



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**MATERNIDADE ESCOLA**



**PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE PERINATAL**

**ANA CLARA DE NOVAES CANELAS**

**A RELAÇÃO NEUTRÓFILOS/ LINFÓCITOS**  
**E OUTRAS CONTAGENS DE COMPONENTES DE CÉLULAS SANGUÍNEAS**  
**NÃO ESTÃO ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO**  
**DE NEOPLASIA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL PÓS MOLAR**

**Rio de Janeiro, 2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**MATERNIDADE ESCOLA**  
**PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE PERINATAL**

**ANA CLARA DE NOVAES CANELAS**

**<http://lattes.cnpq.br/9331286210389108>**

**A RELAÇÃO NEUTRÓFILOS/ LINFÓCITOS E OUTRAS CONTAGENS DE COMPONENTES DE  
CÉLULAS SANGUÍNEAS NÃO ESTÃO ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO DE  
NEOPLASIA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL PÓS MOLAR**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Mestrado Profissional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde Perinatal

Orientador: Prof. Dr. Antônio Rodrigues Braga Neto  
<http://lattes.cnpq.br/7557971069321691>

Rio de Janeiro, 2022

## CIP - Catalogação na Publicação

d221r de Novaes Canelas, Ana Clara  
A relação neutrófilos/linfócitos e outras contagens de componentes de células sanguíneas não estão associadas ao desenvolvimento de neoplasia trofoblástica gestacional pós molar / Ana Clara de Novaes Canelas. -- Rio de Janeiro, 2022.  
57 f.

Orientador: Antônio Rodrigues Braga Neto.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Maternidade Escola, Programa de Mestrado Profissional em Saúde Perinatal, 2022.

1. Doença trofoblástica gestacional. 2. Mola hidatiforme. 3. Plaquetas sanguíneas. 4. Neutrófilos. 5. Linfócitos. I. Rodrigues Braga Neto, Antônio , orient. II. Título.



**Programa de Mestrado Profissional  
em Saúde Perinatal da Maternidade Escola  
da Universidade Federal do Rio de Janeiro**



**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ATA DO EXAME DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO PARA A CONCESSÃO DO GRAU DE  
MESTRE PROFISSIONAL EM SAÚDE PERINATAL DA  
CANDIDATA**

**ANA CLARA DE NOVAES CANELAS**

Aos vinte e um dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e dois, realizou-se em sessão pública, o Exame de Defesa da Dissertação da candidata **Ana Clara de Novaes Canelas**, DRE **120093406**, no Auditório Nobre da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, situada na Rua das Laranjeiras, 180, que submeteu sua Dissertação de Mestrado intitulada **“A RELAÇÃO NEUTRÓFILOS/ LINFÓCITOS E OUTRAS CONTAGENS DE COMPONENTES DE CÉLULAS SANGUÍNEAS NÃO ESTÃO ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO DE NEOPLASIA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL PÓS MOLAR”**, a uma Banca Examinadora formada pelos Professores: Dr. **Antonio Rodrigues Braga Neto**; Dr. **Carlos Augusto Farias**; Dra. **Lilian Padron da Silveira**; Dra. **Patricia Rangel Sobral Dantas** e Dr. **Renan Rocha Soares**. O trabalho iniciou-se às 14h com a exposição oral da Dissertação por parte da candidata por cerca de 30 minutos, após o qual os membros da banca examinadora arguíram a candidata e atribuíram a menção:

- |   |
|---|
| <p><input checked="" type="checkbox"/> <b>APROVADA</b>, devendo a candidata entregar a versão final no prazo máximo de 60 dias.<br/>[ ] com louvor<br/>( ) <b>EM EXIGÊNCIA</b>, devendo a candidata satisfazer, no prazo máximo de 90 dias, às exigências listadas na Folha de Modificações de Dissertação de Mestrado anexa à presente ata.<br/>( ) <b>REPROVADA</b></p> |
|---|

Com a concordância de todos os presentes, nada mais havendo a tratar, subscrevemos esta ata.

Rio de Janeiro, 21 de dezembro de 2022.

Prof. Dr. Antonio Rodrigues Braga Neto (Orientador e Presidente da Banca)

Ass: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Carlos Augusto Farias (Avaliador Titular Externo)

Ass: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dra. Lilian Padron da Silveira (Avaliador Titular Externo)

Ass: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dra. Patricia Rangel Sobral Dantas (Avaliador Suplente Externo)

Ass: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Renan Rocha Soares (Avaliador Suplente Externo)

Ass: \_\_\_\_\_

Ana Clara de Novaes Canelas  
Candidata (assinar conforme consta na identidade)

*Aos meus pais,  
sem os quais a vida perderia completamente o sentido*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente e sempre.

À Nossa Senhora de Fátima, São Francisco de Assis e Santa Clara que me protegem, me guardam e me guiam.

Aos meus pais, meu avô e minha família, que sempre esteve ao meu lado, longe ou perto fisicamente, mas que são fundamentais na minha jornada.

Ao meu namorado, pelo apoio incondicional e por tornar minha vida mais leve.

À minha avó (in memorian) e minha madrinha (in memorian) que não tiveram a oportunidade de me ver médica, mas que vibram em outro plano a cada conquista minha.

Ao meu orientador, e amigo, Antonio que me deu a oportunidade de conhecer uma área diferente mesmo após 20 anos de formada.

A todos os colegas do Ambulatório de DTG da Maternidade Escola e de todos os Centros de Referência no Brasil que levam acolhimento às mulheres com essa doença pouco conhecida.

Aos Professores Ross Berkovitz, Kevin Elias e Neil Horowitz pela sua atenção e carinho nos nossos encontros virtuais.

## RESUMO

**Objetivo:** Relacionar a contagem de plaquetas pré esvaziamento uterino e os achados do leucograma, principalmente proporções de neutrófilos/ linfócitos (RNL) e proporções de plaquetas/ linfócitos (RPL) com a ocorrência de Neoplasia Trofoblástica Gestacional (NTG) após mola hidatiforme completa (MHC) entre mulheres brasileiras.

**Métodos:** Estudo de coorte retrospectivo de pacientes com MHC acompanhados no Centro de Referência na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, de Janeiro de 2015 a dezembro de 2020. Antes da aspiração molar, todas as pacientes passaram por avaliação médica, hemograma completo e dosagem de hCG, além de outros exames pré operatórios de rotina. O desfecho primário foi a ocorrência de NTG pós molar.

**Resultados:** Dos 827 casos de MHC atendidos inicialmente no Centro de Referência, 696 (84,15%) tiveram remissão espontânea e 131 (15,85%) desenvolveram NTG pós molar. Usando o *cut-off* ideal das curvas características de Operação do Receptor (ROC) e regressão logística multivariada, ajustado para as possíveis variáveis confundidoras de idade e nível de hCG pré esvaziamento uterino (já sabidamente associada ao desenvolvimento de NTG), identificamos que  $\geq 2$  complicações na apresentação [aOR (*odds ratio* ajustados): 1,96, IC 95%: 1,29 – 2,98,  $p < 0,001$ ] e níveis de hCG pré aspiração  $\geq 100.000$  UI/L (aOR: 2,16, IC 95%: 1,32 – 3,52,  $p < 0,001$ ) estiveram significativamente associados com NTG pós molar após MHC. No entanto, nenhum achado do perfil do hemograma foi capaz de prever a progressão de MHC para NTG.

**Conclusão:** Embora o hemograma seja amplamente disponível, sendo de baixo custo e obrigatório antes do esvaziamento uterino, e prognóstico para desfecho nas demais neoplasias, seus achados não foram capazes de prever a ocorrência de NTG pós MHC. Em contrapartida, a ocorrência de complicações médicas na apresentação e níveis mais elevados de hCG pré aspiração foram significativamente associados com NTG pós molar e podem ser úteis para orientar decisões clínicas no acompanhamento pós molar e tratamento dessas pacientes.

**Palavras chave:** doença trofoblástica gestacional; mola hidatiforme; trofoblástico; gestacional; neoplasias; neutrófilos; linfócitos; plaquetas sanguíneas; gonadotrofina coriônica humana; risco

## ABSTRACT

**Objective:** To relate pre-molar aspiration platelet count and leukogram findings, mainly neutrophil/lymphocyte ratios (NRL) and platelet/lymphocyte ratios with the occurrence of Gestational Trophoblastic Neoplasia (GNT) after complete hydatidiform mole (CFM) among women Brazilian

**Methods:** Retrospective cohort study of patients with MHC followed at the Reference Center at the Maternity School of the Federal University of Rio de Janeiro, from January 2015 to December 2020. Before molar aspiration, all patients underwent medical evaluation, complete blood count and hCG dosage, in addition to other routine preoperative exams. The primary outcome was the occurrence of post molar NTG.

**Results:** Of the 827 cases of MHC treated initially at the Reference Center, 696 (84.15%) had spontaneous remission and 131 (15.85%) developed post-molar GTN. Using the ideal cut-off of the Receptor Operating characteristic (ROC) curves and multivariate logistic regression, adjusted for the possible confounding variables of age and pre- aspiration hCG level (already known to be associated with the development of NTG), we found that  $\geq 2$  complications at presentation (aOR: 1.96, 95% CI: 1.29 – 2.98,  $p < 0.001$ ) and pre-aspiration hCG levels  $\geq 100,000$  IU/L (aOR: 2.16, 95% CI: 1, 32 – 3.52,  $p < 0.001$ ) were significantly associated with post molar NTG after MHC. However, none of the blood count profile findings were able to predict progression from MHC to NTG.

**Conclusion:** Although the blood count is a widely available test, being a low cost and mandatory test before molar emptying, and prognostic for outcome in other neoplasms, its findings were not able to predict the occurrence of NTG after MHC. In contrast, the occurrence of medical complications at presentation and higher pre-aspiration hCG levels were significantly associated with post-molar NTG and may be useful in guiding clinical decisions in post-molar follow-up and treatment of these patients.

**Keywords:** gestational trophoblastic disease; hydatidiform mole; trophoblastic; gestational; neoplasms; neutrophils; lymphocytes; blood platelets; human chorionic gonadotropin; risk;



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Diagrama de fluxo resumindo a derivação da população do estudo .....	24
<b>Figura 2</b> – Curva característica de operação do receptor demonstrando a área sob curva de contagem de leucócitos, linfócitos, contagem de plaquetas, neutrófilos totais, banda neutrófilos, neutrófilos segmentados, relação neutrófilo-linfócito e plaquetas, razão de linfócitos para a ocorrência de neoplasia trofoblástica gestacional entre pacientes com mola hidatiforme completa.....	27

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Características clínicas das pacientes com mola hidatiforme completa associada à remissão espontânea (RE) ou progressão para neoplasia trofoblástica gestacional ..... 25
- Tabela 2** - Achados laboratoriais de pacientes com mola hidatiforme completa associada à remissão espontânea ou progressão para neoplasia trofoblástica gestacional.. 26
- Tabela 3** - Variáveis preditivas da ocorrência de neoplasia trofoblástica gestacional em pacientes com mola hidatiforme completa por obtidas por curva de característica de operação do receptor..... 28
- Tabela 4** - Regressão logística para fatores prognósticos associados ao desenvolvimento de neoplasia trofoblástica gestacional após mola hidatiforme completa..... 29

## LISTA DE ABREVIATURAS

DTG – doença trofoblástica gestacional

NTG – neoplasia trofoblástica gestacional

hCG – gonadotrofina coriônica humana

MH – mola hidatiforme

MHC – mola hidatiforme completa

MHP – mola hidatiforme parcial

RNL – relação neutrófilos/ linfócitos

RPL – relação plaquetas/ linfócitos

FIGO – Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Se – sensibilidade

Sp – especificidade

VPP – valor preditivo positivo

VPN – valor preditivo negativo

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Objetivos.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1.1 Objetivo geral.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2 Justificativa.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Mola hidatiforme.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Neoplasia Trofoblástica Gestacional.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Relação neutrófilos/ linfócitos e plaquetas/ linfócitos como preditores de malignidade na mola e outros tumores.....</b>	<b>17</b>
<b>3. METODOLOGIA.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Desenho do estudo.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Participantes do Estudo.....</b>	<b>19</b>
<b>4. DESFECHO.....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Desfecho Primário.....</b>	<b>21</b>
<b>4.2 Desfecho Secundário.....</b>	<b>21</b>
<b>5. VARIÁVEIS.....</b>	<b>22</b>
<b>6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>23</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
<b>8. DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>9. CONCLUSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>34</b>
<b>PARECER CONSUBISTANCIADO DO CEP</b>	
<b>ARTIGO ORINUDO DA DISSERTAÇÃO</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

A mola hidatiforme (MH) é a forma mais comum de apresentação de doença trofoblástica gestacional (DTG) e representa seu espectro benigno [1]. Resulta de uma anormalidade da fecundação, que se apresenta como uma de duas formas clínicas: completa (MHC) e parcial (MHP), que diferem entre si por suas características citogenéticas, histológicas, perfil clínico e prognóstico [2].

A MHP origina-se de um diândrico triploide, com raras vilosidades atípicas e geralmente apresentação clínica discreta, que pode evoluir para neoplasia trofoblástica gestacional (NTG) pós molar em cerca de 1-5% dos casos. A MHC, por outro lado, resulta de um diândrico diplóide, exibindo marcada hiperplasia trofoblástica, apresentação clínica exuberante e progressão para NTG pós molar em cerca de 15-20% dos casos [1-4].

A NTG é altamente curável, mesmo com doença multimetastática, devido à quimioterapia, que, apesar da toxicidade precoce e tardia, promove a remissão da doença [5-6]. Pacientes com MHC que são cuidadosamente seguidas com monitoramento da gonadotrofina coriônica humana (hCG) geralmente são diagnosticadas com NTG de baixo risco e atingem altas taxas de remissão com agentes quimioterápicos com baixa morbidade [7-8].

A predição de NTG pós molar fez apenas progressos limitados. Os parâmetros prognósticos anteriormente estabelecidos falharam em ser altamente preditivos na ocorrência de NTG pós molar, como exemplo, a presença de complicações médicas e a histopatologia do trofoblasto [9]. Métodos promissores como avaliação da ploidia, marcadores de proliferação celular e apoptose [10,11], expressão de oncogenes [12] e análise do microRNA circulante [13], são complexos e muitas vezes indisponíveis na prática clínica, especialmente em países em desenvolvimento, onde há maior incidência de MH. Saber quais pacientes estão em alto risco de desenvolver NTG pós molar e o acompanhamento pós molar rigoroso podem facilitar o diagnóstico precoce de NTG. Além disso, identificar pacientes com probabilidade mínima de desenvolver NTG pode permitir um segmento mais curto de hCG, principalmente após a normalização do mesmo, com uma consequente diminuição no abandono do seguimento, da ansiedade dos pacientes e dos custos de vigilância hormonal.

As relações neutrófilos/ linfócitos (RNL) e as relações plaquetas/ linfócitos (RPL) foram associadas ao prognóstico de muitas doenças malignas e não malignas diferentes, incluindo tumores ginecológicos, sugerindo que esses achados hematológicos de inflamação e

estresse oxidativo no sangue periférico podem estar envolvidos na patogênese da doença e podem servir também como marcador prognóstico [14-15]. No entanto, os estudos são heterogêneos e apresentam resultados controversos. Além disso, os dados para avaliação desses parâmetros nos prognósticos de MH são escassos e provém de séries com poucos casos avaliados [16-18].

Este estudo avalia a potencial relação entre os resultados do hemograma, especialmente a RNL, e a ocorrência de NTG pós molar em mulheres brasileiras. Nossos resultados são particularmente importantes, devido à necessidade de variáveis prognósticas simples que podem ser obtidas a partir de contagens completas de células sanguíneas que são sistematicamente solicitadas antes do esvaziamento uterino e estão amplamente disponíveis na prática clínica, mesmo em países com menores recursos.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a correlação entre razão neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos nas pacientes de MH e sua progressão para NTG.

### **1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a. Avaliar a correlação da RNL e RPL com sintomatologia clínica das pacientes;
- b. Avaliar a correlação da RNL e RPL com a histopatologia da mola hidatiforme;
- c. Avaliar a correlação da RNL e RPL com nível inicial de hCG;
- d. Avaliar a correlação da RNL e RPL com a ocorrência de NTG metastática;
- e. Avaliar a correlação da RNL e RPL com a ocorrência de NTG de alto risco.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O ambulatório de DTG da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (que congregou o Centro de Doenças Trofoblásticas da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro) detem a terceira maior casuística do mundo no atendimento de pacientes acometidas por essa doença da gravidez. A experiência do saber-feito, agregada ao volume de pacientes que recorrem a esse Serviço, faz com que essa Instituição tenha responsabilidade por estudar essa doença negligenciada e trazer respostas à sociedade sobre sua gênese e melhor tratamento.

O Estado do Rio de Janeiro viu nascer o primeiro Centro de Referência no tratamento de mulheres com DTG, fundado em 1959 na 33ª Enfermaria (Maternidade) da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro, pelo Professor Paulo Belfort. Com seu passamento em 2012, esse Serviço foi transferido para a Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Mas este Estado, formou todos os trofoblastas brasileiros que hoje coordenam Centros de Referências em todas as capitais brasileiras e que têm curado nossas mulheres acometidas por essa contrafação reprodutiva. Uma vez que o estudo proposto tem grande visibilidade e pretende responder se as relações plaquetas/linfócitos e neutrófilos/linfócitos tem papel prognóstico na progressão da gravidez molar para NTG, são inequívocos os benefícios ao Estado do Rio de Janeiro e ao Brasil sob o ponto de vista de divulgação científica em revistas com alto impacto e respeitabilidade internacional.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A doença trofoblástica gestacional (DTG) constitui um grupo de tumores relacionados à gestação e originários do tecido trofoblástico placentário, cujo marcador biológico-hormonal é a gonadotrofina coriônica humana (hCG) [102, 89, 84]. Essa anomalia apresenta também diferentes graus de remissão, invasão e malignização [41, 36, 44]. Apesar da etiologia da DTG ser desconhecida, sua origem parece ser por gametogênese e/ou fertilização anormais, e/ou transformação maligna do tecido trofoblástico [42], associado à alguns fatores de risco, como: idade materna (extremos reprodutivos), histórico reprodutivo, etnia, aspectos genéticos e estado nutricional [40, 83, 36].

Nos estudos epidemiológicos, destacam-se as diferenças observadas na incidência da DTG, entre regiões bem como entre países, que se devem à irregularidade metodológica entre os relatos [88, 90]. O número total de gestações seria o denominador mais apropriado para o cálculo das taxas de incidência. Entretanto, quase nunca se consegue esse número real de gestações, o que torna o cálculo da incidência da DTG impreciso e, não raro discordante [88]. A incidência mundial da DTG é de 1/1000 gestações [50]. Nos países asiáticos e da América Latina, a incidência de DTG é 3 a 6 vezes maior que a reportada na Europa ou América do Norte [37, 56, 48]. Infelizmente, grande parte dessa casuística não reflete dados populacionais, e sim de base hospitalar, proveniente dos serviços que acompanham mulheres com essa doença.

Embora incomum, a DTG apresenta complicações clínicas importantes e potencial maligno com alta taxa de mortalidade materna, especialmente verificada antes do advento da quimioterapia [61]. A melhora no prognóstico ocorreu nas últimas décadas pela criação de centros de referência, avanços do tratamento quimioterápico e das técnicas de dosagem de hCG, marcador biológico da doença [62].

A DTG é classificada em dois grupos de importância clínica: mola hidatiforme (MH), forma clínica benigna e neoplasia trofoblástica gestacional (NTG), que é a forma maligna da doença e inclui a mola invasora, o coriocarcinoma, o tumor trofoblástico do sítio placentário (TTSP) e o tumor trofoblástico epitelióide (TTE) [35, 38, 77,70, 71, 57, 72, 82].

### 2.1 Mola hidatiforme:

A MH é uma placenta caracterizada por aumento anormal das vilosidades coriônicas acompanhadas de proliferação trofoblástica, apresentando hiperplasia variável e focal do cito e sinciciotrofoblasto. A MH é a forma clínica mais comum de DTG, apresentando

duas entidades clínicas distintas: mola hidatiforme completa (MHC) e mola hidatiforme parcial (MHP), com base nas suas diferenças morfológicas, histopatológicas e genéticas [66, 97, 91, 40]. O estudo da MH é importante pela incidência de evolução maligna, que é de 18 a 28% nos Estados Unidos da América [56] e de 7 a 25% no Brasil [95, 73, 39].

A MHC caracteriza-se por hidropisia difusa e hiperplasia trofoblástica da superfície da vilosidade coriônica [40] e na maioria das vezes, ocorre pela fertilização de um oócito vazio por um espermatozóide haplóide (23X ou 23Y) que duplica seus cromossomos, resultando em diploidia [46]. Portanto, a MHC tem origem genética exclusivamente paterna (androgenética). Já a MHP acontece quando um oócito haplóide (23X) é fertilizado por dois espermatozoides, resultando em um zigoto com 69 cromossomos (triploidia). O conceito apresenta desenvolvimento anormal com múltiplas malformações e restrição de crescimento intrauterino [40].

Os sinais e sintomas apresentados na gestação molar são mais intensos na MHC do que na MHP e em relação aos aspectos clínicos, os comportamentos da MHC e da MHP são diferentes. A MHC parece ter maior incidência de casos e a MHP geralmente apresenta-se como um aborto incompleto ou retido e os níveis de hCG tendem a ser mais baixos, quando comparado aos valores da MHC [92].

O diagnóstico precoce da mola, antes de 10–12 semanas de gravidez, é fundamental para evitar-se a ocorrência de complicações clínicas, como pré-eclâmpsia, hipertireoidismo, anemia, hiperemese e síndrome do desconforto respiratório [72]. As complicações clínicas e evolução maligna são mais frequentes na MHC que na MHP [56] e aproximadamente 20% das MHC, e 5% MHP evoluem para NTG [49]. Isto é explicado pela natureza androgenética da MHC. A superexpressão de genes paternos é associada com marcada hiperplasia trofoblástica [53] que aumenta o risco para NTG e metástases [63].

A revisão da literatura mostra predomínio da forma clínica MHC, entretanto, a MHP muitas vezes não é diagnosticada, por causa das dificuldades de seu diagnóstico [76, 47]. Na ultrassonografia [54], e mesmo no exame histopatológico [47], a MHP pode ser confundida com aborto hidrópico, MHC em gravidez gemelar, triploidia por diginia e displasia mesenquimal da placenta. Técnicas de apoio como imunohistoquímica e biologia molecular são necessárias para o correto diagnóstico da MHP. O diagnóstico da MHC é confirmado, usualmente, antes do término da gestação, pelo exame ultrassonográfico, associado à dosagem de hCG. Em um amplo estudo de 1000 pacientes, 80% das MHC e 30% das MHP tiveram diagnóstico ultrassonográfico sugestivo de gestação molar [54].

Dentre os fatores de risco etiológicos para o desenvolvimento da MHC

destacam-se os extremos de idade materna e gravidez molar anterior [70]. Em caso de história de abortamento espontâneo, o risco de gravidez molar aumenta de 2 a 3 vezes. A dieta também é considerada fator etiológico importante. A diminuição da ingestão de betacaroteno e de gordura animal está relacionada com aumento da incidência de gravidez molar [43, 80].

O tratamento da MH consiste de duas fases: o esvaziamento imediato do tecido molar e o seguimento pós-molar. A técnica de escolha para o esvaziamento uterino é a vácuo-aspiração, porque apresenta menor incidência de complicações como hemorragia e perfuração uterina. Dilatação e curetagem ou histerectomia são métodos utilizados de acordo com indicações precisas [56].

O seguimento pós-molar é a fase mais importante do tratamento da MH e tem como objetivo diagnosticar precocemente os casos que evoluem para NTG. A dosagem seriada de hCG é o teste com maior sensibilidade para avaliar a evolução clínica da MH, seja para remissão espontânea ou evolução para NTG. Os títulos de hCG são mensurados semanalmente ou quinzenalmente até a normalização por três dosagens consecutivas seguidos de avaliação mensal durante 6 meses. A contracepção é imprescindível durante o tempo de seguimento, porque uma nova gravidez dificulta sobremaneira a interpretação dos valores do hCG pós-molar [35, 56].

## 2.2. Neoplasia Trofoblástica Gestacional:

A NTG é a forma maligna da DTG, caracterizada pela persistência de tecido trofoblástico ativo na parede uterina ou em outros órgãos e tecidos. A detecção precoce da forma maligna, seguida de adequada quimioterapia, promove a cura da doença, com preservação da capacidade reprodutiva [35, 62].

A Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) padronizou a classificação da NTG, que combina a distribuição anatômica da neoplasia ao sistema de escore de risco [78]. Este sistema utiliza fatores prognósticos para a resistência à quimioterapia: o escore de 6 ou menos significa doença de baixo risco e tratada com agente único; o escore de 7 ou mais significa doença de alto risco e necessita de múltiplos agentes, uma vez que nestes casos, é alta a probabilidade de resistência à quimioterapia com agente único [79].

O tratamento das neoplasias trofoblásticas (mola invasora e coriocarcinoma) é feito com base nos grupos prognósticos de baixo e alto risco de acordo com a FIGO (2002). Quimioterapia com agente único (metotrexate ou actinomicina-D) é indicada para pacientes com NTG de baixo risco. Na NTG de alto risco, o tratamento quimioterápico com múltiplos agentes (etoposide, metotrexate, actinomicina-D alternando com ciclofosfamida e vincristina =

EMA/CO; ou etoposide e cisplatina/EMA = EP/EMA) deve ser utilizado desde o início [74]. A cirurgia é tratamento coadjuvante, realizado em pacientes com doença residual localizada, sem resposta ao tratamento quimioterápico [77]. Cura completa da doença é observada em 100% dos casos de NTG de baixo risco e, é superior a 80% nas pacientes de alto risco [62, 87].

### 2.3 Relação neutrófilos/ linfócitos e plaquetas/ linfócitos como preditores de malignidade na mola e outros tumores

A NTG compreende um grupo de desordens agressivas caracterizadas pela invasão do endométrio e miométrio pelas células trofoblásticas malignas. A exata patogênese permanece desconhecida. Alguns pesquisadores sugerem que fatores imunológicos podem ter um papel no mecanismo de invasão. Zhang et al. (2012) descreveram que a interleucina 12 (IL-12) inibe a invasão celular através da regulação da expressão das metaloproteinases da matriz (MMP-9) e inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP-1) no coriocarcinoma. Num outro estudo de Prabha et al. (2001) foi verificado aumento da expressão da IL-1 beta nos citotrofblastos vilosos e no estroma das células de Haubfaur na placenta da mola e associado isso a persistência de doença e invasão nos casos de MHC. Estas citocinas, incluindo os fatores de crescimento de interleucinas podem contribuir na acumulação de neutrófilos [64]. O aumento dos níveis de neutrófilos inibem a atividade dos linfócitos e estimulam linfopenia através do aumento da apoptose dos mesmos [99]. Essa é uma resposta imune fisiológica na circulação dos leucócitos a vários eventos de estresse como a inflamação e a carcinogênese, a qual é caracterizada por um aumento na contagem de neutrófilos e diminuição na contagem de linfócitos [98].

O aumento dos neutrófilos são observados em pacientes com tumores sólidos e eles tem a habilidade de suprimir a função das células T [55]. Essa supressão imune pode levar a estimulação das células tumorais [75]. Kuang et al. (2011) descreveram um grande número de neutrófilos peritumorais associados a progressiva angiogênese no carcinoma hepatocelular. Já no caso da DTG, no estudo de Guzel et al. (2014) foi estudada a RNL como papel preditor de malignidade na DTG, sugerindo que estes níveis pré-tratamento podem ser usados como marcadores da invasão uterina. Estas observações sugerem que os neutrófilos podem participar na invasão trofoblástica, angiogênese e metástase no processo cancerígeno.

Somada a análise dos neutrófilos nos tumores sólidos, temos a questão da contagem plaquetária como parâmetro também a ser estudado. Jamerson e Longo (2015) citam que 35% dos pacientes com trombocitose têm algum câncer subjacente. A produção de plaquetas *in vivo* e *in vitro* pode ser estimulada pela IL-6, molécula que geralmente se apresenta aumentada nos

pacientes com trombocitose e câncer. A contagem das plaquetas pré-operatória é um achado comum na maioria dos tumores sólidos. Comumente na prática da ginecologia oncológica, tumores como câncer ovariano, vulvar, cervical e endometrial apresentam trombocitose pré-operatória [60 e 93]. Topcu et al. (2014) e Kuyumcuoglu et al. (2001) já relataram plaquetometrias mais elevadas associadas a pior prognóstico em massas ovarianas suspeitas. Embora plaquetocitose seja considerada um achado comum em outros tumores ginecológicos, há poucas informações a cerca de tal ocorrência disponíveis na literatura no caso da NTG.

Diante do exposto, torna-se de extrema importância uma investigação dos parâmetros relação neutrófilo/linfócito (RNL) e plaquetas/linfócito (RPL) como fatores de prognóstico para a ocorrência de NTG. Dessa forma, o estudo visa ampliar os conhecimentos e aumentar as evidências que tais dados laboratoriais que possam servir como marcadores de malignização da DTG.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo de coortes históricas de pacientes com mola hidatiforme (MH) acompanhadas no Centro de Referência em Doença Trofoblástica do Rio de Janeiro, localizado na Maternidade Escola da UFRJ. Os dados foram coletados a partir da pesquisa em prontuários e auditados por Antonio Rodrigues Braga Neto. Os prontuários são de pacientes atendidas no período compreendido entre de 01 de janeiro de 2015 até 31 de dezembro de 2020. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e pesquisa da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, associado à Comissão Nacional de Ética e Pesquisa – (CAAE 49462315.0.00005275, parecer número 1.244.337 de 25 de setembro de 2015 e 3.972.252 de 15 de abril de 2020 – emenda).

#### 3.2 Participantes do Estudo

As participantes deste estudo foram mulheres submetidas à aspiração molar no Centro de Referência em Doença Trofoblástica do Rio de Janeiro e com diagnóstico de MHC, confirmado por histopatologia [20]. Decidimos avaliar apenas os casos de MHC porque, além de epidemiologicamente mais frequentes em nossa amostra e com diagnóstico mais confiável do que MHP, MHC apresenta maior ocorrência de NTG pós molar, proporcionando uma correlação mais adequada com o desfecho primário deste estudo.

Todas as pacientes incluídas neste estudo foram acompanhadas por seis meses após a normalização do hCG ou até o diagnóstico de NTG pós molar. A contracepção hormonal foi indicada durante todo o acompanhamento [21]. Pacientes com diagnóstico histopatológico de MHP ou gestação molar gemelar, aquelas que engravidaram, ou perderam seguimento, foram excluídas deste estudo.

Para obter o hemograma completo, não foi necessário jejum. A área de coleta do sangue foi higienizada com algodão e álcool. Um elástico (garrote) foi fixado acima da área a ser puncionada, para que a veia pudesse ser vista claramente. Uma agulha fina foi inserida na veia e um total de 2 mL de amostra de sangue venoso foi coletado de cada paciente. Todas as amostras de sangue foram colocadas em tubos de anticoagulação EDTA-K2. Todas as medidas foram analisadas usando um Pentra ES60 (Horiba Medical, Montpellier, França) dentro de 30 minutos após a coleta. A contagem de leucócitos totais, plaquetas, neutrófilos (incluindo bastões e segmentados) e linfócitos foram obtidas diretamente do analisador de sangue,

enquanto RNL e RPL foram obtidos dividindo a contagem de neutrófilos, ou contagem de plaquetas por linfócitos, respectivamente. Da mesma forma, durante todo o período do estudo, usamos o Ensaio Enzimático Immulite - Siemens Diagnostic para medir hCG, com valor de referência para resultados normais de hCG sérico abaixo de 5 UI/L.

## **4 DESFECHO**

### 4.1 Desfecho primário

O desfecho primário avaliado foi a ocorrência de NTG pós molar.

### 4.2 Desfecho secundário

O desfecho secundário avaliado foi a ocorrência de complicações médicas, por ocasião do diagnóstico da mola hidatiforme.



## 5 VARIÁVEIS

Foram estudadas as seguintes variáveis populacionais: idade (em anos), número de gestações, nascimentos e abortamentos da paciente.

As variáveis clínicas e bioquímicas avaliadas incluíram: idade gestacional ao diagnóstico (em semanas); maior diâmetro uterino (em milímetros – avaliado por ultrassonografia pélvica transvaginal), nível sérico de hCG pré aspiração (em UI/L), ocorrência de sintomas médicos na apresentação (%), sendo: hemorragia, útero aumentado para idade gestacional (definido como útero medindo pelo menos 4 cm a mais que o esperado para idade gestacional), cisto teca-luteínicos maiores que 6 cm (medidos por ultrassonografia pélvica transvaginal), pré eclampsia de início precoce (pressão arterial de 140 mmHg ou maior e/ou pressão sistólica 90 mmHg ou maior – medida em duas ocasiões com intervalo mínimo de 4 horas em paciente previamente normotensa; presença de proteinúria 300mg ou mais em 24 horas; presença de cefaleia, turvação visual, dor abdominal ou exames laboratoriais alterados, como plaquetas  $<100.000 \text{ mm}^3$ , elevação das enzimas hepáticas acima do dobro dos níveis basais, creatinina sérica  $>1,1 \text{ mg/dL}$  ou o dobro do nível basal; edema e distúrbios visuais ou cerebrais como dor de cabeça, escotomas ou convulsões) e hiperêmese (presença de cinco ou mais episódios de vômitos por dia, com ou sem alterações metabólicas) [22].

O tempo de remissão – em semanas – foi definido como o período entre a evacuação molar e a terceira medição de hCG abaixo de 5UI/L. Usamos os critérios estabelecidos pela Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) e Sociedade Europeia de Oncologia Médica para diagnóstico de NTG pós molar, que são: níveis crescentes – mais de 10% - de hCG por três semanas consecutivas, ou estabilizado por quatro semanas, diagnóstico histopatológico de coriocarcinoma ou metástases detectadas durante o acompanhamento pós molar, principalmente nos pulmões e pelve [23,24].

## 6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Calculamos um tamanho de amostra mínimo para detectar diferenças médias no RNL entre NTG pós molar e remissão espontânea em mulheres brasileiras com MHC, considerando um poder de 80%, um nível de significância de 5% e um desvio padrão em RNL de 1,93 para o grupo controle e um desvio padrão de 1,94 para o grupo de tratamento, e uma mínima diferença de detecção de 0,40. Considerando o cálculo do número mínimo de pacientes para serem incluídos neste estudo, para garantir o poder de suas conclusões, exigimos um tamanho de amostra de pelo menos 736 participantes da pesquisa.

As variáveis categóricas foram descritas como frequência absolutas e relativas, enquanto variáveis contínuas como medianas e intervalos interquartis. Para comparar proporções, o teste Chi quadrado foi usado, enquanto o teste de Mann-Whitney para comparar variáveis contínuas.

Os pontos ótimos de corte para as variáveis do leucograma foram estimados pela Curva Característica de Operação do Receptor, ou Curva ROC (do inglês: *Receiver Operating Characteristic*) minimizando a distância Euclidiana entre a curva e o ponto 90,1 no espaço ROC. Para cada um dos marcadores laboratoriais avaliados, sua sensibilidade (Se), especificidade (Sp), valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) foram calculadas a ocorrência do desfecho de interesse.

Para desfechos de interesse, *Odds Ratios* brutos e ajustados por idade/ hCG (aOR) com intervalo de confiança (IC) 95% foram calculados utilizando o Teste de Wald para regressão logística. Os pontos de corte ótimos estimados foram categorizados e utilizados como preditores em suas respectivas regressões logísticas. Para correção da testagem em múltiplas hipóteses,  $p < 0,01$  foi utilizado como limiar para a segurança na análise.

As análises foram realizadas utilizando o software SAS, versão 9.4 e o software R, versão 4.1.3, foi realizado para gráficos.

## 7 RESULTADOS

A figura 1 é um diagrama de fluxo resumindo a derivação da população do estudo. De janeiro de 2015 a dezembro de 2020, 1685 pacientes com Mola Hidatiforme foram acompanhadas no Centro de Referência de Doença Trofoblástica do Rio de Janeiro. Dentre elas 1298 realizaram esvaziamento uterino no Centro de Referência. Após excluir casos de Mola Hidatiforme Parcial (394 pacientes), gravidez molar gemelar (13 pacientes), aquelas que engravidaram (5 pacientes) ou aquelas que não deram continuidade ao tratamento (59 pacientes), a população final do estudo compreendeu 827 casos de Mola Hidatiforme Completa. Destes 696 (84,15%) tiveram remissão espontânea e 131 (15,85%) desenvolveram NTG pós molar.

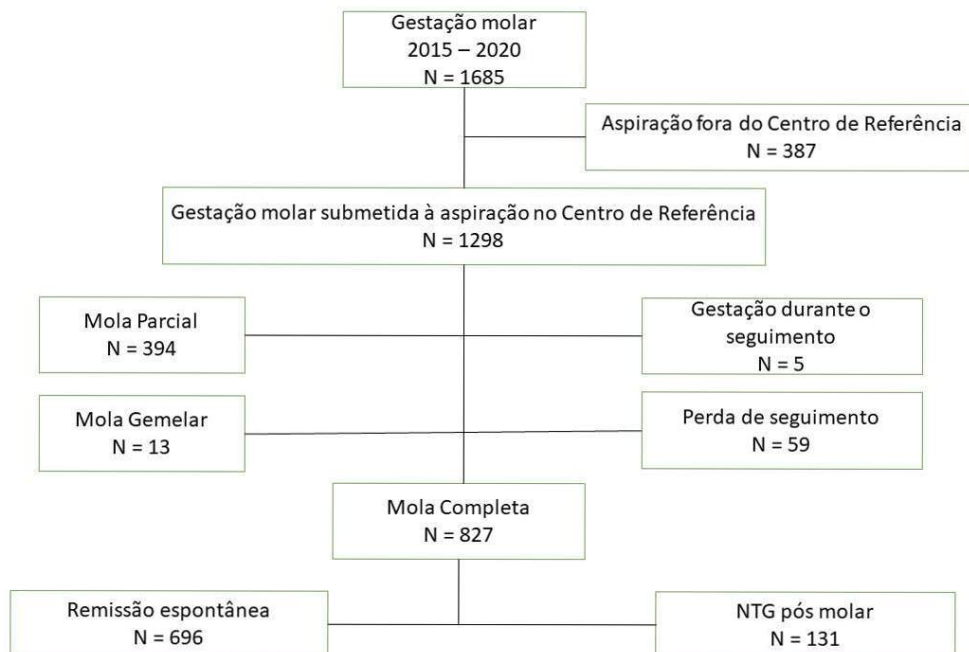


Figura 1. Diagrama de fluxo resumindo a derivação da população do estudo

As características clínicas da coorte do estudo são apresentadas na tabela 1. Observamos que casos de MHC com idade materna avançada (33 versus 26 anos,  $p < 0,001$ ), maior diâmetro uterino (110 mm versus 104 mm,  $p = 0,042$ ), com hemorragia (67,18% versus 41,67%,  $p < 0,001$ ) e útero aumentado para idade gestacional (42,75% versus 28,59%,  $p = 0,001$ ) que se apresentaram com esses dados como sintomas clínicos iniciais, foram associados ao desenvolvimento de NTG pós molar, e portanto, maior tempo para remissão (14 versus 9 semanas,  $p < 0,001$ ) quando comparado a pacientes que tiveram remissão espontânea, respectivamente.

**Tabela 1: Características clínicas das pacientes com mola hidatiforme completa associada à remissão espontânea (RE) ou progressão para neoplasia trofoblástica gestacional**

Variáveis	MH <sup>1</sup> com RE <sup>2</sup> (N=696)	MH <sup>1</sup> com progressão para NTG <sup>3</sup> (N=131)	p valor*
Idade (anos) #	26 (20-34)	33 (24-41)	<0,001
Número de gestações #	2 (1-3)	2 (1-3)	0.726
Paridade #	0 (0-1)	1 (0-1)	0.236
Abortamento	0 (0-1)	0 (0-1)	0.605
IG ao diagnóstico (semanas) #	11 (9-14)	10 (9-13)	0.099
Maior diâmetro uterino (mm) #	104 (82-123)	110 (82-140)	0.042
Sintomatologia clínica apresentada (%)			
Hemorragia	290 (41.67)	88 (67.18)	<0,001
Útero aumentado para IG	199 (28.59)	56 (42.75)	0.001
Cistos teca-luteínicos	37 (5.32)	13 (9.92)	0.042
Pré eclampsia	23 (3.30)	5 (3.82)	0.766
Hiperêmese	157 (22.56)	35 (26.72)	0.301
Tempo de remissão (semanas)	9.00 (6.00-9.71)	14.00 (10.00-19.00)	<0,001

# mediana e intervalo interquartil

\*testes Qui quadrado ou Mann-Whitney

1 MHC Mola Hidatiforme Completa

2 RE remissão espontânea

3 NTG Neoplasia Trofoblástica Gestacional

A tabela 2 mostra que a diferença na contagem de plaquetas (257.500 versus 258.000 mm<sup>3</sup>, p = 0,803) e avaliação de leucograma, especialmente RNL (2,79 versus 2,64, p=0,307) ou RPL (129,26 versus 123,75, p=0,610), não foram associados à ocorrência de NTG pós molar, com exceção do nível de hCG pré esvaziamento uterino (235.497 UI/L versus 154.409 UI/L, p<0,001) quando comparados às pacientes que tiveram remissão espontânea, respectivamente.

**Tabela 2: Achados laboratoriais de pacientes com mola hidatiforme completa associada à remissão espontânea ou progressão para neoplasia trofoblástica gestacional<sup>4</sup>**

Variáveis #	MH <sup>1</sup> com RE <sup>2</sup>	MH <sup>1</sup> com progressão para NTG <sup>3</sup>	p valor*
hCG pré evacuação (UI/L)	154.409 (67.531 – 310.160)	235.497 (110.034 – 671.275)	<0.001
Plaquetas (mm <sup>3</sup> )	258.000 (214.000 – 299.000)	257.500 (212.000 – 303.000)	0,803
Leucograma			
<i>Leucócitos totais (mm<sup>3</sup>)</i>	7.478 (6120 – 9.450)	7.557 (6.080 – 9.476)	0,862
<i>Linfócitos (mm<sup>3</sup>)</i>	2.046 (1.620 – 2.541)	1.980 (1.550 – 2.520)	0,535
<i>Neutrófilos (mm<sup>3</sup>)</i>	5.463 (4.148 – 7.052)	5.613 (4.290 – 7.100)	0,684
<i>Bastões</i>	160 (82 – 292)	156 (91 – 300)	0,750
<i>Segmentados (mm<sup>3</sup>)</i>	5.340 (4.080 – 6.825)	5.373 (4.212 – 6.920)	0,741
Relação Neutrófilos/Linfócitos	2.64 (2.03 – 3.63)	2.79 (2.19 – 3.61)	0,307
Relação Plaquetas/Linfócitos	123.75 (97.81 – 161.80)	129.26 (98.02 – 165.14)	0,610

# mediana e intervalo interquartil

\*testes Qui quadrado ou Mann-Whitney

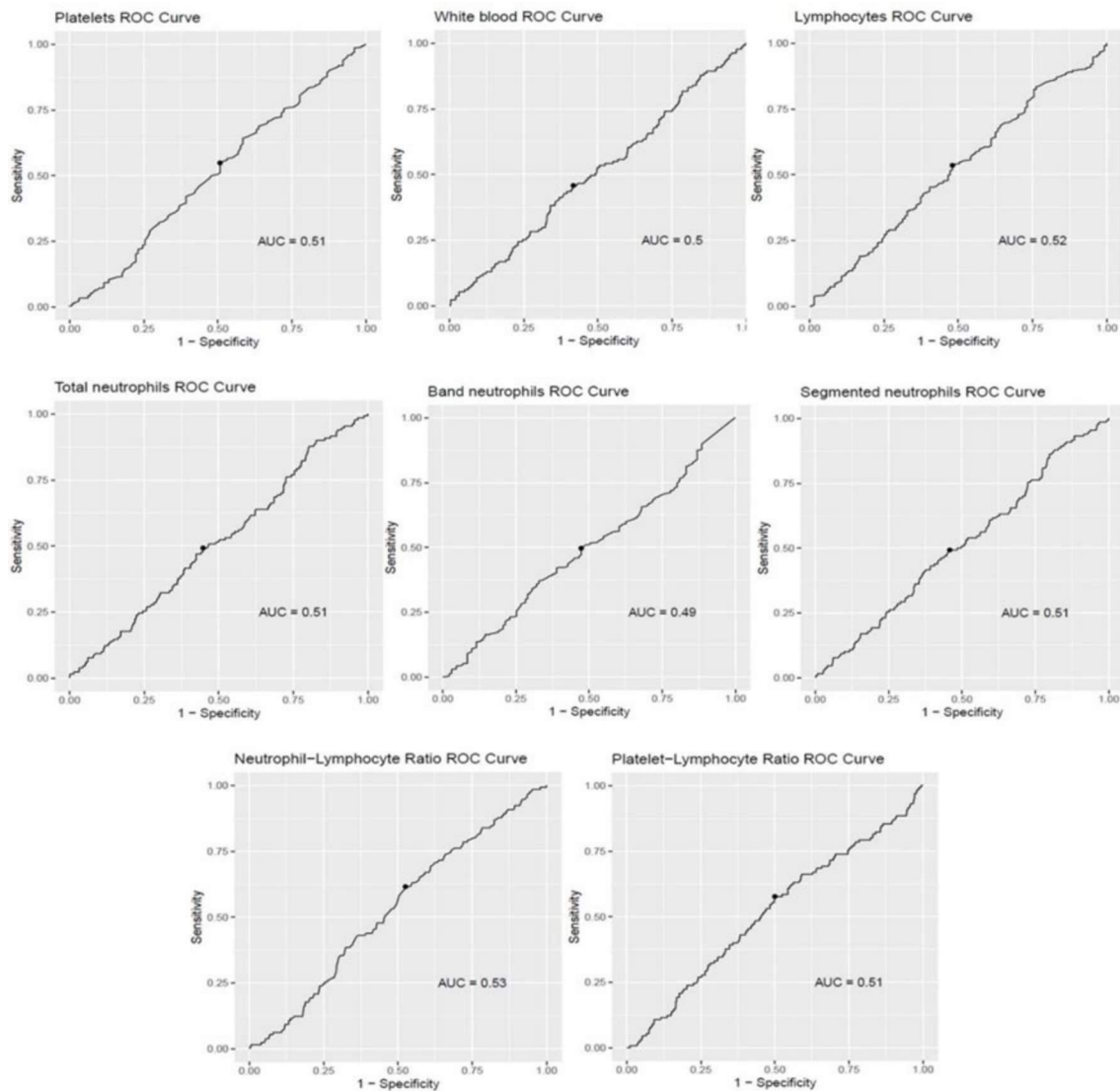
1 MHC Mola Hidatiforme Completa

2 RE remissão espontânea

3 NTG Neoplasia Trofoblástica Gestacional

Para obter o ponto de corte ideal dentre os diferentes marcadores laboratoriais estudados no hemograma completo, a curva de características de operação do receptor (ROC) para ocorrência de NTG pós molar, foram estudados como é mostrado na figura 2. A tabela 3 apresenta os dados, para cada um destes marcadores laboratoriais, incluindo a área sob a curva, sua Se, Sp, VPP e VPN para a ocorrência do desfecho avaliado. A contagem de plaquetas e os bastões tiveram os maiores VPP (0,85 e 0,84), embora com sensibilidade modesta (0,55 e 0,49) e especificidade (0,49 e 0,52) respectivamente.

**Figura 2: Curva característica de operação do receptor demonstrando a área sob curva de contagem de leucócitos, linfócitos, contagem de plaquetas, neutrófilos totais, banda neutrófilos, neutrófilos segmentados, relação neutrófilo-linfócito e plaquetas, razão de linfócitos para a ocorrência de neoplasia trofoblástica gestacional entre pacientes com mola hidatiforme completa**



**Tabela 3: Variáveis preditivas da ocorrência de neoplasia trofoblástica gestacional em pacientes com mola hidatiforme completa por obtidas por curva de característica de operação do receptor**

Variáveis	Área sob a curva	<i>Cut Off</i> ótimo	Sensibilidade	Especificidade	VPP <sup>1</sup>	VPN <sup>2</sup>
Plaquetas (mm <sup>3</sup> )	0.51	253,000	0.55	0.49	0.85	0.17
Leucograma						
Leucócitos totais (mm <sup>3</sup> )	0.50	8,010	0.46	0.58	0.17	0.85
Linfócitos (mm <sup>3</sup> )	0.52	1,998	0.53	0.52	0.85	0.17
Neutrófilos (mm <sup>3</sup> )	0.51	5,720	0.49	0.55	0.17	0.85
Bastões (mm <sup>3</sup> )	0.49	162	0.49	0.52	0.84	0.16
Segmentados (mm <sup>3</sup> )	0.51	5,544	0.49	0.54	0.17	0.85
Relação Neutrófilo/linfócito	0.53	2.55	0.61	0.47	0.18	0.86
Relação Plaquetas/linfócitos	0.51	123.75	0.57	0.50	0.18	0.86

1. Valor Preditivo Positivo
2. Valor Preditivo Negativo

Usando esses pontos de corte ótimos das curvas ROC na regressão logística multivariada, ajustados para possíveis variáveis de confundimento de idade e nível de hCG pré aspiração – já sabidamente associados ao desenvolvimento de NTG – a Tabela 4 mostra que a ocorrência de mais que 2 complicações médicas na apresentação (aOR: 2,16, IC 95%: 1,32 – 3,52, p=0,002) foram capazes de prever a ocorrência de NTG pós molar. Nenhum dos parâmetros isolados do hemograma ou suas razões e proporções foram prognósticos.

**Tabela 4. Regressão logística para fatores prognósticos associados ao desenvolvimento de neoplasia trofoblástica gestacional após mola hidatiforme completa**

Variáveis	cOR a * (95% CI)	p-valor	aOR b * (95% CI)	p-valor
Idade gestacional > 10 semanas	0.72 (0.46-1.13)	0.150	0.76 (0.46-1.25)	0.275
Ocorrência ≥ 2 complicações médicas #	2.22 (1.52-3.24)	<0.001	1.96 (1.29-2.98)	0.001
hCG pré evacuação c,d ≥100.000 IU/L	2.14 (1.32-3.48)	0.002	2.16 (1.32-3.52)	0.002
Plaquetas ≥ 253.000 mm <sup>3</sup>	0.85 (0.58-1.24)	0.397	0.93 (0.62-1.41)	0.742
Leucograma				
Leucócitos totais ≥ 8.010 mm <sup>3</sup>	1.18 (0.81-1.72)	0.391	1.08 (0.71-1.64)	0.710
Linfócitos ≥ 1.998 mm <sup>3</sup>	0.80 (0.55-1.17)	0.251	0.89 (0.59-1.35)	0.593
Neutrófilos ≥ 5.720 mm <sup>3</sup>	1.20 (0.82-1.74)	0.349	1.08 (0.71-1.63)	0.717
Bastões ≥ 162 mm <sup>3</sup>	0.91 (0.63-1.33)	0.628	0.92 (0.61-1.39)	0.686
Segmentados ≥ 5.544 mm <sup>3</sup>	1.15 (0.79-1.67)	0.477	1.03 (0.68-1.56)	0.875
Razão Neutrófilos/ linfócitos ≥ 2.55	1.44 (0.98-2.12)	0.060	1.29 (0.85-1.96)	0.228
Razão Plaquetas/ linfócitos ≥ 123.75	1.36 (0.93-1.99)	0.108	1.49 (0.98-2.25)	0.061

\* Teste de Wald para regressão logística

# Complicações médicas: hemorragia, útero aumentado para a idade gestacional, cistos tecaluteínicos, pré-eclâmpsia e hiperêmese

- a. cOR. Razão de chances bruta
- b. aOR. Razão de chances ajustada por idade e hCG
- c. hCG. Gonadotrofina coriônica humana
- d. Razão de chances ajustada por idade



## 8 DISCUSSÃO

Enquanto a ocorrência de ao menos duas complicações médicas à apresentação clínica e níveis elevados de hCG pré aspiração foram associados a um maior risco de NTG pós molar durante o acompanhamento pós molar, nenhum dos parâmetros do hemograma pré esvaziamento uterino, notadamente: contagem de plaquetas, RNL ou RPL, foram capazes de antever a ocorrência de NTG pós molar na população de MHC estudada.

Os intrincados mecanismos moleculares envolvidos na progressão de MHC para NTG não são totalmente compreendidos. Vale ressaltar que nossos dados reforçam a percepção de que o diagnóstico precoce de MHC, ao mesmo tempo que torna a apresentação clínica da doença mais branda [25], não tem efeito protetor contra ocorrência de NTG pós molar [26]. Isto sugere que a propensão a desenvolver NTG pode já estar presente no tecido trofoblástico antes mesmo da aspiração uterina. A presença de complicações clínicas na apresentação e os níveis de hCG pré aspiração foram classicamente associados a este resultado [1]. Este estudo complementa o conhecimento prévio da área, ao mostrar que os achados do hemograma realizado prévio à aspiração molar, avaliado por pontos de corte ótimos, obtidos por curvas ROC, e ajustados para variáveis de confusão, não foram significativamente associados com o desenvolvimento de NTG pós molar, como sugerido por estudos anteriores, com menor casuística e metodologia menos apurada.

Embora a maioria dos estudos que avaliam os achados laboratoriais em sangue periférico comparam as contagens celulares das pacientes com MH com um grupo controle formado por não gestantes [27], gestações saudáveis [28] ou mesmo com casos de abortamento [29,30], foram identificados três estudos que avaliaram esses achados em pacientes com MH com remissão espontânea ou que desenvolveram NTG pós molar. Guzel et al. encontraram uma associação entre a RNL e a ocorrência de NTG pós molar, porém com valores mais de três vezes maiores do que reportamos no atual (8,96 versus 2,58, respectivamente) [18]. Isso pode ter ocorrido porque esses autores avaliaram apenas oito pacientes com NTG pós molar, número 100 vezes menor do que o relatado em nosso estudo. A mesma limitação está presente no estudo de Yayla et al., que ao comparar 13 casos de NTG pós molar encontraram níveis significativamente mais baixo na RPL de pacientes que desenvolveram NTG [19]. Verit relatou que a contagem de plaquetas foi significativamente menor em pacientes que desenvolvem NTG pós molar [20]. No entanto, além de não comparar a contagem de plaquetas obtidas pelo ponto de corte ótimo das curvas ROC, os resultados desses três estudos não foram ajustados para variáveis de confundimento, numa regressão logística multivariada, como realizado em nosso

estudo, e que é essencial para excluir a influência de outras variáveis nos resultados encontrados. Vale salientar, por exemplo, que embora discreta, a diminuição na contagem de lífócitos e plaquetas é esperada com a idade, o que inversamente, aumenta a ocorrência de NTG pós molar, mostrando a importância de eliminar o efeito desses fatores de confusão neste estudo.

Geralmente, o câncer tem muitas características comuns com doenças infecciosas ou inflamatórias e respostas ao trauma – como ativação imunológica, resposta de fase aguda e inflamação [16]. Neste contexto, inúmeros estudos tem mostrado uma associação entre altos níveis de RNL e desfechos neoplásicos, tornando esse marcador frequentemente incluído no prognóstico de avaliação de vários tumores sólidos [31]. No entanto, uma extensa revisão de 204 metanálises de estudos observacionais, descobriram que em apenas 60 (29%), um achado de RNL elevado foi – de fato – significativamente associado ao prognóstico do tumor. Além disso, esse estudo também atraiu atenção para a grande heterogeneidade dos estudos avaliados, muitos com pequenos tamanhos de amostra, gerando pequenos vieses de efeito, que precisam ser considerados [32]. Outro ponto é que muitas das associações entre os achados do hemograma e o prognóstico oncológico vem de estudos observacionais, nos quais são considerados resultados que variam entre OR 0,33 e 3 como significantes, nestes casos havendo risco de grande viés levando à associações espúrias [33] e exigindo cautela na interpretação desses resultados.

A maior força do nosso estudo foi o uso de uma metodologia estatística adequada, que pode identificar o valor preditivo do desfecho, excluindo o efeito de variáveis de confundimento. Além disso nosso estudo apresentou a maior casuística relacionada a este tema na literatura, avaliando-se a relação entre o hemograma em pacientes com mola hidatiforme, superando o número mínimo de pacientes necessários para garantir a potência de seus resultados. No entanto, o nosso também tem várias limitações. A natureza retrospectiva de nosso estudo torna-o potencialmente propensos à vieses, pois os registros podem ser menos competos e ter menor precisão. Além disso focamos apenas nos parâmetros comuns do hemograma completo, não avaliamos outras variáveis hematológicas, como hemácias, volume corpuscular médio, diferencial leucocitário e/ou atípicas.

Acreditamos que poderemos em casos de NTG, avaliar a RNL e RPL e sua correlação com quimiorresistência. O fato da RNL e RPL não terem apresentado significância estatística na avaliação prognóstica da MH, não exclui a possibilidade dessas relações não ocorrerem na avaliação prognóstica da NTG.

Enquanto a MH é considerada uma entidade pré maligna, e pode não ter em si todos os elementos no microambiente celular que permitiriam antever o seu desfecho, a NTG é por sua vez, um câncer consolidado.

Dessa forma, poderiam estar presentes, elementos celulares que nos permitiria avaliar o risco de quimiorresistencia. E a quimiorresistencia, é, na NTG, um elemento de suma importância pois está envolvida na escolha terapêutica, isto é, na escolha de tratamento com agente único ou, ao revés de, poliquimioterapia - regimes contendo múltiplos agentes quimioterápicos. Isso é essencial a fim de selecionar as pacientes que poderiam ser tratadas com regimes menos tóxicos, mais baratos, com menor impacto na sua vida futura e também com melhor tolerabilidade.

Por isso, pesquisas nesse sentido, são fundamentais e esperamos que essa linha de estudo prognóstico na NTG possa se aprofundar, com novos desdobramentos, em especial na avaliação de quimiorresistencia. A possibilidade de um marcador prognóstico barato, e amplamente disponível para auxiliar na predição da ocorrência de quimiorresistencia em casos de NTG pós molar seria um grande ganho para o tratamento dessas pacientes.

## **9 CONCLUSÃO**

Após a análise dos nossos resultados não encontramos nenhuma relevância prognóstica entre a relação neutrófilos/ linfócitos e relação plaquetas/ linfócitos que nos levasse a prever a progressão para NTG em pacientes com diagnóstico de MC, bem como não conseguimos estabelecer associação entre RNL e RPL com a sintomatologia apresentada, com a histopatologia, o nível inicial de hCG pré esvaziamento uterino e a NTG.

Porém, analisando isoladamente cada parâmetro estudado podemos concluir que embora os resultados do hemograma e as RNL e RPL não tenham sido capazes de prever a progressão da MHC para NTG, a ocorrência de complicações médicas na apresentação, e acrescidos aos níveis mais altos de hCG pré esvaziamento uterino, estiveram significativamente associados com a ocorrência de NTG pós molar e podem ser úteis para orientar decisões clínicas individualizadas no acompanhamento pós molar e tratamento dessas pacientes.

## REFERÊNCIAS

1. ELIAS K.M; BERKOWITZ R.S; HOROWITZ NS State-of-the-art work and initial management of Newly Diagnosed Molar Pregnancy and Postmolar Gestational Trophoblastic Neoplasia. *J. Natl buy canc Netw* . 2019;17(11):1396-1401. doi : 10.6004/jnccn.2019.7364
2. LURAIN J. Gestational Trophoblastic Disease I : Epidemiology, Pathology, Clinical Presentation, and Diagnosis of Gestational Trophoblastic Disease and Management of Hydatidiform Mole *Am J Obstet Gynecol* . 2010;203(6):531-9. doi : 379 10.1016/j.ajog.2010.06.073
3. BRAGA, A.; MAESTA I. Challenges in the treatment of patients with Gestational Trophoblastic Disease. *Rev bras Gynecol Obstet*. 2012;34(4):143-6
4. BRAGA, A.; UBERTI, EM H; FARJADO, MC; VIGGIANO, M.; SUN, SY; GRILLO, M. et al. Epidemiological portrait of the treatment of patients with gestational trophoblastic disease in 10 Brazilian reference centers: results after 12 years of the 2000 FIGO International Consensus. *J Reprod Med*. 2014;59(5-6):241-7
5. LURIAN, JR Gestational trophoblastic disease II: classification and management of gestational trophoblastic neoplasia . *Am J Obstet Gynecol* . 2011;204(1):11-8. doi : 10.1016/j.ajog.2010.06.072
6. LOK, C.; VAN TROMMEL, N.; MASSUGER, L.; GOLFIER, F.; SECKL, M. EOTTD Clinical Working Group. EOTTD practical clinical guidelines for treatment and referral of trophoblastic disease . *Eur J Cancer*. 2020;130:228-240. doi : 10.1016/j.ejca.2020.02.011
7. FREITAS, F.; BRAGA, A.; VIGGIANO, M.; VELARDE, LGC; MAESTA, I.; UBERTI, E. et al. Lethality from gestational trophoblastic neoplasia in Brazilian women: a national retrospective cohort study. *Gynecol . Oncol* . 2020;158(2),452-9. doi : 10.1016/j.ygyno.2020.04.704
8. DANTAS, PRS; MAESTA, I.; CORTÉS-CHARRY, R.; GROWDON, WB; BRAGA, A.; RUDGE MVC et al Influence of hydatidiform mole follow-up on postmolar NTG outcomes: a cohort study. *J Play Med*. 2012;57(7-8):305-9
9. GENEST, DR; LABORD, O.; BERKOWITZ, RS; GOLDSTEIN, DP; BERNSTEIN, MR; LAGE, J. A clinical-pathological study of 153 cases of complete hydatidiform mole (1980-90) histology lacks prognostic significance. *Obstet Gynecol* . 1991(3Pt1); 78:402-9
10. VAN-DE-KAA, CA; DISC, CP; DE-WILDE., PC; DE LEEUW, H.; GEMMINK, JH; ROBBEN, JC; VOOIJS, PG; Persistent gestational trophoblastic disease : DNA imaging cytometry and cytogenetic interface has limited predictive value. *Mod Pathol* . 1996;9(10):1007-14
11. BRAGA, A.; MAESTA, I.; SOARES RR; ELIAS, KM; DOMINGUES, MAC; BARBISAN, LF; et al Apoptotic index for predicting postmolar gestational trophoblastic neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* . 2016;215(3):336.e1-336.e12. doi : 10.1016/j.ajog.2016.04.010
12. CHEUNG, ANY; SHEN, DH; KHOO, US; CHIU, MP; TIN, VP; CHUNG, LP; NGAN, HY; Immunohistochemical and mutational analysis of the p53 tumor suppressor gene in gestational trophoblastic disease - correlation with mdm2, proliferation index and clinical-pathological parameters. *Int J Gynaecol Cancer* . 1999;9(2):123-30. doi : 10.1046/j.1525-1438.1999.09904.x

13. LIN, LH; MAESTA, I.; LAURENT, JD; HASSELBLATT, KT; HOROWITZ, NS; GOLDSTEIN, DP; et al. Distinct microRNA profiles for complete hydatidiform mole at risk of malignant progression. *Im J Obstet Gynecol* . 2021;224(4):372.e1-372.e30. doi : 10.1016/j.ajog.2020.09.048
14. ZAHOREC, R. Neutrophil-lymphocyte relationship: past, present and future perspectives. *Bratisl Drug List*. 2021; 122(7): 474-488. doi : 10.4149 / BLL\_2021\_078
15. WILLIAMS, KA; LABIDI-GALY, SI; TERRY, KL; VITONIS, AF; WELCH, WR; GOODMAN, A, et al Prognostic significance and predictors of the neutrophil-lymphocyte ratio in ovarian cancer. *gynecologist Oncol* . 2014;132(3):542-50. doi : 10.1016/j.ygyno.2014.01.026
16. GUZEL, AI; KOKANALI, MK; ERKILINC, S.; TOPCU, HO; OZ, M.; ERKAVA, S.; et al. Predictive role of neutrophil lymphocyte ratio for invasive gestational trophoblastic disease. *asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(10):4203-6. doi : 10.7314/apjcp.2014.15.10.4203
17. VAYLA, CA; ÖZAKAYA, E.; YENIDEDE, I.; ESER, A.; ERGEN, EB; TAYYAR, AT; et al. Predictive value of some hematological parameters for non-invasive and invasive molar pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(3):271-277. doi : 10.1080/14767058.2017.1281906
18. VERIT, FF; Can platelet count be a predictor for persistent low-risk gestational trophoblastic disease? *Arch Gynecol Obstet*. 2011;283(4):695-9. doi : 10.1007/s00404-010-1408-2
19. PADRON, L.; REZENDE-FILHO, J.; AMIN-JUNIOR, J.; SUN, SY; CORTÉS-CHARRY, R.; MAESTA, I.; Et al Manual Comparison between Manual and Electric Vacuum Aspiration for Molar Pregnancy Treatment *Obstet Gynecol* . 2018;131(4):652-659. two: 10.1097/AOG.0000000000002522
20. SEBIRE, NJ; MAKRYDIMAS, G.; AGNANTIS, NJ; ZAGORIANAKOU, N.; REES, H.; FISHER, RA; Updated diagnostic criteria for partial and complete hydatidiform moles in early pregnancy *Res. anticancer*. 2003;23(2C):1723-8
21. BRAGA, A.; MAESTA, I.; SHORT, D.; SAVAGE, P.; HARVEY, R.; SECKL, MJ; Use of hormonal contraceptives before hCG remission does not increase the risk of gestational trophoblastic neoplasia after complete hydatidiform mole *BJOG*. 2016;123(8):1330-5. two: 10.1111/1471-0528.13617]
22. BRAGA, A.; MORAES, V.; MAESTA, I.; AMIN-JUNIOR, J.; REZENDE-FILHO, J.; ELIAS, K.; et al. Changing trends in the clinical presentation and management of complete hydatidiform mole among Brazilian women. *int Gynecol Cancer*. 2016;26(5):984-90 doi 10.1097/IGC.0000000000000682
23. ONCOLOGY COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL FEDERATION OF GYNECOLOGY AND OBSTETRICS. FIGO staging for gestational trophoblastic neoplasia 2000. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;77(3):285-7 two: 10.1016/s0020-7292(02)00063-2
24. SECKL, MJ; SEBIRE, NJ; FISHER, RA; GOLFIER, F.; MASSUGER, L.; SESSA, C.; ESMO Working Group Guidelines. Gestational trophoblastic disease : ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ana Oncol* . 2013;24 Suppl 6:vi39-50. doi : 10.1093/announced/mdt345
25. SUN, SY; GOLDSTEIN, DP; BERNSTEIN, MR; HOROWITZ, NS; MATTAR, R.; et al. Maternal “Near Miss” according to World Health Organization classification among women with hydatidiform mole : Experience in New England Trophoblastic Disease Center, 1994-2013. *J Play Med*. 2016;61(5-6):210-4

26. SUN, SY; MELAMED, A.; GOLDSTEIN, DP; BERNSTEIN, MR; HOROWITZ, NS; et al. Changing presentation of complete hydatidiform mole in New England Trophoblastic Disease Reference Center over the last three decades: does early diagnosis change the risk of gestational trophoblastic neoplasia? *gynecologist Oncol* . 2015;138(1):46-9. doi : 10.1016/j.ygyno.2015.05.002
27. ZHANG, L.; XIE, Y.; XHAN, L.; The potential value of red blood cell distribution width in patients with invasive hydatidiform mole . *J Clin Lab Anal*. 2019;33(4):e22846. doi : 10.1002/jcla.22846
28. ESKICIOGLU, F.; ULKUMEN, BA; CALIK, E.; Complete blood count parameters may play a role in the diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Pak J Med Sci*. 2015;31(3):667-71 doi : 10.12669/pjms.313.7109
29. AIOB, A.; NASKOVICA, K.; ZILBERFARB, IA; SHARN, A.; BORNSTEIN, J.; et al. Complete blood count parameters, neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in hydatidiform mole versus missed abortion. *Eur J Gynaecol Oncol* . 2022;43(2):175-82. doi : 10.31083/j.ejgo4302023
30. KARAPYNAR, OS; ILFELER, DB; DOLAPÇYOYLU, K.; KURT, RK; BETAZYT, A.; The effect of molar pregnancies on platelet parameters. *J Obstet Gynaecol* . 2016;36(7):912-915. doi : 10.1080/01443615.2016.1174823
31. HOWARD, R.; KANETSKY, PA; EGAN, KM; Exploring the prognostic value of the neutrophil/lymphocyte ratio in cancer. *Scientific Representative* 2019; 9(1):19673. doi : 10.1038/s41598-019-56218-z
32. CUPP, MA; CARIOLOU, M.; TZOULAKI, I.; AUNE, D.; EVANGELOU, E.; BERLANGA-TAYLOR, AJ; Neutrophil/lymphocyte ratio and cancer prognosis: a comprehensive review of reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med*. 2020;18(1):360. doi : 10.1186/s12916-020-01817-1
33. GRIMES, DA; SCHULZ, KF; False alarms and pseudo-epidemics : the limitations of observational epidemiology *Obstetricia Gynecol* 2012;120(4):920-7. doi : 10.1097/AOG.0b013e31826af61a
34. ACMAZ, G .; AKSOY, H.; UNAL, D.; Are neutrophil/ lymphocyte and platelet / lymphocyte ratios associated with endometrial precancerous and cancerous lesions in patients with abnormal uterine bleeding? *asian. Pac. J Cancer. Prev.*, v.15, p.1689-92, 2014.
35. AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Diagnosis and treatment of gestational trophoblastic disease. *ACOG Pract . Bull.*, v.103, n.53, p.1365-77, 2004.
36. ALMEIDA, C. ED; CURI, EF; ALMEIDA, CRD; VIEIRA, DF; Thyrotoxic crisis associated with gestational trophoblastic disease . *Rev. Bras. Anest .*, v.61, n.5, p.604-609, 2011.
37. ALTIERI, A .; FRANCESCHI, S.; FERLAY, J.; SMITH, J.; VECCHIA, CL; Epidemiology and aetiology of gestational trophoblastic diseases. *Lancet Oncol* .. v.4, n.11, p.670-8, 2003.
38. BELFORT, P .; BRAGA, A.; FREIRE, NS; Uterine arteriovenous malformation after gestational trophoblastic disease. *Rev. Bras. Gynecology. Obstet.*, v.28, n.2, p.112-21, 2006.
39. BELFORT, P .; BRAGA, A.; Changes in the clinical presentation of molar pregnancy. *Rev. Bras. Gynecology . Obstet.*, v.26, n.6, p.483-488, 2004.

40. BELFORT, P .; GRILLO, BM; MADI, JM; VIGGIANO, M.; In: BELFORT, P.; et al. Gestational trophoblastic neoplasia: Controversies . 1st ed. Rio de Janeiro: Rubio 2007. p. 4-143.
41. BERKOWITZ, RS; GOLDSTEIN, DP; Current management of gestational trophoblastic diseases. *Gynecol. Oncol.* v.112, n.3, p. 654-62, 2009.
42. BERKOWITZ, RS; GOLDSTEIN, DP; Molar pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, v.360, n.16, p.1639-45, 2009.
43. BERKOWITZ, RS; CRAMER, DW; BERNSTEIN, MR; CASSELLS, S.; DRISCOLL, SG; GOLDSTEIN, DP; Risk factors for complete molar pregnancy from a case-control study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.152, n.8, p.1016-20, 1985.
44. BERKOWITZ, R. S.; GOLDSTEIN, DP; Current advances in the management of gestational trophoblastic disease. *Gynecol. Oncol.*, v.128, n.1, p.3-5, 2013.
45. BRAGA, A .; MAESTA, I.; MICHELIN, OC; DELMANTO, LRG; CONSONNI, M.; RUDGE, MVC; Maternal and perinatal outcomes of first pregnancy after chemotherapy for gestational trophoblastic neoplasia in Brazilian women. *Gynecol. Oncol.*, v.112, n.3, p.568-71, 2009.
46. BRAGA, A .; GROWDON, WB; BERNSTEIN, M.; MAESTA I.; RUDGE, M.; GOLDSTEIN, DP; et al. Molar pregnancy in adolescents. *J. Playback . Med.*, v.57, n.5-6, p.225-30, 2011.
47. BUZA, N.; HUI, P.; Partial hydatidiform mole: histologic parameters in correlation with DNA genotyping. *Int. J. Gynecol. Pathol .*, v.32, n.3, p.307-15, 2013.
48. CORTÉS-CHARRY, R .; Presentation and management of molar pregnancy and gestational trophoblastic neoplasia in Latin America. In: HANCOCK, BW; SECKL, MJ; BERKOWITZ, RS; Gestational trophoblastic disease. 3rd ed. Connecticut: ISSTD, 2009. p. 407-19.
49. DANTAS, PR; MAESTA, I.; CORTÉS-CHARRY, R.; GROWDON, WB; BRAGA, A.; RUDGE, MV; et al. Influence of hydatidiform mole follow-up setting on postmolar gestational trophoblastic neoplasia outcomes: a cohort study. *J. Playback . Med.* v.57, n.7-8, p.305-9, 2012.
50. DI CINTIO, E .; PARAZZINI, F.; ROSA, C.; CHATENOU, L.; BENZI, G.; The epidemiology of gestational trophoblastic disease. *Gen. Diagn . Pathol .*, v.143, n.2-3, p.103-8,1997.
51. DIRICAN, A .; et al. Prognostic and predictive value of hematologic parameters in patients with metastatic renal cell carcinoma: second line sunitinib treatment following IFN-alpha. *Asian Pac. J Cancer. Prev.*, v.14, p.2101-5, 2013.
52. DUFFY , BK; et al. Usefulness of an elevated neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term mortality after percutaneous coronary intervention. *Am. J. Cardiol .*, v.97, p.993-6, 2006.
53. FISHER, R. THE.; Genetics. In: HANCOCK, BW; SECKL, MJ; BERKOWITZ, RS; COLE, LA; editors. Gestational Trophoblastic Disease. 3rd ed. Connecticut: ISSTD, 2009. p. 6-48.
54. FOWLER, D .; LINDSAY, I.; SECKL, M.; SEBIRE, N.; Routine pre-evacuation ultrasound diagnosis of hydatidiform mole: experience of more than 1000 cases from a regional referral center. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, v.27, n.1, p.56-60, 2006.



55. GABRILOVICH, D.I .; NAGARAJ, S.; Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, v.9, p.162-74, 2009.
56. GARNER, E. I.; GOLDSTEIN, DP; FELTMATE, CM; BERKOWITZ, RS; Gestational trophoblastic disease. *clinic obstet. Gynecol.*; v.50, n.1, p.112-22, 2007.
57. GOLDSTEIN, DP; BERKOWITZ, RS; Current Management of Gestational Trophoblastic Neoplasia. *Hematol . Oncol. clinic N. Am.*, v.26, n.1, p.111, 2012.
58. GUZEL, AI; et al. Predictive Role of the Neutrophil Lymphocyte Ratio for Invasion with Gestational Trophoblastic Disease. *Asian Pac. J Cancer Prev* , v.15, p.4203-4206, 2014.
59. HALAZUN, K. J.; et al. Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann. Surg.*, v.250, p.141-51, 2009.
60. HERNANDEZ, E .; DONOHUE, KA; ANDERSON, LL; The significance of thrombocytosis in cases with locally advanced cervical carcinoma: a gynecologic oncology group study. *Gynecol. Oncol.*, v.78, p.137-42, 2000.
61. HERTZ, R.; LI ., MC; SPENCER, DB; Effect of methotrexate therapy upon choriocarcinoma and chorioadenoma. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* v.93, n.2, p.361-6, 1956.
62. HOEKSTRA, A. v.; LURAIN, JR; RADEMAKER, AW; SCHINK, JC; Gestational trophoblastic neoplasia: treatment outcomes. *obstet. Gynecol.*, v.112, n.2, p.251-8, 2008.
63. HOFFNER, L .; SURTI, U.; The genetics of gestational trophoblastic disease: a rare complication of pregnancy. *Cancer genet.* v.205, n.3, p.63-77, 2012.
64. HOTCHKISS, R. S.; KARL, IE; The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl . J. Med.*, v.348, p.138-50, 2003
65. JAMERSON, JL; LONG, DL; Paraneoplastic syndromes : endocrinological/hematological. In: LONGO, DL. *Harrison's Hematology and Oncology*. 2nd ed. São Paulo: Artmed , 2015. p.508-514.
66. KAJII, T.; OHAMA, K.; Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature.* v.268, n.5621, p.633-4, 1977.
67. KARAMAN, H.; KARAMAN, A.; ERDEN, A.; Relationship between colonic polyp type and the neutrophil/ lymphocyte ratio as a biomarker. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, v.14, p.3159-61, 2013.
68. KUANG, DM; ZHAO, Q.; Wu, Y.; Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.*, v.54, p.948-55, 2011.
69. KUYUMCUOGLU, U.; et al. The association of preoperative thrombocytosis with prognostic factors in malignant ovarian tumor. *eur. J. Gynaecol .*, v.31, p.514-6, 2010.
70. LURAIN, JR; Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.203, n.6, p.531-9, 2010.
71. LURAIN, JR; Gestational trophoblastic disease II: classification and management of gestational trophoblastic neoplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.204, n.1, p.11-8, 2011.
72. MAESTA, I.; BRAGA, A.; Challenges of the treatment of patients with gestational trophoblastic disease. *Rev. Bras. Gynecology. obstet.* v.34, n.4, p.143-6, 2012.
73. MAESTA, I.; DALBEN, I.; PEDRAZZANI, CD; UEMURA, G.; CONSONNI, M.;

- RUDGE, MVC; Gestational trophoblastic disease at a tertiary referral center: a 10-year retrospective study (1991 to 2000). *Acta Oncol . Bras.* v.23, n.2, p.421-31, 2003.
74. MAESTA, I.; MICHELIN, OC; TRAIMAN, P.; NETO, ARB; GOMES, LRM; CONSONNI, M.; Treatment of high-risk, chemotherapy-resistant gestational trophoblastic neoplasia. *Female .* v.35, n.12, p.797-805, 2007.
75. MOVAHEDI, K.; GUILLIAMS, M.; VAN DEN BOSSCHE, J.; Identification of discrete tumor-induced myeloid-derived suppressor cell subpopulations with distinct T cell-suppressive activity. *Blood*, v.111, p.4233-44, 2008.
76. NEWLANDS, ES; PARADINAS, FJ; FISHER, RA; Recent advances in gestational trophoblastic disease. *Current therapeutic issues in gynecologic cancer. Hematol . Oncol. clinic North Am.* v.13, n.1, p.225-44, 1999.
77. NGAN, S.; SECKL, MJ; Gestational trophoblastic neoplasia management: an update. *Curr . Opinion . Oncol.* v.19, n.5, p.486-91, 2007.
78. NGAN, HYS; BENEDET, JL; JONES III, HW; BENDER, HG; PECORELLI, S.; FIGO Staging and risk factor scoring for trophoblastic neoplasia. *Int. J. Gynecol. obstet.* v.77, p.285-7, 2002.
79. NGAN, HYS; ODICINO, F.; MAISONNEUVE, P.; CREASMAN, WT; BELLER, U.; QUINN, MA; Gestational trophoblastic neoplasia. FIGO 6th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int. J. Gynaecol . obstet.* v.95, n.1, p.193-203, 2006.
80. PARAZZINI, F.; LAVECCHIA, C.; PAMPALLONA, S.; FRANCESCHI, S.; Reproductive patterns and the risk of gestational trophoblastic disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.152, n.7, p.866-70, 1985.
81. PRABHA, B.; et al. Increased expression of interleukin-1 beta is associated with persistence of the disease and invasion in complete hydatidiform moles. *eur. J. Gynaecol . Oncol.*, v.22, p.50-6, 2001.
82. RAUH-HAIN, JA; GROWDON, WB; BRAGA, A.; GOLDSTEIN, DP; BERKOWITZ, RS; Gestational trophoblastic neoplasia in adolescents. *J. Playback . Med.* v.57, n.5-6, p.237-42, 2012.
83. SEBIRE, NJ; SECKL, MJ; Gestational trophoblastic disease: current management of hydatidiform mole. *Brit. Med. J.* v.337, p.1193, 2008.
84. SECKL, MJ; SEBIRE, NJ; BERKOWITZ, RS; Gestational trophoblastic disease. *Lancet.* v. 376, no. 9742, p.717-29, 2010.
85. SHI, ZH; CHEN, H.; YANG, B.; CLC1 protein: a candidate prognostic biomarker for malignant-transformed hydatitiform moles. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 21, p.153-60, 2011.
86. SHU, H.; CHEN, H.; YANG, B.; Aberrant expression of E-cadherin and integrin  $\beta$  -1 in trophoblasts is associated with malignant gestational trophoblastic diseases. *Int. J. Gynecol.Cancer* , v.23, 749-54, 2013.
87. SITA-LUMSDEN, A.; SHORT, D.; LINDSAY, I.; SEBIRE, N.; ADJOGATSE, D.; SECKL, M.; Treatment outcomes for 618 women with gestational trophoblastic tumors following a molar pregnancy at the Charing Cross Hospital, 2000–2009. *Br. J Cancer.* v.107, n.11, p.1810-4, 2012.
88. SMITH, HO; Gestational trophoblastic disease epidemiology and trends. *clinic obstet. Gynecol.* v.46, n.3, p.541-56, 2003.

89. SMITH, HO; KOHORN, E.; COLE, LA; Choriocarcinoma and gestational trophoblastic disease. *obstet. Gynecol. clinic North. Am.* v.32, n.4, p.661, 2005.
90. SOARES, PD; MAESTA, I.; COSTA, OL; CHARRY, RC; DIAS, A.; RUDGE, MV; Geographical distribution and demographic characteristics of gestational trophoblastic disease. *J. Playback . Med.* v.55, n.7-8, p.305-10, 2010.
91. SZULMAN, A.; SURTI, U.; The syndromes of hydatidiform mole. I. Cytogenetic and morphologic correlations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.131, p.665-71, 1978.
92. SZULMAN, AE; SURTI, U.; The syndromes of partial and complete molar gestations. *clinic obstet. Gynecol.* v.27, p.172-180, 1984.
93. TAMUSSINO, KF; et al. Pretreatment hemoglobin , platelet count, and prognosis in endometrial carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, v.11, p.236-40, 2001.
94. TOPCU, HO; et al. Comparison of Neutrophil /Lymphocyte and Platelet/Lymphocyte ratios for predicting malignant potential of suspicious ovarian masses in gynecology practice. *Asian Pac J Cancer Prev* , v.15, p.6239-6241, 2014.
95. UBERTI, EM; DIESTEL, MDCF; GUIMARAES, FE; GOLOUBKOVA, T.; ROSA, MW; DE NAPOLI, G.; Gestational trophoblastic disease: one more risk in adolescent pregnancy. *Minutes obstet. Gynecol. scand.* v.81, n.4, p.356-63, 2002.
96. UNAL, D.; EROGLU, C.; KURTUL, N.; OGUZ, A.; TASDEMIR, A.; Are neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte rates in patients with non-small cell lung cancer associated with treatment response and prognosis? *Asian Pac. J Cancer. Prev* , v.14, p.5237-42. 2013
97. VASSILAKOS, P.; RIOTTON, G.; KAJII, T.; Hydatidiform mole: two entities. A morphologic and cytogenetic study with some clinical consideration. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.127, n.2, p.167-70, 1977.
98. Wu, Y.; et al. Neutrophils promote motility of cancer cells via a hyaluronan-mediated TLR4/PI3K activation loop. *J. Pathol .*, v.225, p.438-47, 2011.
99. YOON, NB; SON, C.; UM, SJ; Role of the neutrophil-lymphocyte count ratio in the differential diagnosis between pulmonary tuberculosis and bacterial community-acquired pneumonia. *Ann. Lab. Med.*, v.33, p.105-10. 2013
100. YUCEL, B.; BABACAN, NA; KACAN, T.; et al. Survival analysis and prognostic factors for neuroendocrine tumors in Turkey. *asian. Pac. J. Cancer Prev.*, v.14, p.6687-92, 2013.
101. ZHANG, Z.; XU, Q.; SHI, C.; LI, Y.; Interleukin-12 inhibits cell invasion in choriocarcinoma. *Int. J. Mol. Med.*, 30, p.57-62, 2012.
102. BELFORT, P .; BRAGA, A.; Recurrent gestational trophoblastic disease . *Rev. Bras. Gynecology. Obstet.*, v.25, n.1, p.61-66, 2003



MATERNIDADE ESCOLA DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** O PAPEL PREDITIVO DA RAZÃO PLAQUETAS/LINFÓCITOS E RAZÃO NEUTRÓFILOS/LINFÓCITOS PARA EVOLUÇÃO DE NEOPLASIA NA DOENÇA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL

**Pesquisador:** Berenice Noguera Torres Timbó

**Área Temática:** Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):  
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 1

**CAAE:** 49462315.0.0000.5275

**Instituição Proponente:** Maternidade-Escola da UFRJ

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.244.337

#### **Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de pesquisa de Mestrado Profissional em saúde perinatal da Maternidade Escola da UFRJ e possui como proposta de desenho de estudo ser observacional transversal. Pretende ser realizado através pesquisa de dados retrospectivos nos prontuários de pacientes com diagnóstico histopatológico de mola hidatiforme que evoluíram para remissão e outras que evoluíram para neoplasia trofoblástica gestacional. Os casos serão obtidos através do setor de anatomia patológica e do ambulatório de seguimento de doença trofoblástica gestacional da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro e do Hospital Antônio Pedro da UFF. O critério de inclusão são aquelas que tiverem seguimento completo após o evento da aspiração. Serão anotados em formulário definido pelos pesquisadores os dados do hemograma prévio ao procedimento, betaHCG, sintomas clínicos e desfecho para comparação.

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br



MATERNIDADE ESCOLA DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



Continuação do Parecer: 1.244.337

### **Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Avaliar a correlação entre a razão neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos nas pacientes com mola hidatiforme e a progressão para neoplasia trofoblástica gestacional.

Objetivo Secundário:

Avaliar a correlação entre a razão neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos nas pacientes com mola hidatiforme e: sintomas clínicos, histopatologia(mola parcial ou completa), nível inicial de betaHCG, neoplasia metastática e neoplasia de alto risco.

### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

O acesso à análise dos dados será feito apenas pelos pesquisadores envolvidos no projeto que se comprometerão com assinatura de termo de confidencialidade. Os resultados serão tornados públicos sejam eles favoráveis ou não, de certa forma podendo sugerir que sejam feitas modificações no protocolo de acompanhamento das pacientes. Este estudo não apresenta risco direto às pacientes por se tratar de uma pesquisa com análise retrospectiva.

Benefícios:

O estudo da hipótese aventada de um valor preditivo de exames laboratoriais realizados antes da intervenção operatória nas pacientes com mola hidatiforme pode levar a sugerir novos protocolos de seguimento a serem testados e ainda propostas terapêuticas precoces profiláticas.

### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante e factível.

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

Presentes e bem elaborados.

### **Recomendações:**

Enviar relatório da pesquisa a cada 6 meses para este CEP.

### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não se aplica.

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br



MATERNIDADE ESCOLA DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



Continuação do Parecer: 1.244.337

**Considerações Finais a critério do CEP:**

- 1) De acordo com a Resolução CNS n.º 466/12, o pesquisador deverá apresentar relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa).
- 2) Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa, ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_BERENICE_PBR ASIL.pdf	15/09/2015 19:34:52	Berenice Nogueira Torres Timbó	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_BERENICE_PBRASIL.pdf	15/09/2015 21:21:14	Berenice Nogueira Torres Timbó	Aceito
Outros	TERMODECONFIDENCIALIDADEESIGILO.pdf	15/09/2015 21:22:45	Berenice Nogueira Torres Timbó	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_541712.pdf	15/09/2015 21:46:33		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 25 de Setembro de 2015

---

**Assinado por:**  
**Ivo Basílio da Costa Júnior**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br



UFRJ - MATERNIDADE  
ESCOLA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** O PAPEL PREDITIVO DA RAZÃO PLAQUETAS/LINFÓCITOS E RAZÃO NEUTRÓFILOS/LINFÓCITOS PARA EVOLUÇÃO DE NEOPLASIA NA DOENÇA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL

**Pesquisador:** Berenice Noguera Torres Timbó

**Área Temática:** Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):  
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

**Versão:** 2

**CAAE:** 49462315.0.0000.5275

**Instituição Proponente:** Maternidade-Escola da UFRJ

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.972.252

#### Apresentação do Projeto:

Ementa 1 do projeto "O PAPEL PREDITIVO DA RAZÃO PLAQUETAS/LINFÓCITOS E RAZÃO NEUTRÓFILOS/LINFÓCITOS PARA EVOLUÇÃO DE NEOPLASIA NA DOENÇA TROFOBLÁSTICA GESTACIONAL

para (1) troca do pesquisador principal, inclusão de membros na equipe e exclusão de participante da equipe; (2) consolidação de somente um centro participante, que é a Maternidade Escola, o outro centro - Hospital Antônio Pedro- não será mais participante; (3) alteração no desenho de estudo e ampliação do período do estudo; (4) inclusão de termo de confidencialidade de novo integrante da equipe de estudo e (5) atualização do cronograma do estudo.

Trata-se de estudo observacional transversal e retrospectivo. As pacientes suspeitas de MH submetidas a esvaziamento uterino são acompanhadas no ambulatório específico da unidade. Será feita revisão dos prontuários discriminados nas agendas de marcação. As

pacientes com diagnóstico histopatológico confirmado e com seguimento completo serão incluídas no estudo. Os dados serão coletados desta revisão de prontuários e as pacientes

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br



Continuação do Parecer: 3.972.252

separadas em 2 grupos: remissão espontânea e evolução para NTG. Para avaliar a influência da correlação entre os dados do hemograma e a ocorrência de NTG, os dados das pacientes com MH e remissão espontânea serão comparados aos dados das pacientes com MH com evolução para NTG.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Avaliar a correlação entre a razão neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos nas pacientes com mola hidatiforme e a progressão para neoplasia trofoblástica gestacional.

Objetivo Secundário:

Avaliar a correlação entre a razão neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos nas pacientes com mola hidatiforme e: sintomas clínicos, histopatologia (mola parcial ou completa), nível inicial de betaHCG, neoplasia metastática e neoplasia de alto risco.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O acesso à análise dos dados será feito apenas pelos pesquisadores envolvidos no projeto que se comprometerão com assinatura de termo de confidencialidade. O pesquisador afirma que o estudo não apresenta risco direto às pacientes por se tratar de pesquisa com análise retrospectiva.

No entanto, os pesquisadores não podem desconsiderar que segundo a resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 “ Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados”.

Quanto aos benefícios, os pesquisadores alegam que os resultados serão tornados públicos sejam eles favoráveis ou não, de certa forma podendo sugerir que sejam feitas modificações no protocolo de acompanhamento das pacientes. O estudo da hipótese aventada de um valor preditivo de exames laboratoriais realizados antes da intervenção operatória nas pacientes com mola hidatiforme pode levar a sugerir novos protocolos de seguimento a serem testados e ainda propostas terapêuticas precoces profiláticas.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante na geração de conhecimento e para a instituição que é referência na assistência ao público acometido por esta afecção

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br





Continuação do Parecer: 3.972.252

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

O estudo propõe dispensa do TCLE pois a avaliação será apenas dos dados descritos em prontuário, não haverá abordagem pessoal ou intervenção neste estudo. Será assinado pelos pesquisadores envolvidos na coleta de dados termo de confidencialidade e sigilo em relação aos dados do prontuário.

Cronograma não está atualizado no projeto.

Orçamento ok

**Recomendações:**

(1) Rever a hipótese de que pacientes admitidas com diagnóstico de suspeição de mola hidatiforme a ultrassonografia que apresentam valores elevados nestas relações terão maior chance de desenvolver neoplasia trofoblástica durante o seguimento. Pois se os critérios de inclusão são os casos com diagnóstico confirmado de gestação molar pelo histopatológico, não está claro a questão da suspeita ultrassonográfica, já que muitos casos suspeitos não serão sequer incluídos pois não terão confirmação histopatológica.

(2) Corrigir o desfecho primário do estudo que não é a hipótese do mesmo e sim a ocorrência da neoplasia trofoblástica gestacional

(3) Corrigir no projeto do estudo, a atualização do novo cronograma, pois a atualização somente consta no formulário da plataforma Brasil

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Atualizar cronograma no projeto

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1531280_E1.pdf	25/03/2020 16:37:06		Aceito
Outros	Emenda_2020.doc	25/03/2020 16:34:39	Antônio Rodrigues Braga Neto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Projeto_Predicao_Termo_de_Confidencialidade.doc	25/03/2020 16:34:27	Antônio Rodrigues Braga Neto	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	PROJETO_EMENDAS_MARCADAS.doc	25/03/2020 16:34:11	Antônio Rodrigues Braga Neto	Aceito

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br



UFRJ - MATERNIDADE  
ESCOLA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



Continuação do Parecer: 3.972.252

Investigador	PROJETO_EMENDAS_MARCADAS.doc	25/03/2020 16:34:11	Antônio Rodrigues Braga Neto	Aceito
Outros	TERMODECONFIDENCIALIDADEESIGILO.pdf	15/09/2015 21:22:45	Berenice Nogueira Torres Timbó	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_BERENICE_PBRASIL.pdf	15/09/2015 19:34:52	Berenice Nogueira Torres Timbó	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 15 de Abril de 2020

---

**Assinado por:**  
**Ivo Basílio da Costa Júnior**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rua das Laranjeiras, 180

**Bairro:** Laranjeiras

**CEP:** 22.240-003

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2556-9747

**Fax:** (21)2205-9064

**E-mail:** cep@me.ufrj.br

## RESEARCH ARTICLE

# Neutrophil/lymphocyte ratio and other blood cell component counts are not associated with the development of postmolar gestational trophoblastic neoplasia

Antonio Braga<sup>1,2,3,4\*</sup>, Ana Clara Canelas<sup>1</sup>, Berenice Torres<sup>1</sup>, Izildinha Maesta<sup>5</sup>, Luana Giongo Pedrotti<sup>6</sup>, Marina Bessel<sup>6</sup>, Ana Paula Vieira dos Santos Esteves<sup>1</sup>, Joffre Amim Junior<sup>1</sup>, Jorge Rezende Filho<sup>1</sup>, Kevin M. Elias<sup>7</sup>, Neil S. Horowitz<sup>7</sup>, Ross S. Berkowitz<sup>7</sup>

**1** Department of Obstetrics and Gynecology, Postgraduate Program in Perinatal Health, Faculty of Medicine, Maternity School of Rio de Janeiro Federal University, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **2** Department of Maternal Child Health, Postgraduate Program in Medical Sciences, Faculty of Medicine of Fluminense Federal University, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil, **3** National Academy of Medicine, Young Leadership Physicians Program, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **4** Postgraduate Program in Applied Health Sciences, Vassouras University, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **5** Department of Gynecology and Obstetrics, Botucatu Trophoblastic Disease Center of the Clinical Hospital of Botucatu Medical School, São Paulo State University - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil, **6** Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, **7** Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, New England Trophoblastic Disease Center, Division of Gynecologic Oncology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, United States of America

\* [antonio.braga@ufrj.br](mailto:antonio.braga@ufrj.br)



## OPEN ACCESS

**Citation:** Braga A, Canelas AC, Torres B, Maesta I, Giongo Pedrotti L, Bessel M, et al. (2022) Neutrophil/lymphocyte ratio and other blood cell component counts are not associated with the development of postmolar gestational trophoblastic neoplasia. PLoS ONE 17(12): e0277892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892>

**Editor:** Roberto Magalhães Saraiva, Oswaldo Cruz Foundation, BRAZIL

**Received:** August 22, 2022

**Accepted:** November 6, 2022

**Published:** December 1, 2022

**Peer Review History:** PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892>

**Copyright:** © 2022 Braga et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** Due to ethical issues related to the public disclosure of a database of a

## Abstract

### Objective

To relate preevacuation platelet count and leukogram findings, especially neutrophil/lymphocyte ratios (NLR) and platelet/lymphocyte ratios with the occurrence of gestational trophoblastic neoplasia (GTN) after complete hydatidiform mole (CHM) among Brazilian women.

### Methods

Retrospective cohort study of patients with CHM followed at Rio de Janeiro Federal University, from January/2015-December/2020. Before molar evacuation, all patients underwent a medical evaluation, complete blood count and hCG measurement, in addition to other routine preoperative tests. The primary outcome was the occurrence of postmolar GTN.

### Results

From 827 cases of CHM treated initially at the Reference Center, 696 (84.15%) had spontaneous remission and 131 (15.85%) developed postmolar GTN. Using optimal cut-offs from receiver operating characteristic curves and multivariable logistic regression adjusted for the possible confounding variables of age and preevacuation hCG level (already known to be associated with the development of GTN) we found that  $\geq 2$  medical complications at

disease that is not highly prevalent, coming from a delimited geographical area, with the potential to breach data confidentiality, even in the face of data de-identification, any data referring to the study “Neutrophil/lymphocyte ratio and other blood cell component counts are not associated with the development of postmolar gestational trophoblastic neoplasia” must be requested directly from the Research Ethics Committee of the Maternity School of Rio de Janeiro Federal University, with due justification analyzed by this institutional review board, in order to preserve the interests of research participants, following compliance with research standards in Brazil (CNS/ CONEP/CEP 466/2012). The Research Ethics Committee of the Maternity School of Rio de Janeiro Federal University can be contacted directly through the institutional email, [cep@me.ufrj.br](mailto:cep@me.ufrj.br), or directly by phone, 55.21.2285-7935.

**Funding:** This research was supported by the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (AB: 311862/2020-9), Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of the State of Rio de Janeiro – FAPERJ (AB: E-26/201.166/2022), Donald P. Goldstein MD Trophoblastic Tumor Registry Endowment (KME, NH, RSB), the Dyett Family Trophoblastic Disease Research and Registry Endowment (KME, NH, RSB) and Keith Higgins and the Andrea S. Higgins Research Fund (KME, NH, RSB). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

presentation (aOR: 1.96, CI 95%: 1.29–2.98,  $p < 0.001$ ) and preevacuation hCG  $\geq 100,000$  IU/L (aOR: 2.16, CI 95%: 1.32–3.52,  $p < 0.001$ ) were significantly associated with postmolar GTN after CHM. However, no blood count profile findings were able to predict progression from CHM to GTN.

## Conclusion

Although blood count is a widely available test, being a low-cost test and mandatory before molar evacuation, and prognostic for outcome in other neoplasms, its findings were not able to predict the occurrence of GTN after CHM. In contrast, the occurrence of medical complications at presentation and higher preevacuation hCG levels were significantly associated with postmolar GTN and may be useful to guide individualized clinical decisions in postmolar follow-up and treatment of these patients.

## Introduction

Hydatidiform mole (HM) is the most common form of gestational trophoblastic disease (GTD) and represents its benign spectrum [1]. It results from an abnormal fertilization, which presents as either of two clinical forms, complete (CHM) and partial hydatidiform mole (PHM), which differ from each other by their cytogenetic, histological, clinical and prognostic profile [2].

PHM originates from a diandric triploidy, with rare atypical villi, and a generally mild clinical presentation, which can progress to postmolar gestational trophoblastic neoplasia (GTN) in about 1–5% of cases. CHM, on the other hand, results from a diandric diploidy, exhibiting marked trophoblastic hyperplasia, exuberant clinical presentation and progression to postmolar GTN in about 15–20% of cases [1–4].

GTN is highly curable, even in multimetastatic disease, due to multiagent chemotherapy that, despite early and late toxicity, promotes disease remission [5, 6]. Patients with CHM who are carefully followed with human chorionic gonadotropin (hCG) monitoring are generally diagnosed with low-risk GTN and achieve high remission rates with single agent chemotherapy with low morbidity [7, 8].

The prediction of postmolar GTN has made only limited progress. The prior established prognostic parameters have failed to be highly predictive of the occurrence of postmolar GTN, such as the presence of medical complications and the trophoblast pathology [9]. Promising methods such as evaluation of ploidy, markers of cell proliferation and apoptosis [10, 11], oncogene expression [12] and analysis of circulating micro ribonucleic acid (RNA) [13], are complex and often unavailable in clinical practice, especially in developing countries, where there is a higher incidence of HM. Knowing which patients are at high risk of developing postmolar GTN and employing strict postmolar follow-up may facilitate early diagnosis of GTN. Furthermore, identifying patients with minimal probability of developing postmolar GTN may allow shorter hCG follow-up, particularly after hCG normalization, with a consequent decrease in patients lost to follow-up, patients’ anxiety and the costs of prolonged hormonal surveillance.

Neutrophil/lymphocyte ratios (NLR) and platelet/lymphocyte ratios (PLR) have been associated with prognosis for many different non-malignant and malignant diseases, including gynecological tumors, suggesting these hematological findings of inflammation and oxidative

stress in peripheral blood may be involved in disease pathogenesis and may serve as a prognostic marker as well [14, 15]. However, the studies are heterogeneous and present controversial results. Moreover, the data for the assessment of these parameters in the prognosis of HM are scarce and come from series with few cases evaluated [16–18].

This study evaluates the potential relationship between the blood count results, especially the NLR, and the occurrence of postmolar GTN among Brazilian women. Our results are particularly important because of the need for simple prognostic variables that might be obtained from complete blood cell counts that are systematically requested before molar evacuation and are widely available in clinical practice, even in countries with limited health resources.

## Material and methods

### Study design

This is a retrospective historical cohorts study of patients with HM followed at the Rio de Janeiro Trophoblastic Disease Center—Maternity School of Rio de Janeiro Federal University (Rio de Janeiro—RJ, Brazil, data entered by ACC and BT and audited by AB), from January 1<sup>st</sup> 2015 to December 31<sup>st</sup> 2020. This study was approved by the local Institutional Review Board associated with the Brazilian Research Ethics Committee of the Maternity School of the Rio de Janeiro Federal University (CAAE 49462315.0.0000.5275, opinion number 1.244.337 of September 25<sup>th</sup>, 2015 and 3.972.252 of April 15<sup>th</sup>, 2020 –amendment). The study was done with anonymized patient records, so the Ethics Committees waived the need for obtaining individual informed consent.

### Study participants

The participants in this study were women who underwent molar evacuation at the Rio de Janeiro GTD Reference Center (CR) [19] and diagnosed with CHM, confirmed by histopathology [20]. We decided to evaluate only the cases of CHM because, in addition to being epidemiologically more frequent in our sample more reliably diagnosed than PHM, CHM have a higher occurrence of postmolar GTN, providing a more appropriate correlation with the primary outcome of this study.

All patients included in this study were followed to six months after hCG normalization or until the diagnosis of postmolar GTN. Hormonal contraception was advised during all follow-up [21]. Patients with histopathological diagnosis of PHM or twin molar pregnancy, those who became pregnant or were lost to follow-up were excluded from this study.

To obtain the complete blood count, no fasting was required. In all patients, the blood test was collected within 6 hours before surgery. The blood collection area was sanitized with cotton and alcohol. An elastic band was attached above the area to be punctured, so that the vein could be clearly seen. A fine needle was inserted into the vein and a total of 2 mL venous blood sample was collected from each patient. All blood samples were placed in tripotassium ethylene diamine tetraacetic acid anticoagulation tubes. All measurements were analyzed using a Pentra ES 60 (Horiba Medical, Montpellier, France) within 30 minutes after blood collection. White blood cell count, platelet count, neutrophil count, lymphocyte count (as well as band neutrophils and segmented neutrophils) were obtained directly from the blood analyzer, while NLR and PLR were obtained by dividing neutrophil count or platelet count by lymphocyte count, respectively. Similarly, during the entire cohort study, we used the Siemens Diagnostic Products Corporation Immulite<sup>®</sup> assay to measure hCG, with the reference value for normal serum hCG results below 5 IU/L.

## Outcome

The primary outcome evaluated was the occurrence of postmolar GTN. The secondary outcomes evaluated were the occurrence of medical complications, high preevacuation hCG levels and the presence of abnormalities in blood count parameters among patients with CHM, before molar evacuation.

## Variables

The following population variables were studied: age (in years), number of gestations, births and abortions of the patient.

Clinical and biochemical variables evaluated included: gestational age at diagnosis (in weeks), largest uterine diameter (in millimeters, evaluated by pelvic-transvaginal ultrasound), preevacuation hCG serum level (in IU/L), occurrence of medical symptoms at presentation (%): hemorrhage, enlarged uterus for gestational age (defined as a uterus measuring at least 4 cm more than expected for gestational age), theca lutein cysts larger than 6 cm (measured by pelvic-transvaginal ultrasound); early-onset pre-eclampsia (blood pressure of 140mmHg or greater for systolic pressure or 90mmHg or greater for diastolic pressure, on two occasions at least 4 hours apart in a previously normotensive patient, in the presence of proteinuria of 300mg or more in 24 hours or on the presence of headache, visual turbidity, abdominal pain or altered laboratory tests, such as platelets  $<100,000/\text{mm}^3$ , hepatic enzyme elevation more than double the basal level, serum creatinine  $>1.1\text{mg/dL}$  or double the baseline, or pulmonary edema and visual or brain disorders such as headache, scotomas, or convulsions) and hyperemesis (presence of five or more episodes of vomiting per day, with or without metabolic alterations) [22].

Time to remission (in weeks) was defined as the period between the molar evacuation and the third hCG measurement of under 5 IU/L. We used the criteria established by Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) and European Society for Medical Oncology for postmolar GTN diagnosis: rising (more than 10%) hCG levels for three consecutive weeks or plateaued for four weeks, a histological diagnosis of choriocarcinoma or metastases detected during post-molar follow-up, particularly in the lungs and pelvis [23, 24].

## Statistical analysis

We calculated a minimal sample size to detect mean differences in NLR between postmolar GTN and spontaneous remission among Brazilian women with CHM, considering a power of 80%, a significance level of 5% and a standard deviation in NLR of 1.93 for the control group and a standard deviation of 1.94 for the treatment group, and a minimum difference to detect of 0.40. Considering the calculation of the minimum number of patients to be included in this study, to ensure the power of its conclusions, we required a sample size of at least 736 subjects.

Categorical variables were described as absolute and relative frequencies, while continuous variables as medians and interquartile ranges. To compare proportions, a Chi-square test was used and the Mann-Whitney U test was used to compare continuous variables.

The optimal cut-points for leukogram variables were estimated by the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve by minimizing the Euclidean distance between the curve and the point (0,1) in the ROC space. For each of the evaluated laboratory markers, their sensitivity (Se), specificity (Sp), positive (PPV) and negative predictive value (NPV) for the occurrence of the outcome of interest were calculated.

For outcomes of interest, crude and age/hCG-adjusted odds ratios (aOR) with 95% confidence intervals (CI) were calculated using the Wald test for logistic regression. The estimated

optimal cut-points were categorized and used as predictors in their respective logistic regression.

The analyses were carried out using SAS software, version 9.4 and the R software, version 4.1.3, was performed for graphics. All analyses considered a significance level of 0.05.

## Results

[Fig 1](#) is a flow diagram summarizing the derivation of the study population. From January 2015 to December 2020, 1,685 patients with HM were followed at Rio de Janeiro GTD RC. Among these, 1,298 underwent uterine evacuation at the RC. After excluding cases of PHM (394 patients), twin molar pregnancy (13 patients), those who got pregnant (5 patients) or were lost to postmolar follow-up (59 patients), the final study population comprised 827 cases of CHM. Among these, 696 (84.15%) had spontaneous remission and 131 (15.85%) developed postmolar GTN.

The clinical characteristics of the study cohort are presented in [Table 1](#). We observed that cases of CHM with advanced maternal age (33 versus 26 years,  $p < 0.001$ ), larger uterine diameter (110 versus 104mm,  $p = 0.042$ ) and with hemorrhage (67.18% versus 41.67%,  $p < 0.001$ ) and enlarged uterus for gestational age (42.75% versus 28.59%,  $p = 0.001$ ) as medical symptoms at presentation were associated with the development of postmolar GTN, and therefore longer time to remission (14 versus 9 weeks,  $p < 0.001$ ) when compared to patients who had spontaneous remission, respectively.

[Table 2](#) shows that the difference in platelet count (257,500 versus 258,000mm<sup>3</sup>,  $p = 0.803$ ) and leukogram assessment, especially NLR (2.79 versus 2.64,  $p = 0.307$ ) or PLR (129.26 versus 123.75,  $p = 0.610$ ), were not associated with the occurrence of postmolar GTN, with the exception of the preevacuation hCG level (235.497 IU/L versus 154,409 IU/L,  $p < 0.001$ ) when compared to patients who had spontaneous remission, respectively.

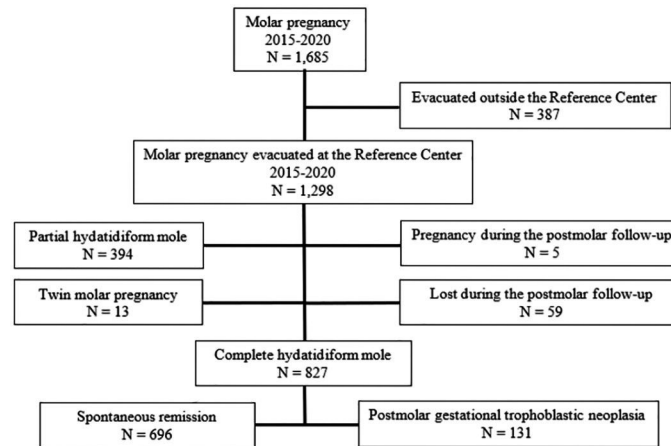
To obtain the optimal cut-off among the different laboratory markers studied in the complete blood count, ROC curves for the occurrence of postmolar GTN were studied as shows in [Fig 2](#). [Table 3](#) present data, for each of these laboratory markers, including the area under the curve, its Se, Sp, PPV and NPV for the occurrence of the outcome evaluated. Platelet count and band neutrophils had the highest PPV (0.85 and 0.84), albeit with modest sensitivity (0.55 and 0.49) and specificity (0.49 and 0.52), respectively.

Using these optimal cut-offs from the ROC curves in multivariable logistic regression, adjusted for possible confounding variables of age and preevacuation hCG level, already known to be associated with the development of GTN, [Table 4](#) shows that only the occurrence of  $\geq 2$  medical complications at presentation (aOR: 1.96, CI 95%: 1.29–2.98,  $p = 0.001$ ) and preevacuation hCG  $\geq 100,000$  IU/L (aOR: 2.16, CI 95%: 1.32–3.52,  $p = 0.002$ ) were able to predict the occurrence of postmolar GTN. None of the complete blood count parameters nor their ratios were prognostic.

## Discussion

While the occurrence of at least two medical complications at presentation and higher hCG preevacuation levels were associated with an increased chance of developing GTN during postmolar follow-up, none of the blood count parameters obtained before molar evacuation, notably platelet count, NLR or PLR, were able to predict the occurrence of postmolar GTN in the CHM population studied.

The intricate molecular mechanisms involved in the progression of CHM into GTN are not fully understood. It is noteworthy that our data reinforce the perception that the early diagnosis of CHM, while making the clinical presentation of this disease milder [25], does



**Fig 1. Flow diagram summarizing the derivation of the study population.**

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.g001>

not have a protective effect against the occurrence of postmolar GTN [26]. This suggests that the propensity to develop GTN may already be present in the trophoblast tissue even before uterine evacuation. The presence of medical complications at presentation and the preevacuation hCG level have been classically associated with this outcome [1]. This study adds to the prior knowledge in the field by showing that the findings of the hemogram performed before molar evacuation, evaluated by optimal cut-off points, obtained by ROC curves, and adjusted for confounding variables, were not significantly associated with the development of postmolar GTN, as suggested by previous, smaller studies.

**Table 1. Clinical characteristics of patients with complete hydatidiform mole associated with spontaneous remission or progression to gestational trophoblastic neoplasia.**

Variables	HM <sup>a</sup> with SR <sup>b</sup> (N = 696)	HM <sup>a</sup> with progression to GTN <sup>c</sup> (N = 131)	p-value <sup>*</sup>
Age (years) <sup>#</sup>	26 (20–34)	33 (24–41)	< 0.001
Gestation <sup>#</sup>	2 (1–3)	2 (1–3)	0.726
Parity <sup>#</sup>	0 (0–1)	1 (0–1)	0.236
Abortion <sup>#</sup>	0 (0–1)	0 (0–1)	0.605
Gestational age at diagnosis (weeks) <sup>#</sup>	11 (9–14)	10 (9–13)	0.099
Largest uterine diameter (millimeter) <sup>#</sup>	104 (82–123)	110 (82–140)	0.042
Medical symptoms at presentation (%)			
Hemorrhage	290 (41.67)	88 (67.18)	< 0.001
Enlarged uterus for gestational age	199 (28.59)	56 (42.75)	0.001
Theca lutein cysts	37 (5.32)	13 (9.92)	0.042
Preeclampsia	23 (3.30)	5 (3.82)	0.766
Hyperemesis	157 (22.56)	35 (26.72)	0.301
Time to remission (weeks) <sup>#</sup>	9.00 (6.00–9.71)	14.00 (10.00–19.00)	< 0.001

<sup>#</sup> Median and interquartile range.

<sup>\*</sup> Chi-square or Mann-Whitney tests.

<sup>a</sup>. CHM. Complete hydatidiform mole.

<sup>b</sup>. SR. Spontaneous remission.

<sup>c</sup>. GTN. Gestational trophoblastic neoplasia.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.t001>



**Table 2. Laboratory findings of patients with complete hydatidiform mole associated with spontaneous remission or progression to gestational trophoblastic neoplasia.**

Variables <sup>#</sup>	HM <sup>a</sup> with SR <sup>b</sup>	HM <sup>a</sup> with progression to GTN <sup>c</sup>	p-value <sup>*</sup>
hCG <sup>d</sup> preevacuation (IU/L)	154,409 (67,531–310,160)	235,497 (110,034–671,275)	< 0.001
Platelets (mm <sup>3</sup> )	258,000 (214,000–299,000)	257,500 (212,000–303,000)	0.803
Leukogram			
White blood count (mm <sup>3</sup> )	7,478 (6,120–9,450)	7,557 (6,080–9,476)	0.862
Lymphocyte (mm <sup>3</sup> )	2,046 (1,620–2,541)	1,980 (1,550–2,520)	0.535
Neutrophil (mm <sup>3</sup> )	5,463 (4,148–7,052)	5,613 (4,290–7,100)	0.684
Band neutrophils (mm <sup>3</sup> )	160 (82–292)	156 (91–300)	0.750
Segmented neutrophils (mm <sup>3</sup> )	5,340 (4,080–6,825)	5,373 (4,212–6,920)	0.741
Ratio neutrophil/lymphocyte	2.64 (2.03–3.63)	2.79 (2.19–3.61)	0.307
Ratio platelets/lymphocyte	123.75 (97.81–161.80)	129.26 (98.02–165.14)	0.610

<sup>#</sup> Median and interquartile range.

<sup>\*</sup> Mann-Whitney test.

<sup>a</sup>. HM. Hydatidiform mole.

<sup>b</sup>. SR. Spontaneous remission.

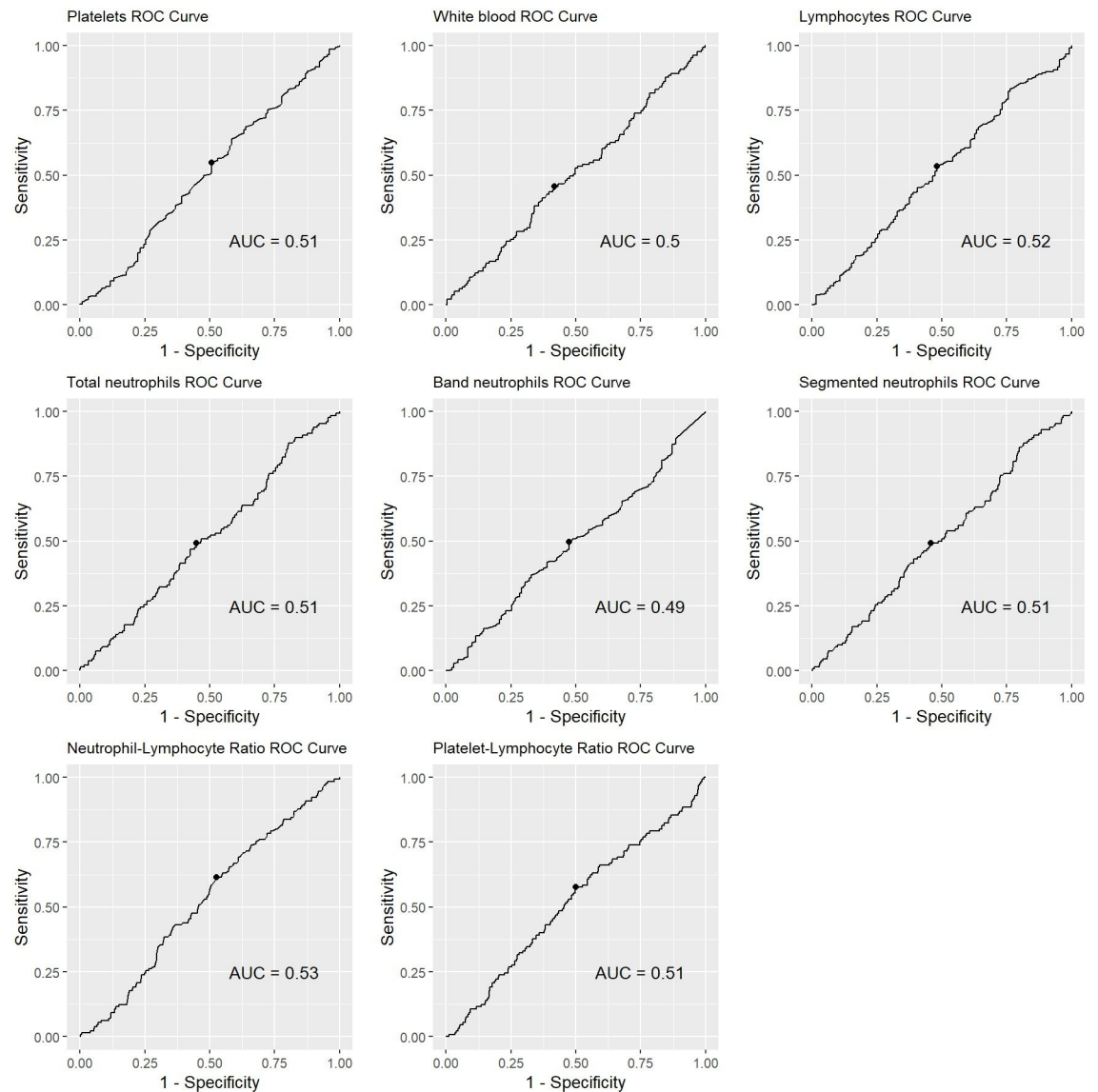
<sup>c</sup>. GTN. Gestational trophoblastic neoplasia.

<sup>d</sup>. hCG. Human chorionic gonadotropin.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.t002>

Although most studies that evaluate the laboratory findings of the complete blood count compare patients with HM and a control formed by non-pregnant [27], healthy pregnancies [28] or even with cases of abortion [29, 30], three studies were identified that evaluated these findings among HM patients with spontaneous remission or that developed postmolar GTN. Guzel et al. found an association between NLR and the occurrence of postmolar GTN, but with values more than three times higher than we reported in the current study (8.96 versus 2.58, respectively) [18]. This may have occurred because these authors evaluated only 8 patients with postmolar GTN, a number 100 times lower than ours. The same limitation is present in the study by Yayla et al. who, when comparing 13 cases of postmolar GTN, found significantly lower levels in the PLR of patients who developed GTN [19]. Verit, reported that the platelet count was significant lower in patients who would develop postmolar GTN [20]. However, in addition to not comparing the platelets count obtained by the optimal cut-off point from ROC curves, the results of these three studies were not adjusted for confounding variables, in a multivariable logistic regression, as here. This is essential to exclude the influence of other variables on the results found. It is worth noting, for example, that, although discrete, the decrease in lymphocyte and platelet counts is expected with age, which, inversely, increases the occurrence of postmolar GTN, showing the importance of eliminating the effect of these confounders in this study.

Generally, cancer has many common features with infectious or inflammatory responses to trauma such as immune activation, acute phase response and systemic inflammation [16]. In this context, numerous studies have shown an association between high levels of NLR and tumor outcomes, making this marker frequently included in the prognostic evaluation of several solid tumors [31]. However, an extensive review of 204 meta-analyses of observational studies found that in only 60 meta-analyses (29%) an elevated NLR finding was, in fact, significantly associated with tumor prognosis. Furthermore, that paper also drew attention to the great heterogeneity of the studies evaluated, many with small sample sizes, generating small study effect biases, which need to be considered [32]. Another point is that many of the associations between blood count findings and oncologic prognosis come from observational studies



**Fig 2. Receiver operating characteristic curve demonstrating area under curve of white blood count, lymphocytes, platelets count, total neutrophils, band neutrophils, segmented neutrophils, neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio for the occurrence of gestational trophoblastic neoplasia among patients with complete hydatidiform mole.**

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.g002>

in which results that lie between OR 0.33 and 3 are considered significant, in which there is a risk of large bias potentially leading to spurious associations [33], demanding caution in the interpretation of these results.

Although the NLR and other blood cell component counts were unable to predict the cases of CHM that will develop postmolar GTN, it would be important to evaluate these markers in cases of postmolar GTN, in order to assess whether there is a relationship between these findings and the occurrence of chemoresistance, high risk disease, number of chemotherapy cycles to remission and time to remission, and survival rate or recurrence. Perhaps, studying established neoplasia (GTN), instead of pre-malignant disease (CHM) can provide better prognostic parameters. Although new modern technologies such as microRNA have shown promising

**Table 3. Predictive variables of the occurrence of gestational trophoblastic neoplasia among patients with complete hydatidiform mole obtained by receiver operating characteristic curves.**

Variables	Area under curve	Optimal cut off	Se <sup>a</sup>	Sp <sup>b</sup>	PPV <sup>c</sup>	NPV <sup>d</sup>
Platelets (mm <sup>3</sup> )	0.51	253,000	0.55	0.49	0.85	0.17
Leukogram						
White blood count (mm <sup>3</sup> )	0.50	8,010	0.46	0.58	0.17	0.85
Lymphocyte (mm <sup>3</sup> )	0.52	1,998	0.53	0.52	0.85	0.17
Neutrophil (mm <sup>3</sup> )	0.51	5,720	0.49	0.55	0.17	0.85
Band neutrophils (mm <sup>3</sup> )	0.49	162	0.49	0.52	0.84	0.16
Segmented neutrophils (mm <sup>3</sup> )	0.51	5,544	0.49	0.54	0.17	0.85
Neutrophil/lymphocyte ratio	0.53	2.55	0.61	0.47	0.18	0.86
Platelets/lymphocyte ratio	0.51	123.75	0.57	0.50	0.18	0.86

<sup>a</sup>. Se. Sensitivity.

<sup>b</sup>. Sp. Specificity.

<sup>c</sup>. PPV. Predictive positive value.

<sup>d</sup>. NPV. Negative predictive value.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.t003>

results in predicting the prognosis of CHM, their cost and availability limit their clinical use [13], which contrasts with NLR and other blood cell counts that are simple, inexpensive and widely available laboratory tests, which need to be further evaluated.

The greatest strength of our study was the use of an adequate statistical methodology that could identify the predictive factor of the outcome, excluding the effect of confounding variables. Furthermore, our study presented the largest series evaluating the potential relationship between the blood count in patients with hydatidiform mole in the literature, exceeding the minimum number of patients necessary to guarantee the power of its results. However, our

**Table 4. Logistic regression for prognostic factors associated with development of gestational trophoblastic neoplasia after complete hydatidiform mole.**

Variables	cOR <sup>a</sup> * (95% CI)	p-value	aOR <sup>b</sup> * (95% CI)	p-value
Gestational age > 10 weeks	0.72 (0.46–1.13)	0.150	0.76 (0.46–1.25)	0.275
Occurrence ≥ 2 medical complications <sup>#</sup>	2.22 (1.52–3.24)	<0.001	1.96 (1.29–2.98)	0.001
Preevacuation hCG <sup>c,d</sup> ≥ 100,000 IU/L	2.14 (1.32–3.48)	0.002	2.16 (1.32–3.52)	0.002
Platelets ≥ 253,000 mm <sup>3</sup>	0.85 (0.58–1.24)	0.397	0.93 (0.62–1.41)	0.742
Leukogram				
White blood count ≥ 8,010 mm <sup>3</sup>	1.18 (0.81–1.72)	0.391	1.08 (0.71–1.64)	0.710
Lymphocyte ≥ 1,998 mm <sup>3</sup>	0.80 (0.55–1.17)	0.251	0.89 (0.59–1.35)	0.593
Neutrophil ≥ 5,720 mm <sup>3</sup>	1.20 (0.82–1.74)	0.349	1.08 (0.71–1.63)	0.717
Band neutrophils ≥ 162 mm <sup>3</sup>	0.91 (0.63–1.33)	0.628	0.92 (0.61–1.39)	0.686
Segmented neutrophils ≥ 5,544 mm <sup>3</sup>	1.15 (0.79–1.67)	0.477	1.03 (0.68–1.56)	0.875
Ratio neutrophil/lymphocyte ≥ 2.55	1.44 (0.98–2.12)	0.060	1.29 (0.85–1.96)	0.228
Ratio platelets/lymphocyte ≥ 123.75	1.36 (0.93–1.99)	0.108	1.49 (0.98–2.25)	0.061

\*. Wald test for logistic regression.

<sup>#</sup>. Medical complications: hemorrhage, enlarged uterus for gestational age, theca lutein cysts, preeclampsia or hyperemesis.

<sup>a</sup>. cOR. Crude odds ratio.

<sup>b</sup>. aOR. Adjusted odds ratio by age and hCG.

<sup>c</sup>. hCG. Human chorionic gonadotropin.

<sup>d</sup>. Adjusted odds ratio by age

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277892.t004>

study does have several limitations. The study is retrospective in nature and retrospective studies may potentially be prone to bias as records may be less complete and have less accurate record keeping. In addition, we only focused on the common parameters of the complete blood count and did not evaluate other hematologic variables such as red cell distribution width, mean corpuscular volume, or rare lymphocyte subsets.

In conclusion, even though the blood count results were not able to predict the progression of CHM into GTN, the occurrence of medical complications at presentation and higher preevacuation hCG levels were significantly associated with postmolar GTN and may be useful to guide individualized clinical decisions in post-molar follow-up and treatment of these patients. However, it would be helpful to identify an inexpensive and widely available laboratory prognostic markers to aid in the prediction of postmolar GTN.

## Author Contributions

**Conceptualization:** Antonio Braga, Ana Clara Canelas, Berenice Torres, Luana Giongo Pedrotti, Marina Bessel, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Data curation:** Antonio Braga, Ana Clara Canelas, Berenice Torres, Ana Paula Vieira dos Santos Esteves, Joffre Amim Junior, Jorge Rezende Filho.

**Formal analysis:** Antonio Braga, Marina Bessel, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Funding acquisition:** Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Investigation:** Antonio Braga, Ana Clara Canelas, Ana Paula Vieira dos Santos Esteves, Joffre Amim Junior, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Methodology:** Antonio Braga, Ana Clara Canelas, Berenice Torres, Luana Giongo Pedrotti, Marina Bessel, Ana Paula Vieira dos Santos Esteves, Joffre Amim Junior, Jorge Rezende Filho, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Project administration:** Antonio Braga, Ana Clara Canelas, Berenice Torres, Ana Paula Vieira dos Santos Esteves, Jorge Rezende Filho.

**Supervision:** Antonio Braga, Joffre Amim Junior, Jorge Rezende Filho.

**Validation:** Antonio Braga, Luana Giongo Pedrotti, Marina Bessel, Jorge Rezende Filho.

**Visualization:** Joffre Amim Junior, Ross S. Berkowitz.

**Writing – original draft:** Antonio Braga, Izildinha Maesta, Luana Giongo Pedrotti, Marina Bessel, Joffre Amim Junior, Jorge Rezende Filho, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

**Writing – review & editing:** Antonio Braga, Izildinha Maesta, Luana Giongo Pedrotti, Marina Bessel, Joffre Amim Junior, Jorge Rezende Filho, Kevin M. Elias, Neil S. Horowitz, Ross S. Berkowitz.

## References

1. Elias KM, Berkowitz RS, Horowitz NS. State-of-the-Art Workup and Initial Management of Newly Diagnosed Molar Pregnancy and Postmolar Gestational Trophoblastic Neoplasia. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019; 17(11):1396–1401. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.7364> PMID: 31693988
2. Lurain J. Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole. *Am J Obstet Gynecol*. 2010; 203(6):531–9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.06.073> PMID: 20728069

3. Braga A, Maesta I. Challenges of the treatment of patients with gestational trophoblastic disease. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012; 34(4):143–6.
4. Braga A, Uberti EMH, Fajardo MC, Viggiano M, Sun SY, Grillo M, et al. Epidemiological report on the treatment of patients with gestational trophoblastic disease in 10 Brazilian referral centers: results after 12 years since International FIGO 2000 Consensus. *J Reprod Med.* 2014; 59(5–6):241–7. PMID: [24937964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24937964/)
5. Lurain JR. Gestational trophoblastic disease II: classification and management of gestational trophoblastic neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204(1):11–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.06.072> PMID: [20739008](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20739008/)
6. Lok C, van Trommel N, Massuger L, Golfier F, Seckl M, Clinical Working Party of the EOTTD. Practical clinical guidelines of the EOTTD for treatment and referral of gestational trophoblastic disease. *Eur J Cancer.* 2020; 130:228–240. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.02.011> PMID: [32247260](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32247260/)
7. Freitas F., Braga A., Viggiano M., Velarde L.G.C., Maesta I., Uberti E. et al. Gestational trophoblastic neoplasia lethality among Brazilian women: A retrospective national cohort study. *Gynecol. Oncol.* 2020; 158(2),452–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.04.704> PMID: [32402634](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32402634/)
8. Dantas PRS, Maestá I, Cortés-Charry R, Growdon WB, Braga A, Rudge MVC, et al. Influence of hydatidiform mole follow-up setting on postmolar gestational trophoblastic neoplasia outcomes: a cohort study. *J Reprod Med.* 2012; 57(7–8):305–9. PMID: [22838246](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22838246/)
9. Genest DR, Laborde O, Berkowitz RS, Goldstein DP, Bernstein MR, Lage J. A clinicopathologic study of 153 cases of complete hydatidiform mole (1980–90) histologic grade lacks prognostic significance. *Obstet Gynecol.* 1991(3Pt1); 78:402–9.
10. van-de-Kaa CA, Schijf CP, de-Wilde PC, de Leeuw H, Gemmink JH, Robben JC, et al. Persistent gestational trophoblastic disease: DNA image cytometry and interphase cytogenetics have limited predictive value. *Mod Pathol.* 1996; 9(10):1007–14. PMID: [8902839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8902839/)
11. Braga A, Maestá I, Soares RR, Elias KM, Domingues MAC, Barbisan LF, et al. Apoptotic index for prediction of postmolar gestational trophoblastic neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215(3):336.e1–336.e12. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.04.010> PMID: [27094961](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27094961/)
12. Cheung ANY, Shen DH, Khoo US, Chiu MP, Tin VP, Chung LP, et al. Immunohistochemical and mutational analysis of p53 tumour suppressor gene in gestational trophoblastic disease—correlation with mdm2, proliferation index and clinicopathological parameters. *Int J Gynaecol Cancer.* 1999; 9(2):123–30. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1438.1999.09904.x> PMID: [11240753](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11240753/)
13. Lin LH, Maestá I, Laurent JD, Hasselblatt KT, Horowitz NS, Goldstein DP, et al. Distinct microRNA profiles for complete hydatidiform moles at risk of malignant progression. *Am J Obstet Gynecol.* 2021; 224(4):372.e1–372.e30. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.09.048> PMID: [33031755](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33031755/)
14. Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Lek Listy.* 2021; 122(7):474–488. [https://doi.org/10.4149/BLL\\_2021\\_078](https://doi.org/10.4149/BLL_2021_078) PMID: [34161115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34161115/)
15. Williams KA, Labidi-Galy SI, Terry KL, Vitonis AF, Welch WR, Goodman A, et al. Prognostic significance and predictors of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2014; 132(3):542–50. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.01.026> PMID: [24462730](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24462730/)
16. Guzel AI, Kokanali MK, Erkilinc S, Topcu HO, Oz M, Erkaya S, et al. Predictive role of the neutrophil lymphocyte ratio for invasion with gestational trophoblastic disease. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(10):4203–6. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.10.4203> PMID: [24935371](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24935371/)
17. Yayla CA, Özkaya E, Yenidede I, Eser A, Ergen EB, Tayyar AT, et al. Predictive value of some hematological parameters for non-invasive and invasive mole pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018; 31(3):271–277. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1281906> PMID: [28093002](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28093002/)
18. Verit FF. May platelet count be a predictor of low-risk persistent gestational trophoblastic disease? *Arch Gynecol Obstet.* 2011; 283(4):695–9. <https://doi.org/10.1007/s00404-010-1408-2> PMID: [20198486](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20198486/)
19. Padrón L, Rezende-Filho J, Amim-Junior J, Sun SY, Cortés-Charry R, Maestá I, et al. Manual Compared With Electric Vacuum Aspiration for Treatment of Molar Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2018; 131(4):652–659. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002522> PMID: [29528932](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29528932/)
20. Sebire NJ, Makrydimas G, Agnantis NJ, Zagorianakou N, Rees H, Fisher RA. Updated diagnostic criteria for partial and complete hydatidiform moles in early pregnancy. *Anticancer Res.* 2003; 23(2C):1723–8. PMID: [12820448](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12820448/)
21. Braga A, Maestá I, Short D, Savage P, Harvey R, Seckl MJ. Hormonal contraceptive use before hCG remission does not increase the risk of gestational trophoblastic neoplasia following complete hydatidiform mole: a historical database review. *BJOG.* 2016; 123(8):1330–5. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.13617> PMID: [26444183](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26444183/)
22. Braga A, Moraes V, Maestá I, Amim-Junior J, Rezende-Filho J, Elias K, et al. Changing Trends in the Clinical Presentation and Management of Complete Hydatidiform Mole Among Brazilian Women. *Int J*

- Gynecol Cancer. 2016; 26(5):984–90. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000682> PMID: 26905335
23. Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique Oncology Committee. FIGO staging for gestational trophoblastic neoplasia 2000. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 77(3):285–7. [https://doi.org/10.1016/s0020-7292\(02\)00063-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7292(02)00063-2)
  24. Seckl MJ, Sebire NJ, Fisher RA, Golfier F, Massuger L, Sessa C; ESMO Guidelines Working Group. Gestational trophoblastic disease: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013; 24 Suppl 6:vi39–50. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt345> PMID: 23999759
  25. Sun SY, Goldstein DP, Bernstein MR, Horowitz NS, Mattar R, et al. Maternal Near Miss According to World Health Organization Classification Among Women with a Hydatidiform Mole: Experience at the New England Trophoblastic Disease Center, 1994–2013. *J Reprod Med*. 2016; 61(5–6):210–4. PMID: 27424360
  26. Sun SY, Melamed A, Goldstein DP, Bernstein MR, Horowitz NS, et al. Changing presentation of complete hydatidiform mole at the New England Trophoblastic Disease Center over the past three decades: does early diagnosis alter risk for gestational trophoblastic neoplasia? *Gynecol Oncol*. 2015; 138(1):46–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.05.002> PMID: 25969351
  27. Zhang L, Xie Y, Xhan L. The potential value of red blood cell distribution width in patients with invasive hydatidiform mole. *J Clin Lab Anal*. 2019; 33(4):e22846. <https://doi.org/10.1002/jcla.22846> PMID: 30883924
  28. Eskicioglu F, Ulkumen BA, Calik E. Complete blood count parameters may have a role in diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Pak J Med Sci*. 2015; 31(3):667–71. <https://doi.org/10.12669/pjms.313.7109> PMID: 26150865
  29. Aiob A, Naskovica K, Zilberfarb IA, Sharn A, Bornstein J, et al. Complete blood count parameters, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and platelet-to-lymphocyte ratio in hydatidiform mole versus missed abortion. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2022; 43(2):175–82. <https://doi.org/10.31083/j.ejgo4302023>
  30. Karapınar OS, Şilfeler DB, Dolapçioğlu K, Kurt RK, Beyazıt A. The effect of molar pregnancies on platelet parameters. *J Obstet Gynaecol*. 2016; 36(7):912–915. <https://doi.org/10.1080/01443615.2016.1174823> PMID: 27183899
  31. Howard R, Kanetsky PA, Egan KM. Exploring the prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in cancer. *Sci Rep* 2019; 9(1):19673. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56218-z> PMID: 31873162
  32. Cupp MA, Cariolou M, Tzoulaki I, Aune D, Evangelou E, Berlanga-Taylor AJ. Neutrophil to lymphocyte ratio and cancer prognosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med*. 2020; 18(1):360. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01817-1> PMID: 33213430
  33. Grimes DA, Schulz KF. False alarms and pseudo-epidemics: the limitations of observational epidemiology. *Obstet Gynecol*. 2012; 120(4):920–7. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31826af61a> PMID: 22996110