prognostic features: follow-up of a gynecologic oncology group study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65:169-76.
87. Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W Jr, Alberts DS. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant

- therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2000; 18:1606-13.
88. Monk BJ, Wang J, Im S, Stock RJ, Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Berek JS, Souhami L, Grigsby PW, Gordon W Jr, Alberts DS; Rethinking the use of radiation and chemotherapy after radical hysterectomy: a clinical-pathologic analysis of a Gynecologic Oncology Group/Southwest Oncology Group/Radiation Therapy Oncology Group trial. *Gynecol Oncol* 2005; 96:721-8.
 89. Rogers L, Siu SSN, Luesley D et al., Adjuvant radiotherapy and chemoradiation after surgery for cervical, cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009.
 90. Chemoradiotherapy for Cervical Cancer Meta-analysis Collaboration (CCCMAC). Reducing uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer: individual patient data meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010.
 91. Dueñas-González A, Zarbá JJ, Patel F, Alcedo JC, Beslija S, Casanova L, Pattaranutaporn P, Hameed S, Blair JM, Barraclough H, Orlando M. Phase III, open-label, randomized study comparing concurrent gemcitabine plus cisplatin and radiation followed by adjuvant gemcitabine and cisplatin versus concurrent cisplatin and radiation in patients with stage IIB to IVA carcinoma of the cervix.. *J Clin Oncol* 2011; 29:1678-85.
 92. Ryu SY, Lee WM, Kim K, Park SI, Kim BJ, Kim MH, Choi SC, Cho CK, Nam BH, Lee ED. Randomized Clinical Trial of Weekly vs. Triweekly Cisplatin-Based Chemotherapy Concurrent with Radiotherapy in the Treatment of Locally Advanced Cervical Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011.

93. Nugent EK, Case AS, Hoff JT, Zigelboim I, DeWitt LL, Trinkhaus K, Mutch DG, Thaker PH, Massad LS, Rader JS. Chemoradiation in locally advanced cervical carcinoma: an analysis of cisplatin dosing and other clinical prognostic factors. *Gynecol Oncol* 2010; 116:438-41.
94. Pignata S, Frezza P, Tramontana S, Perrone F, Tambaro R, Casella G, Ferrari E, Iodice F, De Vivo R, Ricchi P, Tramontana F, Silvestro G. Phase I study with weekly cisplatin-paclitaxel and concurrent radiotherapy in patients with carcinoma of the cervix uteri. *Ann Oncol* 2000; 11:455-9.
95. Kim JW, Sardi JE, Katsumata N, Ryu HS, Nam JH, Chung HH, Park NH, Song YS, Behtash N, Kamura T, Cai HB. Efficacy of neoadjuvant chemotherapy in patients with FIGO stage IB1 to IIA cervical cancer: an international collaborative meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39:115-24.
96. Ryzdewska L1, Tierney J, Vale CL, Symonds PR. Neoadjuvant chemotherapy plus surgery versus surgery for cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012.
97. Buda A, Fossati R, Colombo N, Fei F, Floriani I, Gueli Alletti D, Katsaros D, Landoni F, Lissoni A, Malzoni C, Sartori E, Scollo P, Torri V, Zola P, Mangioni C. Randomized trial of neoadjuvant chemotherapy comparing paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin with ifosfamide and cisplatin followed by radical surgery in patients with locally advanced squamous cell cervical carcinoma: the SNAP01 (Studio Neo-Adjuvante Portio) Italian Collaborative Study. *J Clin Oncol* 2005; 23:4137-45.
98. Lissoni AA, Colombo N, Pellegrino A, Parma G, Zola P, Katsaros D, Chiari S, Buda A, Landoni F, Peiretti M, Dell'anna T, Fruscio R, Signorelli M, Grassi R,

- Floriani I, Fossati R, Torri V, Rulli. A phase II, randomized trial of neo-adjuvant chemotherapy comparing a three-drug combination of paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin (TIP) versus paclitaxel and cisplatin (TP) followed by radical surgery in patients with locally advanced squamous cell cervical carcinoma: The Snap-02 Italian Collaborative Study. *Ann Oncol* 2009; 20:660-5.
99. Manci N, Marchetti C, Di Tucci C, Giorgini M, Esposito F, Palaia I, Musella A, Perniola G, Carrone A, Benedetti Panici P. A prospective phase II study of topotecan (Hycamtin®) and cisplatin as neoadjuvant chemotherapy in locally advanced cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2011; 122:285-90.
100. Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol* 2013; 33 Suppl 1:S79-84.
101. Yu X, Lian B, Wang L, Zhang Y, Dai E, Meng F, Liu D, Wang S, Liu X, Wang J, Li X, Jiang W. The pan-cancer analysis of gene expression patterns in the context of inflammation. *Mol Biosyst* 2014; 10:2270-2276.
102. Hernandez E, Lavine M, Dunton CJ, Gracely E, Parker J. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with cervical cancer. *Cancer* 1992; 69:2975–2977.
103. Wei LH, Kuo ML, Chen CA, et al. Interleukin-6 promotes cervical tumor growth by VEGF-dependent angiogenesis via a STAT3 pathway. *Oncogene* 2003; 22:1517-1527.
104. Wei LH, Kuo ML, Chen CA, et al. The anti-apoptotic role of interleukin-6 in human cervical cancer is mediated by up- regulation of Mcl-1 through a PI 3-K/Akt pathway. *Oncogene* 2001; 20:5799-5809.

105. Song Z, Lin Y, Ye X, Feng C, Lu Y, Yang G, Dong C. Expression of IL-1 α and IL-6 is Associated with Progression and Prognosis of Human Cervical Cancer. *Med Sci Monit* 2016; 22:4475-4481.
106. Xu J, Ye Y, Zhang H et al: Diagnostic and prognostic value of serum Interleukin-6 in colorectal cancer. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95: e2502
107. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB et al: Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer how intimate is the relationship? *Ann NY Acad Sci* 2009; 1171: 59–76.
108. Rodriguez GC, Clarke-Pearson DL, Soper JT, Berchuck A, Synan I, Dodge RK. The negative prognostic implications of thrombocytosis in women with stage IB cervical cancer. *Obstet Gynecol* 1994; 83:445–448.
109. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, Rupairmoole R, Armaiz-Pena GN, Pecot CV, Coward J, Deavers MT, Vasquez HG, Urbauer D, et al. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med* 2012; 366:610–618.
110. Hernandez E, Heller PB, Whitney C, Diana K, Delgado G. Thrombocytosis in surgically treated stage IB squamous cell cervical carcinoma (A Gynecologic Oncology Group study). *Gynecol Oncol* 1994; 55:328–332.
111. Lopes A, Daras V, Cross PA, Robertson G, Beynon G, Monaghan JM. Thrombocytosis as a prognostic factor in women with cervical cancer. *Cancer* 1994; 74:90–92.
112. De Jonge ET, Viljoen E, Lindeque BG, Amant F, Nesland JM, Holm R. The prognostic significance of p53, mdm2, c-erbB-2, cathepsin D, and thrombocytosis

- in stage IB cervical cancer treated by primary radical hysterectomy. *Int J Gynecol Cancer* 1999; 9:198–205.
113. Hernandez E, Donohue KA, Anderson LL, Heller PB, Stehman FB. The significance of thrombocytosis in patients with locally advanced cervical carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2000; 78:137–142.
114. Gadducci A, Teti G, Barsotti C, Tana R, Fanucchi A, Orlandini C, Fabrini MG, Genazzani AR. Clinicopathological variables predictive of clinical outcome in patients with FIGO stage Ib2-IIb cervical cancer treated with cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy followed by radical hysterectomy. *Anticancer Res* 2010; 30:201–208.
115. Gadducci A, Cosio S, Zola P, Tisi G, Ferrero A, Piovano E, Cristofani R, Greco C, Sartori E. Pretreatment platelet and hemoglobin levels are neither predictive nor prognostic variables for patients with locally advanced cervical cancer treated with neoadjuvant chemotherapy and radical hysterectomy: a retrospective Italian study. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20:1399–1404.
116. Qiu MZ, Xu RH, Ruan DY, Li ZH, Luo HY, Teng KY, Wang ZQ, Li YH, Jiang WQ. Incidence of anemia, leukocytosis, and thrombocytosis in patients with solid tumors in China. *Tumour Biol* 2010; 31:633–641.
117. Wang D, Wu M, Ren T, Wan XR, Feng FZ, Huang HF, Yang JX, Shen K, Xiang Y. [Effects of prechemotherapy hemoglobin and platelet levels in patients with stage Ib2- IIb cervical cancer treated with neoadjuvant chemotherapy followed by radical hysterectomy]. [Article in Chinese]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2012; 47:577–81.

118. Zhang Y, Wang L, Liu Y, Wang S, Shang P, Gao Y, Chen X. Preoperative neutrophil-lymphocyte ratio before platelet-lymphocyte ratio predicts clinical outcome in patients with cervical cancer treated with initial radical surgery. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24:1319–1325.
119. Kawano M, Mabuchi S, Matsumoto Y, Sasano T, Takahashi R, Kuroda H, Kozasa K, Isohashi F, Ogawa K, Kimura T. Prognostic significance of pretreatment thrombocytosis in cervical cancer patients treated with definitive radiotherapy. *Int J Gynecol Cancer* 2015; 25:1656–1662.
120. Xiao Y, Ren YK, Cheng HJ, Wang L, Luo SX. Modified Glasgow prognostic score is an independent prognostic factor in patients with cervical cancer undergoing chemoradiotherapy. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8:5273–5281.
121. Zhao K, Deng H, Qin Y, Liao W, Liang W. Prognostic significance of pretreatment plasma fibrinogen and platelet levels in patients with early-stage cervical cancer. *Gynecol Obstet Invest* 2015; 79:25–33.
122. Nakamura K, Nishida T, Haruma T, Haraga J, Omichi C, Ogawa C, Kusumoto T, Seki N, Masuyama H, Hiramatsu Y. Pretreatment platelet-lymphocyte ratio is an independent predictor of cervical cancer recurrence following concurrent chemoradiation therapy. *Mol Clin Oncol* 2015; 3:1001–1006.
123. Zheng RR, Huang M, Jin C, Wang HC, Yu JT, Zeng LC, Zheng FY, Lin F. Cervical cancer systemic inflammation score: a novel predictor of prognosis. *Oncotarget* 2016; 7:15230–42.
124. Chen L, Zhang F, Sheng XG, Zhang SQ, Chen YT, Liu BW. Peripheral platelet/lymphocyte ratio predicts lymph node metastasis and acts as a superior

- prognostic factor for cervical cancer when combined with neutrophil: Lymphocyte. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95:e4381.
125. Trousseau, A. Phlegmasia alba dolens. In *Clinique Medicale de l'Hotel-Dieu de Paris (Lectures on Clinical Medicine at the Hotel-Dieu, Paris)*; Cormack, J.R., Ed.; New Sydenham Society: London, UK, 1872; Volume 5, pp. 281–332.
 126. Riess L. Zur pathologischen anatomie des blutes. *Arch Anat Physiol Wissensch Med* 1872; 39:237–249.
 127. Ackerman R, Estes J. Prognosis in idiopathic thrombophlebitis. *Ann Intern Med* 1951; 34: 902-10.
 128. Gu ML, Yuan CJ, Liu XM, Zhou YC, Di SH, Sun FF, Qu QY. Pre-treatment Elevated Platelet Count Associates with HER2 Overexpression and Prognosis in Patients with Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16:5537–5540.
 129. Gu X, Sun S, Gao XS, Xiong W, Qin S, Qi X, Ma M, Li X, Zhou D, Wang W, Yu H. Prognostic value of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: evidence from 3,430 patients. *Sci Rep* 2016; 6:23893.
 130. Hu C, Chen R, Chen W, Pang W, Xue X, Zhu G, Shen X. Thrombocytosis is a significant indicator of hypercoagulability, prognosis and recurrence in gastric cancer. *Exp Ther Med* 2014; 8:125–132.
 131. Sasaki K, Kawai K, Tsuno NH, Sunami E, Kitayama J. Impact of preoperative thrombocytosis on the survival of patients with primary colorectal cancer. *World J Surg* 2012; 36:192–200.
 132. Plantureux L, Mège D, Crescence L, Dignat-George F, Dubois C, Panicot-Dubois L. Impacts of Cancer on Platelet Production, Activation and Education and Mechanisms of Cancer-Associated Thrombosis. *Cancers (Basel)* 2018;10: E441.

133. Jain S, Harris J, Ware J. Platelets: linking hemostasis and cancer. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30:2362-7.
134. Menter DG, Tucker SC, Kopetz S, Sood AK, Crissman JD, Honn KV. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev* 2014; 33:231-69.
135. Pichler M, Hutterer GC, Stoeckigt C, Chromecki TF, Stojakovic T, Golbeck S, Eberhard K, Gerger A, Mannweiler S, Pummer K, Zigeuner R. Validation of the pre-treatment neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in a large European cohort of renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer*. 2013; 108:901-7.
136. Guner A, Kim HI. Biomarkers for Evaluating the Inflammation Status in Patients with Cancer. *J Gastric Cancer* 2019; 19:254-277.
137. Quinn MA, Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Creasman WT, Heintz AP, Ngan HY, Pecorelli S. Carcinoma of the cervix uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 95 Suppl 1:S43-103.
138. Horn LC, Einekel J, Hockel M, Kolbl H, Kommoss F, Lax SF, et al. Recommendations for the handling and oncologic pathology report of lymph node specimens submitted for evaluation of metastatic disease in gynecologic malignancies. *Pathologe* 2005; 26:266-72.
139. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)* 2012; 122:143-59.
140. cMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12:223-6.

141. Zhang Y, Jiang C, Li J, Sun J, Qu X. Prognostic significance of preoperative neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/ lymphocyte ratio in patients with gallbladder carcinoma. *Clin Transl Oncol* 2015; 17:810-818.
142. Ji Y, Sheng L, Du X, Qiu G, Su D. Elevated platelet count is a strong predictor of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer patients. *Platelets* 2015; 26:138-142.
143. Templeton AJ, Ace O, McNamara MG, Al-Mubarak M, Vera-Badillo FE, Hermanns T, Seruga B, Ocana A, Tannock IF, Amir E. Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23:1204-1212.
144. Kose M, Celik F, Kose SK, Arioz DT, Yilmazer M. Could the platelet-to-lymphocyte ratio be a novel marker for predicting invasiveness of cervical pathologies? *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 2015; 16:923-926.
145. Wang D, Wu M, Feng FZ, Huang HF, Yang JX, Shen K, Xiang Y. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios do not predict survival in patients with cervical cancer treated with neoadjuvant chemotherapy and radical hysterectomy. *Chin Med J* 2013; 126:1464-1468.
146. Jing Z, Heng W, Aiping D, Yafei Q, Shulan Z. Expression and clinical significance of phosphoglycerate dehydrogenase and squamous cell carcinoma antigen in cervical cancer. *Int J Gynecol Canc* 2013; 23:1465-1469.
147. Proctor MJ, McMillan DC, Morrison DS, Fletcher CD, Horgan PG, Clarke SJ. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer. *Br J Cancer* 2012; 107:695-9.

148. Sarraf KM, Belcher E, Raevsky E, Nicholson AG, Goldstraw P, Lim E. Neutrophil/lymphocyte ratio and its association with survival after complete resection in non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137:425-8.
149. Cho H, Hur HW, Kim SW, Kim SH, Kim JH, Kim YT, Lee K. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 5:15-23.
150. Ni XC, Yi Y, Fu YP, He HW, Cai XY, Wang JX, Zhou J, Cheng YF, Jin JJ, Fan J, Qiu SJ. Prognostic Value of the Modified Glasgow Prognostic Score in Patients Undergoing Radical Surgery for Hepatocellular Carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94:1486.
151. Xu XL, Yu HQ, Hu W, Song Q, Mao WM. A Novel Inflammation-Based Prognostic Score, the C-Reactive Protein/Albumin Ratio Predicts the Prognosis of Patients with Operable Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *PLoS One* 2015; 10:e0138657.
152. Yamashita K, Ushiku H, Katada N, Hosoda K, Moriya H, Mieno H, Kikuchi S, Hoshi K, Watanabe M. Reduced preoperative serum albumin and absence of peritoneal dissemination may be predictive factors for long-term survival with advanced gastric cancer with positive cytology test. *Eur J Surg Oncol* 2015; 41:1324-1332
153. Zhou T, Zhan J, Hong S, Hu Z, Fang W, Qin T, Ma Y, Yang Y, He X, Zhao Y, Huang Y, Zhao H, Zhang L. Ratio of C-Reactive Protein/Albumin is An Inflammatory Prognostic Score for Predicting Overall Survival of Patients with Small-cell Lung Cancer. *Sci Rep* 2015; 5:10481.