

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum

Lek. Kamil Konopka

**Prognostic and predictive factors in advanced gastric
cancer**

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki

Pracę wykonano w Katedrze Onkologii Collegium Medicum UJ

Kierownik jednostki: prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki

Kraków, 2022

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi
Profesorowi dr hab. n. med. Piotrowi Wysockiemu
za motywację do podjęcia niniejszej pracy, cenne uwagi
oraz wsparcie okazane w trakcie jej tworzenia.*

SPIS TREŚCI

I.	WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ	Str.4
II.	OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW	Str. 5
III.	WSTĘP	
	1. Epidemiologia	Str.18
	2. Czynniki ryzyka	
	3. Biologia raka żołądka	
	4. Klasyfikacja Laurena	
	5. Klasyfikacja genetyczna	
	6. Klasyfikacja WHO	
	7. Receptor HER2	
	8. Ekspresja PD-L1	
	9. Leczenie uogólnionego raka żołądka	
	10. Podłoże immunologiczne raka żołądka	
	11. Markery morfologiczne stanu zapalnego	
	12. Przesłanki do podjęcia badania	
IV.	CEL PRACY	Str 32
V.	MATERIAŁY I METODY BADAWCZE	Str 33
	1. Pacjenci	
	2. Parametry opisowe	
	3. Analizy statystyczne	
VI.	WYNIKI	Str. 37
VII.	PUBLIKACJE	Str. 51
VIII.	DYSKUSJA	Str. 73
IX.	WNIOSKI	Str 77
X.	STRESZCZENIE	Str 78
XI.	ABSTRACT	Str 81
XII.	PIŚMIENNICTWO	Str 83
XIII.	SPIS RYCIN	Str 89

I WYKAZ PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

- 1) Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients (IF 4.232, MEiN 140)
- 2) Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer (IF 4.232, MEiN 140)

II OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW

Valencia, dnia 26.02.2022

Dr n. med. Sebastian Ochendusko
Department of Oncology
Dr. Peset University Hospital
46017 Valencia, Spain

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients” J Clin Med. 2021;10(17):3902. 2021 Aug 30. doi:10.3390/jcm10173902 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji wynosi 5% i polegał na:
-zbieraniu danych pacjentów potrzebnych do analiz.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez lek. Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek. Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu



.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki
Katedra Onkologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor „Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. J Clin Med. 2021 Aug 30;10(17):3902” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

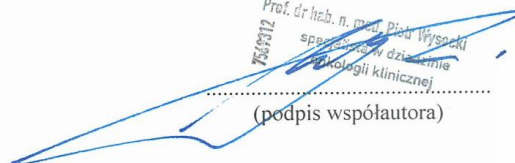
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki
specjalista w dziedzinie
onkologii klinicznej



(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki
Katedra Onkologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „ Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Prof. dr hab. n. med. Piotr Wysocki
Katedra Onkologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Łukasz Kwinta
Katedra Onkologii Klinicznej
Collegium Medicum UJ
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE


Jako współautor pracy „Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. J Clin Med. 2021 Aug 30;10(17):3902” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu



(podpis współautora)
Łukasz Kwinta
specjalista onkologii
klinicznej

2506285

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Paweł Potocki
Katedra Onkologii Klinicznej
Collegium Medicum UJ
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. J Clin Med. 2021 Aug 30;10(17):3902” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

SPECJALISTA ONKOLOGII
KLINIČZNEJ
Lek Paweł Potocki
2404829

.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Dr. Agnieszka Micek
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor „Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. J Clin Med. 2021 Aug 30;10(17):3902” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Stowarzyszenie Pielęgniarek i Położniczek
i Pielęgniarsko-Położniczego LJCMI

dr n. med. Agnieszka Micek

.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Dr. Agnieszka Micek
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Zakład Zespołu ds. Pielęgniarstwa
i Pielęgniarstwa Epidemiologicznego UJ CM

dr n. med. Agnieszka Micek

.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Paulina Frączek
Klinka Onkologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „ Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Paulina Frączek
533978K


.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Łukasz Kwinta
Katedra Onkologii Klinicznej
Collegium Medicum UJ
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „ Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

24.06.2025
Łukasz Kwinta
Specjalista onkologii
klinicznej
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Dr n. med. Joanna Streb
Katedra Onkologii Klinicznej
Collegium Medicum UJ
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

dr n. med. JOANNA STREB
specjalista onkologii klinicznej
specjalista medycyny rodzinnej
5172661 98064372

(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Paweł Potocki
Katedra Onkologii Klinicznej
Collegium Medicum UJ
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

SPECJALISTA ONKOLOGII
KLINICZNEJ
lek. Paweł Potocki
2404829

.....
(podpis współautora)

Kraków, dnia 04.04.2022

Lek Maciej Lubas
Klinika Onkologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. J Clin Med. 2022 Feb 24;11(5):1213.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na:

- Zbieranie materiału do analizy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przetozzenie ww. pracy przez lek Kamila Konopkę jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielnie i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Kamila Konopki polegający na:

- opracowaniu pomysłu badania i stworzeniu hipotezy badawczej
- opracowaniu koncepcji badania
- wykonaniu obliczeń statystycznych
- opracowaniu i interpretacji wyników
- przygotowaniu manuskryptu

Maciej Lubas
lekarz
NR PIAZ 2600130


.....
(podpis współautora)

III WSTĘP

Dwa największe osiągnięcia, które na zawsze zmieniły obraz raka żołądka to, w porządku chronologicznym - wynalezienie lodówki i wprowadzenie zabiegu radykalnej gastrektomii. Poniższa praca nie ma nic wspólnego z tymi epokowymi osiągnięciami, a celem jej jest próba zdefiniowania nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych, które mogą poprawić wyniki leczenia systemowego uogólnionego raka żołądka w erze chemioterapii cytotoksycznej.

Rak żołądka, pomimo olbrzymiego postępu, który dokonał się w ostatnich 30-40 latach nadal jest chorobą obarczoną złym rokowaniem, a mediany czasu przeżycia (OS) w większości badań oscylują w okolicy dwunastu miesięcy. Stosowane w tym rozpoznaniu leczenie systemowe, zarówno klasyczna, cytotoksyczna chemioterapia, jak i nowsze formy leczenia celowanego, wiążą się z wysokim ryzykiem poważnych powikłań. Powikłania te mogą zarówno negatywnie wpłynąć na stan zdrowia i jakość życia pacjentów, jak również, pośrednio, pogorszyć skuteczność terapii poprzez uniemożliwienie stosowania optymalnych dawek leków. Z tego powodu tak istotne jest określenie indywidualnego ryzyka progresji i zgonu u chorych, aby w sposób świadomy i zaplanowany móc je korygować.

Większość analiz i wniosków opisanych w niniejszym opracowaniu ma na celu uwidocznienie wzajemnego oddziaływania pomiędzy układem odpornościowym i nowotworem, a autor stara się powiązać te ukryte korelacje analizując poziom różnych elementów morfotycznych ocenianych w najprostszym, a zarazem chyba najbardziej użytecznym badaniem laboratoryjnym – morfologią krwi obwodowej.

1. Epidemiologia

Rak żołądka, pomimo dużego spadku częstości występowania, który rozpoczął się w latach 80 dwudziestego wieku, pozostaje jednym z najczęstszych nowotworów na świecie. W populacji polskiej, podobnie jak w większości zachodniego świata, jego częstość jest istotnie niższa niż miało to miejsce w przeszłości, ale nadal znajduje się w pierwszej dziesiątce najczęstszych nowotworów, zarówno pod względem zachorowalności jak i ilości zgonów. Standardowe współczynniki zachorowalności (ESP2013) wynoszą odpowiednio u kobiet i mężczyzn 9,0/100000 i 21,6/100000, zaś standaryzowane współczynniki dotyczące zgonów 8,2/100000 i 21,7/100000 [1].

Obserwowany w wielu regionach wyraźny spadek częstości raka żołądka najpewniej ma podłoże wieloczynnikowe, wydaje się jednak, że wiodąca tutaj była zmiana sposobu konserwowania żywności wynikająca z wynalezienia lodówki. Zmniejszenie w ten sposób

wykorzystania soli kuchennej, niezbędnego kiedyś środka konserwującego, było czynnikiem wyzwalającym zmiany epidemiologiczne[2].

Nowotwór ten znacznie częściej występuje u mężczyzn, a jego częstość, podobnie jak większości nowotworów, rośnie wraz z wiekiem pacjentów, co, zważywszy na starzejącą się populację, stanowi istotny problem kliniczny[3].

Istnieją duże różnice w częstości występowania raka żołądka w zależności od rejonu geograficznego. Jest on znacznie częstszy we Wschodniej Azji, Wschodniej Europie i Południowej Ameryce, ale istotnie rzadszy w Ameryce Północnej i Afryce Subsaharyjskiej[4]. Różnice te najpewniej wynikają z różnic w narażeniu na czynniki ryzyka, w dużej mierze związane z dietą populacji.

2. Czynniki ryzyka

Różnice w częstości występowania raka żołądka na świecie wynikają głównie z narażenia na modyfikowalne czynniki. Widać to w przypadku migracji populacji z rejonów o dużej częstości, u których po zmianie miejsca zamieszkania częstość występowania nowotworu zmniejsza się[5].

Spośród licznych czynników ryzyka o potwierdzonym znaczeniu, najbardziej istotne z punktu widzenia populacji europejskiej wydaje się zakażenie *Helicobacter pylori*[6], oraz dieta[7], która przy szerokim spadku częstości narażenia na produkty tytoniowe zdaje się uzyskiwać miano najistotniejszego czynnika karcinogennego.

Przewlekła infekcja *H. pylori* wywołuje stan zapalny błony żołądka doprowadzając do wtórnej atrofii, a następnie metaplastji jelitowej co około sześciokrotnie zwiększa ryzyko zachorowania[8]. Zależność pomiędzy zakażeniem *H. pylori*, a rakiem żołądka wydaje się niepodważalna i została udowodniona w licznych badaniach, zarówno populacyjnych[9], gdzie oceniano korelacje pomiędzy częstości infekcji *H. pylori*, a rakiem żołądka jak i w badaniach klinicznych, gdzie stwierdzano zmniejszenia ryzyka zachorowania po eradykacji tego patogenu[10]. Dodatkowo wydaje się, że istnieją interakcje pomiędzy infekcją *H. pylori*, a dietą, ponieważ zwiększona podaż soli kuchennej potęguje to ryzyko[11]. Zakażenie *H. pylori* jest relatywnie łatwo modyfikowalnym czynnikiem ryzyka, a jego eradykacja jest możliwa przy zastosowaniu odpowiednich sekwencji antybiotyków. Odpowiednio wczesna eradykacja tego patogenu z układu pokarmowego zdaje się zmniejszać ryzyko raka żołądka [12]. Problemem pozostaje jednak diagnostyka, która, jakkolwiek możliwa i skuteczna, jest ograniczona z uwagi na jej na koszty, a ew. program skryningowy w rejonach o relatywnie niskiej częstości choroby

związanej z H. pylori nie byłby akceptowalny. Istnieją jednak przesłanki, że takie postępowanie może być skuteczne i zasadne w pewnych sytuacjach klinicznych[13].

Równie istotnym czynnikiem ryzyka jest dieta, która, podobnie do częstości infekcji H. pylori, charakteryzuje się dużą zmiennością geograficzną[14]. Najistotniejsze znaczenie wydaje się mieć nadmierne spożycie soli kuchennej oraz narażenie na nitrozaminy[15]. Sól w przeszłości była wykorzystywana do konserwowania potraw, co może wyjaśniać zmniejszenie się częstości raka żołądka po wprowadzeniu nowych form konserwacji żywności, jak również częstsze występowanie tego nowotworu w populacjach, gdzie tradycja nadal nakazuje spożywanie potraw w których proces technologiczny zakłada wykorzystanie dużej ilości soli.

W podobnym mechanizmie ryzyko raka żołądka zwiększają nitrozaminy, które w wysokim stężeniu znajdują się w smażonym i wysoce przetworzonym mięsie. Ta forma żywności jest nadal bardzo popularna w populacji zachodniej, stąd, przy globalnym zmniejszaniu zużycia soli kuchennej, tego typu potrawy mogą być teraz jednym z wiodących czynników ryzyka raka żołądka. W przeciwieństwie jednak do programu wykrywania i eradykacji H. pylori, interwencje mające na celu zmianę populacyjnych nawyków żywieniowych są trudne i bardzo czasochłonne.

Do innych czynników o udowodnionym wpływie na częstość występowania raka żołądka można wymienić otyłość[16] i palenie papierosów[17], infekcję wirusem Epsteina-Barra[18] oraz uprzednie operacje żołądka[19]. W populacji europejskiej, szczególnie otyłość wynikająca ze złych nawyków żywieniowych, zdaje się być czynnikiem mającym istotny wpływ na zarówno ten, jak i wiele innych nowotworów.

Profilaktyka pierwotna, a więc interwencje mające na celu zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotworu, jest trudna. Wydaje się, że interwencje zmierzające ku poprawie nawyków żywieniowych cechują się pewną skutecznością. Wprowadzenie do diety większej ilości owoców i warzyw, jak również błonnika zmniejsza ryzyko wystąpienia choroby[20], [21]. Podobnie stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) zdaje się zmniejszać to ryzyko[22]. Problemem z szerokim stosowaniem NLPZ jest jednak profil działań niepożądanych tych leków, który uniemożliwia taką profilaktykę.

Skryning populacyjny raka żołądka, polegający na wykonywaniu gastrokopii lub badania kontrastowego górnego odcinka przewodu pokarmowego, nie ma uzasadnienia w populacjach z relatywnie niskim ryzykiem wystąpienia tego nowotworu, takich jak Polska[23]. Programy te są jednak rutynowo stosowane w populacjach charakteryzujących się wysokim ryzykiem, takich jak Japonia, Korea czy Wenezuela. Brakuje co prawda danych z dużych, populacyjnych badań

potwierdzających zmniejszenie śmiertelności wywołanej rakiem żołądka w wyniku skryningu, jednakże liczne analizy wykazały, pośrednio, zasadność takiego postępowania[24], [25]. Screening w populacji europejskiej powinien być prowadzony w narażonych populacjach o wysokim ryzyku wystąpienia raka żołądka. Dotyczy to pacjentów z potwierdzonymi w przeszłości gruczolakami żołądka, niedokrwistością złośliwą i pewnymi chorobami genetycznymi, takimi jak rodzinna polipowatość gruczolakowata, zespół Lyncha czy Peutza-Jeghersa

3. Biologia raka żołądka

Najczęściej występującym typem nowotworu żołądka jest gruczolakorak, będący przedmiotem niniejszego opracowania. Istnieją różne systemy klasyfikacji tego nowotworu, których przydatność z punktu widzenia współczesnej onkologii klinicznej ustępuje pola klasyfikacjom opartym na genetycznej i molekularnej analizie.

Ważny, chociaż, rzadko stosowany w Polsce to podział na wczesnego i zaawansowanego raka żołądka zaproponowany przez japońskich badaczy[26]. Z uwagi na różnice w epidemiologii oraz funkcjonowanie programów skryningu w populacji japońskiej, rak żołądka w zdecydowanie większym odsetku niż w populacjach europejskich jest wykrywany na bardzo wczesnych etapach. W definicji japońskiej wczesny rak żołądka (ECG, early gastric cancer) to nowotwór ograniczony do błony śluzowej i podśluzowej (TNM pT1), z dowolny statusem lokalnych węzłów chłonnych. Nowotwory te charakteryzują się bardzo dobrym rokowaniem, z odsetkiem przeżyć całkowitych dochodzącym do 90% po 10 latach obserwacji, jak również możliwością przeprowadzenia radykalnego leczenia endoskopowego w wyselekcjonowanej populacji.

4. Klasyfikacja Laurena

W klasyfikacji zaproponowanej w 1965 roku przez Laurena[27], gruczolakoraki żołądka można podzielić na 2 podtypy – gruczolowy oraz rozlany. Chociaż klasyfikacja ta nie jest już uwzględniona w najnowszych wytycznych WHO[28], to niewątpliwie pozwala uchwycić pewne istotne różnice w biologii nowotworu i naturalnym przebiegu choroby. W przypadku podtypu gruczolowego komórki ściśle przylegają do siebie i tworzą struktury o charakterze cewek lub gruczolów, a w przypadku podtypu rozlanego komórki rakowe nie przylegają do siebie i mogą bezpośrednio wnikać w sąsiednie tkanki. Te różnice wynikają głównie z zaburzenia adhezji międzykomórkowej związanej z utratą funkcji genu *CDH1* kodującego E-kadherynę w nowotworach o typie rozlanym[29]. W przypadku podtypu gruczolowego wydaje się, że najważniejszym czynnikiem etiologicznym jest zakażenie *H. pylori*[30], które rozpoczyna kaskadę zaburzeń genetycznych i molekularnych prowadząca do powstania raka. Poza ewidentnymi

różnicami morfologicznymi, raki o typie rozlanym charakteryzują się gorszym rokowaniem, częściej występują u kobiet oraz we wcześniejszym wieku. Dodatkowo rzadziej w tym podtypie wykrywana jest nadekspresja HER2 (16% przypadków w typie jelitowym i 7% w typie rozlanym) [31].

5. Klasyfikacja genetyczna

Rozwój technik analizy genetycznej udowodnił, że rak żołądka, podobnie zresztą jak wiele innych nowotworów potocznie traktowanych jako choroby narządowe, nie jest w istocie homogenicznym rozpoznaniem. W ramach analizy The Cancer Genome Atlas (TCGA)[32] wydzielono w ramach raka żołądka cztery niezależne podgrupy : stabilną genetycznie (20% przypadków), niestabilną chromosomalnie (50%), rak z niestabilnością mikrosatelitarną (22%) oraz rak związany z infekcją wirusem Epsteina-Barra (9%). W przypadku raka stabilnego genetycznie obserwowano częściej postać rozlaną oraz położenie w dystalnym odcinku żołądka. Najczęstsza mutacją była mutacja *CDH1* obecna w 37% przypadków. Niestabilny chromosomalnie rak żołądka częściej obserwowany był w obszarze przejścia przełykowo-żołądkowego i zbliżony był histopatologicznie do postaci gruczołowej według klasyfikacji Laurena. W tym przypadku częściej obserwowano aneuploidię licznych chromosomów oraz mutacje w zakresie genu *TP53*, jak również nadekspresję receptora HER2. W przypadku postaci z niestabilnością mikrosatelitarną wynikającą z uszkodzenia genów naprawy źle sparowanych zasad (MMR, ang. mismatch repair) obserwowano dużą liczbę mutacji. Nowotwory te częściej pojawiały się w części przedodźwiernikowej i były rozpoznawane u osób młodszych. Ostatnia podgrupa to raki żołądka związane z infekcją wirusem Epsteina-Barra, które częściej obserwowane były w trzonie i dnie żołądka oraz wiązały się z lepszym rokowania. Klasyfikacja zaproponowana w ramach TCGA jest bardzo istotnym krokiem w zrozumieniu etiopatogenezy raka żołądka, aczkolwiek nie ma istotnego znaczenia w codziennej praktyce onkologicznej.

6. Klasyfikacja WHO

Aktualnie obowiązująca klasyfikacja WHO z 2019 roku obejmuje kilka głównych podtypów raka żołądka, które w pewnym zakresie korelują z klasyfikacją Laurena. Typ gruczołowy i cewkowy odpowiada typowi jelitowemu, a poorly cohesive carcinoma (PCC) - rozlanemu. Poza tym zawarto w tej klasyfikacji kilka innych kategorii dla rzadszych wariantów raka. Wadą klasyfikacji WHO jest próba usystematyzowania nowotworów opierająca się głównie na kryteriach patomorfologicznych. W erze leczenia ukierunkowanego molekularnie oraz immunoterapii wydaje się, że żadna klasyfikacja nowotworów nie będzie kompletna bez

zwrócenia szczególnej uwagi na zaburzenia molekularne i genetyczne, które stanowią podstawę wykorzystania terapii celowanych.

7. Receptor HER2

Nadekspresja białka HER2, oceniana jako HER2 3+ w badaniu immunohistochemicznym (IHC) lub wysoka amplifikacja genu HER2 w badaniu FISH (fluorescent in-situ hybridization) występuje u 10-20% pacjentów z rakiem żołądka [33], [34]. Ekspresja receptora HER2 w raku żołądka charakteryzuje się dużą heterogennością i może być powodem wyników fałszywie ujemnych w przypadku niereprezentatywnej objętości tkanki nowotworowej poddawanej ocenie. Dotyczy to szczególnie materiału uzyskanego z biopsji guza pierwotnego, który w przypadku uogólnienia procesu nowotworowego może być jedynym dostępnym materiałem [35]. W tym przypadku, przy nieadekwatnej ilości pobranych wycinków (≤ 5) [36], rozbieżność może być istotna i dochodzić do 9% [37]. Mając na uwadze istotną korzyść uzyskiwaną z leczenia skierowanego przeciw receptorowi HER2 uzasadnione jest powtarzanie biopsji na dalszych liniach leczenia u pacjentów wyjściowo HER2 ujemnych [38]. W Polsce leczenie anty-HER2 jest jednak refundowane wyłącznie w ramach 1. linii leczenia zaawansowanego, HER2-dodatniego raka żołądka.

8. Ekspresja PD-L1

Immunoterapia już dzisiaj jest bardzo istotnym elementem terapii onkologicznej, a wszystko wskazuje, że jej rola, również w leczeniu raka żołądka, będzie szybko rosła. Niedawno opublikowane wyniki badania CheckMate 649 [39] pokazały, że dołączenie niwolumabu (przeciwciała anty-PD1) do standardowej chemioterapii wiąże się z 30% zmniejszeniem względnego ryzyka zgonu w populacji chorych ze wskaźnikiem CPS ≥ 5 , co stanowi około 60% chorych. Pomimo tego istnieją pewne kontrowersje w zakresie definicji optymalnych predykcyjnych czynników dla tej formy leczenia. Jako przydatne parametry predykcyjne wskazujące na potencjalną korzyść z immunoterapii wymienia się uszkodzenie genów naprawy DNA (MMR, mismatch repair) wiążące się z wysokim poziomem niestabilności mikrosatelitarnej (MSI, microsatellite instability) oraz ekspresję PD-L1 (Programmed Death Ligand-1).

Uszkodzenie genów naprawy DNA - dMMR (m.in. *MSH2*, *MLH1*, *PMS2*, *MSH6*) oraz konsekwencja nieprawidłowej funkcji tych genów, czyli wysoki status niestabilności mikrosatelitarnej (MSI-H) wskazuje na wysoką immunogenność komórek nowotworowych i wysoką, spodziewaną aktywność immunoterapii [40]. Ocena stanu genów MMR ma szczególne

znacznie w przypadku terapii kolejnych linii, gdzie badania wykazały na wysoką skuteczność immunoterapii w przypadku pacjentów z dMMR niezależnie od rodzaju nowotworu[41].

W przypadku raka żołądka istotne jest również oznaczenie statusu ekspresji PD-L1 oraz pochodnego parametru CPS (Combined Positive Score)[42], który poza ekspresją PD-L1 na komórkach nowotworowych uwzględnia również ekspresję tego białka na komórkach limfocytów i makrofagów. Wysoka ekspresja CPS jest warunkiem niezbędnym dla stosowania immunoterapii w pierwszej linii leczenia raka żołądka.

9. Leczenie uogólnionego raka żołądka

Ogromny postęp jaki się dokonał w ciągu ostatnich dwóch dekad w zakresie leczenia raka żołądka na wszystkich jego stopniach zaawansowania jest bezdyskusyjny. W podręczniku onkologii klinicznej [43] wydanym w 1985 roku temu tematowi poświęcono dwa zdania „(...) Są to nowotwory całkowicie promieniooporne i wszelkie próby w tym zakresie zawiodły. Leczenie środkami chemicznymi, jak dotąd (1982 – przyp. doktoranta), nie przyniosły istotnych rezultatów – poza przejściową poprawą uzyskiwaną w części przypadków leczonych 5-fluorouracylem (...)”

Aktualnie ilość opcji terapeutycznych jest nieporównywalnie większa, ale w przypadku uogólnienia raka żołądka lub jego permanentnej nieoperacyjności, pozostaje on choroba nieuleczalną. Celem paliatywnego leczenia systemowego jest wydłużenie czasu przeżycia całkowitego (OS, overall survival) oraz poprawa jakości życia. W ciągu ostatnich kilku dekad udało się poprawić rokowanie chorych na zaawansowanego raka żołądka o połowę z medianą OS wynoszącą około 11 miesięcy. [39], jednak nadal wyniki te są dalece niesatysfakcjonujące, w porównaniu chociażby do postępu jaki się dokonał w tym samym okresie w przypadku zaawansowanego raka jelita grubego.

W momencie pisania niniejszego opracowania obowiązującym standardem paliatywnej chemioterapii jest stosowanie schematu dwulekowego opartego o pochodne platyny i fluoropirymidyny. Biorąc pod uwagę kwestie toksyczności i wygody dla pacjentów optymalne wydaje się stosowanie schematów XELOX (oksaliplatyna, kapecytabina) lub FOLFOX (oksaliplatyna, 5-fluorouracyl). W każdym przypadku konieczna jest też ocena odpowiednich czynników predykcyjnych, aby w razie ich obecności do powyższego dubletu dodać przeciwciało anty-HER2 – trastuzumab, lub anty-PD-1 – niwolumab. Na chwilę obecną, w polskich warunkach refundacyjnych niwolumab w pierwszej linii raka żołądka nie jest dostępny, a stosowanie trastuzumabu jest ograniczone przez zapisy programu lekowego Narodowego

Funduszu Zdrowia. Program lekowy umożliwi bowiem zastosowanie trastuzumabu jedynie w połączeniu z wysoce toksyczną, dwulekową chemioterapią, która może nie być optymalna w przypadku pacjentów z suboptymalnym stanem ogólnym.

Leczenie onkologiczne nigdy nie może być uznane za kompleksowe, jeżeli poza przeciwnowotworowym leczeniem systemowym nie będzie również obejmować postępowania wspomagającego. Rak żołądka, z uwagi na swój charakter i umiejscowienie, już na wczesnych etapach choroby może być powodem wystąpienia niedożywienia i poważnych zaburzeń natury psychologicznej. Z tego powodu niezmiernie istotne jest holistyczne podejście do pacjenta oraz stosowanie odpowiednich interwencji żywieniowych i psychologicznych o charakterze i intensywności dopasowanej do aktualnej sytuacji klinicznej. Udowodniono to, co zresztą nie powinno budzić zdziwienia, w badaniu na grupie 328 pacjentów z zaawansowanymi nowotworami górnego odcinka przewodu pokarmowego. Włączenie odpowiednio wcześniej dostosowanych do pacjenta interwencji w zakresie żywienia, jak również optymalnej opieki psychologicznej zaowocowało istotną poprawą czasu przeżycia całkowitego (14,8 vs 11,9 miesięcy, HR 0,68, 95% CI 0,51-0,9)[44]. Podobna skala poprawy OS obserwowana jest w badaniach nad najnowszymi strategiami leczenia chorych na raka żołądka, jednak koszt tych nowych terapii jest nieporównywalnie większy niż nawet najlepszego postępowania wspomagającego.

Pomimo olbrzymiego postępu w zakresie zarówno zrozumienia biologicznych podstaw raka żołądka, jak i ilości dostępnych opcji terapeutycznych, chemioterapia nadal pozostaje podstawową formą leczenia tego nowotworu i jest rutynowo stosowana u każdego pacjenta, który kwalifikuje się do leczenia systemowego.

Należy podkreślić, że autor cytowanego powyżej podręcznika onkologii klinicznej z 1985 roku nie mylił się co do 5-fluorouracylu (5-FU). Dzisiaj, po 40 latach, lek ten, jak i pozostałe pochodne z grupy fluoropirymidyn są nadal rutynowo wykorzystywane w terapii chorych na raka żołądka, aczkolwiek skuteczność tej grupy leków w monoterapii jest umiarkowana. W najstarszej (1962 r.), dostępnej autorowi publikacji dotyczącej wykorzystania 5-FU w leczeniu raka żołądka[45], opisano stosowanie tego leku u 250 pacjentów leczonych w Instytucie Eksperymentalnej i Klinicznej Onkologii Akademii Nauk Medycznych ZSRR. Autorzy stwierdzili wówczas, że dobre efekty, definiowane jakościowo jako regresja guza (bez podania skali tej regresji) i poprawa stanu ogólnego, była obserwowana u 50% pacjentów, a czasy przeżycia w grupie pacjentów z chorobą uogólnioną wyniosły 4-6 miesięcy. Niezwykły, z dzisiejszego punktu widzenia, był schemat dawkowania stosowanych w tamtym badaniu – pacjenci otrzymywali 15

mg/kg (maksymalna dawka 1 gram) 5-FU dziennie przez 4-5 dni, następnie 50% tej dawki co drugi dzień do momentu wystąpienia pierwszych działań niepożądanych.

Doustne pochodne fluoropirymidyn, takie jak kapecytabina i, niedostępny w Polsce, S-1, charakteryzują się podobną skutecznością [46], [47], która w najbardziej aktualnych badaniach oznacza mediany OS na poziomie około 9 miesięcy. Przy zbliżonej skuteczności do 5-fluorouracylu, leki te charakteryzują się jednak wyższą wygodą dla pacjentów, gdyż z uwagi na swoją doustną formę nie są konieczne przedłużone wlewy dożylnie.

Dane dotyczące skuteczności monoterapii dostępne są również dla innych cytostatyków, takich jak docetaksel [48] i irynotekan [49]. Leki te, jakkolwiek o udowodnionej skuteczności i potwierdzonym wpływie na czas przeżycia rzadko są stosowane w formie monoterapii w pierwszej linii leczenia uogólnionego raka żołądka. Można je natomiast rozważyć jako samodzielne leczenie u pacjentów w gorszym stanie ogólnym, lub jako opcja na dalszych etapach terapii.

Kolejnym znaczącym krokiem w ewolucji systemowego leczenia raka żołądka było zastosowanie chemioterapii wielolekowej. Celem takiego postępowania jest uzyskanie synergistycznych korzyści bez proporcjonalnego wzrostu toksyczności. Przez lata zostało przetestowanych wiele kombinacji. W opublikowanej w 1979 roku pracy przeglądowej [50] opisano niezadowalające efekty leczenia schematem FAMT (5-FU, cyklofosfamid, mitomycyna C, chromomycyna A). Schemat, niewątpliwie bardzo toksyczny, łączył się z medianami OS na poziomie 9 miesięcy, a więc zbliżonych do tych jakie współcześnie uzyskuje się przy pomocy monoterapii. Dodatkowo autorzy analizowali tam tylko pacjentów, którzy mieli leczenie podawane przez co najmniej 4 miesiące. Ten brak zastosowania zasady ITT (intention to treat) mógł dodatkowo sztucznie wydłużyć obserwowane czasy przeżycia. Choć pierwsze próby skojarzenia leków cytotoksycznych nie były zadowalające, to dzisiaj wiadomo, że polichemioterapia jest skuteczną i bezpieczną opcją terapeutyczną w uogólnionym raku żołądka.

Współcześnie wydaje się, że najistotniejszy synergizm uzyskuje się ze skojarzenia 5-fluorouracylu i pochodnych platyny, które po raz pierwszy wykorzystano w medycynie w 1978 roku.

Wszystkie opracowane kombinacje obu grup leków (cisplatyna/oksalipatyna, 5-FU/kapecytabina) charakteryzują się podobną skutecznością, co pośrednio wykazano w przełomowym badaniu Cunninghama z 2008 roku [51]. Porównano w nim 4 najczęściej stosowane w tym okresie schematy oparte albo o oksalipatynę (EOX – epirubicyna,

oksalipłaty, kapecytabina, EOF – epirubicyna, oksalipłaty, 5-FU) albo cisplatinę (ECX – epirubicyna, cisplaty, kapecytabina, ECF – epirubicyna, cisplaty, 5-FU). Mediany OS wyniosły 9,9 miesiąca, 9,9 miesiąca, 9,3 miesiąca oraz 11,2 miesiąca, odpowiednio dla ECF, ECX, EOF i EOX. Trend w kierunku poprawy OS w przypadku schematu EOX nie był jednak istotny statystycznie. Na podstawie tego oraz późniejszych badań wydaje się, że dublet zawierający oksaliplatinę i kapecytabinę jest optymalny z punktu widzenia zarówno skuteczności, jak i wygody dla pacjenta.

W prezentowanym powyżej badaniu Cunninghama porównywano różne schematy trójlekowe na których przez pewnie czas opierało się leczenie uogólnionego raka żołądka. W przypadku schematu ECF wczesne badania porównujące go ze schematem FAMTX (5-FU, doksorubicyna, metotreksat) wykazały jego wyższą skutecznością (OS 8,9 vs 5,7 miesięcy)[52]. W tym przypadku korzyść wynikała jednak najprawdopodobniej z zastosowania cisplatiny, a nie kombinacji trójlekowej z epirubicyną, w przypadku której, późniejsze metaanalizy wykazały brak istotnej aktywności w raku żołądka. Inaczej sprawa ma się z chemioterapią DCF/mDCF, innym popularnym schematem z tego okresu, gdzie wszystkie, zastosowane w tym schemacie, leki mają udowodnioną aktywność w odniesieniu do raka żołądka i zawierają się w aktualnym standardzie leczenia tego nowotworu. W badaniu TAX-325 porównującym schemat trójlekowy (docetaksel, cisplaty, 5-FU) z dwulekowym (cisplaty, 5-FU) wykazano istotne wydłużenie OS po zastosowaniu schematu trójlekowego jednak kosztem wysokiej toksyczności [53]. Niestety dalsze badania kliniczne i metaanalizy nie potwierdziły, żeby zastosowanie tak agresywnego leczenia systemowego prowadziło do istotnej poprawy rokowania chorych na zaawansowanego raka żołądka i na dzisiaj optymalnym postępowaniem w leczeniu paliatywnym pozostają schematy dwulekowe[54].

Podobnie jak w przypadku wielu innych nowotworów, również w leczeniu raka żołądka próbuje się optymalizować i personalizować leczenie systemowe, poprzez zmniejszanie roli nieswoistego leczenia opartego na chemioterapii na rzecz terapii ukierunkowanych na zdefiniowane cele molekularne. Istotnymi biomarkerami używanymi w tej sytuacji, jak już wcześniej wspomniano, są receptory HER2 oraz PD-L1, jak również niestabilność mikrosatelitarna (MSI).

W przypadku 10-20 % chorych na uogólnionego raka żołądka, u których stwierdza się nadekspresję receptora HER2 postępowaniem z wyboru w ramach 1. linii leczenia jest skojarzenie standardowej chemioterapii z przeciwciałem anti-HER2 – trastuzumabem. Korzyść z zastosowania takiej terapii udowodniono w badaniu III fazy TOGA, gdzie w grupie 692 chorych

dołączenie do standardowej chemioterapii trastuzumabu pozwoliło na poprawę OS o 26 % (HR 0,74, 95% CI 0,60-0,91)[55].

Największą innowacją ostatnich lat jest wprowadzenie immunoterapii opartej o inhibitory punktów kontrolnych do pierwszej linii leczenia raka żołądka. Upřednio ta forma terapii stosowana była sporadycznie w późniejszych liniach leczenia, w przypadku potwierdzenia uszkodzenia genów naprawy DNA (dMMR/MSI-H). Leczenie to, w literaturze anglojęzycznej nazywane agnostycznym, charakteryzowało się wysoką skutecznością i przy zastosowaniu monoterapii pembrolizumabem umożliwiało uzyskanie klinicznie istotnych odpowiedzi nawet u silnie przeleczonych pacjentów (ORR 45,8 % (25,6% to 67,2%)). Zasadność stosowania immunoterapii w pierwszej linii leczenia raka żołądka potwierdziło badanie CheckMate 649[39], w którym skojarzenie klasycznej chemioterapii dwulekowej z przeciwciałem anti-PD1 (niwolumab), poprawiło znamienne OS o około 30% (HR 0,71 95%CI 0,59-0,86) przy medianach OS 11,1 miesiąca (chemioterapia) i 14,4 (chemioterapia+niwolumab) Korzyść z zastosowanego leczenia ograniczała się do pacjentów z wyjściową ekspresją CPS >5, co odpowiadało ok 60% populacji. Jakkolwiek terapia ta charakteryzowała się wyższą toksycznością niż samodzielna chemioterapia (CTC AE G3 59 vs 44%) to zasadność zastosowania tego leczenia w praktyce klinicznej wydaje się bezdyskusyjna.

Należy jednak zwrócić uwagę, że dostępne wyniki badań wskazują, iż immunoterapia w przypadku raka żołądka wydaje się być mniej aktywna niż w klasycznych nowotworach immunogennych, takich jak czerniak, rak urotelialny czy rak nerki. W badaniu Keynote 062, gdzie porównano skuteczność immunochemioterapii z chemioterapią i samodzielną immunoterapią, nie wykazano znamiennej poprawy OS w ramieniu z immunochemioterapią w porównaniu do samej chemioterapii (HR 0,85, 95% CI, 0,70-1,03)[56].

10. Podłoże immunologiczne raka żołądka

Układ immunologiczny ma wpływ zarówno na powstawanie nowotworów, jak również ich dalszy przebieg. Mimo, że stwierdzenie to nie budzi wątpliwości, nadal nie udało się jednoznacznie określić i zdefiniować charakteru tej zależności. Pewnym jest jednak, że stan zapalny ma wpływ na każdy etap karcynogenezy – od inicjacji, przez transformację nowotworową, początek inwazji miejscowej, do przerzutowania [57]. Układ immunologiczny, będący niewątpliwie współodpowiedzialny za postęp karcynogenezy, w równym stopniu jej przeciwdziała. Obecne na komórkach nowotworowych specyficzne antygeny nowotworowe (TSA, tumor-specific antigen) oraz znajdujące się również w zdrowych komórkach antygeny związane z nowotworem (TAA, tumor associated antygen), których nadekspresja wywołana jest

mutacjami zachodzącymi w kolejnych etapach karcynogenezy, są wylapywane i rozpoznawane przez komórki dendrytyczne[58]. Następnie antygeny te prezentowane są w węzłach chłonnych dziewiczym limfocytom T CD4+ i CD8+, które odpowiedzialne są za etap efektorowy antygenowo-swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej [59]. Zaproponowano, że ucieczka komórek spod nadzoru immunologicznego przebiega w mechanizmie immunoedycji [60]. W fazie eliminacji układ odpornościowy niszczy powstające komórki nowotworowe. W fazie równowagi wystarczająca ilość komórek guza pozostaje, aby zachować jego wielkość, ale nie zachodzi dalsza progresja. Niezamierzenie, układ odpornościowy niszczy wtedy głównie bardziej immunogenne komórki guza, pozostawiając te, które w mniejszym stopniu rozpoznawane będą na dalszych etapach karcynogenezy. W fazie ucieczki komórki niewrażliwe na naturalne mechanizmy obronne organizmu proliferują i naciekają sąsiednie tkanki, a wreszcie rozsiewają się. Komórki guza mogą unikać nadzoru immunologicznego w różnych mechanizmach. Poprzez zmniejszanie ekspresji TSA i TAA na powierzchni, zmniejszają swoją widoczność dla komórek dendrytycznych[61]. Mogą również doprowadzać do zahamowania funkcji układu odpornościowego przez wydzielanie odpowiednich cytokin o działaniu immunosupresyjnym [62]. Komórki guza mogą również blokować limfocyty T w mechanizmie swoistym, przez ekspresję na swojej powierzchni białka PD-L1. Białko to, łącząc się receptorami PD-1 na limfocytach doprowadza do neutralizacji potencjału cytotoksycznego limfocytów T CD8+ [63].

Rola układu odpornościowego i związanego z nim stanu zapalnego nie kończy się na etapie ucieczki nowotworu spod kontroli układu immunologicznego. Na dalszych etapach karcynogenezy przetrwały stan zapalny, na przykład związany z infekcją H. pylori zwiększa tempo proliferacji[64]. Na etapie inwazji komórek nowotworu na sąsiednie tkanki nadekspresja prozapalnej metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej typu 9 (*MMP-9*), enzymu degradującego typ IV kolagenu, istotnie ułatwia naciekanie sąsiednich struktur[65]. Podobnie w przypadku angiogenezy, elementu w kaskadzie karcynogenezy, istotny jest w niej udział układu odpornościowego. Podczas ostrej fazy reakcji zapalnej pobudzone przez VEGF (vascular endothelial growth factor) komórki śródbłonna naczyniowego umożliwiają szybsze przechodzenie przez nie monocytów i makrofagów, które wydzielając cytokiny prozapalne (TNF- α , IL1b, IL-6) indukują tworzenie nowych naczyń krwionośnych[66].

11. Markery morfologiczne stanu zapalnego

Biorąc pod uwagę, że różne komórki układu odpornościowego w odmienny sposób wpływają na karcynogenezę, ocena interakcji pomiędzy nimi może dostarczać istotnych informacji dotyczących ich roli w zaawansowanej chorobie nowotworowej [67]

Neutrofile są uważane za główny element stanu zapalnego. W nowotworach ich wysoki poziom uważany jest za negatywny czynnik prognostyczny. Wytwarzana przez nie elastaza, enzymem degradujący elastynę, promuje inwazję komórek nowotworowych, angiogenezę i proliferację [68]. Neutrofile odpowiadają też za supresję limfocytów T poprzez ekspresję PD-L1 [69].

Udowodniono, że wysoki poziom krążących limfocytów, jak również obecnych w tkance guza, koreluje z lepszym rokowaniem. Limfocyty CD8+, wzbudzone i aktywowane przez komórki prezentujące antygen, odpowiadają za bezpośrednie niszczenie komórek nowotworowych [70]. Limfocyty CD4+, poza pobudzaniem limfocytów T, aktywują również makrofagi i limfocyty NK oraz zwiększają immunogenność nowotworów [71]

12. Przesłanki do podjęcia badań

Analizy przeprowadzone w ramach omawianego cyklu publikacji opierały się na założeniu, że parametry morfotyczne oceniane w rutynowym badaniu morfologii krwi obwodowej mogą odzwierciedlać stan układu immunologicznego u chorego na zaawansowanego raka żołądka. Dostępne dane literaturowe potwierdzają istnienie takich zależności w odniesieniu do neutrofilów [72], limfocytów [73], jak również płytek krwi [74] u pacjentów z różnymi nowotworami.

Morfologia krwi obwodowej jest rutynowo wykonywana przed rozpoczęciem każdego cyklu leczenia cytotoksycznego. Liczne badania udowodniły jednoznacznie, że parametry uzyskane w tym badaniu, poza niewątpliwą wartością wynikającą z oceny bezpieczeństwa terapii, są również skorelowane z czasem przeżycia pacjentów.

Poza podstawowymi parametrami, takimi jak liczba neutrofilów czy limfocytów, w analizach przeprowadzonych przez inne grupy badawcze wykorzystywano również stosunki tych parametrów. Postępowanie takie ma na celu zwiększenie wartości prognostycznej markera przez porównanie dwóch parametrów o przeciwstawnym wpływie. W literaturze przedmiotu znajdują się liczne pochodne parametry, takie jak: stosunek neutrofilów do limfocytów [75] (NLR, neutrophil to lymphocyte ratio), płytek krwi do limfocytów [76] (PLR, platelets to lymphocytes ratio), hemoglobiny do płytek krwi [77] (HPR, hemoglobin to platelets ratio) czy objętości płytek do ich liczby [78] (PVPR, platelets volume to platelets ratio). Z uwagi na brak jednej, uznanej nazwy dla tych parametrów, w niniejszej publikacji przyjęto dla takich parametrów termin „markery stanu zapalnego”

NLR jest chyba najbardziej znanym z tych markerów. Dobór parametrów ma tutaj pozwolić na ocenę dwóch przeciwstawnych zjawisk; liczba limfocytów odnosi się do antygenowo-swoistej

odpowiedzi (komórkowej i humoralnej), a liczba neutrofilii odzwierciedla stan antygenowo-nieswoistych mechanizmów immunologicznych. Dokładność tego markera oceniono w licznych badaniach, jak również w agregujących je metaanalizach. W jednej z nich oceniono, w grupie 3357 pacjentów z rakiem nerkowokomórkowym, że wysoki poziom wyjściowego NLR przekładał się na istotnie krótszy OS (HR = 1,82; 95%CI 1,51-2,19)[72].

Pozostałe markery są zdecydowanie mniej popularne, a dane dotyczące ich dokładności, poza PLR[79], szcążkowe, jednakże wszystkie opierają się na podobnej zasadzie. Jeżeli przyjąć, że różne parametry morfotyczne związane są z nietożsamymi elementami kaskady procesu zapalnego, to mogą one uzupełniać NLR.

IV CEL PRACY

Celem poniższych publikacji była próba określenia nowych i weryfikacja znanych czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na zaawansowanego raka żołądka. Pomimo olbrzymiego postępu, który nastąpił w ostatnich latach, rak żołądka pozostaje chorobą o bardzo złym rokowaniu, a stosowane w nim terapie charakteryzują się dużą toksycznością. Stąd możliwość określenia rokowania przed rozpoczęciem leczenia, jak również zdefiniowanie ryzyka niepowodzenia już po jego rozpoczęciu są niezmiernie istotne z punktu widzenia życia i zdrowia pacjentów.

Przedstawiona praca stanowi cykl dwóch publikacji, których celem była analiza markerów stanu zapalnego ocenianych w badaniu morfologii krwi obwodowej oraz zastosowanie tak zebranych informacji, jako łatwo dostępnego narzędzia służącego ocenie ryzyka niepowodzenia leczenia systemowego u chorych onkologicznych.

W pierwszej publikacji analizowano czynnik prognostyczne przed rozpoczęciem chemioterapii. Celem artykułu "Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients" była analiza wyjściowych wartości parametrów morfotycznych we krwi obwodowej, a następnie ocena ich korelacji z czasem przeżycia całkowitego i czasem wolnym od progresji. W analizie wykorzystano takie markery stanu zapalnego jak NLR, PVPR, PLR, HPR oraz PDW (platelets distribution width). Celem pracy była również ocena współzależności pomiędzy tymi czynnikami oraz po potwierdzeniu braku współliniowości, próba ich łącznego zastosowania.

W drugiej publikacji „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer” analizowano dynamikę zmian poziomu płytek krwi w pierwszych 12 tygodniach leczenia systemowego. Celem tej publikacji było weryfikacja czy głębokość spadku liczby płytek krwi pod wpływem chemioterapii może być uznany za pozytywny czynnik predykcyjny oraz czy zastosowanie takiego parametru w praktyce jest uzasadnione z klinicznego punktu widzenia.

V MATERIAŁY I METODY BADAWCZE

1. Materiał

Badania przeprowadzone w ramach niniejsza pracy miały charakter retrospektywny i zostały zaakceptowane przez komisję bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego. Badania zostały przeprowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską. Uzyskanie zgody świadomej nie było wymagane z uwagi na retrospektywny charakter badania. Analizowani byli wszyscy pacjenci leczeni z powodu uogólnionego lub nieoperacyjnego raka żołądka w Oddziale Klinicznym Onkologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w latach 2012 - 2019. Z wyjściowej grupy 526 pacjentów z rozpoznaniem rakiem żołądka do dalszej analizy wybrano 155 pacjentów z rozpoznaniem choroby zaawansowanej (rozsianej lub nieoperacyjnej). Mediana OS wyniosła 10,6 miesiąca, a czas mediana PFS - 5,5 miesiąca. Dane dotyczące wyjściowej charakterystyki pacjentów znajdują się w tabeli 1

Tabela 1. Charakterystyki podstawowe

Zmienna	n	q2 (q1-q3)	min-max
Wiek	155	62 (56-70)	32-82
OS	102	324 (191,25-474)	65-1602
PFS	154	158 (84,75-239)	8-880
NLR	151	3,26 (2,2-5,06)	0,79-13
PVPR	143	0,34 (0,24-0,46)	0,11-1,28
PLR	152	203,21 (139,11-279,42)	52,09-938,24
HPR	154	0,37 (0,27-0,53)	0,10-1,79
PDW	144	11,85 (10,67-13,53)	8,4-20,9
Zmienna	Kategorie	n	%
Płeć	mężczyzna/kobieta	109/46	70,3/29,7
ECOG†	0/1/2/NR	24/92/31/8	15,5/59,4/20/5,2
Stopień złośliwości	1/2/3/4/NR	3/30/78/1/43	1,9/19,4/50,3/0,6/27,7
Ekspresja HER2	0-2/3/NR	85/16/54	54,8/15,8/34/8
Uprzednia terapia radykalna‡	nie/tak/NR	41/114/3	26,5/73,5/1,9
Uprzednia gastrektomia	0/1/NR	87/63/5	56,1/40,6/3,2
Przerzuty (kości)	nie/tak /NR	141/10/4	91/6,5/2,6
Przerzuty (wątroba)	nie/tak /NR	98/52/5	63,2/33,5/3,2
Przerzuty (ilość okolic)	0/1/2/3/NR	21/91/27/10/6	13,5/58,7/17,4/6,5/3,9
Rodzaj chemioterapiiΔ	1/2/3/4*	19/59/62/15	12,3/38,1/40/9,7

Δ – 1-terapia 1-lekowa, 2-terapia 2-lekowa, terapia 3-lekowa, 4-trastuzumab+chemioterapia. ‡ Chemioterapia użyta jako leczenia radykalne przed rozsiewem (np. schemat wg Macdonalda) †- Stan sprawności (Eastern Cooperative Oncology Group) NR-brak danych.

Chemioterapia paliatywna była pierwszym leczeniem systemowym dla 73,5% pacjentów. W przypadku 26,5% wcześniej zastosowano leczenie systemowe jako część leczenia radykalnego. Najczęściej były to radiochemioterapia wg schematu Macdonald lub chemioterapia okołoooperacyjna wg różnych schematów (najczęściej XELOX lub FLOT).

Charakter stosowanej chemioterapii zmieniał się w różnych okresach objętych analizą. W pierwszym okresie (2012- 2015) dominowały schematy trójlekowe (EOX, mDCF), a w drugim okresie (2015-2019) – schematy dwulekowe (głównie XELOX). Mniejszość chorych otrzymała schematy jednolekowe (irynotekan, paklitaksel) w pierwszej linii leczenia, co wynikało nie tyle z obowiązujących wytycznych, co z niezadowolającego stanu sprawności tych pacjentów. U pacjentów z nadekspresją HER2 (10,3%) stosowano schematy leczenia zawierające trastuzumab.

2. Parametry opisowe

Podstawowymi zmiennymi zależnymi w badaniu był czas przeżycia całkowitego oraz czas przeżycia wolny od progresji. W pierwszej publikacji OS definiowano jako czas od rozpoznania uogólnionego procesu nowotworowego do zgonu. W drugiej publikacji przyjęto za definicję OS czas od 1 cyklu chemioterapii do zgonu. Obie te definicje są poprawne, ale w drugim artykule uznano, że przyjęcie za punkt wyjścia analizy OS momentu rozpoczęcia pierwszego cyklu leczenia jest bardziej wiarygodne, ponieważ usuwa dodatkowy czynnik zakłócający jakim jest czas od rozpoznania choroby do włączenia leczenia. Na ten czas może wpływać wiele czynników, także niemiedycznych. PFS definiowany był w obu przypadkach jako czas od początku leczenia do progresji lub zgonu. Jako zmienne niezależne przyjęto wszystkie opisane powyżej markery stanu zapalnego oraz inne czynniki, które wybrano na podstawie dostępnych danych literaturowych, a które mogły mieć wpływ na OS i PFS. Należy tutaj wymienić stan sprawności, oceniany w skali Zubroda (ECOG), stopień złośliwości (grade), rodzaj uprzedniego leczenia radykalnego czy wreszcie rodzaj zastosowanej chemioterapii paliatywnej. Z uwagi na mnogość stosowanych schematów leczenia zmienną tą przyjęto jako kategorię (chemioterapia 1,2,3 lekowa oraz oparta o trastuzumab)

3. Analizy statystyczne

Analizy statystyczne przeprowadzane były w SPSS wersja 27 (IBM corporation, Armonk, NY, USA) oraz w R (Development Core Team, Vienna, Austria, version 4.0.4). Jako poziom

istotności statystycznej przyjęto wartość 0,05. Z uwagi na eksploracyjny charakter badań nie stosowano poprawki dla wielokrotnych testów statystycznych.

Celem wykorzystanych narzędzi było określenie zarówno związku pomiędzy określonymi parametrami określającymi status reakcji zapalnej organizmu, jaki i ich wpływu na czas przeżycia całkowitego i czas wolny od progresji.

Krzywa oceny jakości klasyfikatora (ROC, Receiver Operating Characteristic) została wykorzystana do określenia optymalnej wartości odcięcia badanego parametru zapalnego traktowanego jako wartość ciągła, przy dychotomizowanej medianie czasu przeżycia jako zmiennej stanu. Krzywa ROC jest graficznym przedstawieniem efektywności pewnego modelu predykcyjnego poprzez wykreślenie charakterystyki jakościowej klasyfikatorów binarnych powstałych z modelu przy zastosowaniu wielu różnych punktów odcięcia[80]. Optymalny punkt odcięcia wybierano przy pomocy indeksu Youdena[81]. W przypadku braku istotności statystycznej analizy ROC jako punkt odcięcia przyjmowano medianę wartości danego parametru.

Współczynnik korelacja rang Spearmana[82] została zastosowana do określenia charakteru i nasilenia współzależności pomiędzy różnymi parametrami zapalnymi. Współczynnik ten jest nieparametrycznym odpowiednikiem korelacji Pearsona, określającym charakter monotonicznej zależności pomiędzy zmiennymi losowymi. Może on przyjmować wartość od -1 do 1, gdzie bezwzględna wielkość współczynnika określa siłę korelacji, a znak jej kierunku. Współzależność dychotomizowanych parametrów zapalnych została dodatkowo potwierdzona obliczeniem współczynnika kappa Cohena[83]. Współczynnik ten pozwala na ocenę rzetelności oceny danego parametru przez dwóch niezależnych sędziów. W tym przypadku oceniano czy dany parametr zapalny po kategoryzacji w odmienny sposób przewidywać będzie czas przeżycia. Różnice median zostały porównane przy pomocy testów nieparametrycznych: rang Wilcoxon i Kruskalla-Wallisa.

Analiza przeżycia Kaplana-Meiera została użyta do obliczenia mediany OS i PFS oraz do wizualizacji krzywych przeżycia dla dychotomizowanych parametrów zapalnych[84].

Podstawowym narzędziem statystycznym w obu publikacjach była regresja proporcjonalnego hazardu Coxa. Jest to semiparametryczny model bez zdefiniowanej bazowej funkcji ryzyka, który określa prawdopodobieństwo osiągnięcia punktu końcowego przy danej wartości zmiennej niezależnej. Dodatkowo pozwala on przyjąć do obliczeń obserwacje w których nie osiągnięto punktu końcowego, co jest szczególnie pomocne przy braku pełnych danych dotyczących przeżycia. Wszystkie końcowe wnioski pochodził z modeli wieloczynnikowej regresji Coxa, która pozwala oszacować iloraz ryzyka przy kontroli zmiennych zakłócających[85].

VI WYNIKI

Publikacje, które składają się na ten cykl oparte były na analizach różnych markerów stanu zapalnego, które mogły być wykorzystane jako czynniki prognostyczne i predykcje. Z uwagi na to, że jeden artykuł dotyczył parametrów przed włączeniem chemioterapii, a drugi w jej trakcie wyniki tej sekcji są rozbite na dwie części.

W pierwszej publikacji przeanalizowano dane 155 pacjentów z uogólnionym rakiem żołądka, którzy otrzymywali standardową chemioterapię cytotoksyczną lub chemioterapię w połączeniu z leczeniem trastuzumabem w przypadku nadekspresji HER2. Niska liczebność tej grupy (15 pacjentów) wykluczała stratyfikację opartą o typ zastosowanej chemioterapii. Z uwagi jednak na fakt zastosowania zbliżonej lub identycznej chemioterapii cytotoksycznej chorych zakwalifikowano do analizy łącznej.

Wyjściowo przeanalizowano 5 parametrów (NLR, PDW, PLR, PVPR, HPR), co realnie odpowiada analizie czterech elementów morfotycznych – neutrofilii (liczba), płytek krwi (liczba, wielkość komórek, PDW), limfocytów (liczba) i erytrocytów (stężenie hemoglobiny). Oceniane współczynniki (np. stosunek hemoglobiny do ilości płytek krwi - HPR) zostały wybrane na podstawie dostępnych danych literaturowych. Poza nimi u pacjentów zebrano standardowe informacje dotyczące: pacjentów (ECOG, wiek), nowotworu (stopień złośliwości (grade), poziom ekspresji HER2, miejsce rozsiewu) oraz prowadzonej terapii (wcześniejsze leczenie systemowe o założeniu radykalnym, wykonanie gastrektomii, rodzaj chemioterapii paliatywnej).

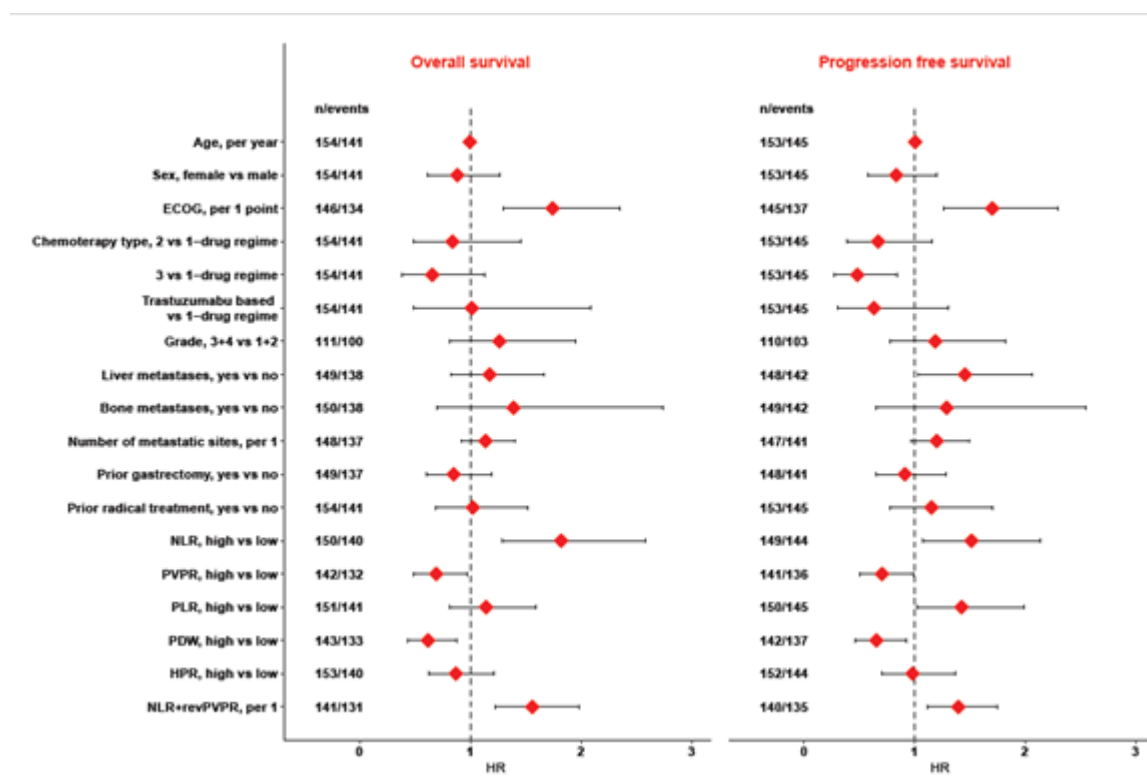
Przeprowadzenie analizy wpływu markerów stanu zapalnego na parametry przeżycia pacjentów wymagało przyjęcia pewnych założeń. Rzadko w medycynie zależności pomiędzy danymi zmiennymi mają charakter ściśle liniowy. Może to wynikać z samej natury danego czynnika, czego przykładem może być liczba neutrofilii. Teoretycznie można założyć, że wysoka liczba neutrofilii łączy się z gorszym rokowaniem. Gdyby związek ten był ściśle liniowy to ze spadkiem liczby neutrofilii obserwowalibyśmy poprawę rokowania. W tym przypadku jednak, przy odpowiednio głębokiej neutropenii, zwiększa się ryzyko infekcji, co może zakłócić obliczenia i ostatecznie być przyczyną nieliniowego przebiegu krzywych hazardu. Dodatkowym problemem może być niska liczebność grup, co zwiększa ryzyko wystąpienia wartości odstających, które odbiegać będą od założonego, liniowego wzorca. Stąd podjęto decyzję o dychotomizacji, czyli podziale na dwie grupy oddzielone pewnym punktem odcięcia.

Celem wyznaczenia optymalnych punktów odcięcia zastosowano analizę ROC. W metodzie tej ocenia się, przy danej wartości zmiennej niezależnej, czy zmienna zależna ma wartość dodatnią

czy ujemną. Wyjściowo metoda ta była używana przez wojska amerykańskie do oceny czy echa radarowe są japońskimi samolotami. Problemem z zastosowaniem tej metody w poniższej pracy jest brak kategoriowej zmiennej, której jeden z poziomów byłby jednoznacznie pozytywny (np. wyleczenie). Stąd jako zmienną stanu przyjęto przekroczenie przez chorego mediany czasu przeżycia. Podejście to, jakkolwiek nie pozbawione wad, jest często stosowane w publikacjach medycznych. W ten sposób ustalono za optymalny punkt odcięcia NLR równe 3,99. W przypadku PVPR podejście to nie było możliwe z uwagi na brak istotności statystycznej analizy. Zamiast tego przyjęto wartość mediany wynoszącą 0,34.

Pierwszym etapem analizy było przeprowadzenie jednoczynnikowej regresji Coxa dla wybranych zmiennych oceniających reakcję zapalną organizmu w odniesieniu do OS i PFS. Wykazano tam istotny wpływ poziomu NLR, PVPR i PDW, ale nie PLR czy HPR na czas przeżycia całkowitego. Na tym etapie odrzucono HPR i PLR. Współczynnik HPR, oceniający stosunek hemoglobiny do płytek krwi został opisany w literaturze[77], ale dane o zasadności jego zastosowania są skąpe. Dodatkowo może nie być on optymalny w analizowanym rozpoznaniu z uwagi na częste w tej grupie pacjentów przewlekłe krwawienie z guza żołądka. Wynikająca z tego niedokrwistość może mieć istotny wpływ zarówno na parametry opisujące erytrocyty, jak również płytki krwi. Parametr PLR ma znacznie mocniejsze poparcie w literaturze i opisuje stosunek liczby płytek krwi do limfocytów[79]. Parametr ten nie osiągnął istotności statystycznej, co w opinii autora może mieć charakter przypadkowy i wynikać z małej liczebności grupy. Wyniki te zwizualizowano na rycinie 1.

Rycina 1 Jednoczynnikowa regresja Coxa



Do dalszej analizy pozostawiono NLR, PVPR i PDW. Przyjęto tezę, że współczynniki te mogą opisywać różne parametry systemowej reakcji zapalnej, stąd na początku sprawdzono ich korelację testem Spearmana. Analiza wykazała silną korelację pomiędzy PDW, a PVPR oraz słabą do minimalnej pomiędzy NLR-PVPR i NLR-PDW. Korelacja pomiędzy PDW, a PVPR nie budzi zdziwienia, ponieważ oba te parametry opisują zbliżone aspekty linii płytkowej. Z tego powodu pozostawienie obu parametrów w analizie wydawało się zbędne

Analiza korelacji Spearmana pozwoliła na ocenę zależności pomiędzy markerami reakcji zapalnej ocenianej jako zmienne ciągłe. Celem potwierdzenia, że dychotomizacja nie zaburzyła tych relacji oraz aby potwierdzić, że wybrane parametry w istotny sposób różnią się swoimi przewidywaniami, obliczono współczynnik kappa Cohena. Test ten określa stopień zgodności dwukrotnych pomiarów tej samej zmiennej zależnej (w tym wypadku OS) przy różnych

zmiennych niezależnych (tutaj PVPR i NLR). Wykazano tutaj, że parametr PVPR charakteryzuje się mniejszą zgodnością z NLR, niż PDW, stąd w ostatecznej analizie odrzucono PDW.

Ostatecznym etapem obliczeń było stworzenie kilku modeli wieloczynnikowej regresji Coxa, aby potwierdzić, że stwierdzony wpływ na parametry przeżycia nie jest wynikiem obecności zmiennych zakłócających, takich jak stan sprawności czy stosowana chemioterapia. Stworzenie kilku niezależnych modeli z różną ilością zmiennych niezależnych miało na celu redukcję ryzyka osiągnięcia wyników fałszywie dodatnich wynikającą z wielokrotnego testowania, jak również potwierdzić stabilność oznaczanych ilorazów hazardu. Wykazano w nich, że kontrolując pozostałe parametry, NLR i PVPR stanowią niezależne czynniki prognostyczne OS. W zakresie PFS NLR był istotny statystycznie we wszystkich modelach, a PVPR znajdował się na granicy istotności. W modelu uwzględniającym wszystkie zmienne zakłócające, pacjenci z wysokim poziomem PVPR mieli o 44% niższe ryzyko zgonu (HR = 0,56; 95% CI: 0,33–0,93). W tym samym modelu wysoki poziom NLR łączył się z prawie dwukrotnym pogorszeniem rokowania (HR = 1,95; 95% CI: 1,17–3,24). Wyniki przedstawiono w tabeli 2

Tabela 2 Wieloczynnikowa regresja Coxa

	Model 1 ^a	Model 2 ^b	Model 3 ^c	Model 4 ^d
OS				
n/zdarzeń‡	131/122	133/124	126/117	93/85
Harrell's C-index (95% CI) ±	0,65 (0,59; 0,71)	0,67 (0,61; 0,73)	0,64 (0,58; 0,7)	0,65 (0,58; 0,73)
p _{PHA} □	0,269	0,47	0,517	0,274
PVPR	0,66 (0,45-0,98)	0,66 (0,44-0,98)	0,63 (0,41-0,96)	0,56 (0,33-0,93)
NLR	1,74 (1,18-2,57)	1,78 (1,2-2,64)	1,85 (1,23-2,78)	2,02 (1,2-3,37)
PFS				
n/zdarzeń‡	130/125	132/127	125/120	92/87
Harrell's C-index (95% CI) ±	0,62 (0,56; 0,68)	0,65 (0,59; 0,71)	0,65 (0,6; 0,71)	0,64 (0,57; 0,72)
p _{PHA} □	0,64	0,79	0,587	0,395
PVPR	0,73 (0,5-1,07)	0,71 (0,48-1,05)	0,71 (0,47-1,06)	0,8 (0,49-1,33)
NLR	1,5 (1,01-2,22)	1,68 (1,13-2,49)	1,98 (1,3-3,04)	2,02 (1,19-3,45)

Zastosowanie kilku modeli pozwoliło na potwierdzenie spójności wyników

*stratyfikowane według ECOG and i dodatkowo skorygowane o:

^aModel 1: wiek, płeć, przerzuty(kości), przerzuty(wątroba)

^bModel 2: wiek, płeć, uprzednie leczenie radykalne, rodzaj chemioterapii

^cModel 3: przerzuty(kości), przerzuty(wątroba), przerzuty (ilość okolic), rodzaj chemioterapii, uprzednia gastrektomia

^dModel 4: wiek, płeć, przerzuty(kości), przerzuty(wątroba), uprzednie leczenie radykalne, rodzaj chemioterapii,

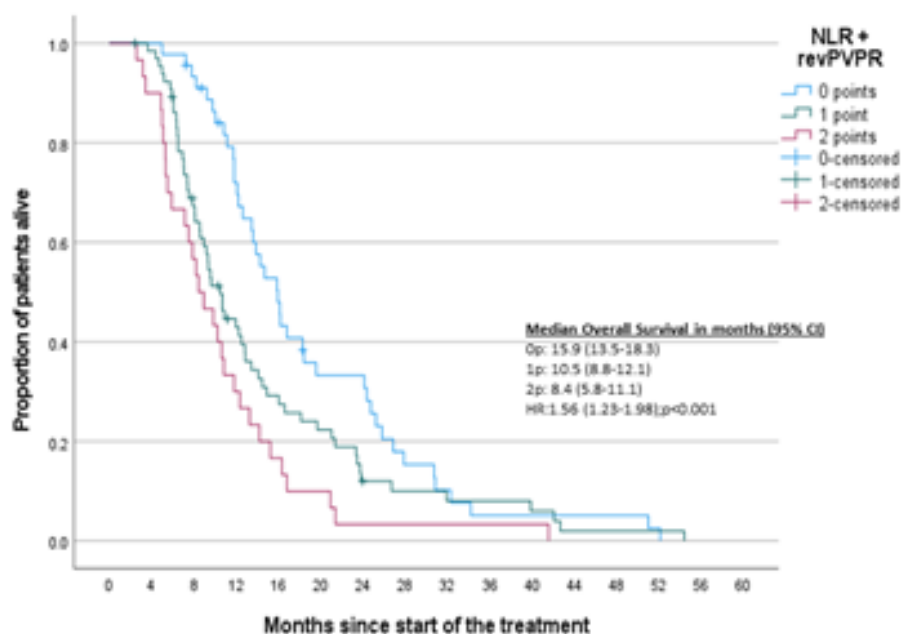
przerzuty (ilość okolic), rodzaj chemioterapii

□ wartość p testu weryfikującego założenie proporcjonalnego hazardu ‡ ilość pacjentów/ ilość niecenzurowanych zdarzeń; ± Indeks c Harella oceniający zgodność grup.

Zastosowanie regresji Coxa pozwoliło na relatywnie obiektywną analizę współzależności pomiędzy badanymi markerami procesu zapalnego, a współczynnikami opisującymi parametry przeżycia. Trudno jest jednak w łatwy do interpretacji sposób przenieść te wyniki do praktyki klinicznej. Stąd postanowiono stworzyć dodatkowy współczynnik będący wypadkową NLR i PVPR.

Ostatnim etapem analizy, który miał na celu zwiększenie klinicznej użyteczności prezentowanych danych było stworzenia wspólnego parametru zawierającego zarówno NLR jak i PVPR. W parametrze tym pacjenci mogli otrzymać 0 punktów (pozytywna w odniesieniu do OS wartość NLR oraz PVPR), 1 punkt (jedna z wartości negatywna) i 2 punkty (obie wartości negatywne). Wykazano w ten sposób istotną różnicę pomiędzy wszystkimi analizowanymi grupami. Pacjenci z bardzo dobrym rokowaniem (0 punktów) osiągnęli medianę czasu przeżycia całkowitego na poziomie 15,9 miesiąca. W przypadku pośredniego rokowania (1 punkt) mediana wyniosła 10,5 miesiąca, a chorzy ze złym rokowaniem (2 punkty) mieli medianę OS wynoszącą 8,4 miesiąca, co jest wartością istotnie niższą niż mediana zarówno w tym badaniu, jak i wartościach raportowanych w historycznych publikacjach. Istotność statystyczną tych różnic potwierdzano testem log rank ($p = <0.001$). Wykres przeżywalności przedstawiono na rycinie 2.

Rycina 2 Krzywe przeżycia przy łącznym zastosowaniu markerów zapalnych



Celem drugiej publikacji było określenie znacznie spadku liczby płytek krwi wywołany chemioterapią, w odniesienia do OS i PFS. W przypadku tej publikacji przanalizowano dane 105 pacjentów z uprzedniej pracy. Dane 50 pacjentów nie były analizowane z uwagi na brak kompletnych danych dotyczących wartości parametrów morfotycznych w trakcie leczenia.

Chemioterapia, ze swojej natury, ma istotny wpływ na elementy morfotyczne krwi, ale wpływ ten jest różny w zależności od ocenianego parametru. Jako najbardziej narażone na działanie chemioterapii uważa się neutrofile i płytki krwi. Uprzednie badania udowodniły, że neutropenia w trakcie leczenia jest pozytywnym czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na leczenie[86]. Wydaje się jednak, że liczba neutrofilii podlega większym fluktuacjom, stąd ocena może być mniej dokładna. W ocenianej populacji współczynnik zmienności (odchylenie standardowe / średnia arytmetyczna) dla NEU wynosił 79%, a porównaniu do 49% dla PLT. Dodatkowo poziom NEU może być w większym stopniu modyfikowany w trakcie leczenia. W przypadku wartości niższych od $1,5 \times 10^3$ /ul zwykle odstępuje się od podania kolejnego cyklu chemioterapii, a w ustalonych sytuacjach klinicznych pacjenci mogą otrzymać czynniki wzrostu granulocytów. Z tego powodu do dalszych analiz przyjęto charakterystykę liczby płytek krwi.

Arbitralnie ustalono, że do analizy zostanie przyjęta najniższa wartość liczby płytek stwierdzona w pierwszych 12 tygodniach leczenia. Celem pracy było poszukiwanie czynników predykcyjnych, które będzie można wykorzystać w ramach praktyki klinicznej, a 12 tygodni to okres, który zwykle upływa rozpoczęcia chemioterapii do pierwszej oceny odpowiedzi na leczenie w badaniach obrazowych. Pomimo tak określonych granic, najczęściej nadir liczby płytek stwierdzano znacznie wcześniej - mediana wynosiła 7 tygodni. Pozwoliło to na zastosowanie analizowane współczynnika płytkowego przed pierwszą formalną oceną odpowiedzi na leczenie.

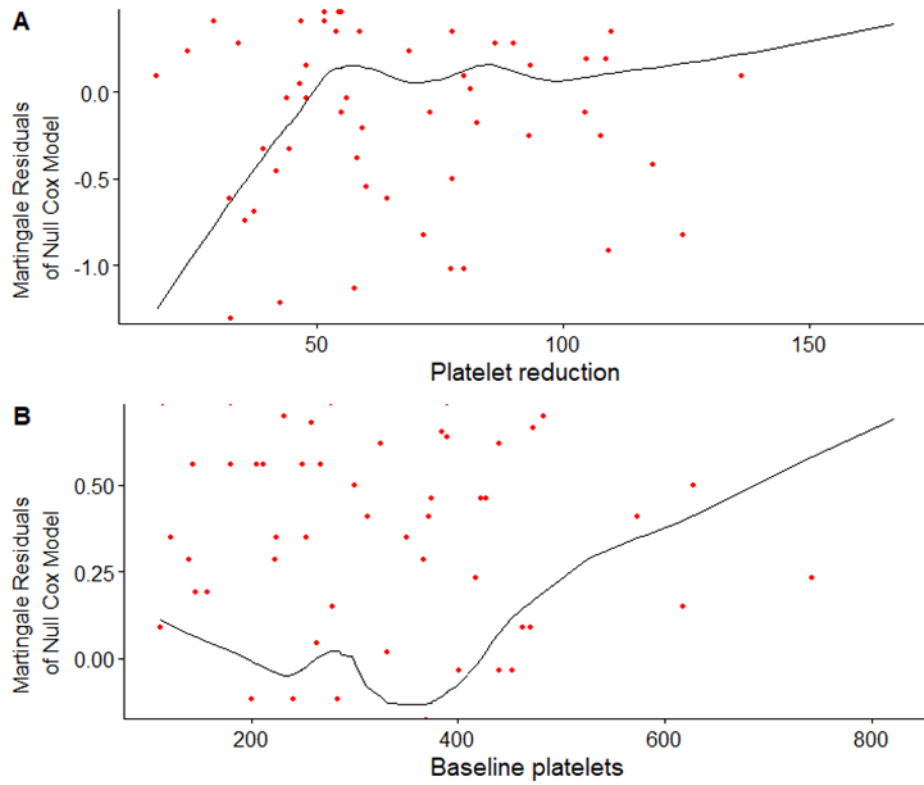
Przed formalną analizą konieczne było przyjęcie pewnych założeń oraz przekształcenie obserwowanych poziomów redukcji płytek krwi celem umożliwiania ich łatwiejszej interpretacji. Z trzech dostępnych opcji: bezwzględnej różnicy, ilorazu (PLT_{nadir}/PLT_{start}) oraz dychotomizowanej wartości (np. spadek poniżej górna granica normy) do dalszych obliczeń przyjęto iloraz.

Z punktu widzenia dalszych obliczeń najłatwiejsza byłaby kategoryzacja wartości, na przykład przyjęcie za punkt końcowy spadku PLT poniżej górnej granicy normy. Takie rozwiązanie zmniejszyłoby jednak ilość potencjalnych wniosków oraz uniemożliwiłoby ocenę nasilenia tego spadku. Zastosowanie wartości bezwzględnej, co prawda pozwoliłoby analizować spadek PLT

jako zmienną ciągłą, jednak utrudniłoby interpretację w odniesieniu do wartości wyjściowej. Spadek PLT o 100×10^3 u pacjenta z wyjściowym poziomem 250×10^3 , a więc nadal prawidłowym oznaczałby spadek do 150×10^3 , co nadal mieściłoby się w normie i nie świadczyło o trombocytopenii, zaś u chorego z wyjściowym poziomem 850 oznaczałoby spadek do 750, a więc cały znacznie podwyższony. Jako kompromis przyjęto ocenę wartości względnego spadku. Podejście to również nie jest pozbawione wad. Matematyczna formuła ilorazu zawsze zakłada korelację pomiędzy dzielnią, a dzielnikiem, stąd wyższe wartości wyjściowego poziomu PLT statystycznie powiązane były z wyższymi redukcjami poziomu płytek. Wymagało to wprowadzenia odpowiednich zmiennych korygujących do modeli, ale ostatecznie pozwoliło zarówno na traktowanie spadku PLT jako wartości ciągłej, jak również umożliwiło analizę wartości skrajnych.

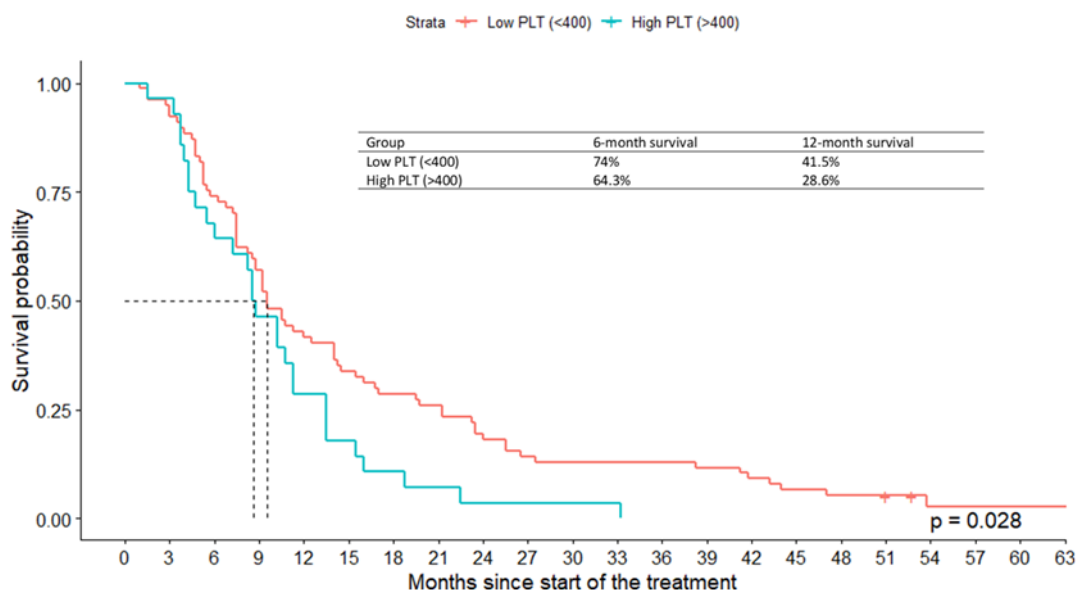
Aby zwizualizować wpływ spadku płytek krwi na czas przeżycia stworzono dwa wykresy reszt martyngałowych odniesionych do liczby płytek krwi wyjściowo oraz ich względnego spadku. Reszty martyngałowe standardowo stosowane są od oceny jednego z założeń regresji Coxa. W ten sposób można ocenić czy wpływ zmiennej ciągłej na zmienną zależną ma charakter liniowy. Analiza wykazała, że pozytywny wpływ na czas przeżycia obserwowany jest w przypadku osiągnięcia względnej redukcji liczby płytek krwi (PLT-red) poniżej 60% wartości wyjściowej płytek (PLT-count). Podobnie przeprowadzona analiza wykazała dwójłomny przebieg krzywej reszt martyngałowych dla PLT-count. Oznacza to, że wyjściowa liczba płytek krwi zaczęła mieć negatywny wpływ na czas przeżycia całkowitego po przekroczeniu wartości 400×10^3 . Podobne wartości odcięcia uzyskano przy analizowaniu wpływu PLT-count i PLT-red na PFS. Stąd do dalszych obliczeń przyjęto krytyczny poziom PLT-red jako 60%, a PLT-count jako 400×10^3 . Wykresy reszt martyngałowych prezentowane są na rycinie 3.

Rycina 3 Wykres reszt martyngałowych



Przed analizą PLT-red konieczne było doprecyzowanie wpływu wyjściowej liczby płytek krwi na czas przeżycia oraz określenie czy przyjęte wartości odcięcia PLT-count mają kliniczne implikacje. W tym celu przeprowadzono analizę Kaplana-Meiera oraz porównano dwie grupy (PLT <400 i PLT \geq 400) w teście log-rank (ryc. 4).

Rycina 4 Krzywa przeżycia dla pacjentów z wysokim i niskim poziomem płytek krwi



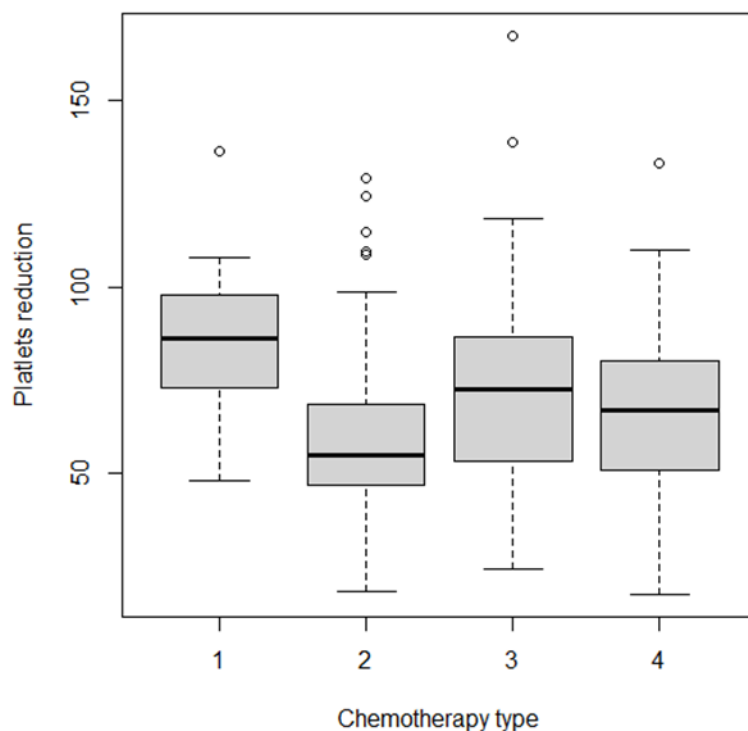
Analiza krzywych przeżycia wykazała, że pacjenci z niską liczbą płytek krwi mieli istotnie dłuższe czasy przeżycia całkowitego z medianą wynoszącą 9,5 miesiąca (95%CI: 8,5–14,0) w porównaniu z pacjentami z wysoką liczbą PLT, dla których mediana wyniosła 8,62 (95% CI: 6,0–13,5). Różnica tak, jakkolwiek niewielka, była istotna statystycznie co potwierdzono w teście log-rank ($\chi^2(1) = 4,8, p = 0,028$). Analiza wizualna krzywych pokazała, że krzywe OS miały zbliżone przebiegi do ok. 9 miesiąca, a następnie istotnie się od siebie oddalały. Ocena wpływu wyjściowej liczby PLT nie była głównym celem tego artykułu, ale potwierdziła konieczność uwzględnienia PLT-count przy konstruowaniu zaawansowanych modeli statystycznych.

Podstawowym współczynnikiem ocenianym w omawianym badaniu była względna wartość redukcji liczby płytek krwi, stąd wyjściowe parametry porównano w odniesieniu do tych grup (PLTred < 60% vs $\geq 60\%$). Dane te prezentowane są w tabeli 2. Różnice median w podgrupach oceniono testem Wilcoxon. Zaobserwowano różnice w poziomie wyjściowego stężenia płytek krwi i PDW, ale nie w zakresie limfocytów, neutrofilów i NLR. Na podstawie tego testu nie udało się zinterpretować różnic w poziomie PLT-count z uwagi na interferencje wynikające z matematycznej formuły PLT-red.

Nie stwierdzono również różnic w zakresie redukcji PLT w odniesieniu do intensywności chemioterapii, którą oceniono jako ilość podanych cykli chemioterapii podzieloną przez planowaną. Z drugiej strony pacjenci z niewielką redukcją liczby płytek wyraźnie częściej otrzymywali jednak chemioterapię jednolekową.

Celem dodatkowej oceny głębokości redukcji liczby płytek krwi w zależności od typu podanej chemioterapii przeprowadzono formalną analizę testem Kruskala-Wallisa, która wykazała, że mediany PLT-red nie są równe ($\chi^2(3) = 10.3, p = 0.0164$). Niepublikowane wyniki analizy post-hoc Dunna wykazały różnice w medianach PLT-red pomiędzy grupą 1-lekową a 2-lekową. Zwizualizowano to w wykresie box-plot (ryc. 5).

Rycina 5 Wykres box-plot poziomu redukcji płytek krwi w zależności od zastosowanej chemioterapii



Kolejnym etapem była dwuetapowa weryfikacja powyższej tezy z zastosowaniem wieloczynnikowej regresji Coxa. W pierwszym etapie oceniono wpływ redukcji płytek przy kontrolowanym poziomie wyjściowej liczby PLT. W drugim kwantyfikowano parametrów tak, aby ich zastosowanie było możliwe w praktyce klinicznej

Pierwszy stworzony model regresji Coxa oceniał wpływ PLT-red i PLT-count na OS i PFS. Z uwagi na nieliniowy wpływ wyjściowej liczby płytek na OS i PFS, co zobrazowano na wykresie reszta martyngałowych, nie było możliwości wprowadzenia go do modelu w formie ciągłej, tak więc w obu przypadkach został on dychotomizowany jako niskie PLT-count (<400) i wysokie PLT-count (≥ 400). Obliczenie wpływu PLT-red traktowanego jako zmienna ciągła było możliwe po jego transformacji logarytmicznej.

Wszystkie powyższe parametry oceniono zarówno w stosunku do OS, jak i do PFS. W przypadku modelu 1 wprowadzono tylko dane dotyczące PLT-red i PLT-count, a w przypadku modelu 2 także potencjalne czynniki zakłócające. Na podstawie pierwszej publikacji zawartej w niniejszej pracy doktorskiej, jak również danych literaturowych do analizy wybrano stan sprawności oceniany w skali ECOG, intensywność dawki chemioterapii, typ chemioterapii i wyjściowy poziom NLR (wysoki vs niski).

W przypadku modelu 1, który nie był kontrolowany pod kątem czynników zakłócających, wykazano istotne statystycznie zwiększone ryzyko zgonu zarówno dla wyjściowego poziomu płytek krwi, jak i dla głębokości redukcji liczby PLT. Należy tutaj jednak zwrócić uwagę, że w przypadku wprowadzenia do modelu transformowanego PLT-red wartość jest trudna do interpretacji, ponieważ dotyczy syntetycznej jednostki, jaką jest logarytmowany poziom redukcji liczby płytek krwi. Wynik ten jednak potwierdza istotność tego parametru. W przypadku dychotomizowanej wartości PLT-red, brak istotnej redukcji wyjściowego poziomu płytek krwi zwiększał ryzyko zgonu pacjentów o 50%, a w przypadku wprowadzenia kontroli pozostałych czynników zakłócających ryzyko to zwiększało się do 68% (tabela 3).

Table 3 Wieloczynnikowa regresja Coxa dla modeli dychotomizowanych

Markery stanu zapalnego	OS				PFS			
	Model 1*		Model 2**		Model 1*		Model 2**	
	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
PLT-count <400 & PLT-red < 0,6	1,00 (ref.)	-	1,00 (ref.)	-	1,00 (ref.)	-	1,00 (ref.)	-
PLT-count <400 & PLT-red ≥ 0,6	1,58 (0,97; 2,57)	0,064	1,75 (1,04; 2,93)	0,035	1,62 (0,99; 2,64)	0,055	1,80 (1,07; 3,05)	0,028
PLT-count ≥400 & PLT-red < 0,6	1,97 (1,07; 3,61)	0,029	2,44 (1,26; 4,73)	0,008	1,49 (0,82; 2,72)	0,195	1,64 (0,87; 3,11)	0,127
PLT-count ≥400 & PLT-red ≥ 0,6	2,89 (1,32; 6,33)	0,008	3,60 (1,41; 9,18)	0,007	2,30 (1,06; 4,99)	0,036	2,97 (1,15; 7,66)	0,024
p dla trendu	0,003		0,001		0,041		0,028	

*Model 1 zawiera tylko PLT-count i PLT- red

**Model 2 zawiera tylko PLT-count i PLT- red, ECOG, intensywność dawkowania chemioterapii, typ chemioterapii i wyjściowy poziom NLR (dychotomizowane z 3 kwartyłem jako wartością odcięcia)

Podobne wyniki, jednakże z wartościami na granicy istotności statystycznej uzyskano dla modeli oceniających wpływ na czas wolny od progresji.

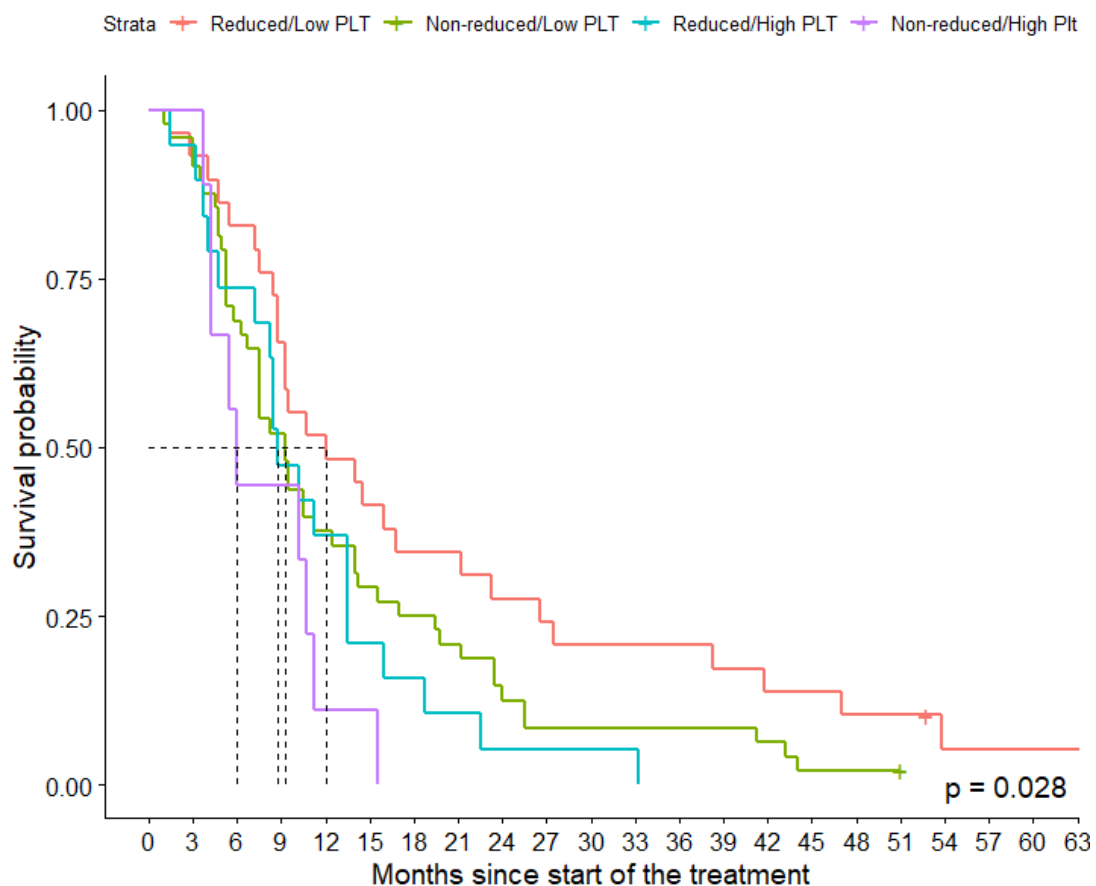
Ostatnim etapem analizy była próba uproszczenia modeli celem możliwości ich zastosowania w praktyce klinicznej. W tym celów pacjentów podzielono na 4 grupy zależne od poziomu wyjściowego płytek krwi oraz poziomu redukcji PLT. Pacjenci mogli mieć wysoki lub niski wyjściowy poziom PLT, jak również wysoka lub niską redukcję poziomu PLT. Ponownie obliczeń wykonano dla podstawowych parametrów (model 1) oraz po wprowadzeniu zmiennych

zakłócających (model 2). Analiza ta wykazała, że pacjenci w najgorszej grupie rokowniczej (wysokie PLT-count i niski poziom PLT-red) charakteryzują się 3,6 razy wyższym ryzykiem zgonu oraz 2,97 razy wyższym ryzyko progresji w modelach z pełną kontrolą czynników zakłócających, niż chorzy w grupie dobrego rokowania.

Oznacza to, że u pacjentów wysoka wyjściowa liczba płytek krwi wiązała się z gorszym rokowaniem, ale niezależnie od tego poziomu, spadek PLT poniżej 60% wartości wyjściowej był pozytywnym czynnikiem prognostycznym.

Dodatkowo zwizualizowano to przy pomocy krzywych Kaplana-Meiera (ryc. 6).

Rycina 6 Krzywe przeżycia dla wyznaczonych grup



Article

Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients

Kamil Konopka ^{1,*} , Agnieszka Micek ² , Sebastian Ochendusko ³, Joanna Streb ¹, Paweł Potocki ¹, Łukasz Kwinta ¹ and Piotr J. Wysocki ¹

¹ Department of Oncology, Jagiellonian University Medical College, 31-007 Cracow, Poland; joanna.streb@uj.edu.pl (J.S.); pawel.potocki@uj.edu.pl (P.P.); lukasz.kwinta@uj.edu.pl (Ł.K.); piotr.wysocki@uj.edu.pl (P.J.W.)

² Department of Nursing Management and Epidemiology Nursing, Jagiellonian University Medical College, 31-007 Cracow, Poland; agnieszka.micek@uj.edu.pl

³ Department of Oncology, Dr. Peset University Hospital, 46017 Valencia, Spain; sebaochendusko@gmail.com

* Correspondence: kamil.konopka@uj.edu.pl



Citation: Konopka, K.; Micek, A.; Ochendusko, S.; Streb, J.; Potocki, P.; Kwinta, Ł.; Wysocki, P.J. Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 3902. <https://doi.org/10.3390/jcm10173902>

Academic Editor: Matthias Biehl

Received: 28 July 2021

Accepted: 27 August 2021

Published: 30 August 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Chemotherapy is a cornerstone of treatment in advanced gastric cancer (GC) with a proven impact on overall survival, however, reliable predictive markers are missing. The role of various inflammatory markers has been tested in gastric cancer patients, but there is still no general consensus on their true clinical applicability. High neutrophil-to-lymphocyte (NLR) and low (medium)-platelets-volume-to-platelet ratio (PVPR) are known markers of unspecific immune system activation, correlating significantly with outcomes in advanced GC patients. Methods: Metastatic GC patients (N:155) treated with chemotherapy +/- trastuzumab were enrolled in this retrospective study. Pre-treatment NLR and PVPR, as well as other inflammatory markers were measured in peripheral blood. Univariate Cox regression was conducted to find markers with a significant impact on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). Spearman correlation and Cohen's kappa was used to analyze multicollinearity. Multiple multivariable Cox regression models were built to study the combined impact of NLR and PVPR, as well as other known prognostic factors on OS. Results: Elevated NLR was significantly associated with increased risk of death (HR = 1.95; 95% CI: 1.17–3.24), and lower PVPR was significantly associated with improved outcomes (HR = 0.53; 95% CI: 0.32–0.90). A novel inflammatory marker, based on a combination of NLR and PVPR, allows for the classification of GC patients into three prognostic groups, characterized by median OS of 8.4 months (95% CI 5.8–11.1), 10.5 months (95% CI 8.8–12.1), and 15.9 months (95% CI 13.5–18.3). Conclusion: The NLR and PVPR score (elevated NLR and decreased PVPR) is a marker of detrimental outcome of advanced GC patients treated with chemotherapy.

Keywords: gastric cancer; NLR; PVPR; chemotherapy; inflammation; survival; prognosis

1. Introduction

Interactions between the immune system and cancer are attracting considerable interest because of growing evidence of underlying correlations that are sometimes too elusive to be appropriately described. However, many years of intensive evolution of the immuno-oncology field, which finally led to the introduction of checkpoint inhibitors, allowed us to predict, if not fully comprehend, the interplay between the immune system and malignancy in a way that is consistent and beneficial.

Despite significant progress in systemic treatment, metastatic gastric cancer (GC) remains incurable. In this palliative setting, systemic chemotherapy still represents the

treatment of choice worldwide, with the potential to improve patients' outcomes (overall survival and quality of life) [1].

Platinum-based chemotherapy is a cornerstone of the first-line treatment for stage IV gastric cancer [2]. Oxaliplatin demonstrates similar activity to cisplatin, but offers a much better safety profile [3]. Therefore, in combination with capecitabine [4], 5-fluorouracil [5] or S-1 [6] oxaliplatin is the most commonly used form of platinum derivatives for the treatment of GC. Most GC patients receive chemotherapy doublets [7], but less intensive chemotherapy regimens may be preferred in some circumstances due to e.g., suboptimal patient performance status [8]. In the past, tri-drug chemotherapy, such as a combination of EOX (epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine) [9] or DCF (docetaxel, cisplatin, fluorouracil) [10], was considered the standard of care. Yet, more recent studies have not shown this approach to be more efficacious than other, less aggressive chemotherapy options [11]. For GC patients with HER2-overexpression, a combination of two-drug chemotherapy with trastuzumab is the treatment of choice [12].

Despite numerous efforts to incorporate immunotherapy into the first-line systemic treatment of GC [13], the optimal choice of chemotherapy regimen remains crucial in terms of patients' outcomes. Even if doublet is an optimal regimen for most GC patients, some of them might benefit from more or less aggressive treatments. Therefore, to optimize the treatment strategy, optimal and robust predictive markers are of critical importance.

Systemic inflammation is a well-known phenomenon, although not fully understood, involved in carcinogenesis and progression of cancer, and the modulation of cancer cells' immunogenicity and sensitivity to systemic treatment [14]. Therefore, quantifying systemic inflammation might improve our capability to predict the natural course of the disease and responses to systemic anti-cancer therapy.

The best apprehended and easy-to-measure marker of systemic inflammation is NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio), in which its prognostic potential was demonstrated in multiple malignancies [15–17]. High NLR exerts a significantly negative impact on the survival of both early [18] and advanced GC patients [19]. However, the level of its impact on prognosis is inconsistent through the various studies [20].

Many additional markers of systemic inflammation, such as PLR (platelet-to-lymphocyte ratio) [21], HPR (hemoglobin-to-platelet ratio) [22], PDW (platelet distribution width) [23], MPV/PLT (mean platelet volume to platelet ratio) [24], and RPR (red cell distribution width (RDW) to platelets ratio) [25] were described so far, but their true applicability in clinical practice is not well established.

The PLR, PDW, and MPV/PLT are inflammatory markers reflecting the impact of platelet activation on the course of malignancies. In the majority of studies, high numbers of platelets correlated with poor prognosis [26]. This phenomenon can be caused both by secretion of proangiogenic, tumor-promoting factors but also by an increased risk of life-threatening thromboembolic events [27].

On the other hand, data on the prognostic and predictive potential of HPR and RPR factors incorporating red blood cell status are still scarce [28].

It is also to be noted that the best cut-off values for all of the above-mentioned inflammatory parameters are still unknown, and proposed values differ between studies [29].

The current study analyzed various systemic inflammatory parameters in 155 advanced GC patients treated with first-line therapy (plain chemotherapy without targeted agents). Our exploratory study aimed to define the optimal inflammatory marker with the highest predictive and prognostic potential.

2. Patients and Methods

Data on 155 GC patients treated in the Department of Clinical Oncology, University Hospital in Cracow, were retrospectively collected between September 2013 and December 2019. Data were censored on 31 December 2020. Patients were eligible for analysis if at least one cycle of palliative intravenous chemotherapy had been administered. Patients on steroid treatment, defined as a prednisone dose higher than 10 mg per day or equivalent,

were excluded. The choice of chemotherapy regimen was left to the discretion of the leading physician; however, the decision was based on the patient's general condition, HER2 expression, and current therapeutic guidelines at a given time. The allocation of patients to chemotherapy could have been biased by the evolution of guidelines, which occurred over time, promoting the switch from 3-drug to 2-drug regimens in asymptomatic or mildly symptomatic patients or patients with suboptimal performance status. The patient's treating physician determined the moment of disease progression for each patient, based on clinical or radiological symptoms. The exact date of death was obtained from public databases. Due to the lack of the date of death for some participants, the date of the last visit was used in case of unequivocal progression and health deterioration. Peripheral blood inflammatory markers were measured at the baseline (up to one week before initiation of the first-line chemotherapy). The NLR was calculated by division of absolute neutrophil and lymphocyte counts. The RDW/PLT was defined as the ratio of RDW-SD (red cell distribution-standard deviation) to platelet count. The HPR was calculated by division of Hgb (hemoglobin) and platelet count, and the PLR was calculated by division of platelet and lymphocyte count. The inflammatory marker MPV/PLT, further referred to as PVPR (platelet volume to platelet ratio), was defined as the ratio of MPV (medium platelet volume) to platelet count.

Statistical Analysis

Inflammatory markers were dichotomized based on receiver operator characteristic (ROC) analysis, with a binary state variable split at the median of survival. The best cut-off value was obtained by maximizing the Youden index (or equivalently by optimizing the sum of sensitivity and specificity). In case of nonsignificant results of ROC analysis, the median value of the analyzed marker was used as a tradeoff. Overall survival (OS) was defined as the time from the diagnosis of stage IV disease to death, and progression free survival (PFS) was calculated from the initiation of chemotherapy to either death or disease progression appointed by the leading physician. Otherwise, the subject's case was censored. Categorical variables were reported with frequencies and percentages, and continuous variables were characterized by medians and interquartile ranges. The Kaplan–Meier method was used to estimate the medians of PFS and OS, and the comparison of survival functions between two or more independent groups was performed by applying a log-rank test. Cox regression analysis was employed to evaluate the impact of selected variables on OS and PFS. Inflammatory markers that were statistically significant in univariable models were designated for further multivariable analysis. Possible redundancy of inflammatory markers was verified based on the pairwise calculated Spearman's rank correlation coefficients and Cohen's kappa coefficients under criterion of redundancy detection: rho greater than 0.6 and kappa greater than 0.5, simultaneously. Selected inflammatory markers as well as other plausible clinically meaningful variables were considered as admissible for inclusion in the multivariable Cox regression analysis. The proportional hazard assumption in all multivariable models was tested with visual inspection of Schoenfeld residuals, and was formally complemented with omnibus chi-squared goodness of fit tests, relating failure time to covariate values. Additional evaluation of risk models was performed based on Harrell's C-index (concordance index) and a value significantly greater than 0.5 was regarded as indicating that the estimated risk scores are good at determining which of the two patients will experience the endpoint first. To get a reliable and robust estimation of the contribution of inflammatory markers to the predictions of OS and PFS, and to verify the consistency of the results, a variety of survival models were fitted covering the wide spectrum of sets of covariates admissible for adjustment. ECOG, the well-known strong risk factor, yet violating the proportional hazard assumption (PH), could not be directly incorporated in multivariable models; instead, the stratification on the ECOG variable was performed. Consequently, it was not possible to obtain a hazard ratio value for the effect of ECOG in multivariable analysis, due to different baseline hazard function for categories 0, 1, and 2. However, roughly parallel log-log survival curves allowed the calculation of

the size effect for ECOG in the univariable analysis. The study was exploratory, and no correction was applied for multiple statistical testing. Analyses were done in the SPSS version 27 (IBM corporation, Armonk, NY, USA) and R software (Development Core Team, Vienna, Austria, version 4.0.4). All tests were two-sided and statistical significance was defined as $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Patient and Tumor Characteristics

Final analysis consisted of one hundred and fifty-five patients. Patient characteristics are reported in Table 1. To analyze the possible impact of administered chemotherapy regime, all patients were divided into four groups based on the intensity of chemotherapy (monotherapy, two-drug regimen, three-drug regimen, and trastuzumab-containing regimen). Prior gastrectomy and prior perioperative treatments (e.g., neoadjuvant chemotherapy or adjuvant radio-chemotherapy) were coded as binominal covariate. Median NLR was 3.26 (95% CI 2.2–5.06) and median PVPR was 0.34 (95% CI 0.24–0.46).

Table 1. Characteristics of categorical and continuous variables.

Variable	n	q2 (q1–q3)	min–max
Age	155	62 (56–70)	32–82
OS	102	324 (191.25–474)	65–1602
PFS	154	158 (84.75–239)	8–880
NLR	151	3.26 (2.2–5.06)	0.79–13
PVPR	143	0.34 (0.24–0.46)	0.11–1.28
PLR	152	203.21 (139.11–279.42)	52.09–938.24
HPR	154	0.37 (0.27–0.53)	0.10–1.79
PDW	144	11.85 (10.67–13.53)	8.4–20.9

Variable	Categories	n	%
Gender	male/female	109/46	70.3/29.7
ECOG †	0/1/2/NR	24/92/31/8	15.5/59.4/20/5.2
Grade	1/2/3/4/NR	3/30/78/1/43	1.9/19.4/50.3/0.6/27.7
HER2 expression	0-2/3/NR	85/16/54	54.8/15.8/34/8
Prior radical treatment ‡	no/yes/NR	41/114/3	26.5/73.5/1.9
Prior gastrectomy	0/1/NR	87/63/5	56.1/40.6/3.2
Bone metastases	no/yes/NR	141/10/4	91/6.5/2.6
Liver metastases	no/yes/NR	98/52/5	63.2/33.5/3.2
Number of metastatic sites	0/1/2/3/NR	21/91/27/10/6	13.5/58.7/17.4/6.5/3.9
Type of chemotherapy Δ	1/2/3/4	19/59/62/15	12.3/38.1/40/9.7

Δ—1-one-drug regime, 2-two-drug regime, 3-three-drug regime, 4-trastuzumab-based regime. ‡ chemotherapy used in radical setting prior to dissemination (e.g., Macdonald regime). †—performance status (Eastern Cooperative Oncology Group). NR—not reported. NLR—neutrophil to lymphocyte ratio, PVPR—medium platelet volume to platelets ratio, PLR—platelets to lymphocyte ratio, HPR—hemoglobin to platelets ratio, PDW—platelets distribution width.

3.2. Survival Analysis

Median OS and PFS for the entire analyzed population were 10.6 months (95% CI 9.4–11.9) and 5.5 months (95% CI 4.3–6.7), respectively. The ROC analysis summarizing the performance of the classifier was significant only for NLR and PDW, for which the best cut-off point was used as a threshold, while the inflammatory markers median value was applied in the remaining cases. The area under curve (AUC) for NLR was 0.651 (95% CI, 0.559–0.742; $p = 0.002$). Optimal cut-off ratio calculated with the Youden index for NLR was 3.99 (Youden index 0.259, sensitivity 0.519, specificity 0.740, PPV (positive predictive value) 0.678, NPV (negative predictive value) 0.593). For PVPR, median was used as cutoff (sensitivity 0.580, specificity 0.534, PPV 0.541, NPV 0.574).

In the univariate Cox regression analysis, the dichotomized NLR, PDW, and PVPR as well as performance status were statistically significant (Figure 1). Higher NLR and lower PDW and PVPR were associated with inferior OS and PFS.

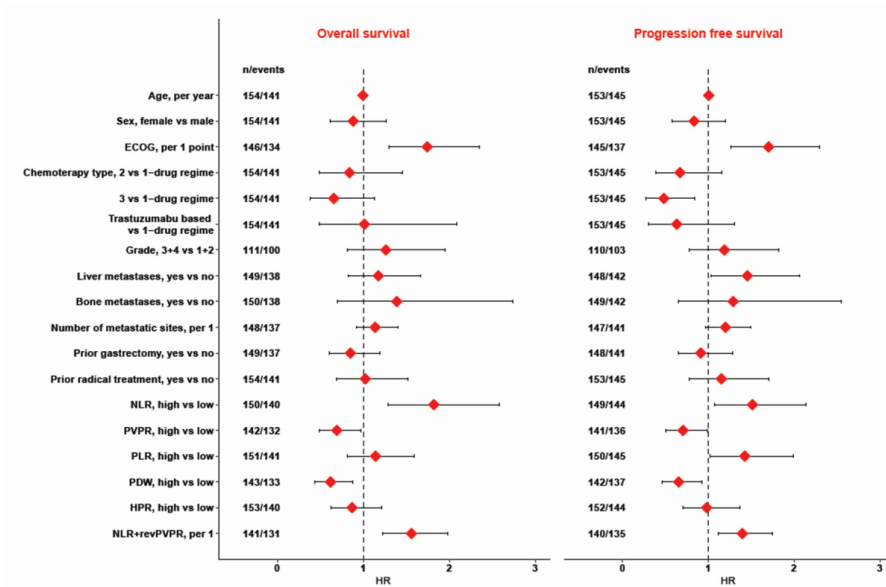


Figure 1. Univariable Cox regression.

A strong correlation between PDW and PVPR was noted, as well as a weak to minimal correlation between either NLR-PVPR and NLR-PDW (Table 2). Based on this observation, a concurrent use of PDW and PVPR was ruled out due to the high risk of redundancy. Additionally, Cohen’s κ was run to assess the agreement between dichotomized inflammatory markers, and based on the result finally PVPR together with NLR was chosen as PVPT is less correlated with NLR than PDW (Supplement S1).

Table 2. Spearman rank-order correlation of inflammatory markers.

	1	2	3	4	5
1. NLR	1				
2. PVPR	−0.17 *	1			
3. PDW	−0.24 **	0.67 **	1		
4. HPR	−0.14	0.93 **	0.54 **	1	
5. PLR	0.40 **	−0.28 **	−0.17	−0.34 **	1

Note: Analysis of multicollinearity between inflammatory marker. Results closer to zero have weaker correlation * $p < 0.05$ (bilateral), ** $p < 0.01$ (bilateral), NLR—neutrophil to lymphocyte ratio, PVPR—medium platelet volume to platelets ratio, PLR—platelets to lymphocyte ratio, HPR—hemoglobin to platelets ratio, PDW—platelets distribution width.

Multiple Cox regression models with various covariates showed a statistically significant impact of both NLR and PVPR on OS, but only NLR had an impact on PFS (Table 3). In the most adjusted model, patients with high PVPR had a 44% lower risk of death compared with individuals with a low PVPR score (HR = 0.56; 95% CI: 0.33–0.93), and the results in all models were robust showing HR oscillating from 0.53 to 0.66. The risk of death in patients with high NLR values was almost two-fold higher than in low NLR patients (HR = 1.95; 95% CI: 1.17–3.24) in Model 4 (fully adjusted). The results did not generally differ between models. To avoid violation of proportional hazard assumption, models were stratified for performance status (ECOG). Other than this, no violation of Cox regression assumptions was noted. Harrell’s C-index validating the predictive ability of a survival models confirmed that included variables prognose the time to an event sufficiently well,

depicting the fraction of pairs where the observation with the higher survival time has the higher probability of survival predicted by the model at a level of at least 0.62.

Table 3. Multivariable Cox regression analysis.

	Model 1 ^a	Model 2 ^b	Model 3 ^c	Model 4 ^d
OS				
n/Events ‡	131/122	133/124	126/117	93/85
Harrell's C-index (95% CI) ±	0.65 (0.59; 0.71)	0.67 (0.61; 0.73)	0.64 (0.58; 0.7)	0.65 (0.58; 0.73)
PPHA □	0.269	0.47	0.517	0.274
PVPR	0.66 (0.45–0.98)	0.66 (0.44–0.98)	0.63 (0.41–0.96)	0.56 (0.33–0.93)
NLR	1.74 (1.18–2.57)	1.78 (1.2–2.64)	1.85 (1.23–2.78)	2.02 (1.2–3.37)
PFS				
n/Events ‡	130/125	132/127	125/120	92/87
Harrell's C-index (95% CI) ±	0.62 (0.56; 0.68)	0.65 (0.59; 0.71)	0.65 (0.6; 0.71)	0.64 (0.57; 0.72)
PPHA □	0.64	0.79	0.587	0.395
PVPR	0.73 (0.5–1.07)	0.71 (0.48–1.05)	0.71 (0.47–1.06)	0.8 (0.49–1.33)
NLR	1.5 (1.01–2.22)	1.68 (1.13–2.49)	1.98 (1.3–3.04)	2.02 (1.19–3.45)

Note: Multiple Cox regression models showed consistent impact of NLR and PVPR on OS. * stratified by ECOG and additionally adjusted to: ^a Model 1: age, gender, liver metastases, bone metastases; ^b Model 2: age, gender, prior radical treatment, chemotherapy type; ^c Model 3: liver metastases, bone metastases, chemotherapy type, prior gastrectomy, sum of metastases; ^d Model 4: age, gender, liver metastases, bone metastases, prior radical treatment, chemotherapy type, prior gastrectomy, sum of metastases. □ p value from overall omnibus test verifying proportional hazard assumption; ‡ number of cases/ number of non-censored events; ± Harell's concordance index to assess goodness of fit of various models. NLR—neutrophile to lymphocyte ratio. PVPR—median platelet volume to platelets ratio.

To complement the results of the Cox regression analysis, Kaplan–Meier survival curves based on designated inflammatory markers were constructed (Figures 2–5). A significant difference was found between high and low NLR and PVPR (Supplement S2).

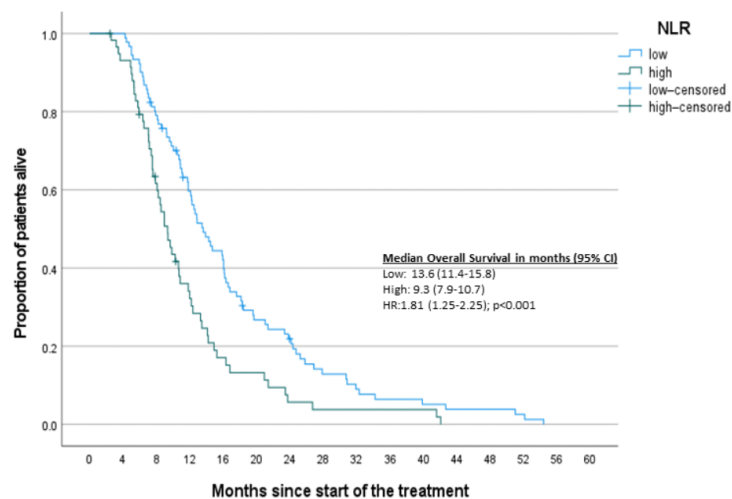


Figure 2. Kaplan–Meier curves for OS-NLR.

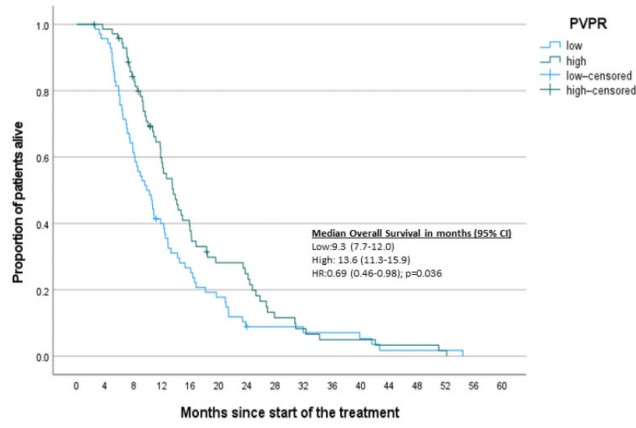


Figure 3. Kaplan–Meier curves for OS-PVPR.

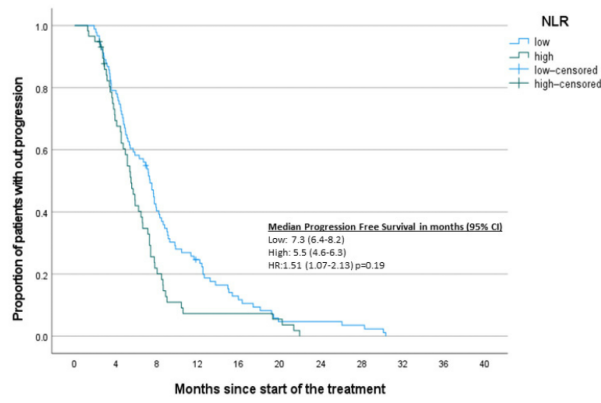


Figure 4. Kaplan–Meier curves for PFS-NLR.

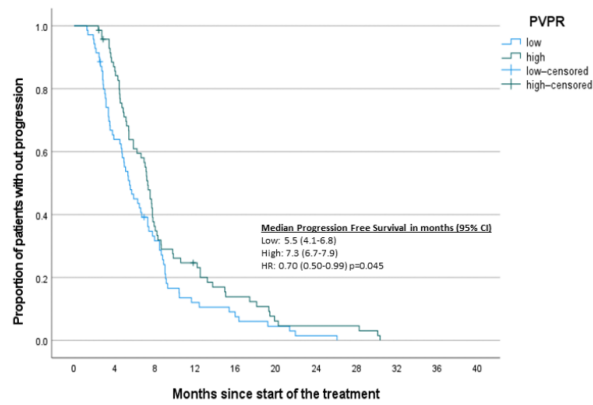


Figure 5. Kaplan–Meier curves PFS-PVPR.

To finally validate this model, we developed a combined NLR and PVPR score (direction on influence of NLR and PVPR is opposite). The Kaplan–Meier curve with log-rank test (Figure 6) showed statistical and clinical significance.

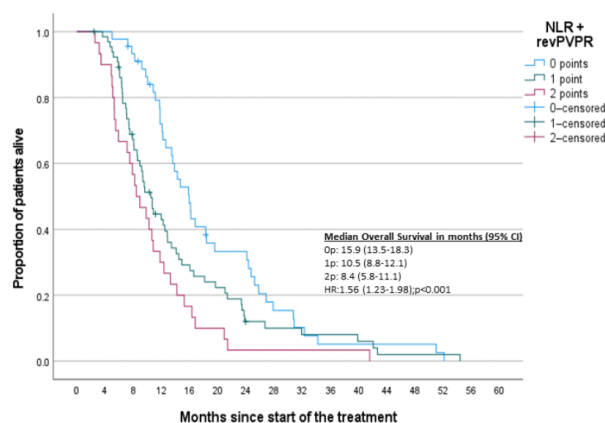


Figure 6. Kaplan–Meier curves for NLR and PVPR-OS. Note: PVPR is reversed due to opposite direction of influence.

4. Discussion

Our study showed that NLR and PVPR score could be used as a novel and unique predictor of survival in stage IV gastric cancer patients receiving standard cytotoxic chemotherapy.

Lack of accurate predictive factors hinders optimization of cytotoxic chemotherapy in gastric cancer. Our study defined a promising marker, but the exploratory nature of this analysis requires prospective validation. Chemotherapy might be tailored for individual GC patients when a proven and cheap predictive factor is available.

We have shown that both NLR and PVPR had a significant impact on OS and PFS in the first-line treatment of gastric cancer. These markers also did not seem to correlate with each other, so it should be concluded that they reflect two distinct realms of inflammatory response. Accordingly, a combined score of NLR and PVPR seems to enhance each parameter's prognostic strength.

Patients analyzed in the study were treated with cytotoxic chemotherapy appropriate for a given time, with a shift from a 3-drug regimen (e.g., EOX, mDCF) to a 2-drug regimen (e.g., XELOX), resulting from changes in gastric cancer treatment guidelines. In our opinion, this is a very interesting setting and further retrospective analysis should be conducted to analyze the difference in predictive factors pre and post shift.

The NLR is a well-established marker of inflammation in multiple malignancies and other diseases [30–32]. There are several explanations of the detrimental impact of impaired neutrophil-lymphocyte balance in cancer patients. Activated neutrophils promote tumor growth by producing proangiogenic factors [33], such as vascular endothelial growth factor (VEGF) [34], interleukin-8 [35], and matrix metalloproteinases [36]. On the other hand, neutrophils might also suppress the anti-tumor immune mechanisms by suppressing both natural killers and CD4+ and CD8+ T cells [37]. Contrary to the negative influence of high neutrophil levels, large populations of lymphocytes, both peripheral [38] and tumor-infiltrating [39], seem to correlate with improved survival of cancer patients. In numerous studies and across various malignancies, the increased peripheral blood ratio of neutrophils to lymphocytes constantly correlated with detrimental outcomes of cancer patients [40].

Recent insights into the interplay between cancer cells and platelets underline its importance in promoting tumor progression, by decreasing the activity of natural killer

lymphocytes [41], stimulation of deep venous thrombosis [42], and formation of neutrophil extracellular traps [43]. Therefore, in numerous studies, the elevated platelet count was shown to have a detrimental effect on OS in patients with various malignancies [44,45]. Many groups have also thoroughly evaluated several indicators of platelet-related activity, such as PLR and PDW. In our study, the most critical platelet-related factor seemed to be the PVPR. The main problem with assessing the impact of platelet volume on survival in malignancies is the heterogeneity of results. High MPV correlated with poor survival in most studies, as large platelets are considered more active [46]. Large platelets also increase the risk of thromboembolic events [47], which may further decrease survival rates. On the other hand, a recent meta-analysis on PDW, which is strongly correlated with MPV, showed opposite outcomes in GC patients [48]. Two trials showed no correlation between OS and PDW in gastric cancer in the analyzed group, and one showed even improved survival in patients with higher PDW. This phenomenon requires further analysis.

We are aware of the limitations of our study. The analysis was retrospective, and all data were gathered manually. There was an initial bias due to only analyzing patients that received at least one cycle of chemotherapy, so the group of patients with exceptionally bad prognosis was omitted. Nevertheless, our study, comprising a real-world population of advanced GC patients, treated with standard chemotherapy, allowed for the definition of a novel, unique, and readily available prognostic factor in clinical practice.

5. Conclusions

In summary, the NLR and PVPR score (high NLR and low PVPR) is a strong predictor of detrimental outcomes (both OS and PFS) in advanced, chemo-naïve GC patients undergoing first-line palliative chemotherapy. Validation of this novel prognostic factor in other populations of cancer patients is warranted.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm10173902/s1>, Supplement S1: Agreement between dichotomized inflammatory markers (Cohen's κ), Supplement S2: Overall survival (OS) and progression free survival (PFS) according to NLR, PVPR and NLR + revPVPR.

Author Contributions: Conceptualization, K.K.; data curation, A.M.; formal analysis, K.K. and A.M.; investigation, K.K., S.O., J.S., P.P. and L.K.; methodology, K.K.; supervision, P.J.W.; writing—original draft, K.K. and A.M.; writing—review and editing, K.K. and P.J.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and was approved by the ethics committee of Jagiellonian University (1072.6120.165.2021, 16.06.2021).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to retrospective nature of study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy concern.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Janunger, K.-G.; Hafström, L.; Glimelius, I.B. Chemotherapy in gastric cancer: A review and updated meta-analysis. *Eur. J. Surg.* **2002**, *168*, 597–608. [[CrossRef](#)]
2. Smyth, E.C.; Verheij, M.; Allum, W.; Cunningham, D.; Cervantes, A.; Arnold, I.D. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* **2016**, *27*, v38–v49. [[CrossRef](#)]
3. Montagnani, F.; Turrisi, G.; Marinozzi, C.; Aliberti, C.; Fiorentini, I.G. Effectiveness and safety of oxaliplatin compared to cisplatin for advanced, unresectable gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Gastric Cancer* **2011**, *1*, 50–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Van Meerten, E.; Eskens, F.A.L.M.; Van Gameren, E.C.; Doorn, L.; van der Gaast, A. First-line treatment with oxaliplatin and capecitabine in patients with advanced or metastatic oesophageal cancer: A phase II study. *Br. J. Cancer* **2007**, *96*, 9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Enzinger, P.C. CALGB 80403/ECOG 1206: A randomized phase II study of three standard chemotherapy regimens (ECF, IC, FOLFOX) plus cetuximab in metastatic esophageal and GE junction cancer. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 4006. [[CrossRef](#)]
6. Kim, G.M. A randomized phase II trial of S-1-oxaliplatin versus capecitabine-oxaliplatin in advanced gastric cancer. *Eur. J. Cancer* **2012**, *48*, 518–526. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Zhang, Y.; Ma, B.; Huang, X.-T.; Li, Y.-S.; Wang, Y.; Liu, Z.-L. Doublet versus single agent as second-line treatment for advanced gastric cancer. *Medicine* **2016**, *95*, e2792. [[CrossRef](#)]
8. Abbrederis, K. Weekly docetaxel monotherapy for advanced gastric or esophagogastric junction cancer: Results of a phase II study in elderly patients or patients with impaired performance status. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2008**, *66*, 84–90. [[CrossRef](#)]
9. Ochenduszko, S. Comparison of efficacy and safety of first-line palliative chemotherapy with EOX and mDCF regimens in patients with locally advanced inoperable or metastatic HER2-negative gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: A randomized phase 3 trial. *Med. Oncol. Northwood Lond. Engl.* **2015**, *32*, 242. [[CrossRef](#)]
10. Van Cutsem, E. Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: A report of the V325 Study Group. *J. Clin. Oncol.* **2006**, *24*, 31. [[CrossRef](#)]
11. Guo, W. Phase III trial comparing XELOX regimen (oxaliplatin plus capecitabine) versus EOX regimen (epirubicin, oxaliplatin and capecitabine) as first-line treatment for advanced gastric cancer: EXELOX trial. *J. Clin. Oncol.* **2021**, *39*, 4014. [[CrossRef](#)]
12. Bang, Y.J.; Van Cutsem, E.; Feyereislova, A.; Chung, H.C.; Shen, L.; Sawaki, A.; ToGA Trial Investigators. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): A phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **2010**, *376*, 9742. [[CrossRef](#)]
13. Janjigian, Y.Y.; Shitara, K.; Moehler, M.; Garrido, M.; Salman, P.; Shen, L.; Ajani, J.A. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Lond. Engl.* **2021**, *398*, 10294. [[CrossRef](#)]
14. Coussens, L.M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. *Nature* **2002**, *420*, 860–867. [[CrossRef](#)]
15. Diem, S. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab. *Lung Cancer* **2017**, *111*, 176–181. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Capone, M. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with nivolumab. *J. Immunother. Cancer* **2018**, *6*, 74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Mizunuma, M.; Yokoyama, Y.; Futagami, M.; Aoki, M.; Takai, Y.; Mizunuma, I.H. The pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts therapeutic response to radiation therapy and concurrent chemoradiation therapy in uterine cervical cancer. *Int. J. Clin. Oncol.* **2015**, *20*, 989–996. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Jung, M.R. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts poor survival following resection in late stage gastric cancer. *J. Surg. Oncol.* **2011**, *104*, 504–510. [[CrossRef](#)]
19. Lee, S. Prognostic significance of neutrophil lymphocyte ratio and platelet lymphocyte ratio in advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX chemotherapy. *BMC Cancer* **2013**, *13*, 350. [[CrossRef](#)]
20. Xin-Ji, Z.; Yong-Gang, L.; Xiao-Jun, S.; Xiao-Wu, C.; Dong, Z.; Da-Jian, I.Z. The prognostic role of neutrophils to lymphocytes ratio and platelet count in gastric cancer: A meta-analysis. *Int. J. Surg.* **2015**, *21*, 84–91. [[CrossRef](#)]
21. Asher, V.; Lee, J.; Innamaa, A.; Bali, I.A. Preoperative platelet lymphocyte ratio as an independent prognostic marker in ovarian cancer. *Clin. Transl. Oncol.* **2011**, *13*, 499. [[CrossRef](#)]
22. Hu, Z. Diagnostic value of hematological parameters platelet to lymphocyte ratio and hemoglobin to platelet ratio in patients with colon cancer. *Clin. Chim. Acta* **2020**, *501*, 48–52. [[CrossRef](#)]
23. Cui, M. Platelet distribution width correlates with prognosis of non-small cell lung cancer. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Wu, Y.-Y.; Zhang, X.; Qin, Y.-Y.; Qin, J.-Q.; Lin, F.-Q. Mean platelet volume/platelet count ratio in colorectal cancer: A retrospective clinical study. *BMC Cancer* **2019**, *19*, 314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Çetinkaya, E.; Şenol, K.; Saylam, B.; Tez, M. Red cell distribution width to platelet ratio: New and promising prognostic marker in acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol. WJG* **2014**, *20*, 14450–14454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Templeton, A.J. Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomark.* **2014**, *23*, 1204–1212. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Nash, G.; Turner, L.; Scully, M.; Kakkar, A. Platelets and cancer. *Lancet Oncol.* **2002**, *3*, 425–430. [[CrossRef](#)]
28. Montagnana, M.; Danese, E. Red cell distribution width and cancer. *Ann. Transl. Med.* **2016**, *4*, 399. [[CrossRef](#)]
29. Vano, Y.-A. Optimal cut-off for neutrophil-to-lymphocyte ratio: Fact or Fantasy? A prospective cohort study in metastatic cancer patients. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0195042. [[CrossRef](#)]
30. Forget, P. The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) after surgery for hip fracture (HF). *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2015**, *60*, 366–371. [[CrossRef](#)]
31. Condado, J.F. Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-lymphocyte ratio (PLR) can risk stratify patients in transcatheter aortic-valve replacement (TAVR). *Int. J. Cardiol.* **2016**, *223*, 444–449. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

32. Köse, N.; Yıldırım, T.; Akın, F.; Yıldırım, S.E.; Altun, İ. Prognostic role of NLR, PLR, and LMR in patients with pulmonary embolism. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* **2020**, *20*, 248–253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Houghton, A.M. Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat. Med.* **2010**, *16*, 219–223. [[CrossRef](#)]
34. Webb, N.J.A.; Myers, C.R.; Watson, C.J.; Bottomley, M.J.; Brenchley, P.E.C. Activated human neutrophils express Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *Cytokine* **1998**, *10*, 254–257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Bazzoni, F.; Cassatella, M.A.; Rossi, F.; Ceska, M.; Dewald, B.; Baggiolini, M. Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8. *J. Exp. Med.* **1991**, *173*, 771–774. [[CrossRef](#)]
36. Fernández, C.A.; Yan, L.; Louis, G.; Yang, J.; Kutok, J.L.; Moses, M.A. The matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex plays a role in breast tumor growth and is present in the urine of breast cancer patients. *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 5390–5395. [[CrossRef](#)]
37. Spiegel, A. Neutrophils suppress intraluminal NK cell-mediated tumor cell clearance and enhance extravasation of disseminated carcinoma cells. *Cancer Discov.* **2016**, *6*, 630–649. [[CrossRef](#)]
38. Imai, K.; Matsuyama, S.; Miyake, S.; Suga, K.; Nakachi, K. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: An 11-year follow-up study of a general population. *Lancet* **2000**, *356*, 1795–1799. [[CrossRef](#)]
39. Wang, K.; Xu, J.; Zhang, T.; Xue, D. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer predict the response to chemotherapy and survival outcome: A meta-analysis. *Oncotarget* **2016**, *7*, 44288–44298. [[CrossRef](#)]
40. Zhang, Y.; Brodin, P.; Kalnicki, S.; Garg, M.; Guha, C.; Kabarriti, R. NLR as a prognostic factor in solid tumors. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, e24057. [[CrossRef](#)]
41. Placke, T. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 440–448. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Palacios-Acedo, A.L.; Mège, D.; Crescence, L.; Dignat-George, F.; Dubois, C.; Panicot-Dubois, L. Platelets, thrombo-inflammation, and cancer: Collaborating with the enemy. *Front. Immunol.* **2019**, *10*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Cools-Lartigue, J.; Spicer, J.; Najmeh, S.; Ferri, L. Neutrophil extracellular traps in cancer progression. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* **2014**, *71*, 4179–4194. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Feng, J.-F.; Huang, Y.; Chen, Q.-X. Preoperative platelet lymphocyte ratio (PLR) is superior to neutrophil lymphocyte ratio (NLR) as a predictive factor in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *World J. Surg. Oncol.* **2014**, *12*, 58. [[CrossRef](#)]
45. Prabawa, I.P.Y. Pretreatment Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR) as a predictive value of hematological markers in cervical cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP* **2019**, *20*, 863–868. [[CrossRef](#)]
46. Kaito, K. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Br. J. Haematol.* **2005**, *128*, 698–702. [[CrossRef](#)]
47. Brækkan, S.K.; Mathiesen, E.B.; Njølstad, I.; Wilsgaard, T.; Stormer, J.; Hansen, J.B. Mean platelet volume is a risk factor for venous thromboembolism: The Tromsø study. *J. Thromb. Haemost.* **2010**, *8*, 157–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Xia, W.; Chen, W.; Tu, J.; Ni, C.; Meng, K. Prognostic value and clinicopathologic features of platelet distribution width in cancer: A meta-analysis. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* **2018**, *24*, 7130–7136. [[CrossRef](#)]

Article

Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer

Kamil Konopka ^{1,*}, Paulina Fączek ², Maciej Lubaś ², Agnieszka Micek ³, Łukasz Kwinta ¹, Joanna Streb ¹, Paweł Potocki ¹ and Piotr J. Wysocki ¹

¹ Department of Oncology, Jagiellonian University Medical College, 31-007 Cracow, Poland

² Department of Medical Oncology, University Hospital in Cracow, 30-688 Cracow, Poland

³ Department of Nursing Management and Epidemiology Nursing, Jagiellonian University Medical College, 31-007 Cracow, Poland

* Correspondence: kamil.konopka@uj.edu.pl

Abstract: Background: Interplay between non-specific inflammatory reaction and tumor microenvironment in gastric cancer (GC) can be measured indirectly by assessing fluctuations in concentration of platelets. Cytotoxic chemotherapy affects these morphotic elements directly by inducing myelosuppression. It was hypothesized that chemotherapy not only directly affects malignant cells, but also through immunomodulation related to myelosuppression. Methods: Metastatic GC patients (N: 155) treated with chemotherapy +/- trastuzumab were enrolled in this retrospective study. Platelet pretreatment concentration (PLT-count) and the deepest level of platelet reduction, as well as other inflammatory and general confounders were collected in the first 12 weeks of treatment (PLT-red). Martingale residuals were used to visualize the relationship between PLT-count, PLT-red, and overall survival (OS). Multiple multivariate Cox regression models were built to assess the impact of platelet reduction on OS and progression-free survival (PFS). Results: Reduction of PLT (PLT-red) to 60% of baseline concentration was associated with improved survival rates (HR = 0.60, $p = 0.026$ for OS and HR 0.56, $p = 0.015$ for PFS). Cross-classification into four groups based on PLT-count (high vs low) and PLT-red (high vs low) showed significantly worse survival rates in both high PLT-count (HR = 3.60, $p = 0.007$ for OS and HR = 2.97, $p = 0.024$ for PFS) and low PLT-count (HR = 1.75, $p = 0.035$ for OS and HR = 1.80, $p = 0.028$ for PFS) patients with insufficient platelets reduction. Conclusion: Thrombocytosis reduction represents a novel, clinically important, prognostic factor for OS and PFS in patients with stage IV GC.

Keywords: gastric cancer; platelets; chemotherapy



Citation: Konopka, K.; Fączek, P.; Lubaś, M.; Micek, A.; Kwinta, L.; Streb, J.; Potocki, P.; Wysocki, P.J. Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 1213. <https://doi.org/10.3390/jcm11051213>

Academic Editors: Massimiliano Salati

Received: 8 February 2022

Accepted: 23 February 2022

Published: 24 February 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The oncology landscape is constantly evolving and there is no doubt that gastric cancer treatment will no longer be based solely on cytotoxic chemotherapy [1,2]. However, until then, optimization of cytotoxic chemotherapy is of the most importance. The long-standing pursuit has been made to find the link between systemic inflammatory reactions and the effectiveness of cancer treatment [3,4].

Several studies have shown that there is a correlation between baseline systemic inflammation measured by neutrophil-to-cell ratio (NLR) and overall survival (OS) in the context of both cytotoxic chemotherapy [5] and immunotherapy [6]. While the role of NLR appears to be solid if not explained, the importance of another morphotic element, platelets, is more ambiguous [7]. Several studies have shown that platelet-based markers, such as the platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) [8] or platelet-derived weight (PDW) [9], could provide prognostic information. Even more important than finding accurate prognostic factors is finding good predictive factors to steer the course of treatment that is already on the way. The detection of early signs of the futility of treatment may guide the early modification of

systemic therapy. The characteristic and typical adverse event of cytotoxic chemotherapy is myelotoxicity [10], and some studies showed that treatment-induced neutropenia [11] or thrombocytopenia [12] could predict a good response to therapy. Overall, it remains unclear whether such cytopenias might indeed be helpful in tailoring patient-oriented treatment.

We hypothesized that chemotherapy-mediated reduction of initially increased platelet count could be used as an early biomarker that predicts response to systemic treatment. Platelets are better suited for this task because of variability of the neutrophil count resulting from the nature of neutrophil progenitor cells. Furthermore, unlike in the case of low-grade thrombocytopenia, chemotherapy must be delayed in most patients, demonstrating neutropenia (\geq G2 CTCAE) due to the risk of subsequent febrile neutropenia [13]. Furthermore, in many patients with neutropenia, G-CSF administration is required, which can also result in clinically significant neutrocytosis [14].

To evaluate the prognostic and predictive role of thrombocytosis and the reduction in treatment-induced PLT count, we analyzed the extent of a decrease in the number of circulating PLT during the first 12 weeks of treatment, which is the usual time point for evaluating the initial response to systemic therapy in clinical practice.

2. Materials and Methods

The retrospective analysis included data on 155 patients with advanced gastric cancer (GC) treated systemically in the Department of Clinical Oncology, University Hospital in Cracow between September 2013 and December 2019. The data was censored on 31 December 2020. Patients were eligible for analysis if at least one cycle of palliative intravenous chemotherapy had been administered and full longitudinal records of blood morphology were available. The chemotherapy regimen administered was a standard of care at a given time and was adapted to the patient's performance status, HER2 expression, and available therapeutic guidelines. The neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) was calculated by division of the absolute neutrophil and lymphocyte counts. Platelet reduction (PLT-red) was calculated as a ratio of the lowest PLT count between the 2nd and 12th week divided by the initial platelet concentration (PLT-count). Overall survival (OS) was defined as the time from the initiation of the first palliative chemotherapy to death. Progression-free survival (PFS) was defined as the time from the beginning of the first palliative chemotherapy to progression or death. The intensity of the dose was calculated as the ratio between the number of cycles of chemotherapy administered, divided by the maximum possible in a given time. Chemotherapy regimens were classified into four categories according to the number of drugs administered (single agent regime, double agent regime, triple agent regime, and trastuzumab-based regimen).

Statistical Analysis

The baseline characteristics of the study sample were presented in two groups of patients who achieved or did not achieve a meaningful level of PLT reduction. Categorical variables with frequencies and percentages were reported and continuous variables were characterized by medians and interquartile ranges due to the high right skewness of all investigated parameters. Nonparametric tests were used to compare medians between two or more independent groups (Wilcoxon rank sum test and ANOVA rank Kruskal-Wallis H test). The functional form of the relationship between continuous variables and the log hazard ratio was tested with martingale residuals [15]. The Kaplan–Meier method was used to estimate survival functions, and a comparison of them between two or more independent groups was performed applying a log-rank test. Multiple Cox regression models were fitted to assess the influence of the two main exposure variables PLT-count and PLT-red, as well as the impact of covariates on time to death or disease progression. NLR at baseline, dose intensity, ECOG, and type of chemotherapy were considered potential confounders based on previous evaluation [16]. The proportional hazard assumption in all multivariable models was tested with visual inspection of Schoenfeld residuals and was formally complemented with omnibus chi-squared goodness of fit tests, relating failure

time to covariate values. In case of violation of this assumption, a different baseline hazard function was introduced. Dichotomization of inflammatory markers or their reduction was performed using cut-off points determined by displaying diagnostic graphs of Cox models. To fulfill the assumption of linearity, the logarithmical transformation (with a base 2) was used. The analyses were performed in R software (Development Core Team, Vienna, Austria, version 4.0.4). All tests were two-sided and statistical significance was defined as $p < 0.05$. No correction was applied for multiple statistical tests, due to the exploratory nature of the study.

3. Results

The final analysis consisted of 105 patients. Fifty patients were excluded due to the lack of complete longitudinal data.

The maximum level of platelets reduction was usually observed in the 7th week of treatment (Me: 7, IQR: 5–10 weeks).

To visually assess the relationship between OS and platelet-based variables and to check the functional form of exposure, which should be used in analysis, we plotted two charts with martingale residuals computed from the null COX regression and modelled them as a function of either PLT-count or PLT-red (Figure 1).

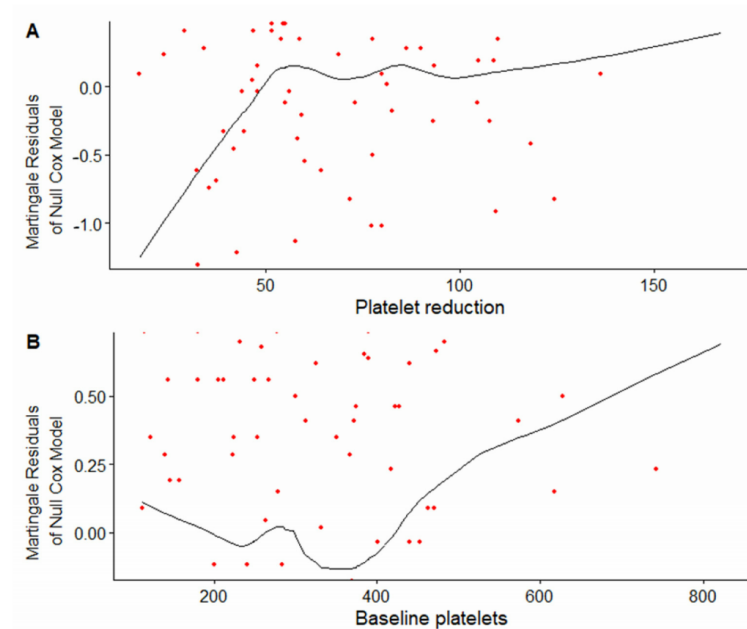


Figure 1. Relationship between PLT-red, PLT-count, and overall survival. (A) Martingale residuals of the null Cox model plotted against PLT-red. (B) Martingale residuals of Null Cox model plotted against PLT-count. The superimposed smooth line shows the approximation of the true functional form of a given covariate. The increasing trend shows shorter OS.

We detected a linear positive trend in association with PLT-red up to a value of 60% reflecting a worsening survival prognosis, followed by stabilization with achievement of the plateau afterwards. Analogical visual inspection of the relationship with the PLT-count revealed that crossing the $400 \times 10^3/\mu\text{L}$ level was associated with a gradual increase in martingale residuals and, consequently, a continuous decrease in the average duration of survival. The analysis in relation to PFS (Figure S1) showed similar patterns of the

relationship with roughly the same cut-off points (60% for PLT-red and $400 \times 10^3 / \mu\text{L}$ for PLT-count), therefore, these values were used as thresholds for dichotomization. On the other hand, analyzing PLT-red as a continuous variable was admissible after logarithmical transformation with a base of 2.

Kaplan–Meier survival analysis was performed to compare the survival time of patients with high PLT count ($n = 28$) and low PLT count ($n = 77$). The median OS in the low PLT count group was 9.5 months (95%CI: 8.5–14) and was significantly higher than in the high PLT count group 8.62 (95% CI: 6.0–13.5) (Figure 2). A log rank test depicted the significance of differences in the survival distributions as well ($\chi^2(1) = 4.8, p = 0.028$).

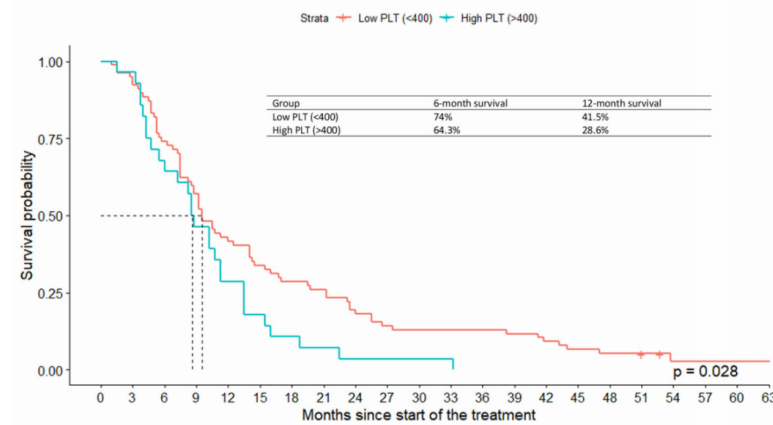


Figure 2. Overall survival according to the PLT-count in the high (PLT < $400 \times 10^3 / \mu\text{L}$) vs. low (PLT > $400 \times 10^3 / \mu\text{L}$) groups. Baseline patient demographic and clinical characteristics across reduced platelets (PLT-red < 60%) and non-reduced platelets (PLT-red 60%) patients are shown in Table 1.

Table 1. Baseline characteristics.

Variable	Reduced ($n = 48$)	Non-Reduced ($n = 57$)	<i>p</i>
Age			
Median (Q1–Q3)	60.0 (54.8–70.3)	61.0 (54.0–70.0)	0.745
[Min, Max]	[32.0, 82.0]	[32.0, 82.0]	
Gender			1.000
Male	32 (66.7%)	39 (68.4%)	
Female	16 (33.3%)	18 (31.6%)	
Performance status(PS)			0.967
0	8 (16.7%)	9 (15.8%)	
1	30 (62.5%)	37 (64.9%)	
2	10 (20.8%)	11 (19.3%)	
Overall survival †			0.171
Median (Q1–Q3)	297.5 (213.3–543.0)	262.0 (149.0–434.0)	
[Min, Max]	[44.0, 1913.0]	[29.0, 1428.0]	
Progression free survival †			0.058
Median (Q1–Q3)	187.5 (118.8–295.0)	133.0 (81.0–233.0)	
[Min, Max]	[44.0, 1477.0]	[29.0, 880.0]	

Table 1. Cont.

Variable	Reduced (n = 48)	Non-Reduced (n = 57)	p
Platelets \square			
Median (Q1–Q3)	377.5 (287.3–441.5)	259.0 (201.0–377.0)	0.000
[Min, Max]	[224.0, 822.0]	[113.0, 618.0]	
NEU \square			
Median (Q1–Q3)	5.7 (4.2–6.4)	4.9 (3.8–6.0)	0.153
[Min, Max]	[1.9, 12.9]	[1.5, 10.1]	
LYM \square			
Median (Q1–Q3)	1.5 (1.2–1.9)	1.6 (1.2–1.9)	0.561
[Min, Max]	[0.3, 2.8]	[0.7, 3.8]	
NLR			
Median (Q1–Q3)	3.6 (2.4–5.5)	3.2 (2.0–4.5)	0.129
[Min, Max]	[0.8, 15.0]	[1.0, 7.2]	
Missing	1 (2.1%)	1 (1.8%)	
PDW \pm			
Median (Q1–Q3)	10.9 (10.3–12.4)	12.0 (10.7–13.6)	0.047
[Min, Max]	[8.8, 16.3]	[8.8, 18.7]	
Missing	1 (2.1%)	1 (1.8%)	
Chemotherapy type			
One-drug regime	2 (4.2%)	10 (17.5%)	0.043
Two-drugs regime	27 (56.3%)	19 (33.3%)	
Three-drugs regime	16 (33.3%)	21 (36.8%)	
Trastuzumab based regime	3 (6.3%)	7 (12.3%)	
Dose intensity			
Median (Q1–Q3)	0.81 (0.72–0.89)	0.81 (0.71–0.88)	0.634
[Min, Max]	[0.21, 1.00]	[0.47, 1.33]	

NEU = neutrophils, LYM = lymphocytes, NLR = neutrophil to lymphocytes ratio, PDW = platelet distribution width, dose intensity = delivered cycles of chemotherapy/planned cycles. p = p-value of the Wilcoxon rank sum test for the difference between medians. $\square = \times 10^3 / \mu\text{L}$. $\pm = \text{fl}$, $\dagger = \text{days}$.

The reduced and non-reduced PLT groups differed significantly in terms of PLT-count and PDW, but not in lymphocytes and neutrophil concentration, or NLR ratio. There were no differences in chemotherapy dose intensity between the groups; however, compared to PLT-reduced patients, the PLT-non-reduced subsample more frequently received single agent chemotherapy and simultaneously less frequently two-drug chemotherapy. Single agent chemotherapy, which is assumed to be a suboptimal treatment for patients with a GC, was associated with weaker reduction in PLT, as shown in Figure 3. Differences in subgroups were formally tested with the Kruskal–Wallis H test that showed statistically significant differences between groups $\chi^2(3) = 10.3, p = 0.0164$.

To more fully reflect the inflammatory profile of the patients, controlling proportional changes in PLT for their initial values was needed. Both PLT-red and PLT-count were incorporated into the Cox regression analysis in the appropriate form, guaranteeing that there was no violation of the model assumptions. When we did not adjust to additional covariates, regardless of whether PLT-depl was included as a continuous or dichotomized variable, a high initial level of PLT was associated with approximately twice the risk of death (HR = 2.10, 95% CI: 1.30–3.38 or HR = 1.91, 95% CI: 1.19–3.06, respectively). Controlling for possible confounders showed an even stronger effect (HR = 2.32, 95% CI: 1.36–3.98 or HR = 2.29, 95% CI: 1.33–3.95, respectively). Regarding the time to progression of the disease, the estimates were also very stable, showing in fully adjusted models the tendency to a higher risk of outcome for patients with a PLT count greater than $400 \times 10^3 / \mu\text{L}$, however, with only marginally significant results (HR = 1.64, 95% CI: 0.99–2.73 or HR = 1.64, 95% CI: 0.98–2.76). We obtained a robust assessment of PLT on the impact of reduction on both OS and PFS with strong effect towards deterioration of prognosis across increasing

values of PLT-red. The double increase in PLT-red was accompanied by a 60–66% higher risk of reaching OS/PFS endpoints (HR = 1.60, 95% CI: 1.12–2.31 for OS and HR = 1.66, 95% CI: 1.15–2.39 for PFS in fully adjusted models), and reaching at least a level of 0.6 was associated with a 55%–68% risk of OS and a 60–80% higher risk of the PFS endpoint (HR = 1.68, 95% CI: 1.06–2.64 for OS and HR = 1.80, 95% CI: 1.12–2.91 for PFS) (Table 2).

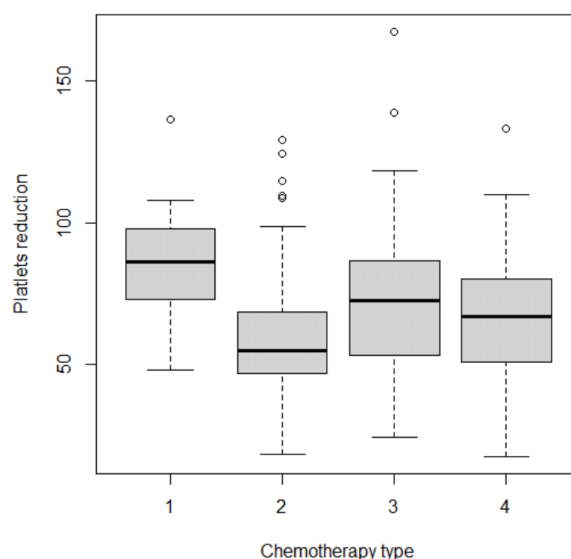


Figure 3. Comparison of platelet reduction grouped by type of chemotherapy administered. 1 = 1-drug regime, 2 = 2-drug regime, 3 = 3-drug regime, 4 = trastuzumab-based regime. ° = outliers.

Table 2. Cox regression analysis for baseline platelet and platelets reduction.

Inflammatory Markers	OS				PFS			
	Model 1 * HR (95% CI)	p	Model 2 ** HR (95% CI)	p	Model 1 * HR (95% CI)	p	Model 2 ** HR (95% CI)	p
<i>Dichotomized PLT-count and logarithmically transformed PLT-red (continous)</i>								
PLT-count < 400 □	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-
PLT-count ≥ 400 □	2.10 (1.30; 3.38)	0.002	2.32 (1.36; 3.98)	0.002	1.56 (0.98; 2.48)	0.061	1.64 (0.99; 2.73)	0.055
PLT-red (log2)	1.64 (1.18; 2.28)	0.003	1.60 (1.12; 2.31)	0.011	1.62 (1.16; 2.26)	0.004	1.66 (1.15; 2.39)	0.006
<i>Dichotomised both PLT-count and PLT-red</i>								
PLT-count < 400 □	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-
PLT-count ≥ 400 □	1.91 (1.19; 3.06)	0.008	2.29 (1.33; 3.95)	0.003	1.46 (0.92; 2.32)	0.109	1.64 (0.98; 2.76)	0.060
PLT-red < 0.6	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-
PLT-red > 0.6	1.55 (1.02; 2.34)	0.038	1.68 (1.06; 2.64)	0.026	1.60 (1.05; 2.42)	0.028	1.80 (1.12; 2.91)	0.015

* Model 1 includes only PLT-count and PLT-red. ** Model 2 includes PLT-count, PLT-red, ECOG, dose intensity, type of chemotherapy, and NLR at baseline (dichotomized with highest quartile as cut-off point). □ = $\times 10^3 / \mu\text{L}$.

To translate these results into clinical practice, a final model with four groups determined by cross-classification of level of PLT-red (<60 and the ≥ 60) and concentration of PLT-count ($< 400 \times 10^3 / \mu\text{L}$ and $\geq 400 \times 10^3 / \mu\text{L}$) was constructed and analyzed with Cox regression. Our goal was to check whether achieving a significant reduction in platelets could be beneficial even in the case of an elevated inflammatory reaction (Table 3).

Table 3. Cox regression analysis for groups based on the baseline platelet level and platelet reduction.

Inflammatory Markers	OS				PFS			
	Model 1 * HR (95% CI)	p	Model 2 ** HR (95% CI)	p	Model 1 * HR (95% CI)	p	Model 2 ** HR (95% CI)	p
PLT-count <400 □ & PLT-red < 0.6	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-	1.00 (ref.)	-
PLT-count <400 □ & PLT-red ≥ 0.6	1.58 (0.97; 2.57)	0.064	1.75 (1.04; 2.93)	0.035	1.62 (0.99; 2.64)	0.055	1.80 (1.07; 3.05)	0.028
PLT-count ≥400 □ & PLT-red < 0.6	1.97 (1.07; 3.61)	0.029	2.44 (1.26; 4.73)	0.008	1.49 (0.82; 2.72)	0.195	1.64 (0.87; 3.11)	0.127
PLT-count ≥400 □ & PLT-red ≥ 0.6	2.89 (1.32; 6.33)	0.008	3.60 (1.41; 9.18)	0.007	2.30 (1.06; 4.99)	0.036	2.97 (1.15; 7.66)	0.024
p for trend	0.003		0.001		0.041		0.028	

* Model 1 includes only PLT-count and PLT-red; ** Model 2 includes PLT-count, PLT-red, ECOG, dose intensity, type of chemotherapy, and NLR at baseline (dichotomized with highest quartile as a cut-off point). □ = ×10³/μL.

In all constructed models, a decreasing trend of survival rates was detected across pre-made groups (*p* for trend < 0.05). After controlling for known confounders, the patient in the worst group (high PLT count and non-reduced PLT) had a 3.60 and 2.97 times greater risk of the death and progression of disease, respectively, in comparison to patients with optimal parameters (HR = 3.60, 95% CI: 1.41–9.18 for OS and HR = 2.97, 95% CI: 1.15–7.66 for PFS). Achieving platelet reduction in the group with a high inflammatory reaction improved their survival rates compared to patients with high inflammation and no platelet reduction. Differences in survival rates are visualized in Figure 4.

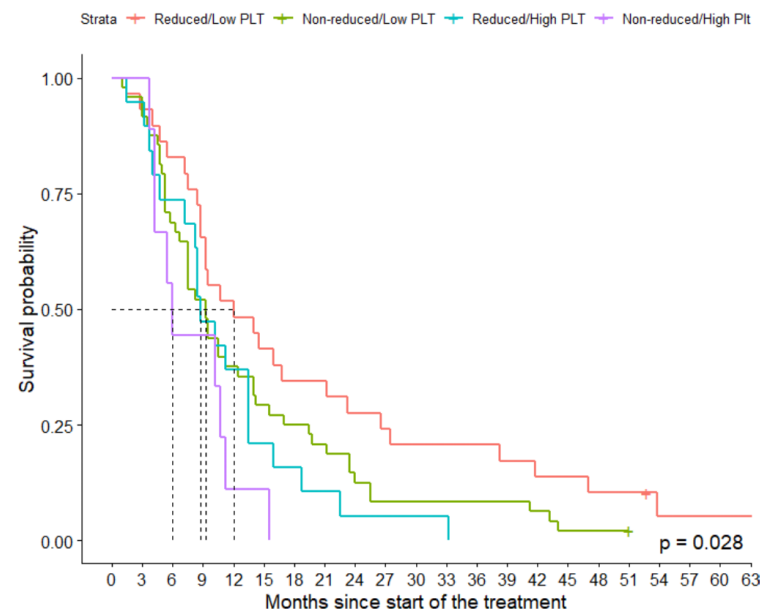


Figure 4. Kaplan–Meier curves for groups based on baseline platelet level and platelet reduction.

4. Discussion

Our analysis confirmed the results of some earlier studies indicating that thrombocytosis at the start of systemic treatment represents a detrimental prognostic factor in advanced gastrointestinal cancer [17], as well as other malignancies [18]. Chronic systemic inflammation mediated by cancer-induced cytokines (IL-6, IL-10) is reflected in the increase in the number of circulating platelets [19,20]. There is no doubt that platelets are not only

a biomarker of advanced disease, but also a direct trigger of life-threatening conditions such as venous thromboembolism (VTE) [21] which, after neutropenia-induced infections, is the second leading cause of mortality in advanced malignancies [22]. Among various explanations for the detrimental impact of thrombocytosis on cancer patients' outcomes, three appear to be the most important: (i) promotion of tumor growth and angiogenesis by PLT-secreted cytokines [23]; (ii) facilitation of metastasis by protecting circulating tumor cells from physical factors such as shear stress and host immune response [24]; and (iii) induction of a vicious circle in which platelets stimulate tumor cells, which further stimulate platelet production and activity [25].

Theoretically, normalization of an increased PLT count during cancer treatment should decrease the risk of VTE and improve patient outcomes [26]. However, robust data on the prognostic role of treatment-mediated mitigation of thrombocytosis in cancer patients are missing.

The observed impact of platelet reduction on survival could also be explained by the sheer effect of cytotoxic chemotherapy on malignant cells. In this setting, platelet reduction could reflect the intensity of myelosuppression induced directly by cytotoxic agents. Consequently, the lower decrease in platelets revealed by one-drug regimens supports this hypothesis.

In our opinion, it is implausible that only one of these explanations is correct. Platelet reduction directly inhibits the inflammation-induced tumor proliferation and indirectly reflect the antiproliferative potential of chemotherapy.

In clinical practice, the efficacy of systemic treatment is usually verified after 3 months of treatment. Therefore, we decided to analyze the extent of reduction in platelet count during the first 12 weeks of chemotherapy in the population studied. Based on initial statistical analyses, which revealed a survival curve plateau after reaching a 60% reduction in the PLT count, we decided to use this value as a cut-off point for further statistical analyzes.

Our results demonstrate that a significant reduction (60%) in cancer-related thrombocytosis represents a favorable prognostic factor for overall survival in chemotherapy-treated GC patients. The extent of reduction in PLT depends on the antitumor activity of chemotherapy and the specific toxicity of PLT of particular cytotoxic drugs such as carboplatin or gemcitabine [27]. However, in the systemic treatment of GC, none of the thrombogenesis-impacting medications mentioned above are used. Analysis of various chemotherapy regimens used in the population of patients studied revealed that multidrug (2-, 3-, trastuzumab-based regimens) regimens were significantly more effective in reducing PLT counts than monotherapy. Several studies and available treatment guidelines suggest the use of multidrug regimens (at least two drugs) in the first-line treatment of advanced GC, due to its supreme efficacy in terms of tumor response and patient outcomes [28,29]. Furthermore, our study confirmed that such multidrug regimens, which are associated with higher rates of objective responses, also efficiently inhibit tumor-related thrombocytosis and thus neutralize protumorigenic PLT-mediated milieu. What is also very important is that it was the combination of drugs, but not the intensity of chemotherapy, that resulted in a significant reduction in thrombocytosis and a subsequent improvement in overall survival. This observation suggests that in patients with GC who experience unacceptable treatment-related toxicity, it is better to continue multidrug-based chemotherapy at reduced doses than to switch to monotherapy.

Despite the advent of novel therapeutic approaches, advanced gastric cancer patients have a poor prognosis with a median overall survival that usually does not exceed 12 months [30]. Adopting new predictive factors that could optimize the early stages of cancer treatment could significantly benefit patients. The most profound platelets reduction was usually detected in the 7th week of treatment and therefore can act as a timely signal for early intervention.

Treatment of advanced gastric cancer is rapidly evolving due to the introduction of immune checkpoint inhibitors. Anti-PD1 inhibitors alone and in combination with chemotherapy have significant activity in advanced GC and will soon be approved as first-

or second-line therapies in this indication [31]. However, many patients with GC will not respond to this approach and some of them may even experience a dangerous clinical phenomenon called hyperprogression, which is associated with extremely rapid disease progression and fatal outcomes. Recent publications analyze hyperprogression events in patients with various cancers [32], including gastrointestinal cancers [33]. They clearly showed that baseline thrombocytosis is a risk factor for this phenomenon.

Our study has several limitations. The most important limitation is its retrospective character. Furthermore, over the analyzed time, patients have been treated with various chemotherapy regimens based on the patient's performance status and available guidelines. Therefore, the results should be validated prospectively to consider utilization of the thrombocytosis reduction as a marker to guide clinical decisions. Over the analyzed time, the recommended systemic treatment in advanced GC changed from the three-drug to two-drug regimens. In terms of overall survival, both three-drug and two-drug regimens are equal [34], therefore, it should not have had an impact on the result of our analysis. On the other hand, some bias could be caused by the selection of patients for one-drug regimens. This type of treatment has not been a standard of care in the analyzed period and has usually been reserved for patients in suboptimal general conditions.

The second limitation is the small study sample caused by the lack of longitudinal data for 50 of our patients. Although the dropout was considerable, the incompleteness of the data was random and should not give additional bias.

Consequently, our observations may provide some additional hints in clinical practice in advanced GC patients treated with standard chemotherapy-only regimens, but also in those treated with novel chemoimmunotherapies. However, as previously stressed, prospective validation of the clinical utility of thrombocytosis-reduction must be performed not only in chemotherapy-only but also in advanced GC treated with chemoimmunotherapy.

5. Conclusions

The degree of platelet reduction during the first 12 weeks of chemotherapy represents an important prognostic and predictive factor that affects both OS and PFS in advanced gastric cancer.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm11051213/s1>, Figure S1: Relationship between PLT-red, PLT-count, and PFS.

Author Contributions: Conceptualization, K.K.; formal analysis, K.K. and A.M.; funding acquisition, P.J.W.; investigation, K.K., P.F., M.L., Ł.K., J.S. and P.P.; methodology, K.K.; visualization, K.K.; writing—original draft, K.K., A.M. and P.J.W.; writing—review & editing, K.K. and P.J.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of Jagiellonian University (1072.6120.165.2021, 16.06.2021).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to its retrospective nature.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy concerns.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Shitara, K.; Van Cutsem, E.; Bang, Y.-J.; Fuchs, C.; Wyrwicz, L.; Lee, K.-W.; Kudaba, I.; Garrido, M.; Chung, H.C.; Lee, J.; et al. Efficacy and Safety of Pembrolizumab or Pembrolizumab Plus Chemotherapy vs. Chemotherapy Alone for Patients with First-line, Advanced Gastric Cancer: The KEYNOTE-062 Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* **2020**, *6*, 1571–1580. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ricci, A.; Rizzo, A.; Llimpe, F.R.; Di Fabio, F.; De Biase, D.; Rihawi, K. Novel HER2-Directed Treatments in Advanced Gastric Carcinoma: Another Paradigm Shift? *Cancers* **2021**, *13*, 1664. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Rihawi, K.; Ricci, A.; Rizzo, A.; Brocchi, S.; Marasco, G.; Pastore, L.; Llimpe, F.; Golfieri, R.; Renzulli, M. Tumor-Associated Macrophages and Inflammatory Microenvironment in Gastric Cancer: Novel Translational Implications. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 3805. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ghiringhelli, F.; Apetoh, L. The interplay between the immune system and chemotherapy: Emerging methods for optimizing therapy. *Expert Rev. Clin. Immunol.* **2013**, *10*, 19–30. [[CrossRef](#)]
- Asaoka, T.; Miyamoto, A.; Maeda, S.; Tsujie, M.; Hama, N.; Yamamoto, K.; Miyake, M.; Haraguchi, N.; Nishikawa, K.; Hirao, M.; et al. Prognostic impact of preoperative NLR and CA19-9 in pancreatic cancer. *Pancreatol.* **2016**, *16*, 434–440. [[CrossRef](#)]
- Diem, S.; Schmid, S.; Krapf, M.; Flatz, L.; Born, D.; Jochum, W.; Templeton, A.J.; Früh, M. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab. *Lung Cancer* **2017**, *111*, 176–181. [[CrossRef](#)]
- Asher, V.; Lee, J.; Innamaa, A.; Bali, A. Preoperative platelet lymphocyte ratio as an independent prognostic marker in ovarian cancer. *Clin. Transl. Oncol.* **2011**, *13*, 499–503. [[CrossRef](#)]
- Feng, J.-F.; Huang, Y.; Chen, Q.-X. Preoperative platelet lymphocyte ratio (PLR) is superior to neutrophil lymphocyte ratio (NLR) as a predictive factor in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *World J. Surg. Oncol.* **2014**, *12*, 58. [[CrossRef](#)]
- Cui, M.-M.; Li, N.; Liu, X.; Yun, Z.-Y.; Niu, Y.; Zhang, Y.; Gao, B.; Liu, T.; Wang, R.-T. Platelet distribution width correlates with prognosis of non-small cell lung cancer. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 3456. [[CrossRef](#)]
- Dale, D.C.; McCarter, G.C.; Crawford, J.; Lyman, G.H. Myelotoxicity and Dose Intensity of Chemotherapy: Reporting Practices From Randomized Clinical Trials. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* **2003**, *1*, 440–454. [[CrossRef](#)]
- Han, Y.; Yu, Z.; Wen, S.; Zhang, B.; Cao, X.; Wang, X. Prognostic value of chemotherapy-induced neutropenia in early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* **2011**, *131*, 483–490. [[CrossRef](#)]
- Bottsford-Miller, J.; Choi, H.J.; Dalton, H.J.; Stone, R.L.; Cho, M.S.; Haemmerle, M.; Nick, A.M.; Pradeep, S.; Zand, B.; Previs, R.A.; et al. Differential Platelet Levels Affect Response to Taxane-Based Therapy in Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 602–610. [[CrossRef](#)]
- Crawford, J.; Dale, D.C.; Lyman, G.H. Chemotherapy-induced neutropenia. *Cancer* **2004**, *100*, 228–237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Morstyn, G.; Keech, J.; Sheridan, W.; Campbell, L.; Green, M.; Metcalf, D.; Fox, R.; Souza, L.; Alton, N. Effect of Granulocyte Colony Stimulating Factor on Neutropenia Induced by Cytotoxic Chemotherapy. *Lancet* **1988**, *331*, 667–672. [[CrossRef](#)]
- Therneau, T.M.; Grambsch, P.M.; Fleming, T.R. Martingale-based residuals for survival models. *Biometrika* **1990**, *77*, 147–160. [[CrossRef](#)]
- Konopka, K.; Micek, A.; Ochendusko, S.; Streb, J.; Potocki, P.; Kwinta, L.; Wysocki, P.J. Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 3902. [[CrossRef](#)]
- Voutsadakis, I.A. Thrombocytosis as a prognostic marker in gastrointestinal cancers. *World J. Gastrointest. Oncol.* **2014**, *6*, 34–40. [[CrossRef](#)]
- Aoe, K.; Hiraki, A.; Ueoka, H.; Kiura, K.; Tabata, M.; Tanaka, M.; Tanimoto, M. Thrombocytosis as a Useful Prognostic Indicator in Patients with Lung Cancer. *Respiration* **2004**, *71*, 170–173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bester, J.; Pretorius, E. Effects of IL-1 β , IL-6 and IL-8 on erythrocytes, platelets and clot viscoelasticity. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 32188. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Gudbrandsdottir, S.; Hasselbalch, H.C.; Nielsen, C.H. Activated Platelets Enhance IL-10 Secretion and Reduce TNF- α Secretion by Monocytes. *J. Immunol.* **2013**, *191*, 4059–4067. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kaider, A.; Schwarzingler, I.; Riedl, J.; Reitter, E.-M.; Marosi, C.; Jäger, U.; Zielinski, C.; Pabinger, I.; Ay, C. Association of mean platelet volume with risk of venous thromboembolism and mortality in patients with cancer. *Thromb. Haemost.* **2014**, *111*, 670–678. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Wun, T.; White, R.H. Venous Thromboembolism (VTE) in Patients with Cancer: Epidemiology and Risk Factors. *Cancer Investig.* **2009**, *27* (Suppl. S1), 63–74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bikfalvi, A.; Giménez-Gallego, G. The Control of Angiogenesis and Tumor Invasion by Platelet Factor-4 and Platelet Factor-4-Derived Molecules. *Semin. Thromb. Hemost.* **2004**, *30*, 137–144. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lou, X.-L.; Sun, J.; Gong, S.-Q.; Yu, X.-F.; Gong, R.; Deng, H. Interaction between circulating cancer cells and platelets: Clinical implication. *Chin. J. Cancer Res.* **2015**, *27*, 450–460. [[CrossRef](#)]
- Buergy, D.; Wenz, F.; Groden, C.; Brockmann, M.A. Tumor-platelet interaction in solid tumors. *Int. J. Cancer* **2012**, *130*, 2747–2760. [[CrossRef](#)]
- Bambace, N.M.; Holmes, C.E. The platelet contribution to cancer progression. *J. Thromb. Haemost.* **2011**, *9*, 237–249. [[CrossRef](#)]

27. Berg, M.J.T.; van den Bemt, P.M.L.A.; Shantakumar, S.; Bennett, D.; Voest, E.E.; Huisman, A.; Van Solinge, W.W.; Egberts, T.C. Thrombocytopenia in Adult Cancer Patients Receiving Cytotoxic Chemotherapy: Results from a retrospective hospital-based cohort study. *Drug Saf.* **2011**, *34*, 1151–1160. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Ter Veer, E.; Mohammad, N.H.; van Valkenhoef, G.; Ngai, L.L.; Mali, R.M.A.; Anderegg, M.C.; Van Oijen, M.G.H.; Van Laarhoven, H.W.M. The Efficacy and Safety of First-line Chemotherapy in Advanced Esophagogastric Cancer: A Network Meta-analysis. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **2016**, *108*, djw166. [[CrossRef](#)]
29. Wagner, A.D.; Syn, N.; Moehler, M.; Grothe, W.; Yong, W.P.; Tai, B.-C.; Ho, J.; Unverzagt, S. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2017**, *8*, CD004064. [[CrossRef](#)]
30. Janjigian, Y.Y.; Shitara, K.; Moehler, M.; Garrido, M.; Salman, P.; Shen, L.; Wyrwicz, L.; Yamaguchi, K.; Skoczylas, T.; Bragagnoli, A.C.; et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* **2021**, *398*, 27–40. [[CrossRef](#)]
31. Moehler, M.; Shitara, K.; Garrido, M.; Salman, P.; Shen, L.; Wyrwicz, L.; Yamaguchi, K.; Skoczylas, T.; Bragagnoli, A.C.; Liu, T.; et al. LBA6_PR Nivolumab (nivo) plus chemotherapy (chemo) versus chemo as first-line (1L) treatment for advanced gastric cancer/gastroesophageal junction cancer (GC/GEJC)/esophageal adenocarcinoma (EAC): First results of the CheckMate 649 study. *Ann. Oncol.* **2020**, *31*, S1191. [[CrossRef](#)]
32. Matos, I.; Martin-Liberal, J.; Garcia-Ruiz, A.; Hierro, C.; De Olza, M.O.; Viaplana, C.; Azaro, A.; Vieito, M.; Brana, I.; Mur, G.; et al. Capturing Hyperprogressive Disease with Immune-Checkpoint Inhibitors Using RECIST 1.1 Criteria. *Clin. Cancer Res.* **2020**, *26*, 1846–1855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Wang, Z.; Liu, C.; Bai, Y.; Zhao, X.; Cui, L.; Peng, Z.; Zhang, X.; Wang, X.; Zhao, Z.; Li, J.; et al. Redefine Hyperprogressive Disease during Treatment with Immune-Checkpoint Inhibitors in Patients with Gastrointestinal Cancer. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 761110. Available online: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2021.761110> (accessed on 22 February 2022). [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Guo, W.; Zhu, X.; Huang, M.; Wang, Y.; Chen, Z.; Feng, W.; He, Y.; Zhang, X.; Liu, X.; Wang, C.; et al. Phase III trial comparing XELOX regimen (oxaliplatin plus capecitabine) versus EOX regimen (epirubicin, oxaliplatin and capecitabine) as first-line treatment for advanced gastric cancer: EXELOX trial. *J. Clin. Oncol.* **2021**, *39* (Suppl. S15), 4014. [[CrossRef](#)]

VIII DYSKUSJA

Rak żołądka w stadium uogólnienia charakteryzuje się bardzo złym rokowaniem, a stosowane w nim terapie, jakkolwiek coraz skuteczniejsze, nadal łączą się z bardzo wysoką częstością poważnych działań niepożądanych. Pomimo wprowadzenia do praktyki klinicznej immunoterapii w pierwszej linii leczenia, cytotoksyczna chemioterapia jeszcze przez długi czas będzie standardem. Przy braku możliwości szybkiej zmiany armamentarium konieczne jest zwrócenie uwagi na czynniki prognostyczne i predykcyjne, optymalizacja których może istotnie poprawić skuteczność terapii.

Retrospektywny charakter badania oraz włączenie do analizy wszystkich pacjentów, którzy otrzymywali chemioterapię z powodu zaawansowanego nowotworu stawiało pewną trudność w interpretacji wyników. Standardowo we pierwszej fazie badania chorzy w dobrym stanie ogólnym otrzymywali schematy 3-lekowe, a w drugiej 2-lekowe. Wynikało to ze zmiany międzynarodowych wytycznych, która dokonywała się w tamtym okresie. Nadekspresja HER2, definiowana jako wynik HER2 3+ w badaniu immunohistochemicznym (IHC), obserwowana była u 10,3% pacjentów, co jest wynikiem zawartym w dolnym zakresie częstości raportowanych w innych badaniach. Niska częstość może wynikać z braku oceny amplifikacji genu HER2 w przypadku niejednoznacznego wyniku badania IHC. Niestety wynik badania HER2 nie był dostępny dla 34,8% pacjentów. Wynikało to z przesłanek pozamerytorycznych. Terapia przeciwciałem anti-HER2 nie była dostępna w Polsce w najwcześniejszym okresie obejmowanym przez przeprowadzoną analizę. Dodatkowo kryteria refundacyjne określone w Programie Leczenia Raka Żołądka NFZ uniemożliwiały zastosowanie leczenia trastuzumabem w przypadku suboptymalnego stanu ogólnego pacjentów. Z tego powodu u części chorych, którzy klinicznie nie spełniali kryteriów włączenia do programu lekowego, nie przeprowadzano analizy ekspresji HER2. Mając to na uwadze stosowany schemat chemioterapii w obu badaniach został potraktowany jako zmienna zakłócająca.

Głównym problemem, który wynika z natury ocenianych markerów stanu zapalnego, jest ich duża zależność od zewnętrznych czynników zakłócających. Zarówno NLR/PVPR oceniany w pierwszej pracy, jak i poziom płytek krwi oceniany w drugiej opiera się na ocenie elementów morfotycznych krwi, które mają swoją naturalną rolę w organizmie i związane z tą rolą wahania ich poziomu. W przypadku poziomu neutrofilów i limfocytów poziom może być zaburzany przez toczące się infekcje, odpowiednio bakteryjne i wirusowe. Płytki krwi w trakcie leczenia mogą być zaburzane nie tylko przez trwającą chemioterapię, ale też przez ich zużywanie w procesie koagulacji.

W pierwszej pracy “Combined Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-Volume-to-Platelet Ratio (NLR and PVPR Score) Represents a Novel Prognostic Factor in Advanced Gastric Cancer Patients” oceniono, że wyjściowy poziom zarówno NLR, jak również PVPR jest istotnym czynnikiem prognostycznym w zaawansowanym raku żołądka i wpływa na czas przeżycia całkowitego oraz na czas wolny od progresji. Stwierdzenie, że oceniają one dwa odmienne mechanizmy w kaskadzie reakcji zapalnej jest odważne, ale z pewnością ich wyniki uzupełniają się i w większym stopniu pozwalają ocenić ryzyko niepowodzenia terapii.

Rola wyjściowego poziomu NLR w raku żołądka wydaje się niepodważalna. Istnieją również dane dotyczące zasadności oceny poziomu płytek krwi oraz ich pochodnych parametrów, jako markerów stanu zapalnego mających wpływ na rokowanie pacjentów. Istnieje kilka wyjaśnień negatywnego wpływu NLR na czas przeżycia. Neutrofile mogą pobudzać wzrost nowotworu poprzez produkcję czynników prozapalnych, takich jak VEGF (vascular endothelial growth factor)[66], IL8[87], MMP (matrix metalloproteinases)[65]. Z drugiej strony neutrofile mogą blokować mechanizmy niszczenia komórek nowotworowych przez swój hamujący wpływ na limfocyty NK i CD4+/CD8+[88]. Przeciwnie wysoki poziom limfocytów, zarówno mierzonych we krwi obwodowej, jak i w tkankach wydaje się skorelowany z wyższym czasem przeżycia u pacjentów, co może być objawem utrzymanej wydolności naturalnych mechanizmów odpornościowych[88].

Mechanizm wpływu płytek krwi wydaje się wielopoziomowy. Podwyższony poziom PLT jest skorelowany z większym nasileniem reakcji zapalnej, ale najpewniej, poza mechanizmem immunologicznym, płytki krwi wpływają też na czas przeżycia poprzez zwiększenie ryzyka zakrzepowo-zatorowego[89]. W kontekście układu odpornościowego płytki krwi mogą również zaburzać jego funkcje przez blokowanie aktywności limfocytów NK[90] oraz tworzenie „pułapek immunologicznych” dla leukocytów[91].

Markerem reakcji zapalnej oceniającym funkcję linii megakariocytarnej był współczynnik określający stosunek wielkości płytek krwi (MPV) do ich stężenia (PLT), nazwany PVPR. Parametr MPV określa średnią objętość płytek krwi, co jest istotne w kontekście mechanizmu ich tworzenia. W normalnych warunkach istnieje odwrotnie proporcjonalna zależność pomiędzy wielkości płytek, a ich ilością. W sytuacji spadku koncentracji PLT megakariocyty, będące komórkami progenitorowymi dla płytek krwi, są pobudzane przez trombopoetynę i produkują płytki krwi o większej objętości. Stąd zwiększony poziom MPV spodziewany jest w sytuacji nadmiernego pobudzenia szpiku, a obniżony w sytuacji aplazji bądź hipoplazji szpiku[92].

Wydaje się, że większe płytki krwi są bardziej aktywne metabolicznie, niż postacie o mniejszej objętości i że te zmiany objętości mogą być związane nie tylko z ich wiekiem i produkcją, ale też z samą aktywacją. W badaniu obserwowano poprawę czasu przeżycia w przypadku wzrostu współczynnika PVPR, a więc większego MPV.

Przeprowadzone w badaniu analizy statystyczne nie pozwoliły niestety na uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy poprawa czasu przeżycia wynika tylko z naturalnej zależności (mniej płytek powoduje wzrost MPV) co sumarycznie oznacza mniejszą aktywację układu odpornościowego, czy też z zaburzenia tej relacji – większe MPV niż wynikające z prostej relacji MPV/PLT oznacza większą aktywację układu odpornościowego, który, podobnie jak aktywacja limfocytów, jest związany z dobrym rokowaniem.

Nawet nie znając odpowiedzi na powyższe pytanie można się spodziewać gorszego rokowania u pacjentów z wysokim NLR i niskim PVPR.

Celem drugiej pracy „Reduction of Cancer-Induced Thrombocytosis as a Biomarker of Improved Outcomes in Advanced Gastric Cancer” było potwierdzenie, że głębokość spadku poziomu płytek krwi w trakcie leczenia systemowego może być rozpatrywana w kategorii predykcyjnej w stosunku do czasu przeżycia pacjenta. Wyniki tej analizy należy rozpatrywać dwutorowo.

Po pierwsze analiza wykazała, że abstrahując od znanych czynników ryzyka m.in. wyjściowego poziomu NLR, wysoki poziom płytek krwi przy rozpoczęciu leczenia łączy się ze złym rokowaniem. Wartością graniczą był tu poziom 400×10^3 /ul, który jest zbliżony do górnej granicy normy. Negatywny wpływ trombocytozy może wynikać z kilku potencjalnych przyczyn. Może być to, podobnie jak NLR, marker toczącej się systemowej reakcji zapalnej, która pogarsza rokowanie i może być związana z zaawansowaniem choroby nowotworowej[93]. Z drugiej strony bardzo prawdopodobny jest bezpośredni wpływ krążących płytek krwi na przebieg choroby, który ponownie może mieć charakter wielopłaszczyznowy. Duża liczba PLT zwiększa ryzyko epizodów zakrzepowo-zatorowych, które są istotną przyczyną zgonu u chorych onkologicznych[89]. Dodatkowo, produkowane przez pobudzone płytki krwi cytokiny mogą pobudzać wzrost komórek nowotworowych i promować angiogenezę[94]. Część publikacji wskazuje również na możliwość powstawania kompleksów krążących komórek nowotworowych (CTC, circulating tumor cells) i płytek krwi, które zabezpieczają CTC przed zniszczeniem w układzie krążenia[95]. Dochodzi również do sytuacji powstania sprzężenia zwrotnego, gdy płytki krwi pobudzają komórki nowotworowe, a te z kolei aktywują megakariocyty co jeszcze bardziej zwiększa liczbę PLT[96]. Trudno jest jednoznacznie określić, który z tych czynników jest

wiodący, jednak dane literaturowe są zgodne w tym, że trombocytoza wiąże się z gorszym rokowaniem.

Przeprowadzona analiza pozwoliła stwierdzić, że istotna redukcja liczby trombocytów jest korzystna zarówno w zakresie czasu przeżycia całkowitego, jak i czasu wolnego od progresji pod warunkiem osiągnięcia krytycznej wartości progowej - 60% wartości wyjściowej PLT. Dotyczy to zarówno pacjentów z trombocytozą, jak i bez niej, aczkolwiek wpływ redukcji jest większy w przypadku chorych z wysoką, wyjściową liczbą płytek krwi.

Wpływ redukcji liczby trombocytów na czas przeżycia można wyznaczyć z przyczyn pośrednich i bezpośrednich. Istnieją przesłanki, że samo zmniejszenie trombocytozy może mieć bezpośredni, korzystny wpływ na rokowanie poprzez zmniejszenie ryzyka wystąpienia epizodów zakrzepowo-zatorowych. Z drugiej strony pośredni wpływ redukcji liczby płytek krwi można rozpatrywać w kontekście oceny siły działania chemioterapii na szpik kostny, co może bezpośrednio korelować ze skutecznością leczenia cytotoksycznego.

Ocena korelacji pomiędzy mielotoksycznością, a potencjałem cytotoksycznym chemioterapii jest trudna z uwagi na brak odpowiednich danych dotyczących obiektywnie zdefiniowanych dawek chemioterapii. W większości przypadków zalecane dawki chemioterapii definiowane są na etapie wczesnych faz badań klinicznych, gdzie podstawowym ocenianym parametrem jest toksyczność. Stąd w przypadku większości stosowanych wspólnie schematów realnie podawana jest maksymalna tolerowana dawka chemioterapii, a należy zwrócić uwagę, że zależność pomiędzy dawką a efektem cytotoksycznym nie musi mieć charakteru liniowego. Hipoteza, że dawkowanie chemioterapii mogłoby być optymalizowane indywidualnie na podstawie oceny jej wpływu na liczbę trombocytów jest niewątpliwie interesująca.

Mając na uwadze całość obrazu, wydaje się być mało prawdopodobne, aby tylko jeden z mechanizmów, pośredni bądź bezpośredni, odpowiadał za cały obserwowany efekt. Najpewniej redukcja płytek zarówno bezpośrednio jest istotna dzięki redukcji trombocytozy, jak i również pośrednio opisuje potencjał cytotoksyczny stosowanej chemioterapii.

W badaniu przyjęto dość arbitralnie, że redukcja liczby płytek będzie oceniana w pierwszych 12 tygodniach chemoterapii. Ten zakres czasowy wynikał z ogólnie przyjętych norm wykonywania badań obrazowych, które są, jak do tej pory, najbardziej obiektywnym narzędziem oceny skuteczności chemioterapii. Należy zwrócić uwagę, że mediana czasu, w którym pacjenci uzyskiwali nadir PLT wynosiła siedem tygodni. Stąd PLT-red może dostarczyć istotnych informacji o reakcji choroby na leczenie jeszcze przed pierwszą formalną oceną obrazową.

Ramy czasowe badania ograniczyły wykorzystywane w niej leki do klasycznej chemioterapii oraz chemioterapii w skojarzeniu z trastuzumabem. Żaden pacjent nie otrzymał immunoterapii opartej o inhibitory punktów kontrolnych, która w najbliższej przyszłości będzie stawała się standardem pierwszej linii leczenia raka żołądka. Niewątpliwie weryfikacja użyteczności PLT-red będzie też konieczna w tych nowych realiach, aczkolwiek należy pamiętać, że w zakresie chemioterapii wytyczne nadal wskazują schematy FOLFOX i XELOX jako optymalne, a takie leczenie otrzymywała większość pacjentów.

IX WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały, że wyjściowa wartość parametrów NLR i PVPR jest istotnym czynnikiem prognostycznym u chorych na zaawansowanego raka żołądka poddawanych leczeniu systemowemu 1. linii. Pacjenci z wysokim poziomem NLR i niskim PVPR charakteryzowali się istotnie gorszym rokowaniem. Dodatkowo oba te markery uzupełniają się i mogą być stosowane łącznie celem jeszcze dokładniejszej oceny rokowania pacjentów.

Istotna redukcja liczby płytek krwi, zarówno u pacjentów z wyjściową trombocytozą, jak i u chorych z prawidłową liczbą PLT jest pozytywnym czynnikiem prognostycznym i pozwala uściślić rokowanie pacjentów jeszcze przed pierwszą formalną oceną obrazową.

X STRESZCZENIE

Wstęp: Zaawansowany rak żołądka, definiowany jako choroba uogólniona lub trwale nieoperacyjna, jest chorobą nieuleczalną. Odpowiednio wcześniej wdrożone systemowe leczenie paliatywne jest w istotny sposób wydłużyć czas przeżycia (OS, overall survival) pacjentów. Dodatkowo leczenie to pozwala przez dłuższy czas zachować jakość życia i zapobiec wystąpieniu poważnych powikłań związanych z chorobą. Aktualny standard leczenia zakłada zastosowanie dwulekowej chemioterapii opartej o pochodne platyny i fluoropirymidyny. Dodatkowo w przypadku nadekspresji białka HER2 wytyczne zakładają dodanie do leczenia przeciwciała antyHER2 – trastuzumabu, a w przypadku wysokiej poziomu CPS (combined positive score) – przeciwciała anty-PD1 - niwolumabu. Leczenie to wiąże się jednak z wysokim ryzykiem poważnych powikłań, a wzrost czasu przeżycia jest nadal niezadowalający. Celem publikacji była próba określenia nowych i weryfikacja znanych czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na zaawansowanego raka żołądka. W pierwszej publikacji analizowano czynniki prognostyczne przed rozpoczęciem chemioterapii, wykorzystując w tym celu markery stanu - NLR, (neutrophil to lymphocyte ratio), PLR (platelets to lymphocytes ratio), HPR, (hemoglobin to platelets ratio), PDW (platelets distribution width) czy objętości płytek do ich ilości (PVPR, platelets volume to platelets ratio). Celem pracy była również ocena współzależności pomiędzy tymi czynnikami oraz próba ich łącznego zastosowania. W drugiej pracy analizowano poziom płytek krwi (PLT) po rozpoczęciu leczenia oraz poszukiwano związku pomiędzy głębokością redukcji PLT, a OS i PFS.

Materiały i metodyka: Prowadzone analizy miały charakter retrospektywny. Przeanalizowano dane pacjentów leczonych z powodu uogólnionego lub nieoperacyjnego raka żołądka w Klinice Onkologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w latach 2012-2019. Do badania włączono 155 pacjentów. Pacjenci byli leczeni zgodnie z aktualnym dla danego okresu standardem terapii. W pierwszym okresie (2012- 2015) były to schematy trójlekowe (EOX, mDCF), a w drugim okresie (2015-2019) – schematy dwulekowe (przeważnie XELOX). Nadekspresja HER 2 została wykryta u 10,3 % pacjentów, którzy leczeni byli schematami zawierającymi trastuzumab. Z uwagi na okres prowadzenia badania żaden pacjent nie otrzymał immunoterapii.

W pierwszej analizie wykorzystano analizę ROC (Receiver Operating Characteristic) z indeksem Youdena celem wyznaczenia optymalnych parametrów markerów stanu zapalnego przy dychotomizacji. W przypadku braku istotności statystycznej analizy ROC, wykorzystano analizę mediany danego parametru. Korelacja Spearmana została zastosowana celem oceny zależności

monotonicznej pomiędzy markerami stanu zapalnego. Kappę Cohena wyznaczono celem potwierdzenia charakteru tej zależności po zastosowaniu niezbędnych przekształceń. Celem oceny charakteru zależności pomiędzy poziomem spadku liczby PLT po chemioterapii wykorzystano analizę wizualną reszt martyngałowych. Końcowym etapem obu analiz było zastosowanie wieloczynnikowej regresji Coxa celem oceny zależności pomiędzy badanymi zmiennymi niezależnymi, a OS i PFS. Wyniki to zwizualizowano przy pomocy krzywych Kaplana-Meiera.

Wyniki: Optymalny punkt odcięcia dla NLR wynosi 3,99 (analiza ROC), a dla PVPR 0,34 (analiza mediany). W analizie regresji jednoczynnikowej Coxa wykazano istotny statystycznie wpływ poziomu NLR, PVPR i PDW, ale nie PLR czy HPR na OS. Do dalszej analizy pozostawiono istotne statystycznie markery. Korelacja rang Spearmana wykazała silną korelację pomiędzy PDW, a PVPR oraz słaba do minimalnej pomiędzy NLR-PVPR i NLR-PDW. Kappa Cohena wykazała, że parametr PVPR charakteryzuje się mniejszą zgodnością z NLR, niż PDW, stąd w ostatecznej analizie odrzucono PDW. Wieloczynnikowa regresja Coxa wykazała, kontrolując pozostałe parametry, że NLR i PVPR stanowią niezależne czynniki prognostyczne OS. W zakresie PFS NLR był istotny statystycznie we wszystkich modelach, a PVPR znajdował się na granicy istotności. W modelu uwzględniającym wszystkie zmienne zakłócające, pacjenci z wysokim poziomem PVPR mieli o 44% niższe ryzyko zgonu (HR = 0,56; 95% CI: 0,33–0,93). W tym samym modelu wysoki poziom NLR łączył się z prawie dwukrotnym pogorszeniem rokowania (HR = 1,95; 95% CI: 1,17–3,24).

W drugiej publikacji analiza reszt martyngałowych wykazała pozytywny wpływ redukcji PLT (PLT-red) na OS po osiągnięciu krytycznej wartości 60% wyjściowej liczby PLT (PLT-count). Podobnie przeprowadzona analiza wykazała dwójłomny przebieg krzywej reszt martyngałowych dla PLT-count. Oznacza to, że wyjściowa liczba płytek krwi zaczęła mieć negatywny wpływ na czas przeżycia całkowitego po przekroczeniu wartości $400 \times 10^3/\text{ul}$. Analiza Kaplana-Meiera wykazała, że przy przyjęciu takiego punktu odcięcia PLT-count, OS jest istotnie krótszy w przypadku trombocytozy (test log-rank ($\chi^2(1) = 4.8, p = 0.028$)). Celem oceny wpływu PLT-red i PLT-count na OS i PFS przydzielono pacjentów do jednej z czterech kategorii (wysokie PLT-red/wysokie PLT-count, wysokie PLT-red/niskie PLT-count itd.). Analiza ta wykazała, że pacjenci w najgorszej grupie rokowniczej (wysokie PLT-count i niski poziom PLT-red) charakteryzują się 3,6 razy wyższym ryzykiem zgonu oraz 2,97 razy wyższym ryzykiem progresji w modelach z pełną kontrolą czynników zakłócających, niż chorzy w grupie dobrego rokowania.

Wnioski: Wyjściowy poziom NLR i PVPR jest istotnym czynnikiem prognostycznym w zaawansowanym raku żołądka. Pacjenci z wysokim poziomem NLR i niskim PVPR charakteryzują się istotnie gorszym rokowaniem. Dodatkowo markery te uzupełniają się i mogą być stosowane łącznie celem jeszcze dokładniejszej oceny rokowania pacjentów.

Istotna redukcja liczby płytek krwi, zarówno u pacjentów z wyjściową trombocytozą, jak i u chorych z prawidłową liczbą PLT jest pozytywnym czynnikiem prognostycznym i pozwala uściślić rokowanie pacjentów jeszcze przed pierwszą formalną oceną obrazową.

XI ABSTRACT

Introduction: Advanced gastric cancer, metastatic or inoperable, is an incurable disease. Properly implemented palliative treatment can significantly extend overall survival (OS). Furthermore, treatment allows to maintain the quality of life and prevents the occurrence of serious complications for an extended period of time. The current standard of care involves the administration of two-drug chemotherapy that contains platinum and fluoropyrimidine derivatives. Furthermore, in the case of HER2 overexpression, the addition of an anti-HER2 antibody, trastuzumab, is warranted. Similar in the case of high levels of CPS (combined positive score), the addition of the anti-PD1 antibody – nivolumab should be strongly considered. However, systemic treatment is associated with a high risk of serious complications, while the increase in overall survival (OS) remains unsatisfactory. The purpose of this work is to identify new and verify known prognostic and predictive factors. In the first publication, prognostic factors were analyzed before chemotherapy. Inflammatory markers such as NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio), PLR (platelets-to-lymphocyte ratio), HPR (hemoglobin-to-platelets ratio), PDW (platelet distribution width), and PVPR (platelet volume to platelets ratio) were tested. The main focus was on analysis of interdependencies and an attempt to seek a joint application. The second study analyzed platelet level (PLT) after the initiation of chemotherapy and looked for the relationship between the depth of reduction in PLT and OS and PFS.

Materials and methods: Data from 155 patients with advanced gastric cancer treated in the Department of Oncology at the University Hospital in Cracow between 2012 and 2019 were retrospectively analyzed. The patients were treated according to the current standard of care for a given period of time. In the first period (2012-2015), three drug regimens (EOX, mDCF) were the most common, and in the second period (2015-2019) two drug regimens (usually XELOX) were used. In the case of HER2 overexpression (10.3% of patients), trastuzumab-containing regimens were used. Due to the timelines of the trial, no patients received immunotherapy.

In the first analysis, the ROC (Receiver Operating Characteristics) analysis with the Youden index was used to determine the cut-off values. If the ROC analysis was not statistically significant, the median value of a given parameter was used. Spearman's correlation was used to assess the monotonic relationship between inflammatory markers. Cohen's kappa was determined to confirm the nature of this relationship after applying the necessary transformations. Visual analysis of martingale residues was used to assess the nature of the decrease in the relationship between the level of PLT after chemotherapy. In the final stage of both analyzes, multivariate

Cox regression was used to assess the relationship between the independent variables and OS and PFS. The results were visualized with Kaplan-Meier curves.

Results: The optimal cut-off point for NLR was set at 3.99 (ROC analysis) and for PVPR 0.34 (median analysis). Univariate Cox regression analysis showed a statistically significant effect of NLR, PVPR, and PDW, but not PLR or HPR, on OS. Inflammatory markers with statistical significance were used in further analysis. The Spearman correlation showed a strong association between PDW and PVPR and weak to minimal correlation between NLR-PVPR and NLR-PDW. Cohen's kappa verified that the PVPR parameter is less consistent with the NLR than with the PDW, hence, the PDW was rejected in the final analysis. Multivariate Cox regression, while controlling for the remaining parameters, showed that NLR and PVPR were independent prognostic factors for OS. In terms of PFS, NLR was statistically significant in all models and PVPR was on the borderline of significance. In the most adjusted model, patients with high levels of PVPR had a 44% lower risk of death (HR = 0.56; 95% CI 0.33-0.93). In the same model, the risk of death in patients with high NLR values was almost two times higher than in low NLR patients (HR = 1.95; 95% CI 1.17-3.24).

In the second publication, the analysis of martingale residues showed a positive effect of the reduction of PLT (PLT-red) on OS after reaching the critical value of 60% of the starting number of PLT number (PLT-count). A similar analysis showed a nonlinear curve of the martingale residuals curve for the PLT count. This means that the baseline platelet count began to negatively affect overall survival after exceeding the value of $400 \times 10^3 / \mu\text{l}$. Kaplan-Meier analysis showed that with this PLT-count cutoff, OS is significantly shorter for patients with thrombocytosis (log rank test ($\chi^2(1) = 4.8, p = 0.028$)). To assess the effect of PLT-red and PLT-count on OS and PFS, patients were assigned to one of four categories (high PLT-red / high PLT-count, high PLT-red / low PLT-count etc). This analysis showed that patients in the worst prognostic group (high PLT-count and low PLT-red) have a 3.6 times higher risk of death and a 2.97 times higher risk of death in fully adjusted models.

Conclusions: The baseline level of NLR and PVPR is a significant prognostic factor in advanced gastric cancer. Patients with high NLR levels and low PVPR have a significantly worse prognosis. In addition, these markers are complementary and can be used altogether in order to accurately assess patients' prognosis.

A significant reduction in platelet count, both in patients with baseline thrombocytosis and in patients with a normal PLT count, is a positive prognostic factor and allows the evaluation of the prognosis of patients even before the first formal imaging assessment.

XII PIŚMIENICTWO

- [1] Wojciechowska, Urszula i Didkowska, Joanna, „Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy.”, 8 marzec 2022.
- [2] L. V. C, N. E, D. B, i F. S, „Electric refrigerator use and gastric cancer risk”, *British journal of cancer*, t. 62, nr 1, lip. 1990, doi: 10.1038/bjc.1990.245.
- [3] P. Rawla i A. Barsouk, „Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention”, *Prz Gastroenterol*, t. 14, nr 1, s. 26–38, 2019, doi: 10.5114/pg.2018.80001.
- [4] J. A, B. F, C. Mm, F. J, W. E, i F. D, „Global cancer statistics”, *CA: a cancer journal for clinicians*, t. 61, nr 2, kwi. 2011, doi: 10.3322/caac.20107.
- [5] H. W, K. M, S. M, i L. Rk, „Stomach cancer among Japanese in Hawaii”, *Journal of the National Cancer Institute*, t. 49, nr 4, paź. 1972, Dostęp: 12 kwiecień 2022. [Online]. Dostępne na: <https://pubmed-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1cpunfn6a001b.hanproxy.cm-uj.krakow.pl/4678140/>
- [6] D. B. Polk i R. M. Peek, „Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond”, *Nat Rev Cancer*, t. 10, nr 6, Art. nr 6, cze. 2010, doi: 10.1038/nrc2857.
- [7] S. Tsugane i S. Sasazuki, „Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence”, *Gastric Cancer*, t. 10, nr 2, s. 75–83, cze. 2007, doi: 10.1007/s10120-007-0420-0.
- [8] C. P, „Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention”, *Cancer research*, t. 52, nr 24, grudz. 1992, Dostęp: 12 kwiecień 2022. [Online]. Dostępne na: <https://pubmed-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1cpunfn6a001b.hanproxy.cm-uj.krakow.pl/1458460/>
- [9] „An international association between Helicobacter pylori infection and gastric cancer. The EUROGAST Study Group”, *Lancet (London, England)*, t. 341, nr 8857, maj 1993, Dostęp: 12 kwiecień 2022. [Online]. Dostępne na: <https://pubmed-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1cpunfn6a001b.hanproxy.cm-uj.krakow.pl/8098787/>
- [10] Y.-C. Lee *i in.*, „Association Between Helicobacter pylori Eradication and Gastric Cancer Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis”, *Gastroenterology*, t. 150, nr 5, s. 1113-1124.e5, maj 2016, doi: 10.1053/j.gastro.2016.01.028.
- [11] L. Sa, K. D, S. Kn, C. Jw, H. Ws, i C. H, „Effect of diet and Helicobacter pylori infection to the risk of early gastric cancer”, *Journal of epidemiology*, t. 13, nr 3, maj 2003, doi: 10.2188/jea.13.162.
- [12] K. S, M. Dc, E. S, K. De, i G. Ds, „Risk Factors and Incidence of Gastric Cancer After Detection of Helicobacter pylori Infection: A Large Cohort Study”, *Gastroenterology*, t. 158, nr 3, luty 2020, doi: 10.1053/j.gastro.2019.10.019.
- [13] F. Am, C. Me, H. Ra, B. Bs, B. Rr, i S. Jm, „Clinical and economic effects of population-based Helicobacter pylori screening to prevent gastric cancer”, *Archives of internal medicine*, t. 159, nr 2, sty. 1999, doi: 10.1001/archinte.159.2.142.
- [14] R. Makłowicz, *Fuzja smaków. Podróż kulinarne Roberta Makłowicza*. 2007. Dostęp: 19 marzec 2022. [Online]. Dostępne na: <http://www.znak.com.pl/ksiazka/fuzja-smakow-robert-maklowicz-2028>
- [15] J. Jv *i in.*, „Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European Cancer Prevention (ECP) and the INTERSALT Cooperative Research Group”, *International journal of epidemiology*, t. 25, nr 3, cze. 1996, doi: 10.1093/ije/25.3.494.
- [16] Y. P *i in.*, „Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies”, *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, t. 45, nr 16, lis. 2009, doi: 10.1016/j.ejca.2009.04.019.
- [17] L.-L. R *i in.*, „Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies”, *Cancer causes & control: CCC*, t. 19, nr 7, wrz. 2008, doi: 10.1007/s10552-008-9132-y.

- [18] S. Ws *i in.*, „Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinomas among Koreans”, *American journal of clinical pathology*, t. 105, nr 2, luty 1996, doi: 10.1093/ajcp/105.2.174.
- [19] „Risk of gastric cancer after gastric surgery for benign disorders - PubMed”. <https://pubmed-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1cpunfn6a001b.hanproxy.cm-uj.krakow.pl/2222087/> (dostęp 12 kwiecień 2022).
- [20] L. Sc, B. L, i W. A, „Fruit and vegetable consumption and incidence of gastric cancer: a prospective study”, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, t. 15, nr 10, paź. 2006, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0402.
- [21] Z. Z, X. G, M. M, Y. J, i L. X, „Dietary fiber intake reduces risk for gastric cancer: a meta-analysis”, *Gastroenterology*, t. 145, nr 1, lip. 2013, doi: 10.1053/j.gastro.2013.04.001.
- [22] W. Cy, W. Ms, K. Kn, W. Cb, C. Yj, i L. Jt, „Effective reduction of gastric cancer risk with regular use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Helicobacter pylori-infected patients”, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, t. 28, nr 18, cze. 2010, doi: 10.1200/JCO.2009.26.0695.
- [23] D. Yy, S. Jb, i Y. Kg, „Endoscopic screening for gastric cancer”, *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, t. 4, nr 6, cze. 2006, doi: 10.1016/j.cgh.2006.03.025.
- [24] K. C *i in.*, „Outcomes of mass screening for gastric carcinoma”, *Annals of surgical oncology*, t. 13, nr 2, luty 2006, doi: 10.1245/ASO.2006.04.028.
- [25] M. T *i in.*, „Prospective study of screening for stomach cancer in Japan”, *International journal of cancer*, t. 106, nr 1, paź. 2003, doi: 10.1002/ijc.11183.
- [26] K. J. Carter, H. A. Schaffer, i W. P. Ritchie, „Early gastric cancer.”, *Ann Surg*, t. 199, nr 5, s. 604–609, maj 1984.
- [27] Y.-C. Chen *i in.*, „Clinicopathological Variation of Lauren Classification in Gastric Cancer”, *Pathol. Oncol. Res.*, t. 22, nr 1, s. 197–202, sty. 2016, doi: 10.1007/s12253-015-9996-6.
- [28] „Medline ® Abstract for Reference 147 of «Gastric cancer: Pathology and molecular pathogenesis» - UpToDate”. <https://www-1uptodate-1com-1cpunfn6a0066.hanproxy.cm-uj.krakow.pl/contents/gastric-cancer-pathology-and-molecular-pathogenesis/abstract/147> (dostęp 12 kwiecień 2022).
- [29] G. F, H. B, i G. P, „The role of the E-cadherin gene (CDH1) in diffuse gastric cancer susceptibility: from the laboratory to clinical practice”, *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, t. 14, nr 12, grudz. 2003, doi: 10.1093/annonc/mdg486.
- [30] R. Takenaka *i in.*, „Helicobacter pylori eradication reduced the incidence of gastric cancer, especially of the intestinal type”, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, t. 25, nr 7, s. 805–812, 2007, doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03268.x.
- [31] M. Terashima *i in.*, „Impact of expression of human epidermal growth factor receptors EGFR and ERBB2 on survival in stage II/III gastric cancer”, *Clin Cancer Res*, t. 18, nr 21, s. 5992–6000, lis. 2012, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1318.
- [32] „Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma”, *Nature*, t. 513, nr 7517, lis. 2014, doi: 10.1038/nature13480.
- [33] H. Grabsch, S. Sivakumar, S. Gray, H. E. Gabbert, i W. Müller, „HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value – conclusions from 924 cases of two independent series”, *Analytical Cellular Pathology*, t. 32, nr 1–2, s. 57–65, sty. 2010, doi: 10.3233/CLO-2009-0497.
- [34] E. Van Cutsem *i in.*, „HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer”, *Gastric Cancer*, t. 18, nr 3, s. 476–484, lip. 2015, doi: 10.1007/s10120-014-0402-y.
- [35] L. He *i in.*, „Clinical significance of intratumoral HER2 heterogeneity in gastric cancer”, *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, t. 49, nr 6, kwi. 2013, doi: 10.1016/j.ejca.2012.10.018.

- [36] B. A *i in.*, „HER2 Testing and Clinical Decision Making in Gastroesophageal Adenocarcinoma: Guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and American Society of Clinical Oncology”, *Archives of pathology & laboratory medicine*, t. 140, nr 12, grudz. 2016, doi: 10.5858/arpa.2016-0331-CP.
- [37] W. Vs *i in.*, „Her2/neu testing in gastric cancer: evaluating the risk of sampling errors”, *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, t. 24, nr 3, mar. 2013, doi: 10.1093/annonc/mds528.
- [38] P. Sr *i in.*, „Extra-gain of HER2-positive cases through HER2 reassessment in primary and metastatic sites in advanced gastric cancer with initially HER2-negative primary tumours: Results of GASTRIC cancer HER2 reassessment study 1 (GASTHER1)”, *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, t. 53, sty. 2016, doi: 10.1016/j.ejca.2015.09.018.
- [39] Y. Y. Janjigian *i in.*, „First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial”, *The Lancet*, t. 398, nr 10294, s. 27–40, lip. 2021, doi: 10.1016/S0140-6736(21)00797-2.
- [40] G. M *i in.*, „Genomic Correlates of Immune-Cell Infiltrates in Colorectal Carcinoma”, *Cell reports*, t. 17, nr 4, paź. 2016, doi: 10.1016/j.celrep.2016.10.009.
- [41] M. A *i in.*, „Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study”, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, t. 38, nr 1, sty. 2020, doi: 10.1200/JCO.19.02105.
- [42] K. Kulangara *i in.*, „Clinical Utility of the Combined Positive Score for Programmed Death Ligand-1 Expression and the Approval of Pembrolizumab for Treatment of Gastric Cancer”, *Arch Pathol Lab Med*, t. 143, nr 3, s. 330–337, mar. 2019, doi: 10.5858/arpa.2018-0043-OA.
- [43] Koszarowski, Tadeusz, *Onkologia kliniczna*. Warszawa: Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 1985.
- [44] Z. Lu *i in.*, „Early Interdisciplinary Supportive Care in Patients With Previously Untreated Metastatic Esophagogastric Cancer: A Phase III Randomized Controlled Trial”, *J Clin Oncol*, t. 39, nr 7, s. 748–756, mar. 2021, doi: 10.1200/JCO.20.01254.
- [45] N. G. Blokhina i N. N. Blokhin, „5-Fluorouracil therapy for cancer of the stomach”, *Cancer*, t. 20, nr 5, s. 668–672, 1967, doi: 10.1002/1097-0142(1967)20:5<668::AID-CNCR2820200516>3.0.CO;2-5.
- [46] J. He *i in.*, „A phase II study of S-1 monotherapy administered for 2 weeks of a 3-week cycle in advanced gastric cancer patients with poor performance status”, *British journal of cancer*, t. 97, nr 4, sie. 2007, doi: 10.1038/sj.bjc.6603902.
- [47] H. Ys *i in.*, „A phase II trial of capecitabine in previously untreated patients with advanced and/or metastatic gastric cancer”, *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, t. 15, nr 9, wrz. 2004, doi: 10.1093/annonc/mdh343.
- [48] M. D *i in.*, „Frontline treatment of advanced gastric cancer with docetaxel and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): a phase II trial”, *American journal of clinical oncology*, t. 23, nr 4, sie. 2000, doi: 10.1097/00000421-200008000-00005.
- [49] K. Ch *i in.*, „Irinotecan is active in chemo-naïve patients with metastatic gastric cancer: a phase II multicentric trial”, *British journal of cancer*, t. 89, nr 6, wrz. 2003, doi: 10.1038/sj.bjc.6601226.
- [50] Y. KENZO, „Evaluation of Chemotherapy for Palliatively Resected Cases of Gastric Cancer”, *JJCO*, nr Issue 2, s. 261–266, grudz. 1979.
- [51] D. Cunningham *i in.*, „Randomised multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophagogastric (OG) cancer: The REAL 2 trial”, *JCO*, t. 24, nr 18_suppl, s. LBA4017–LBA4017, cze. 2006, doi: 10.1200/jco.2006.24.18_suppl.lba4017.
- [52] J. S. Waters *i in.*, „Long-term survival after epirubicin, cisplatin and fluorouracil for gastric cancer: results of a randomized trial”, *Br J Cancer*, t. 80, nr 1, Art. nr 1, kwi. 1999, doi: 10.1038/sj.bjc.6690350.

- [53] V. M. Moiseyenko *i in.*, „Final results of a randomized controlled phase III trial (TAX 325) comparing docetaxel (T) combined with cisplatin (C) and 5-fluorouracil (F) to CF in patients (pts) with metastatic gastric adenocarcinoma (MGC)”, *JCO*, t. 23, nr 16_suppl, s. 4002–4002, cze. 2005, doi: 10.1200/jco.2005.23.16_suppl.4002.
- [54] T. V. E *i in.*, „The Efficacy and Safety of First-line Chemotherapy in Advanced Esophagogastric Cancer: A Network Meta-analysis”, *Journal of the National Cancer Institute*, t. 108, nr 10, sie. 2016, doi: 10.1093/jnci/djw166.
- [55] B. Yj *i in.*, „Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial”, *Lancet (London, England)*, t. 376, nr 9742, sie. 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X.
- [56] S. K *i in.*, „Efficacy and Safety of Pembrolizumab or Pembrolizumab Plus Chemotherapy vs Chemotherapy Alone for Patients With First-line, Advanced Gastric Cancer: The KEYNOTE-062 Phase 3 Randomized Clinical Trial”, *JAMA oncology*, t. 6, nr 10, sty. 2020, doi: 10.1001/jamaoncol.2020.3370.
- [57] M. Wang, R. A. Busuttil, S. Pattison, P. J. Neeson, i A. Boussioutas, „Immunological battlefield in gastric cancer and role of immunotherapies”, *World J Gastroenterol*, t. 22, nr 28, s. 6373–6384, lip. 2016, doi: 10.3748/wjg.v22.i28.6373.
- [58] J. Banchereau i R. M. Steinman, „Dendritic cells and the control of immunity”, *Nature*, t. 392, nr 6673, s. 245–252, mar. 1998, doi: 10.1038/32588.
- [59] G. Bindea, B. Mlecnik, W.-H. Fridman, F. Pagès, i J. Galon, „Natural immunity to cancer in humans”, *Curr Opin Immunol*, t. 22, nr 2, s. 215–222, kwi. 2010, doi: 10.1016/j.coi.2010.02.006.
- [60] R. D. Schreiber, L. J. Old, i M. J. Smyth, „Cancer immunoediting: integrating immunity’s roles in cancer suppression and promotion”, *Science*, t. 331, nr 6024, s. 1565–1570, mar. 2011, doi: 10.1126/science.1203486.
- [61] M. Campoli i S. Ferrone, „HLA antigen changes in malignant cells: epigenetic mechanisms and biologic significance”, *Oncogene*, t. 27, nr 45, s. 5869–5885, paź. 2008, doi: 10.1038/onc.2008.273.
- [62] P. A. Savage, S. Malchow, i D. S. Leventhal, „Basic principles of tumor-associated regulatory T cell biology”, *Trends Immunol*, t. 34, nr 1, s. 33–40, sty. 2013, doi: 10.1016/j.it.2012.08.005.
- [63] L. Chen i X. Han, „Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future”, *J Clin Invest*, t. 125, nr 9, s. 3384–3391, wrz. 2015, doi: 10.1172/JCI80011.
- [64] N. Murata-Kamiya i M. Hatakeyama, „Helicobacter pylori-induced DNA double-strand break in the development of gastric cancer”, *Cancer Sci*, mar. 2022, doi: 10.1111/cas.15357.
- [65] C. A. Fernández, L. Yan, G. Louis, J. Yang, J. L. Kutok, i M. A. Moses, „The Matrix Metalloproteinase-9/Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Complex Plays a Role in Breast Tumor Growth and Is Present in the Urine of Breast Cancer Patients”, *Clin Cancer Res*, t. 11, nr 15, s. 5390–5395, sie. 2005, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2391.
- [66] P. Carmeliet, „VEGF as a Key Mediator of Angiogenesis in Cancer”, *OCL*, t. 69, nr Suppl. 3, s. 4–10, 2005, doi: 10.1159/000088478.
- [67] H. Gonzalez, C. Hagerling, i Z. Werb, „Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression”, *Genes Dev*, t. 32, nr 19–20, s. 1267–1284, paź. 2018, doi: 10.1101/gad.314617.118.
- [68] A. M. Houghton *i in.*, „Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth”, *Nat Med*, t. 16, nr 2, s. 219–223, luty 2010, doi: 10.1038/nm.2084.
- [69] T.-T. Wang *i in.*, „Tumour-activated neutrophils in gastric cancer foster immune suppression and disease progression through GM-CSF-PD-L1 pathway”, *Gut*, t. 66, nr 11, s. 1900–1911, lis. 2017, doi: 10.1136/gutjnl-2016-313075.
- [70] H. L. Hanson *i in.*, „Eradication of established tumors by CD8+ T cell adoptive immunotherapy”, *Immunity*, t. 13, nr 2, s. 265–276, sie. 2000, doi: 10.1016/s1074-7613(00)00026-1.
- [71] D. M. Pardoll i S. L. Topalian, „The role of CD4+ T cell responses in antitumor immunity”, *Curr Opin Immunol*, t. 10, nr 5, s. 588–594, paź. 1998, doi: 10.1016/s0952-7915(98)80228-8.

- [72] K. Hu, L. Lou, J. Ye, i S. Zhang, „Prognostic role of the neutrophil–lymphocyte ratio in renal cell carcinoma: a meta-analysis”, *BMJ Open*, t. 5, nr 4, s. e006404, kwi. 2015, doi: 10.1136/bmjopen-2014-006404.
- [73] N. Cézé *i in.*, „Pre-treatment lymphopenia as a prognostic biomarker in colorectal cancer patients receiving chemotherapy”, *Cancer Chemother Pharmacol*, t. 68, nr 5, s. 1305–1313, lis. 2011, doi: 10.1007/s00280-011-1610-3.
- [74] V. Asher, J. Lee, A. Innamaa, i A. Bali, „Preoperative platelet lymphocyte ratio as an independent prognostic marker in ovarian cancer”, *Clin Transl Oncol*, t. 13, nr 7, s. 499, lip. 2011, doi: 10.1007/s12094-011-0687-9.
- [75] M. Capone *i in.*, „Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with nivolumab”, *j. immunotherapy cancer*, t. 6, nr 1, s. 74, lip. 2018, doi: 10.1186/s40425-018-0383-1.
- [76] J. F. Condado *i in.*, „Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-lymphocyte ratio (PLR) can risk stratify patients in transcatheter aortic-valve replacement (TAVR)”, *International Journal of Cardiology*, t. 223, s. 444–449, lis. 2016, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.08.260.
- [77] Z. Hu *i in.*, „Diagnostic value of hematological parameters platelet to lymphocyte ratio and hemoglobin to platelet ratio in patients with colon cancer”, *Clinica Chimica Acta*, t. 501, s. 48–52, luty 2020, doi: 10.1016/j.cca.2019.11.036.
- [78] M. Stojkovic Lalosevic *i in.*, „Combined Diagnostic Efficacy of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR), Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR), and Mean Platelet Volume (MPV) as Biomarkers of Systemic Inflammation in the Diagnosis of Colorectal Cancer”, *Disease Markers*, t. 2019, s. e6036979, sty. 2019, doi: 10.1155/2019/6036979.
- [79] S. Diem *i in.*, „Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab”, *Lung Cancer*, t. 111, s. 176–181, wrz. 2017, doi: 10.1016/j.lungcan.2017.07.024.
- [80] C. E. Metz, „Basic principles of ROC analysis”, *Seminars in Nuclear Medicine*, t. 8, nr 4, s. 283–298, paź. 1978, doi: 10.1016/S0001-2998(78)80014-2.
- [81] L. E. Bantis, C. T. Nakas, i B. Reiser, „Construction of confidence regions in the ROC space after the estimation of the optimal Youden index-based cut-off point”, *Biometrics*, t. 70, nr 1, s. 212–223, 2014, doi: 10.1111/biom.12107.
- [82] C. Wissler, „The Spearman Correlation Formula”, *Science*, wrz. 1905, doi: 10.1126/science.22.558.309.
- [83] G. Becker, „Creating Comparability among Reliability Coefficients: The Case of Cronbach Alpha and Cohen Kappa”, *Psychol Rep*, t. 87, nr 3_suppl, s. 1171-1182E, grudz. 2000, doi: 10.2466/pr0.2000.87.3f.1171.
- [84] J. M. Bland i D. G. Altman, „Survival probabilities (the Kaplan-Meier method)”, *BMJ*, t. 317, nr 7172, s. 1572–1580, grudz. 1998, doi: 10.1136/bmj.317.7172.1572.
- [85] D. R. Cox, „Regression Models and Life-Tables”, *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, t. 34, nr 2, s. 187–220, 1972.
- [86] M. Di Maio *i in.*, „Chemotherapy-induced neutropenia and treatment efficacy in advanced non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of three randomised trials”, *The Lancet Oncology*, t. 6, nr 9, s. 669–677, wrz. 2005, doi: 10.1016/S1470-2045(05)70255-2.
- [87] F. Bazzoni, M. A. Cassatella, F. Rossi, M. Ceska, B. Dewald, i M. Baggiolini, „Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8.”, *Journal of Experimental Medicine*, t. 173, nr 3, s. 771–774, mar. 1991, doi: 10.1084/jem.173.3.771.
- [88] Y. Iseki *i in.*, „The impact of the preoperative peripheral lymphocyte count and lymphocyte percentage in patients with colorectal cancer”, *Surg Today*, t. 47, nr 6, s. 743–754, cze. 2017, doi: 10.1007/s00595-016-1433-2.
- [89] M. Koupenova, B. E. Kehrel, H. A. Corkrey, i J. E. Freedman, „Thrombosis and platelets: an update”, *Eur Heart J*, t. 38, nr 11, s. 785–791, mar. 2017, doi: 10.1093/eurheartj/ehw550.
- [90] T. Placke, H.-G. Kopp, i H. R. Salih, „Modulation of Natural Killer Cell Anti-Tumor Reactivity by Platelets”, *JIN*, t. 3, nr 4, s. 374–382, 2011, doi: 10.1159/000323936.

- [91] A. Solpov *i in.*, „Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: Role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors”, *Thromb Haemost*, t. 95, nr 5, s. 815–821, 2006, doi: 10.1160/TH05-07-0524.
- [92] A. Livne, S. Grinstein, i A. Rothstein, „Volume-regulating behavior of human platelets”, *Journal of Cellular Physiology*, t. 131, nr 3, s. 354–363, 1987, doi: 10.1002/jcp.1041310307.
- [93] A. T. Franco, A. Corken, i J. Ware, „Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer”, *Blood*, t. 126, nr 5, s. 582–588, lip. 2015, doi: 10.1182/blood-2014-08-531582.
- [94] A. Bikfalvi i G. Gimenez-Gallego, „The control of angiogenesis and tumor invasion by platelet factor-4 and platelet factor-4-derived molecules”, *Semin Thromb Hemost*, t. 30, nr 1, s. 137–144, luty 2004, doi: 10.1055/s-2004-822978.
- [95] X.-L. Lou, J. Sun, S.-Q. Gong, X.-F. Yu, R. Gong, i H. Deng, „Interaction between circulating cancer cells and platelets: clinical implication”, *Chin J Cancer Res*, t. 27, nr 5, s. 450–460, paź. 2015, doi: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.04.10.
- [96] D. Buergy, F. Wenz, C. Groden, i M. A. Brockmann, „Tumor–platelet interaction in solid tumors”, *International Journal of Cancer*, t. 130, nr 12, s. 2747–2760, 2012, doi: 10.1002/ijc.27441.

XIII SPIS RYCIN

Rycina 1 Jednoczynnikowa regresja Coxa

Rycina 2 Krzywe przeżycia przy łącznym zastosowaniu markerów zapalnych

Rycina 3 Wykres reszt martyngałowych

Rycina 4 Krzywa przeżycia dla pacjentów z wysokim i niskim poziomem płytek krwi

Rycina 5 Wykres box-plot poziomu redukcji płytek krwi w zależności od zastosowanej chemioterapii

Rycina 6 Krzywe przeżycia dla wyznaczonych grup