

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MİDE KARSİNOMLARINDA PD-1 VE PD-L1
EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK PARAMETRELER VE
SAĞKALIMLA İLİŞKİSİ

Dr. Ahmet Faruk ARMAN

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Arzu ENSARİ

ANKARA

2017

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MİDE KARSİNOMLARINDA PD-1 VE PD-L1
EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK PARAMETRELER VE
SAĞKALIMLA İLİŞKİSİ

Dr. Ahmet Faruk ARMAN

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Arzu ENSARİ

ANKARA

2017

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

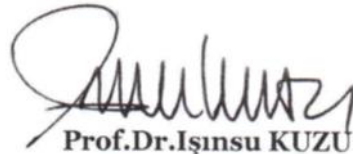
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Ahmet Faruk ARMAN	Sınav tarihi: 16 / 06 / 2017
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Arzu ENSARİ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER		
Tezin Başlığı: Mide Karsinomlarında PD-1 ve PD-L1 Ekspresyonunun Prognostik Parametreler ve Sağkalımla İlişkisi		
Tezin Niteliği:	<input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi	<input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	<input checked="" type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3

III. KARAR		
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak		
<input checked="" type="checkbox"/> Kabulüne		
<input type="checkbox"/> Reddine		
<input type="checkbox"/> Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine		
<input checked="" type="checkbox"/> Oy birliği	<input type="checkbox"/> Oy çokluğu	ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR		
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız		


Prof.Dr.Işın KUZU

Başkan

Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı


Prof.Dr.Arzu ENSARİ

Tez Danışmanı

Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı


Prof.Dr.Ayşe DURSUN

Jüri Üyesi

Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgmeden benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Arzu Ensari'ye, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkısı bulunan tüm hocalarım ve uzmanlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık dönemim boyunca, birlikte çalışmaktan son derece mutlu olduğum sevgili arkadaşlarım Seher Yüksel, Hilal Özakıncı, Ayşegül Şaşmaz Erol, Hale Kıvrak, Seda Aktürk, Fatma Altıntaş Güzel, Sonay Kuş Öztürk, Melahat Musayeva, Aslıhan Yavaş, Elif Öcal, Fadime Gül Salman, Dilara Akbulut İpek, Merve Temmuz Bostan, Nuray Aksoy, Merve Tural ve Elif Güler'e teşekkür ederim.

Arşiv materyallerine ulaşmamda yardımcı olan Alahattin Alptekin ve Yusuf Aslan'a, parafin blokların hazırlanması ve kesitlerin hazırlanmasında emeği bulunan Zeki Karabulut ve Cem Kaya'ya, immünohistokimya boyamaları sırasında yardımlarından ötürü immünohistokimya laboratuvarı sorumlularına ve tüm değerli patoloji ailesi çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca hayatım desteklerini yanımda hissettiğim sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr. Ahmet Faruk Arman

Ankara, 2017

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	iii
RESİMLER DİZİNİ.....	iv
TABLOLAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mide embriyolojisi, anatomi ve histolojisi	3
2.1.1. Embriyoloji	3
2.1.2. Genel Anatomik Özellikler	3
2.1.3. Kan Dolaşımı	4
2.1.4. Lenfatikler	4
2.1.5. İnervasyon.....	4
2.1.6. Histoloji	5
2.2. Mide Kanseri	7
2.2.1. Epidemiyoloji.....	7
2.2.2. Etyopatogenez.....	7
2.2.3. Makroskopik Özellikler	16
2.2.4. Tümör Yayılımı ve Evreleme	17
2.2.5. Histopatoloji.....	20
2.2.6. Prognoz ve Prediktif Faktörler.....	25
2.2.7. Moleküler Özellikler	26
2.2.8. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler.....	32

2.2.9. PD-1/PD-L1 İmmün Kontrol Noktası.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Olguların Seçimi.....	38
3.2. Doku “Array” Bloklarının Hazırlanışı	39
3.3. Doku “Array” Kesitlerinin TİL Değerlendirilmesi Açısından Doku “array” yönteminin validasyonu	41
3.4. İmmünohistokimyasal Boyama	41
3.5. İmmünohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi.....	41
3.6. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Olgular.....	43
4.2. İmmünohistokimyasal bulgular	47
4.2.1. PD-L1 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Parametrelerin İlişkisi	47
4.2.2. PD-1 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Parametrelerin İlişkisi	64
4.2.3. TİL ve Klinikopatolojik Parametreler.....	76
4.2.4. TİL ve PD-L1.....	85
4.2.5. TİL ve PD-1	88
4.3. Sağkalım ile İlgili Analizler	89
5. TARTIŞMA	93
6. SONUÇLAR	103
ÖZET.....	105
SUMMARY	106
KAYNAKLAR	107

KISALTMALAR

AID	: Aktivasyon ile uyarılan sitidin deaminaz
AJCC/UICC	: American Joint Committee on Cancer / The Union for International Cancer Control
APC	: Adenomatöz polipozis coli
CTLA-4	: Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EBV	: Epstein Barr virüs
ECL	: Enterokromafin benzeri
FAP	: Familial adenomatöz polipozis
GEJ	: Gastroözofageal bileşke
HDGC	: Herediter diffüz mide kanseri
HNPCC	: Herediter non-polipozis kolorektal kanser
İEN	: İntraepitelyal neoplazi
LVİ	: Lenfovasküler invazyon
MANEC	: Mikst adenonöroendokrin karsinom
MSİ	: Mikrosatellit instabil
MSS	: Mikrosatellit stabil
NF-κB	: Nuclear factor κB
PD-1	: Programmed death cell 1
PD-L1	: Programmed death cell ligand 1
PNİ	: Perinöral invazyon
TCGA	: The Cancer Genome Atlas
TİL	: Tümör infiltr eden lenfositler
TNF-α	: Tumornecrosis factor α

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Düşük (LG) ve yüksek dereceli (HG) displazi	13
Resim 2. Pilorik gland adenomu	15
Resim 3. Fundik gland polibi	16
Resim 4. Erken mide karsinomu	17
Resim 5. Histolojik tümör alttiplerine örnekler	22
Resim 6. Lenfoid infiltrasyon paternleri	38
Resim 7. Tümör büyüme paternleri	39
Resim 8. Doku "array" bloklarının hazırlanışı	40
Resim 9. DSÖ (2010) sınıflamasına göre histolojik alttipler	45
Resim 10. Stromal reaksiyon paternleri	46
Resim 11. İmmünohistokimyasal boyamalara örnekler	48
Resim 12. Olgularda izlenen TİL paternleri	77

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Mide karsinomlarında evreleme (AJCC/UICC)	20
Tablo 2. Mide epitelyal tümörlerinin DSÖ'ye (2010) göre sınıflaması	21
Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal antikorlar	41
Tablo 4. Cinsiyet gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları	50
Tablo 5. Tümör lokalizasyonuna göre olguların PD-L1 boyanma oranları	51
Tablo 6. Borrmann gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları	52
Tablo 7. T kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	53
Tablo 8. N kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	54
Tablo 9. M kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	55
Tablo 10. Evre gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları	56
Tablo 11. Histolojik tümör alttiplerine (DSÖ 2010) göre olguların PD-L1 boyanma oranları	58
Tablo 12. Stromal reaksiyon tipine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	59
Tablo 13. Tümör grade'ine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	60
Tablo 14. Tümör tomurcuklanması ve PD-L1 boyanma oranları	60
Tablo 15. Lenfovasküler invazyon ve PD-L1 boyanma oranları	61
Tablo 16. Perinöral invazyon ve PD-L1 boyanma oranları	62
Tablo 17. İnvazyon paternine göre olguların PD-L1 boyanma oranları	63
Tablo 18. H.pylori ve PD-L1 boyanma oranları	63
Tablo 19. Cinsiyet gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları	65
Tablo 20. Tümör lokalizasyonuna göre olguların PD-1 boyanma oranları	66
Tablo 21. Borrmann gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları	67
Tablo 22. T kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları	67
Tablo 23. N kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları	68
Tablo 24. M kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları	68
Tablo 25. Evre gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları	69
Tablo 26. Histolojik tümör alttiplerine (DSÖ 2010) göre olguların PD-1 boyanma oranları	71
Tablo 27. Stromal reaksiyon tipine göre olguların PD-1 boyanma oranları	72
Tablo 28. Tümör grade'ine göre olguların PD-1 boyanma oranları	72

Tablo 29. Tümör tomurcuklanması ve PD-1 boyanma oranları	73
Tablo 30. Lenfovasküler invazyon ve PD-1 boyanma oranları	74
Tablo 31. Perinöral invazyon ve PD-1 boyanma oranları.....	74
Tablo 32. İnvazyon paternine göre olguların PD-1 boyanma oranları.....	75
Tablo 33. H.pylori ve PD-1 boyanma oranları.....	75
Tablo 34. İntratümöral ve invazyon sınırında TİL varlığına göre yaş ortalamaları...	76
Tablo 35. Cinsiyet gruplarında TİL	78
Tablo 36. Tümör lokalizasyonu ve TİL	78
Tablo 37. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumuna göre ortalama tümör uzun çapı	79
Tablo 38. Borrmann gruplarında TİL.....	79
Tablo 39. T gruplarında TİL	80
Tablo 40. N gruplarında TİL.....	80
Tablo 41. M gruplarında TİL	80
Tablo 42. Evre gruplarında TİL	81
Tablo 43. Lauren gruplarında TİL	82
Tablo 44. Tümör grade'i ve TİL.....	82
Tablo 45. Tümör tomurcuklanması ve TİL.....	83
Tablo 46. Lenfovasküler invazyon ve TİL.....	83
Tablo 47. Perinöral invazyon ve TİL	84
Tablo 48. İnvazyon paterni ve TİL	84
Tablo 49. H.pylori ve intratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu	85
Tablo 50. PD-L1 ve ortalama stromal TİL yüzdeleri.....	86
Tablo 51. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu.....	86
Tablo 52. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu.....	87
Tablo 53. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile ortalama PD-L1 boyanma yüzdeleri	87
Tablo 54. PD-1 ve ortalama stromal TİL yüzdeleri	88
Tablo 55. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile immün hücrelerde PD-1 ekspresyonu	89

Tablo 56. İnatümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile ortalama PD-1 boyanma yüzdeleri	89
Tablo 57. Literatürde, çalışmalarda kullanılan antikolar	94
Tablo 58. Mide kanserlerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili literatür sonuçları.....	101



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Gastrik karsinogenez.....	13
Şekil 2. Mide kanseri moleküler sınıflaması.....	28
Şekil 3. Olguların cinsiyet dağılımı	43
Şekil 4. Olguların tümör lokalizasyonlarına göre dağılımı	43
Şekil 5. Olguların T, N kategorileri ve evre gruplarına göre dağılımı.....	44
Şekil 6. Olguların Lauren ve DSÖ histolojik alttiplerine göre dağılımı	44
Şekil 7. Lokalizasyona göre tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği.....	50
Şekil 8. Lokalizasyona göre immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği	50
Şekil 9. Evre gruplarında, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği	55
Şekil 10. DSÖ sınıflaması ve immün hücrelerde PD-L1	57
Şekil 11. Stromal reaksiyon paterni ve immün hücrelerde PD-L1	58
Şekil 12. Cinsiyet grupları ve PD-1	64
Şekil 13. Lokalizasyona göre PD-1 pozitifliği.....	65
Şekil 14. Evre grupları ve PD-1	69
Şekil 15. DSÖ sınıflaması ve PD-1	70
Şekil 16. Tümör tomurcuklanması ve PD-1.....	73
Şekil 17. İntratümöral ve invazyon sınırında TİL ve ortalama tümör uzun çapı	78
Şekil 18. Evre gruplarında TİL	81
Şekil 19. Lauren gruplarında TİL.....	81
Şekil 20. Lenfovasküler ve perinöral invazyon ve TİL.....	83
Şekil 21. İnvazyon paterni ve TİL	84
Şekil 22. Sağkalımla ilişkili klinikopatolojik parametreler.....	91
Şekil 23. İntratümöral veya invazyon sınırında TİL varlığı ile sağkalım ilişkisi.....	92
Şekil 24. PD-L1 ve PD-1 pozitifliği ile sağkalım ilişkisi.....	92

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide kanseri dünya genelinde akciğer, meme kanserleri, kolorektal kanserler ve prostat kanserlerinden sonra en sık beşinci ve mortalitesi en yüksek üçüncü kanserdir[1]. Ülkemizde ise mide kanseri erkeklerde en sık beşinci, kadınlarda ise altıncı kanser türüdür[2]. Hastaların önemli bir kısmı ileri evrede tanı almakta ve prognoz genellikle kötü olmaktadır. İlerlemiş mide kanserlerinde, cerrahi operasyonların ve post-operatif tedavilerin belirli ölçüde standardize edilmiş olmasına rağmen, yüksek mortalite oranları görülmeye devam etmektedir. Mide kanserli olgularda 5 yıllık sağkalım genellikle %30'un altında gözlenmektedir[3, 4].

Mide kanserlerinde, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodülü sayısı ve uzak metastaz varlığına göre belirlenen TNM evrelemesi en önemli prognostik belirleyicidir[5]. Ancak, aynı TNM evresindeki hastalar arasında değişken bir klinik gidiş gözlenebilmektedir. Bu durum uzun dönemde klinik sonuçları etkileyebilecek ek birtakım faktörlerin bulunabileceğini düşündürmektedir[6].

Mide kanseri, çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu gelişen, biyolojik olarak oldukça heterojen özellikte bir kanser grubudur. Bu nedenle uygun tanı ve tedavi yaklaşımlarının geliştirilebilmesi için moleküler değişikliklerin bilinmesi gerekmektedir. Mide kanserinin, gastrik epitelyal hücrelerdeki bir dizi moleküler ve genetik değişikliklerin sonucunda meydana geldiği varsayılsa da karsinogenez mekanizmaları henüz tam anlamıyla aydınlatılabilmemiş değildir. Ek olarak, tümör mikroçevresi, inflamasyon, oksidatif stres ve hipoksi gibi hücrenel olgular da çeşitli moleküler değişikliklere paralel şekilde etki ederek, mide kanseri gelişimi, progresyonu ve metastazında rol alabilmektedir[6].

Son yıllarda tümörlerde immün mikroçevrenin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar sonucu, hastalarda tümöre karşı daha iyi bir immün yanıtın oluşturulabilmesine yönelik immün tedavilerin etkinliğini ve bu tedavilerden en yüksek yararı görecektir hasta gruplarının belirlenmesini sağlayacak biyobelirteçler ortaya konmuştur. CTLA-4 ve PD-1 gibi moleküllerin tanımlanması, bu molekülleri hedef alan yeni tedavilerin kullanıma girmesiyle sonuçlanmıştır. CTLA-4'e karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor olan ipilimumab ileri evre melanom hastalarında

bir tedavi seçeneğidir. Ayrıca PD-1'i hedef alan nivolumab ve pembrolizumab; PD-1'in ligandı olan PD-L1'i hedef alan atezolizumab gibi tedavi ajanları melanom, küçük hücreli dışı akciğer kanserleri, böbrek kanserleri ve mesane kanserleri gibi tümör gruplarında klinik kullanıma girmektedir[7].

PD-1, immünite ve tolerans süreçlerinde T hücre işlevlerinin düzenlenmesinde önemli görevleri bulunan bir koreseptör proteindir. PD-1 reseptörünün, PD-L1 ve PD-L2 olarak adlandırılan ve tümör hücrelerinde de eksprese edilebilen iki ligandı bulunmaktadır. PD-1 ve PD-L1 etkileşimi sonucu, T hücre aktivasyonu engellenir ve tümörü yok etmeye yönelik bir immün yanıt oluşamaz[8]. Yapılan bazı çalışmalarda, PD-L1 ekspresyonunun mide kanserlerinde, hedefe yönelik geliştirilmiş tedavilere yanıtı öngören, prediktif bir biyobelirteç olabileceği sonucuna ulaşılmış[6] olmakla birlikte bu konuda henüz bir fikir birliği bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, mide kanseri tanısıyla opere edilmiş ve standart kemoterapi şeması uygulanmış geniş bir hasta grubunda, rezeksiyon materyallerinden elde edilen tümör dokularında, immünohistokimyasal olarak PD-1 ve PD-L1 ekspresyonları değerlendirilerek, tümör hücrelerinde ve/veya tümör stromasını infiltre eden immün hücrelerdeki PD-1 ve PD-L1 ekspresyon durumları ile tümör mikroçevresinin en önemli komponentini oluşturan tümör infiltre eden lenfosit (TİL) yoğunluğunun, başta hastalık evresi (AJCC/UICC) olmak üzere prognostik faktörler, klinikopatolojik özellikler ve sağkalımla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide embriyolojisi, anatomi ve histolojisi

2.1.1. Embriyoloji

Mide, özofagus kaudalinde ön barsağın fuziform bir dilatasyonu şeklinde gelişir. Bu genişleme ilk olarak embriyo 7 mm uzunluğundayken meydana gelir. Başlangıçta mide, dorsal mezogastrium ile karın duvarının arka kısmına ve ventral mezogastrium ile septum transversum (diyafram) tutunmuştur. Mide genişledikçe, dorsal mezogastrium omentum majusu, ventral mezogastrium ise omentum minusu oluşturur. Mide endodermden köken alır ve mukozal yüzeydeki erken glandüler diferansiyasyon 80 mm'lik fetal gelişim evresinde olur. Enzim ve asit üretimi ilk olarak fetal yaşamın dördüncü ayında görülür. Bir yenidoğanın midesi tam olarak gelişmiştir ve bir erişkinin midesiyle benzer özelliklerdedir.[9]

2.1.2. Genel Anatomik Özellikler

Mide karın sol üst kadranda yerleşimli J şeklinde bir organdır. Üst uçta, diafragmanın birkaç santimetre altında özofagusun alt ucuyla birleşir. Distalde sağa doğru uzanarak duodenumla devam eder.

Makroskopik olarak mide dört bölüme ayrılır: Kardias, fundus, korpus ve antrum. Superolateral kenar küçük kurvatur, inferolateral kenar ise büyük kurvatur olarak adlandırılır. Gastroözofageal bileşke (GEJ) anatomik olarak, özofagus ile mide arasındaki sınır olarak tanımlanır. GEJ özofagus yassı epitelinin mide rugaları ile birleştiği yer ile aynı düzeyde ya da biraz üzerindedir. Kardias, özofagus alt ucunun hemen distalinde yer alan, uzunluğu 1-3 cm olarak değişen mide bölümüdür. Fundus, GEJ'den daha yukarıya doğru uzanan, sol hemidiafragmanın hemen altındaki bölgedir. Antrum, pilorik sfinterin proksimaline dek uzanan, midenin distal 1/3'lük kısmını oluşturur. Midenin geri kalan kısmı ise korpus olarak adlandırılır. Makroskopik olarak korpus ve antrum arasındaki sınır net olarak ayırt edilememekle birlikte, dış yüzden, küçük kurvatur üzerindeki bir çentik olan incisura angularis'in distali, iç yüzden ise ruga adı verilen kalın mukozal katlantıların azalmasıyla, belirsizleştiği bölüm antrumdur. Mide rugaları fundus ve korpusta daha belirgindir.

Antrumda mukozanın daha düz ve alttaki submukozaya çok sıkı şekilde bağlı olduğu görülür[9].

Mide duvarı dört tabakadan meydana gelir: mukoza, submukoza, muskularis propria ve subseroza. Mukoza dışındaki alanlar tüm gastrointestinal traktusta benzer özelliktedir.

2.1.3. Kan Dolaşımı

Arterler: Çölyak trunkustan ayrılan sol gastrik arter kardiak bölgeyi besler. Küçük kurvaturu besleyen sağ gastrik arter ve büyük kurvaturu besleyen gastroepiploik arter, hepatik arterden ayrılan dallardır. Ayrıca splenik arterden ayrılan sol gastroepiploik ve kısa gastrik arterler de büyük kurvaturu besler. Tüm bu arterler subserozada, muskularis propriada serbest şekillerde anastomozlaşır ve submukozada geniş gerçek bir vasküler pleksus oluşturur[9].

2.1.4. Lenfatikler

Mukozal lenfatikler muskularis mukozanın hemen üzerindeki lamina propria alanında sınırlıdır. Buradaki efferent lenfatikler muskularis mukozayı penetre ederek submukozadaki daha büyük lenfatik kanallara bağlanır. Lenfatiklerin bu düzenleniş biçimi sebebiyle, lamina proprianın bu kısmına ulaşan erken evredeki mide kanserlerinde bile lenf nodülü metastazı görülebilir. Mide lenfatikleri genel olarak ana arter ve venleri takip eder. Özofagus alt ucu ve küçük kurvaturun büyük kısmı sol gastrik arter boyunca sol gastrik lenf nodüllerine, pilor ve komşuluğundaki küçük kurvatur bölgesi sağ gastrik ve hepatik lenf nodüllerine, büyük kurvaturun proksimal kısmı pankreatosplenik lenf nodüllerine, büyük kurvaturun distali ise sağ gastroepiploik ve pilorik lenf nodüllerine drene olur. Tüm bu grupların efferentlenfatikleri çölyak aksa bağlanır[9].

2.1.5. İnervasyon

Midenin sempatik inervasyonu, çölyak pleksustan köken alan ve gastrik ve gastroepiploik arterlere eşlik eden sinirlerle sağlanır. Bunlara sağ ve sol frenik sinirlerden gelen dallar da eşlik eder. Parasempatik inervasyonu ise vagus'un ana anterior ve posterior trunkuslarından sağlanır[9].

2.1.6. Histoloji

Mide mukozası midenin tüm bölümlerinde benzer şekilde iki komponentten oluşur: yüzeyde foveolus adı verilen, yüzey epitelinin invajinasyonu ile oluşan çukurcuklar ve derinde foveola tabanına açılan sarmal şeklindeki glandlardan oluşur. Bu glandüler tabaka yapısı ve işlev bakımından midenin bölümlerine göre farklılıklar gösterir.

Mide mukozası, mukus salgılayan yüksek kolumnar hücrelerden oluşan foveolar epitel ile örtülüdür. Foveolar epitel hücreleri bazalde yerleşen nükleus ve mukus içeren apikal sitoplazmalara sahiptir. Kardiak ve pilorik mukoza bölgelerinde foveolar kısmı diğer bölgelerdekinden daha geniş olup, mukozal kalınlığın yarısını oluşturur. Kardiak ve pilorik glandların arasında geniş lamina propria alanları bulunur. Mukus glandlarını oluşturan hücreler, foveolar epitelden farklı olarak sınırları belirgin olmayan, köpüksü sitoplazmalı hücrelerdir. Pilorik glandlar yalnızca nötral mün salgılayan, kardiak glandlardan az miktarda sialomün de salgıyanır.

Oksintik mukozada foveolar bölüm mukozal kalınlığın 1/4'ünden daha az bir kısmını oluşturur. Burada glandlar sıkı şekilde bir araya gelmiştir ve arada çok az/hiç lamina propria bulunur. Glandüler bölge üç bölümde incelenir: Taban, boyun ve istmus. Tabanda esas olarak pepsinojen salgılayan zimojenik hücreler bulunur. Bunlar bazofilik sitoplazmalı, nükleusları bazalde yerleşimli, bir veya daha fazla sayıda küçük nükleol bulundurabilen hücrelerdir. İstmus bölgesinde baskın hücre grubunu hidrokolorik asit (HCl) ve intrinsik faktör salgılayan pariyetal hücreler oluşturur. Bunlar nükleusları santral yerleşimli, eozinofilik sitoplazmalı ve üçgen şekilli hücrelerdir. Boyun bölgesinde ise bu iki tip hücrenin yanı sıra müköz boyun hücreleri de bulunur. Bu hücrelerin H&E boyalı kesitlerde ayırt edilmesi güçtür. Müköz boyun hücreleri, kardiak ve pilorik mukozadaki mukus salgılayan hücrelerle benzer özellikler gösterir. Çalışmalar müköz boyun hücrelerinin asıl işlevlerinin proliferasyon ve mukozal rejenerasyonu sağlamak olduğunu göstermektedir. Bu hücreler, kök hücre gibi davranarak mukozanın üst kısımlarında foveolar ve yüzey epitelinin, alt kısımlarında zimojenik, pariyetal ve nöroendokrin hücrelerin yenilenmesini sağlamaktadır[9].

Midede hormon üreten çeşitli hücreler bulunmaktadır. Pilorik mukozada endokrin hücrelerin yaklaşık %50'sini gastrin üreten G hücreleri, %30'unu serotonin üreten enterokromafin (EC) hücreler ve %15'ini somatostatin üreten D hücreleri oluşturur. Oksintik mukozada ise endokrin hücrelerin büyük kısmını histamin salgılayan enterokromafin benzeri (ECL) hücreler meydana getirir. Az miktarlarda X hücreleri (salgı ürünü bilinmemekte) ve EC hücreleri de bulunmaktadır. Oksintik mukozada bu endokrin hücreler çoğunlukla glandüler bölgenin bazal kısmında yerleşmektedir. Özel boyalar kullanılmaksızın endokrin hücrelerin ayırt edilmesi zordur. Pilorik mukozada ise endokrin hücreler foveolanın hemen altındaki boyun bölgesinde yoğunlaşmaktadır ve sayıları kript başına yaklaşık 20-50 hücre şeklindedir[9].

Foveola ve mide glandları arasındaki bağ doku retikülin ve daha az oranda kollajen ve elastik liflerin oluşturduğu bir ağ şeklindeki lamina propriadır. Lamina propria, fibroblastlar, histiyositler, plazma hücreleri ve lenfositlerden oluşan çok sayıda hücre ve arteriyoller, kapiller damarlar ve myelinsiz sinir lifleri bulundurulur. Lamina propriadaki izole lenfositler büyük oranda B hücreleridir. Mide yüzey epitelinde, ince barsaktakinden daha az olmakla birlikte intraepitelyal lenfositler de bulunur. Bunların da büyük kısmını T hücreleri oluşturmaktadır. Normal bir midede az sayıda primer lenfoid foliküller bulunabilirken, sekonder lenfoid foliküller yalnızca gastritlerde (genellikle H.pylori enfeksiyonu ile ilişkili olarak) gözlenmektedir.

Submukoza, muskularis mukoza ve muskularis propria arasındaki alandır. Çok sayıda elastik lif içeren gevşek bağ dokusu özelliğindedir ve Meissner'in otonomik sinir pleksusu ile arteriyel, venöz ve lenfatik pleksusları içerir.

Muskularis propria, dışta longitudinal, orta kısımda sirküler, en iç kısımda ise oblik uzanımlı kaslardan oluşan üç tabaka halindedir. Dış kas tabakası, özofagusun longitudinal kas tabakası ile devamlılık gösterir. Sirküler tabaka, pilor çevresinde yoğunlaşarak buradaki sfinkteri oluşturur. Oblik tabaka kasları inkomplet bir tabaka oluşturur ve kardial bölgede daha belirgin hale gelir. Kardiada gerçek bir sirküler sfinkter yapısının varlığı tartışmalıdır.

Muskularis mukoza, ite sirküler ve dışta longitudinal olmak üzere iki kas tabakasından oluşur. Buradaki ince düz kas demetleri lamina propriayı penetre ederek epitel bazal membranına tutunur. Bu antral mukozada daha belirgin olarak gözlenen bir özelliktir.

2.2. Mide Kanseri

2.2.1. Epidemiyoloji

Mide kanseri, multifaktöriyel çevresel ve genetik etiyolojilere bağlı gelişen, biyolojik ve genetik olarak heterojen özellikte malign epitelyal bir tümör grubunu oluşturur. İnsidans ve mortalitesi son 70 yıl içerisinde belirgin bir düşüş göstermiştir. Bu düşüşe rağmen, dünya genelinde en sık beşinci ve mortalitesi en yüksek üçüncü kanserdir. [10, 11]

İnsidansın >60/100000 olduğu doğu Asya (Kore ve Japonya), doğu Avrupa, orta ve latin Amerika yüksek insidans bölgeleri iken, insidansın <15/100000 olduğu kuzey Amerika, kuzey Avrupa, Afrika'daki çoğu ülke ve güneydoğu Asya düşük insidans bölgelerini oluşturur. Yüksek insidans bölgelerinde intestinal tip kanserler görece hakim tipi oluştururken, düşük insidans bölgelerinde diffüz tip kanserler daha siktir. Yüksek insidans bölgelerinde en sık olarak antrum ve pilor yerleşimli tümörlere rastlanırken düşük insidans bölgelerinde proksimal mide kanser sıklığı daha fazladır.[5]

Mide kanseri 30 yaş altında nadir olarak gözlenir. Olguların yaklaşık %10 kadarı 45 yaş altındadır (erken başlangıçlı mide kanseri)[5, 12]. Genç hastalardaki tümörler daha çok herediter olma eğiliminde ve bunların büyük bir kısmı diffüz tiptedir. Ayrıca bu yaş grubunda kadınlar daha sık olarak etkilenmiş görünmektedir[5].

2.2.2. Etyopatogene z

Patogenetik faktörler; risk faktörleri, genetik faktörler, predispozisyon faktörleri ve premalign lezyonlar olarak sınıflandırılmaktadır.

2.2.2.1. Risk Faktörleri:

Helicobacter pylori Enfeksiyonu: H. pylori enfeksiyonu, mide kanseri gelişiminde en önemli çevresel risk faktörlerinden birini oluşturmaktadır. H. pylori hem intestinal hem de diffüz tip kanser gelişme riskini arttırmakta ve bu artmış risk kadınlarda daha yüksek olarak izlenmektedir[10]. H.pylori enfekte olmayan popülasyona göre iki kat oranında bir mutlak risk bulursa da H.pylori majör bir risk faktörü olarak düşünülmektedir[13].

H.pylori kolonizasyonu ve patojenitesi ile ilişkili faktörler, BabA, SabA, OipA, AlpA/B, homB gibi dış membran proteinleri ile cagA ve vacA gibi virulans faktörleridir[5].

Kronik H.pylori enfeksiyonu indirekt yolla, Th1 tipinde CD4+ T hücre infiltrasyonunu ve bunların ürünleri olan interferon gama ve geniş bir proinflamatuvar sitokin grubunun salgılanmasını arttırarak gastrit tablosunun oluşmasında önemli rol oynar[13]. Proinflamatuvar sitokinlerden interlekin(IL)-1 β ve tümör nekroz faktörü α (TNF- α); epitelyal, inflamatuvar ve mezenkimal hücrelerde nükleer faktör- κ B (NF- κ B) aktivasyonunu arttırır. NF- κ B, inflamasyon ilişkili kanserde tümör başlatıcısı şeklinde rol oynar ve çeşitli sitokinlerin ve siklooksijaz-2 (COX-2) üretimiyle de antiapoptotik etkiler gösterir[13].

H.pylori direkt yolla intrasellüler sinyal iletimini bozan mekanizmalar da oluşturabilmektedir. Burada H.pylori cag patojenisite adası (cagPAI) tarafından kodlanan bakteriyel tip IV salgı aparatı olarak bilinen molekülün epitel hücrelerine taşınması rol oynar. Ayrıca H.pylori direkt olarak gastrik epitelde NF- κ B aktivasyonunu da uyarabilir. Bunun sonucunda, aktivasyon ile uyarılan sitidin deaminazın (AID) ekspresyonundaki artış, epitel hücrelerindeki gen mutasyonlarını başlatır.[13] Ek olarak H.pylori enfeksiyonu gastrik mukozada DNA metilasyonunu yoğun şekilde arttırır. DNA metilasyonu sonucunda tümör baskılayıcı genlerin sessizleşmesi ile gastrik karsinogenez aktive olabilir[13].

Diyet: Belirli diyet alışkanlıkları özellikle intestinal tipte olmak üzere artmış mide kanseri riski ile ilişkilidir. Aşırı tuz tüketimi, tuzlanmış balık ve et gibi gıdalar, ayrıca islenmiş gıdaların tüketimi, bunların yanı sıra meyve ve sebze tüketiminin az

olması sayılabilecek etkenlerdir. [5] Diyetle alınan nitratlardan midenin asidik ortamında oluşan nitrozaminler de önemli karsinojenik ajanlar olarak düşünülmektedir[13]. Ek olarak A, B, C ve E vitaminleri, kalsiyum, folik asit ve potasyum eksikliklerinin mide kanseri riskini arttırdığı bilinmektedir. Benzer şekilde askorbik asit, karotenoidler ve tokoferoller gibi antioksidanların koruyucu etkisi tanımlanmıştır[10].

Sigara: Sigara doz bağımlı şekilde belirgin olarak mide kanseri ile ilişkilidir[13]. Sigara kullanımı hem kardias hem kardias dışı kanserlerin gelişimiyle ilişkili görünmektedir[10]. Kore’de yapılan bir çalışma sigara kullananlarda, kullanmayanlara göre 2-3 kat artmış riskin bulunduğunu ortaya koymuştur. Danimarka’da yapılan bir çalışmada ise sigara kullanan bireylerin mide sıvılarındaki N-nitroso bileşiklerinin, sigara kullanmayan bireylerinkine göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır[10]. Ayrıca sigaranın, cagA-pozitif H.pylori enfeksiyonunun karsinojenik etkisini potansiyalize ettiği görülmüştür[5].

2.2.2.2. Genetik Faktörler

Karsinojen maruziyeti ile oluşan bireysel kanser gelişme riski, çevresel ve kalıtsal genetik faktörlere bağlı olarak değişkenlikler gösterir. Kalıtsal genetik yatkınlık, mide karsinogenezinde, “germline” mutasyonlar veya gen polimorfizmleri şeklinde görülür.

Hereditör mide kanseri predispozisyon sendromları:Lynch sendromu (Hereditör nonpolipozis kolon kanseri sendromu - HNPCC), hereditör mide kanseri, Li-Fraumeni sendromu, Familial adenomatöz polipozis (FAP), Peutz-Jeghers sendromu ve juvenil polipozis gibi sendromlar bu grup içerisinde yer alır.

Lynch sendromu, “mismatch” tamir genlerindeki (MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2 vd.) “germline” mutasyonlar sonucu mikrosatellit instabilitesi (MSI) gösteren tümörlerin gelişimiyle karakterlidir. Lynch sendromlu ailelerde mide kanseri görülme oranı %11 oranında bildirilmiştir ve bu tümörlerin büyük çoğunluğu intestinal tiptedir[13].

Li-Fraumeni sendromlu ailelerin %50'sinden fazlasında tanımlanabilir bir TP53 mutasyonu bulunur ve Li-Fraumeni sendromlu hastalarda artmış çok sayıda primer kanser gelişme riski gözlenir[13].

Familiyal adenomatöz polipozis (FAP), adenomatöz polipozis coli (APC) tümör baskılayıcı genindeki “germline” mutasyonlar sonucu oluşur. Fundik gland polipleri bu hastaların midesinde en sık görülen lezyonlardır. Adenomlar daha az olarak gözlenir. FAP ailelerinde mide kanseri nadiren gelişir[13].

Peutz-Jeghers sendromu, mukokutanöz pigmentasyon, hamartomatöz polipler ve artmış malignite riski ile karakterli otozomal dominant geçişli bir bozukluktur. Bu sendromda mide kanserini de içeren çok sayıda kanser türü gelişimi için artmış rölatif risk varlığı dikkati çekmektedir[13].

Juvenil polipozis genellikle büyük boyutlardaki kolon poliplerinin varlığı ile ilişkilidir. Ancak “germline” SMAD4 anomalileri gösteren olgularda gastrik juvenil polip gelişimi ve artmış mide kanseri riski bulunmaktadır[13].

Hereditör mide kanseri, hereditör diffüz tip mide kanseri (HDGC) ve hereditör intestinal tip mide kanseri (HIGC) gastrik adenokarsinoma (proksimal gastrik polipozis sendromu-GAPPS) olmak üzere iki tipte prezente olmaktadır.

HDGC, erken başlangıçlı taşlı yüzük hücreli tipte diffüz mide kanseri gelişimiyle karakterli, otozomal dominant geçişli kalıtsal bir bozukluktur. [13] Risk taşıyan bireylere ait profilaktik gastrektomi spesmenlerinde “in-situ taşlı yüzük hücreli karsinom” varlığı sık olarak gözlenmektedir[13]. Kadın taşıyıcılarda ise artmış lobüler meme karsinomu riski bulunmaktadır[13]. HDGC ailelerinde, E-cadherin geni (CDH1) “germline” mutasyonları %30-40 oranlarında tanımlanmıştır. CDH1 “germline” mutasyonu taşıyan bu bireylerde hayatları boyunca mide kanseri gelişme riski %70'in üzerindedir[13]. CDH1 geni, epitelyal hücrelerin bazolateral yüzeylerinde eksprese edilen transmembran proteinlerden biri olan E-cadherin'i kodlar. E-cadherin, ekstrasellüler bölgesi aracılığıyla epitel hücrelerinin adezyonunu sağlarken, intrasellüler bölgesi aracılığıyla kateninlerle etkileşimde bulunarak tümör baskılayıcı işlevler görür. Bu işlevlerine bağlı olarak, E-cadherin kaybı ile birlikte epitel hücreleri arasındaki adezyonun kaybı ve tümör invazyonu meydana gelir[13].

Gastrik adenokarsinoma proksimal polipozis sendromu (GAPPS) ise otozomal dominant bir sendrom olup, çok yakın zamanda sorumlu genetik aberasyonun APC geninin FAP loküsünden farklı bir bölgesinde yer aldığı saptanmıştır. Bu sendromda, gastrik adenokarsinoma proksimal fundik gland polipozis zemininde gelişmektedir.

Diğer genetik anomaliler: DNA anöploidisi, tümör baskılayıcı veya tümör gelişimine karşı koruyucu genlerin ekspresyonunda azalma (p16, p27, TFF1, MLH1 vd.), onkogen amplifikasyonları, büyüme faktörlerinin artmış ekspresyonu (Cox-2, HGF, VEGF, EGFR, c-Met vd.) gibi diğer değişiklikler de genetik anomaliler arasında sayılabilir[13].

2.2.2.3. Predispozisyon Faktörleri

Gastrit ve intestinal metaplazi: Özellikle yüksek insidans bölgelerinde, H.pylori ilişkili kronik gastritlerde zaman içerisinde intestinal metaplazi ve atrofi gelişir. Bu değişiklikler özellikle intestinal tipteki adenokarsinomların gelişiminde rol oynayan neoplastik sürecin başlangıcıdır[5].

Sydney sistemi gibi sınıflama sistemleri, gastritlerin topografik, morfolojik ve etyolojik verileriyle derecelendirmesi ve evrelendirmesini sağlayan raporlama sistemleri önerir. Otoimmün gastrit, fundik mukozadaki parietal ve şef hücrelere karşı oluşan otoantikorlara bağlı olarak gelişir. İntestinal metaplazi ve sıklıkla intestinal tipte olmak üzere artmış mide karsinomu gelişim riskiyle ilişkilidir. Gastrik epitelyal antijenler ve H.pylori arasındaki çapraz reaksiyon mekanizmaları otoimmün gastrit patogeneğinde rol oynayabilmektedir[14].

İntestinal metaplazinin başlıca iki tipi mevcuttur: komplet (Tip I) ve inkomplet (Tip IIA/II ve Tip IIB/III). İmmünohistokimyasal olarak da sınıflanması mümkündür. Komplet tip intestinal metaplazide gastrik müsinlerin (MUC1, MUC5AC, MUC6) azalmış ekspresyonu ve intestinal müsin (MUC2) ekspresyonu görülür. Bu durumun aksine inkomplet intestinal metaplazide gastrik ve intestinal müsinlerin koekspresyonu izlenir. Bazı çalışmalar inkomplet intestinal metaplazinin derecesi ve intestinal metaplazinin yaygınlığı ile karsinoma ilerleme riski arasında

pozitif korelasyon saptamıştır. Bazı yazarlar ise intestinal metaplaziyi prekanseröz bir lezyondan çok parakanseröz bir lezyon olarak tanımlamaktadır[5].

Başka bir metaplazi paterni olan spazmolitik polipeptid eksprese eden metaplazide (SPEM) gözlenen TFF2 spazmolitik polipeptid ekspresyonu oksintik atrofi ile ilişkilidir. SPEM, sıklıkla mide korpus ve fundus mukozasında izlenir. Psödopilörik metaplazi ile bazı benzer özellikler gösterir; kronik H.pylori enfeksiyonu ve adenokarsinom gelişimi ile güçlü bir ilişkisi bulunmaktadır.[5]

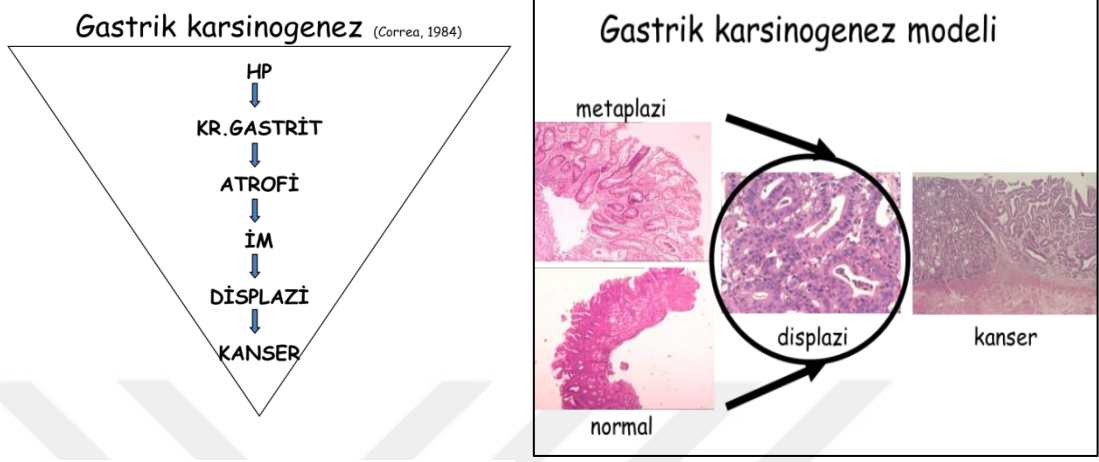
Peptik ülser: Gastrik ülser ve kanser gelişimi arasında açık bir ilişki ortaya konamamıştır. Bir çalışmada gastrik ülser nedeniyle takip edilen ve cerrahi tedavi almayan hastalarda ilerleyen dönemde beklenenin iki katı oranda mide kanseri geliştiği gözlenmiştir. Peptik ülserli hastalarda H.pylori eradikasyonu sonrasında mide kanseri riskinin azaldığı bildirilmiştir[11].

Geçirilmiş mide operasyonu:Subtotal gastrektomi sonrasında, kalan midede karsinom gelişme oranı %5-10 olarak bildirilmektedir. Kanser gelişiminin Bilroth II anastomozlu parsiyel rezeksiyonlarda daha sık olduğu gözlenmiştir. Burada safra reflüsü, intestinal bakteriyal içeriğin asit salgısı azalmış mideye geçişi, G hücrelerinden zengin olan antral bölgenin çıkarılmış olması ve bunu takiben oksintik mukozada gelişen atrofi sebep olarak gösterilebilir[11].

İmmün yetmezlik: Primer immünyetmezlikli hastalarda malignite gelişme sıklığı %2-10 olarak bildirilmektedir. Bunların büyük kısmını lenfomalar oluşturmakta, ancak mide karsinomu da görülebilmektedir. Bu hastalarda H.pylori gibi predispozan faktörlerin elimine edilmesinden bağımsız olarak, inflamasyon içermeyen mukoza kanserleşebilmektedir[13].

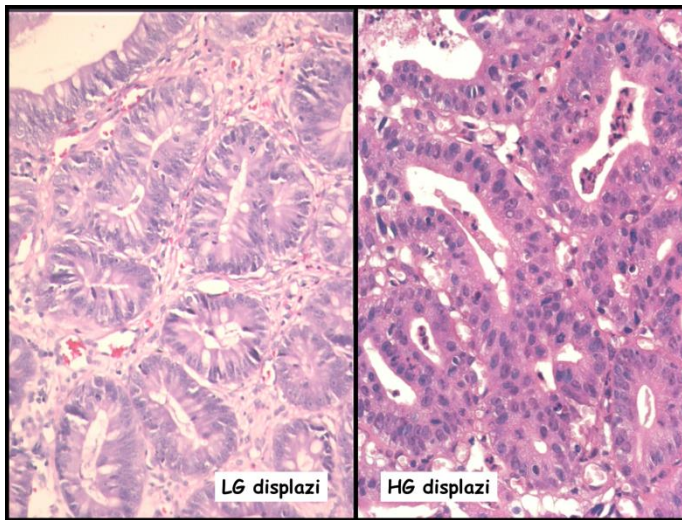
2.2.2.4. Premalign Lezyonlar

Premalign lezyonlar, neoplaziye ait morfolojik özellikleri gösteren ve kanser geliştirme riski bulunan lezyonlardır.



Şekil 1. Gastrik karsinogenez

İntraepitelyal neoplazi (İEN) / Displazi: Bu lezyonlar, intraepitelyal olarak gelişen, bazal membranı aşmayan, hüresel ve yapısal olarak değişen derecelerde atipi bulguları gösteren epitelyal neoplastik proliferasyonlardır. İntraepitelyal neoplazilerin kategorize edilmesinde Japon ve Avrupalı/Kuzey Amerikalı patologlar arasında belirgin farklar bulunmaktadır. Avrupa/Kuzey Amerika yaklaşımına göre yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi olarak tanımlanan lezyonlar, Japonların yaklaşımına göre “noninvaziv intraepitelyal karsinom” şeklinde tanımlanabilmektedir. Bu sorun, non-neoplastik değişikliklerden erken invaziv



Resim 1. Düşük (LG) ve yüksek dereceli (HG) displazi

kansere uzanan morfolojik spektrumdaki lezyonlar için terminoloji öneren Padova ve Viyana sınıflandırmaları gibi önerilerle çözülmeye çalışılmıştır[5].

İntraepitelyal neoplazi (gastrik epitelyal displazi) polipoid, flat veya hafifçe deprese büyüme paterni

gösterebilir. Avrupa ülkeleri ve Kuzey Amerika’da, çevresinden belirgin olarak ayrı, protrüde lezyonlar “adenom” terimi ile adlandırılır. Japonya’da ise “adenomlar” tüm makroskopik tipleri içerir (flat, eleve, deprese vd.)[5].

Midede çoğu intraepitelyal neoplazi olgusu intestinal fenotiptedir (adenomatöz; tip I). Bunlar kolonik adenomlara benzer şekilde, kalabalıklaşmış, psödostratifikasyon gösteren, hiperkromatik, pleomorfik nükleuslu, müsün depleasyonu bulunduran ve yüzey matürasyonu göstermeyen atipik kolumnar hücrelerle döşeli tübüler glandlardan oluşmaktadır. Diğer displazi varyantları ise gastrik fenotiptedir (foveolar veya pilorik fenotip; tip II). Bunlar yuvarlak/oval nükleuslu, eozinofilik veya şeffaf nükleuslu alçak kolumnar veya küboidal hücrelerden meydana gelir. Bu iki displazi tipi, müsün, CD10 ve CDX2 ekspresyonları açısından farklılık gösterir. İntestinal/adenomatöz tip displazide MUC2, CD10 ve CDX2 ekspresyonu görülürken; gastrik/foveolar tip displazide MUC5AC ekspresyonu, CD10 negatifliği ve düşük CDX2 pozitifliği gözlenir. Hibrid diferansiyasyon gösteren olgular da bulunabilir[5].

İntraepitelyal neoplazi (displazi) düşük veya yüksek dereceli olarak derecelendirilir:

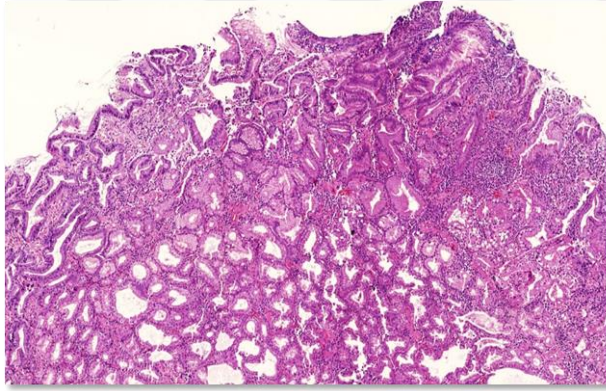
Düşük dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi): Minimal yapısal düzensizlik ve hafif-orta derecede sitolojik atipi mevcuttur. Nükleuslar uzamıştır; ancak polarizasyonları korunmakta ve bazalde yerleşimlidir. Hafif-orta derecede mitotik aktivite izlenir[5].

Yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi): Yapısal düzensizlik daha belirgindir. Genellikle küboidal, nükleositoplazmik oranı yüksek, belirgin nükleollü, atipik de olabilen çok sayıda mitoz gösteren hücrelerden meydana gelir. Nükleer polarite genellikle kaybolmuştur[5].

İntramukozal invaziv neoplazi / intramukozal karsinom: Bu terim lamina propriayı invaze eden karsinomlar için kullanılır. Bu lezyonlar, desmoplastik değişikliklerin yanı sıra belirgin glandüler kalabalıklaşma, aşırı dallanma, tomurcuklanma gibi özellikleriyle displaziden ayırt edilir. İntraluminal nekrotik artıklar sıklıkla gözlenir. Desmoplazinin bulunmadığı durumda, lamina propria

içerisinde tek tek hücreler şeklinde de gözlenebilir. İntramukozal karsinomda izlenen hücreler, belirgin polarite kaybı gösteren, belirgin nükleol bulunduran yuvarlak nükleuslu, çok sayıda mitoz içeren, nükleositoplazmik oranı artmış, genellikle küboidal görünümdeki hücrelerdir. İntramukozal karsinom varlığı, artmış lenfatik invazyon ve lenf nodülü metastazı riski ile ilişkilidir[5].

Adenomatöz polipler: Adenomatöz polipler sıklıkla goblet hücreleri, endokrin hücreler ve Paneth hücrelerini içerecek şekilde intestinal tip diferansiasyon gösteren, MUC2 ve CD10 gibi intestinal belirteçleri ekprese eden lezyonlardır. Boyut (>2 cm) ve yüksek dereceli displazi varlığına bağlı olarak malign transformasyon riski bulunmaktadır. Ancak fenotipin (intestinal veya gastrik tipte oluşu) önemi tartışmalıdır[5, 13].

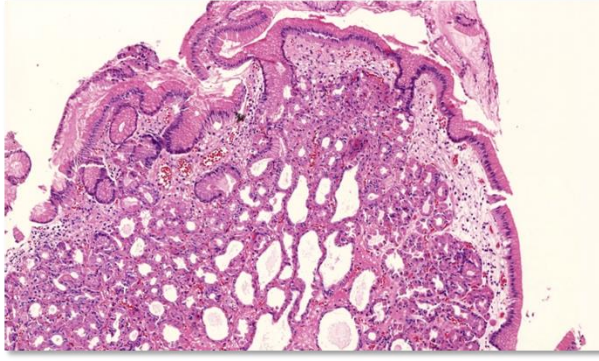


Resim 2. Pilorik gland adenomu

Gastrik tip adenomlar, pilorik gland adenomları ve foveolar tip adenomlardan oluşur. Pilorik gland adenomları, yuvarlak nükleuslu, soluk veya eozinofilik sitoplazmalı, tek sıralı küboidal veya alçak kolumnar tipte hücrelerin oluşturduğu sıkıca birarada toplanmış pilorik gland

tipinde tübüllerden meydana gelen nadir bir neoplazidir. Adenomu oluşturan glandüler epitelyum MUC6 pozitif iken, yüzeydeki foveolar epitelyum MUC5AC pozitifliği gösterir. Foveolar tip adenomlar ise yine nadir görülmekle birlikte FAP'lı hastalarda daha siktir. Bu lezyonlar MUC5AC ekspresyonu gösterirken, MUC6 negatiftir[5, 10, 13].

Fundik gland polipleri: Fundik gland polipleri, FAP'lı hastalarda veya polipozis koli dışındaki ailesel durumlarda sporadik olarak ve ayrıca uzun süreli proton pompa inhibitörü tedavisi almış hastalarda gözlenebilir. Sporadik fundik gland poliplerinin malignite potansiyeli düşüktür. FAP'lı hastaların fundik gland poliplerinde displazi izlenebilir; ancak karsinom gelişimi oldukça nadirdir. Fundik



Resim 3. Fundik gland polibi

gland poliplerinde sıklıkla gözlenen APC/beta-katenin yolundaki genetik değişiklikler, bu lezyonların neoplastik olabileceğini göstermektedir. FAP-assosiyasyonlu fundik gland poliplerinde beta-katenin mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı görülebilmektedir.

Non-neoplastik polipler: Bu grup, hiperplastik polipler ve hamartomatöz polipler (Peutz-Jeghers polibi, juvenil polip, Cronkhite-Canada sendromu ilişkili polip) gibi lezyonlardan oluşur.

Hiperplastik polipler midenin ikinci sıklıktaki polipleridir. Tipik olarak H.pylori'ye bağlı gastrit veya otoimmün gastrit zemini bulunduran hasarlı mide mukozasında gelişir. Nadir olmakla birlikte malign transformasyon gözlenebilir.

Peutz-Jeghers polipleri, juvenil polipler ve Cowden polipleri sporadik olmaktan çok herediter polipozis sendromlarının bir bileşeni olarak görülür. Bazı juvenil polipozis olgularında yalnızca mide etkilenmiş olabilir. Gastrik Peutz-Jeghers polipleri, dallanma gösteren muskularis mukoza kaynaklı düz kas bantları; foveolar epitelde hiperplazi, uzama ve kistik değişiklikler; derindeki glandüler komponentte ise atrofi gibi histolojik bulgular gösterir[5, 13].

2.2.3. Makroskopik Özellikler

Mide kanserlerinde makroskopik olarak birçok sınıflama sistemi önerilmiştir. Bunlar içerisinde en çok kullanılan ve modifiye edilen Borrmann sınıflaması olmuştur. İlerlemiş mide kanserleri için yapılan Borrmann sınıflaması 4 kategori içermektedir. Daha sonra bunlara yüzeysel tümörleri kapsayan tip 0 ve hiçbir kategoriye uymayan tümörleri içeren tip 5 kategorisi de eklenmiştir[13]:

Tip 0 – Mukozada minimal depresyon veya elevasyon oluşturabilen yüzeysel, düz görünümde tümörler

Tip 1 – Polipoid tümörler

Tip 2 – Kenarları eleve, keskin sınırlı ülsera tümörler

Tip 3 – Kenarları eleve, duvara infiltrasyon gösteren, sınırları keskin olmayan ülsera tümörler

Tip 4 – Ülserasyonun genellikle belirgin olmadığı, diffüz infiltrasyon gösteren tümörler

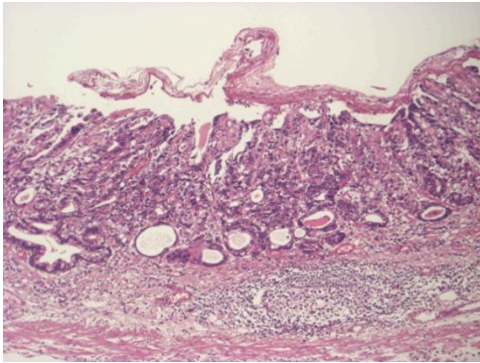
Tip 5 –Yukarıdaki tipler içerisinde ele alınamayan, sınıflandırılmayan tümörler

2.2.4. Tümör Yayılımı ve Evreleme

Mide karsinomları, çevre dokulara doğrudan uzanım şeklinde, metastaz veya peritoneal disseminasyon ile yayılım gösterir. İntestinal tipteki karsinomlar hematojen yol ile karaciğere, zayıf koheziv tipteki (diffüz tip) karsinomlar peritoneal yüzeylere metastaz yapma eğilimindedir[5].

Antro-pilorik bölgenin diffüz karsinomları, yüksek sıklıkta serozal ve lenfovasküler invazyon ve lenf nodülü metastazı gösterir. Ayrıca bu tümörler submukoza veya subserozadan ilerleyerek veya submukozal lenfatikler yoluyla duodenumu infiltre edebilir. Serozaya penetrasyon gösteren karsinomların varlığında yaygın peritoneal implantlar gözlenebilir. Bilateral masif over tutulumu (Krukenberg tümörü), transperitoneal veya hematojen yolla meydana gelebilir[5].

2.2.4.1. Erken Mide Kanseri



Resim 4. Erken mide karsinomu

Erken mide kanseri terimi, lenf nodülü tutulumuna bakılmaksızın, mukoza ve/veya submukoza sınırlı invaziv karsinomları tanımlamak için kullanılır. Bu tümörlerin büyük kısmı 2-5 cm çapında, küçük kurvatur ve angulus yerleşimlidir. Tedavi edilmediğinde aylar veya yıllar içinde yavaş progresyon gösterir. Olguların büyük

kısmı tübüler ve papiller morfolojik tiptedir[5].

2.2.4.2. TNM Evrelemesi

Mide karsinomlarının TNM evrelemesinde 2009'da yapılan değişikliklere göre mukozal ve submukozal tümör invazyonu T1, muskularis propria invazyonu T2, subseroza invazyonu T3 olarak gruplanmıştır. Serozayı penetre eden tümörler T4a, komşu yapılara invaze olan tümörler T4b olarak değerlendirilmiştir.

Özofagogastrik bileşke adenokarsinomlarında evreleme tümör merkezinin lokalizasyonuna göre yapılır. Tümör merkezinin özofagogastrik bileşkeden uzaklığı 5 cm aralığında ve özofagusa da uzanımı gözleniyorsa özofagus tümörü olarak evrelenmelidir. Ancak tümör merkezi mide içerisinde özofagogastrik bileşkeden 5 cm distale düşüyor veya özofagusa uzanımı gözlenmiyorsa mide kanseri olarak kabul edilmelidir.[11]

TNM Evrelemesi

T : Primer tümör

TX : Primer tümör değerlendirilemiyor

T0 : Primer tümör için delil yok

Tis : Karsinoma in situ: Lamina propria invazyonu göstermeyen intraepitelyal tümör, yüksek dereceli displazi

T1 : Tümör lamina propria, muskularis mukoza veya submukozaya infiltre

T1a : Tümör lamina propria veya muskularis mukozaya infiltre

T1b : Tümör submukozaya infiltre

T2 : Tümör muskularis propriaya infiltre

T3 : Tümör subserozaya infiltre

T4 : Tümör serozayı perfore etmekte veya komşu yapılara infiltre

T4a : Tümör serozayı (visseral periton) perfore etmekte

T4b : Tümör komşu yapılara infiltre

N : Bölgesel lenf nodülleri

NX : Bölgesel lenf nodülleri değerlendirilemiyor

N0 : Bölgesel lenf nodülü metastazı yok

N1 : Bölgesel lenf nodüllerinin 1-2'sinde metastaz varlığı

N2 : Bölgesel lenf nodüllerinin 3-6'sında metastaz varlığı

N3 : Bölgesel lenf nodüllerinin 7 veya daha fazlasında metastaz varlığı

N3a : Bölgesel lenf nodüllerinin 7-15'inde metastaz varlığı

N3b : Bölgesel lenf nodüllerinin 16 veya daha fazlasında metastaz varlığı

M : Uzak metastaz

M0 : Uzak metastaz yok

M1 : Uzak metastaz var

Evre Grupları

Tablo 1. Mide karsinomlarında evreleme (AJCC/UICC)

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
Evre IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
Evre IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
Evre IIIB	T4b	N0, N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
Evre IIIC	T4a	N3	M0
	T4b	N2, N3	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.2.5. Histopatoloji

Mide karsinomlarının büyük oranda heterojenite göstermesi nedeniyle çok sayıda değişik sınıflandırma şemaları oluşturulmuştur. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılanlar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Lauren sınıflamalarıdır. Ming, Nakamura, Mulligan, Goseki ve Carneiro sınıflamaları önerilen diğer sınıflamalar arasında sayılabilir.[5]

2.2.5.1. DSÖ sınıflaması:

DSÖ sınıflaması, beş ana gastrik adenokarsinom tipini ve diğer nadir antiteleri kapsayan tanımlayıcı bir sınıflamadır. Başlıca avantajı, gastrointestinal sistemin diğer segmentlerinde de gözlenen tümörlere benzer şekilde morfolojik paternlere dayalı bir sınıflama olması ve böylelikle tüm gastrointestinal kanal karsinomlarının histolojik tiplendirmesindeki uyumu sağlamasıdır. DSÖ sınıflamasının ana kategorileri tübüler, papiller, müsinöz, zayıf koheziv ve mikst karsinomlar şeklinde sıralanır. DSÖ sınıflamasında histogenez, diferansiyasyon veya epidemiyolojik veriler dikkate alınmamıştır[5].

Tablo 2. Mide epitelyal tümörlerinin DSÖ'ye (2010) göre sınıflaması

Premalign Lezyonlar

Adenom

Düşük dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi)

Yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi)

Adenokarsinom

Papiller adenokarsinom

Tübüler adenokarsinom

Müsinöz adenokarsinom

Zayıf koheziv karsinom (taşlı yüzük hücreli karsinom ve diğer varyantlar)

Mikst adenokarsinom

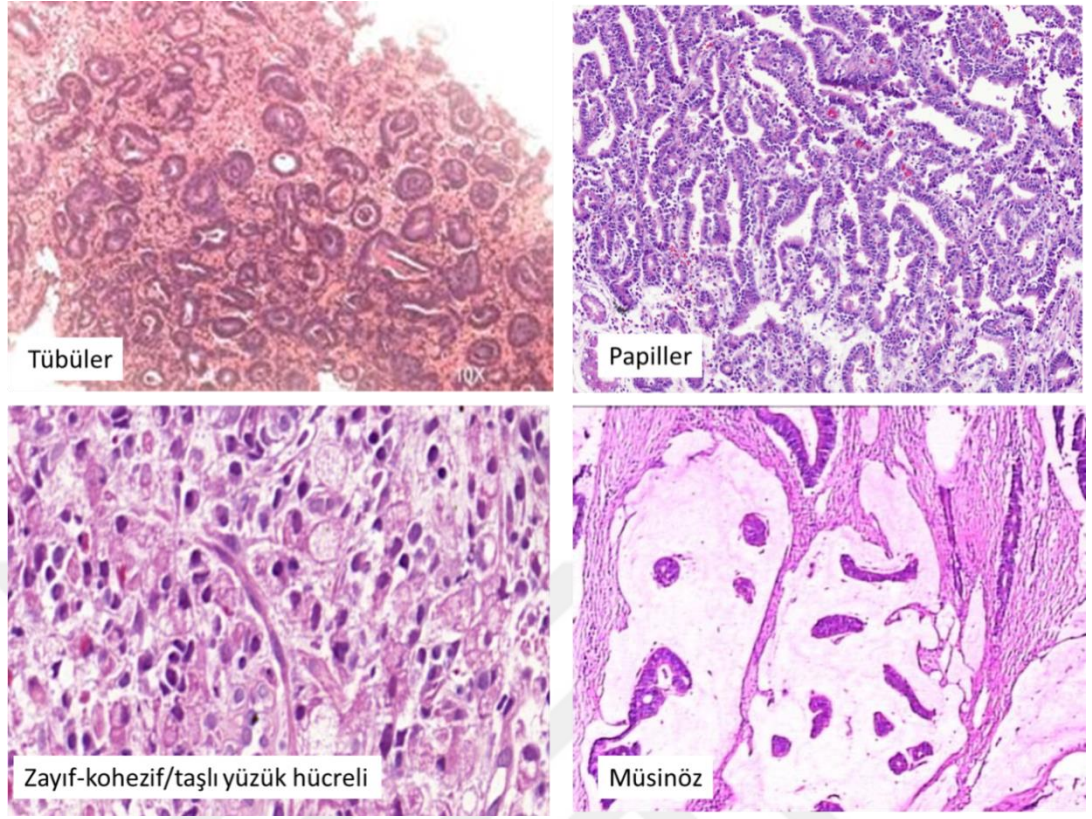
Adenoskuamöz karsinom

Lenfoid stroma içeren karsinom (medüller karsinom)

Hepatoid adenokarsinom

Skvamöz hücreli karsinom

Andiferansiye karsinom



Resim 5. Histolojik tümör alttiplerine örnekler

Tübüler adenokarsinom: Tübüler adenokarsinomlar, değişen çaplarda, dallanan, genişlemiş veya yarık benzeri tübüllerden meydana gelir. Asiner yapılar da bu tümörlerde izlenebilir. Neoplastik hücreler kolumnar, kuboidal veya intraluminal müsin varlığı sebebiyle düzleşmiş görünümde olabilir. Nükleer atipi derecesi, düşükten yükseğe değişen şekilde gözlenebilir. Tübüler adenokarsinomunun, solid karsinom olarak da adlandırılan az diferansiye varyantı da mevcuttur. Tümör stromasında değişen derecelerde desmoplazi izlenebilir[5, 11].

Papiller adenokarsinom: Fibrovasküler bağ doku korlarıyla desteklenen, kolumnar veya kuboidal hücrelerin döşediği parmak benzeri uzantılar bulunduran, ekzofitik özellikte iyi diferansiye bir karsinomdur. Hücreler polarizasyonlarını koruma eğilimindedir. Bazı tümörlerde tübüler diferansiasyon gözlenebilir. Nadiren mikropapiller yapılar mevcuttur. Sitolojik atipi ve mitotik indeks değişkenlik gösterir. Tümörün invaziv kenarı genellikle keskin sınırlanma gösterir. Bazı tümörlerde akut veya kronik inflamatuvar hücreler ile karakterize stromal reaksiyon gözlenebilir[11, 13].

Müsinöz adenokarsinom: Bu tümörler malign epitelyal hücreler ve ekstrasellüler müsin gölcüklerinden oluşur. Kural olarak, tümör %50'den daha fazla oranda ekstrasellüler müsin içermelidir. Müsinöz adenokarsinomlar dağınık şekilde taşlı yüzük hücrelerini içerebilir[5].

Zayıf koheziv karsinomlar (Taşlı yüzük hücreli karsinom ve diğer varyantları içeren): Zayıf koheziv karsinomlar, izole hücreler veya küçük topluluklar halinde düzenlenen neoplastik hücrelerden meydana gelir[5].

Taşlı yüzük hücreli karsinomlar, tamamı veya büyük kısmı, eksantrik yerleşimli nükleus ve santralinde globoid sitoplazmik müsin damlacığı bulunduran taşlı yüzük hücrelerinden oluşan tümörler olarak tanımlanır. Taşlı yüzük hücreleri, mukozada dantela benzeri glandlar veya ince mikrotrabeküler yapılar meydana getirebilir. Mide duvarının derin katlarında belirgin desmoplazi oluşturabilir. Bazı olgularda, taşlı yüzük hücreleri mukozaya sınırlıyken, derindeki komponent başka bir zayıf koheziv hücre tipini içeriyor olabilir[5].

Zayıf koheziv tipte karsinomların diğer hüresel varyantları, histiyosit veya lenfosit benzeri hücreler, koyu eozinofilik sitoplazmalı hücreler veya irregüler bizar görünümdeki nükleuslara sahip hücrelerden oluşan tümörleri içerir. Tümörler, bu farklı hücre tiplerinin karışımından da oluşabilir[5].

Mikst karsinomlar: Bu karsinomlar morfolojik olarak ayırt edilebilen glandüler (tübüler/papiller) ve taşlı yüzük/zayıf koheziv tipte tümöral komponentleri birlikte bulundurmaktadır. Herhangi bir farklı komponentin varlığı raporlamada mutlaka belirtilmelidir. Taşlı yüzük/zayıf koheziv hücre komponentinin varlığı kötü prognozla ilişkilidir[5].

Nadir histolojik varyantlar: Nadir görülen histolojik varyantlar mide kanserlerinin yaklaşık %5'lik kısmını oluşturur. Bunlar adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom, hepatoid adenokarsinom, lenfoid stroma içeren karsinom, koryokarsinom, karsinosarkom, pariyetal hücre karsinomu, malign rabdoid tümör, mukoeptidermoid karsinom, Paneth hücre karsinomu, andiferansiye karsinom, mikst adenonöroendokrin karsinomlar (MANEC), endodermal sinüs tümörü, embriyonel karsinom, gastrik yolk-sac tümör ve onkositik adenokarsinom olarak sıralanabilir[5].

Hepatoid adenokarsinom: Hepatoid adenokarsinom, hepatosit benzeri büyük poligonal eozinofilik neoplastik hücrelerden meydana gelir. Bu tümörde, dokuda veya serumda alfa-fetoprotein (AFP) varlığı tespit edilebilir. Periodik asit-Schiff (PAS) pozitif ve diyastaza dirençli intrasitoplazmik eozinofilik globüller izlenebilir[5].

Lenfoid stroma içeren gastrik karsinom: Bu tümörler, belirgin stromada belirgin lenfoid infiltrasyon bulunmasıyla karakterlidir. Tümör, küçük-orta büyüklükte poligonal hücrelerin oluşturduğu irregüler tabakalardan meydana gelir. Genellikle çevre dokuyu iter şekilde, düzgün sınırlanma gösterir. Sıklıkla proksimal midede veya mide güdüğünde gelişir ve sıklıkla erkeklerde görülür. Olguların %80'inden fazlası EBV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Bu tümörlerin prognozu sıradan histolojik tiplere göre daha iyidir[5, 10].

Gastrik koryokarsinom: Gastrik koryokarsinomlar, adenokarsinom ile karışık olarak sinsityo- ve sitotrofoblastik hücreleri içerir. İnsan koryonik gonadotropini, dokuda veya serumda tespit edilebilir. Bu tümörler sıklıkla hematojen yayılım ve nodal metastaz ile ilişkilidir[5].

2.2.5.2. Lauren Sınıflaması

Lauren sınıflaması mide kanserlerini başlıca intestinal ve diffüz tip kanserler olarak ikiye ayırır. Bu sınıflamaya indetermine/sınıflandırılmayan ve mikst fenotipteki kanserler de eklenebilir. Diffüz tip karsinomlar belirgin bir gland yapısı oluşturmayan diskoheziv hücrelerden oluşur. İntestinal tipteki kanserlerde ise çeşitli diferansiasyon derecelerindeki glandüler yapıların varlığı gözlenir[5, 10].

2.2.5.3. Diğer Sınıflamalar

Ming sınıflaması tümörün büyüme paternine ve invaziv olma derecesine dayanan ikili bir sınıflamadır. Ekspansil tipte koheziv özellikteki tümör kitlesi, kendisini çevreleyen stromayla düzgün bir sınır oluşturacak şekilde genişleme gösterir. İnfiltratif tip ise tek hücreler veya küçük yuvalar şeklinde infiltratif tümöral hücrelerle karakterlidir[10].

Goseki sınıflaması, tübüler diferansiasyon ve intrasellüler müsin yapımını temel alan dördü bir sınıflama önerir[5].

Nakamura sınıflaması, tüm tümörleri diferansiye ve andiferansiye tümörler şeklinde iki gruba ayırır[5].

Mulligan sistemine göre tümörler, mukus, intestinal ve piloro-kardiak gland tiplerinde tümörler olarak değerlendirilir[5].

Carneiro sistemi, morfoloji ve immünotipik özellikleri dikkate alarak tümörleri dört grupta sınıflandırır: Glandüler, izole hücre, solid ve mikst. Lauren sınıflamasına göre “intestinal” tip olarak değerlendirilen tümörler, intestinal, gastrik veya mikst diferansiyasyonlu tümörler şeklinde alt gruplara ayrılmış olur. Diferansiyasyonu belirlemede gastrik belirteçler (MUC5AC, MUC6, TFF1), intestinal belirteçler (MUC2, CDX2, CD10) ve pepsinojen-1 gibi diğer belirteçler kullanılabilir. Bazı çalışmalar fenotipik özelliklerin prognostik değeri olduğunu bildirmektedir[5, 11].

2.2.5.3. Grade’leme (Derecelendirme)

Gradeleme sistemi başlıca tübüler ve papiller morfolojideki tümörler için uygulanır. İyi diferansiye adenokarsinomlar, bazen metaplastik intestinal epitelini taklit edebilen iyi oluşmuş gland yapılarından meydana gelir. Az diferansiye adenokarsinomlar genellikle seçilebilen ileri derecede irregüler glandlar oluşturan tümörlerdir. Morfolojik özellikleri iyi ve az diferansiye tümörler arasında özellikler gösteren tümörler orta derecede diferansiye tümörler olarak tanımlanır. Bu adlandırmalar “düşük, orta ve yüksek dereceli tümörler” şeklinde de yapılabilir[5].

2.2.5.4. Stromal reaksiyonlar

Mide kanserlerinde gözlenen başlıca stromal reaksiyonlar, desmoplazi, lenfoid infiltrasyon, stromal eozinofili ve granümatöz yanıt olarak sıralanabilir. Tümörü infiltrate eden lenfosit yoğunluğunun bölgesel lenf nodülü metastazı ve daha iyi sağkalımı öngörebileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Skirröz stromal reaksiyon ise agresif davranış ve peritoneal yayılım ile ilişkili bulunmuştur[5].

2.2.6. Prognoz ve Prediktif Faktörler

Erken mide kanseri: Erken mide kanserlerinde vasküler invazyon ve lenf nodülü metastazı az sıklıkta görülür ve prognoz oldukça iyidir. Submukozal

invazyon, tümör çapı (>3-3,5cm), vasküler invazyon varlığı, lenfatik yayılımın varlığı, deprese veya ülser lezyon ve andiferansiye histoloji lenf nodülü metastazı için bağımsız risk faktörleridir. Bu özellikleri bulunduran tümörlerde endoskopik rezeksiyon yerine cerrahi tedavinin uygulanması önerilmektedir[5].

İlerlemiş mide kanseri: TNM evrelemesi prognozla ilişkili en önemli belirleyicidir. Muskularis propriaya infiltre tümörlerde 5 yıllık sağkalım %60-80 oranlarındayken, subserozaya infiltre tümörlerde bu oran %50'dir. İlerlemiş mide kanserli olguların büyük kısmı tanı anında lenf nodülü metastazı bulundurmaktadır. İleri evre olgularda sıklıkla izlenen lenfatik ve vasküler invazyon varlığı kötü prognozu gösterir. Veriler metastatik lenf nodülü sayısının evrelendirmedeki önemini ortaya koymaktadır. Metastatik lenf nodülü sayısı 1-6 olan olgularda 5 yıllık sağkalım %46 iken, 7-15 olan olgularda %30'dur. Cerrahi sırasında uygulanan lenfadenektominin düzeyi de önem kazanmaktadır. Küratif bir gastrektomi uygulanmış, ancak sınırlı bir lenf nodülü diseksiyonu (D1/D0) yapılmış olgularda 5 yıllık sağkalım %23 iken, geniş diseksiyonun (D2) yapıldığı olgularda bu oran %50'nin üzerine çıkmaktadır[5].

Tümör tomurcuklanması, gastrointestinal kanserlerde kötü bir biyolojik özellik olarak düşünülmektedir. Tümörün invaziv kenarında, en fazla beş hücreden oluşan küçük kümeler veya dediferansiye hücrelerin varlığı şeklinde tanımlanır. Tümör tomurcuklanması agresif özellikteki özofagus, mide, pankreas, kolon ve rektum karsinomlarında gözlenebilen bir bulgudur. Tümör tomurcuklanmasının varlığı ileri evre hastalık, sık lenfovasküler invazyon, lenf nodülü metastazı ve uzak metastaz varlığı ile korele bulunmuştur. UICC, tümör tomurcuklanmasını kolon ve rektum kanserlerinde ek bir bağımsız prognostik faktör olarak tanımlamıştır[15]. Tümör tomurcuklanmasının mide kanserlerinde de kötü prognozla ve ileri T ve N evresi, vasküler invazyon, yüksek tümör grade'i ve büyük tümör boyutu ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur[15-17].

2.2.7. Moleküler Özellikler

Mide kanserlerinin moleküler özelliklerine göre sınıflandırılması, heterojenite gösteren bu tümörlerin daha iyi anlaşılması ve hedefe yönelik tedavilerden elde

edilecek yararın en üst düzeye çıkarılabilmesini sağlayacak uygun biyobelirteçlerin geliştirilmesi için gerekli görülmektedir. Bu amaçla yapılan “The Cancer Genome Atlas (TCGA)” çalışması, yakın gelecekte, klinik uygulamalara yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarını getirebilir.

Mide kanserlerinin moleküler özelliklerini geniş kapsamlı bir şekilde ortaya koymaya çalışan son yıllarda yayınlanmış bir çalışma, anahtar “driver” genlerin spesifik moleküler altgruplarda yoğunlaştığını göstermiştir. Buna göre MSS tümörlerde TP53, MSI ve EBV ilişkili tümörlerde ARID1A, diffüz tip tümörlerde CDH1 izlenmektedir[18].Başka bir çalışmada TP53, PTEN, ARID1A, APC, CTNNB1 ve CDH1 gibi iyi bilinen kanser ilişkili genlerde sıklıkla mutasyonların bulunduğu ortaya konmuştur [19].

Bu çalışmaların hiçbirinde HER2, mide kanserlerinin moleküler alttıplendirmesinde anahtar molekül olarak tanımlanmamaktadır. Moleküler sınıflamalar her zaman tedavi hedeflerinin belirlenmesinde belirleyici olmayabilir. Ancak bu çalışmalar sayesinde HER2’den daha önemli moleküler hedeflerin de bulunabileceği düşünülebilir.

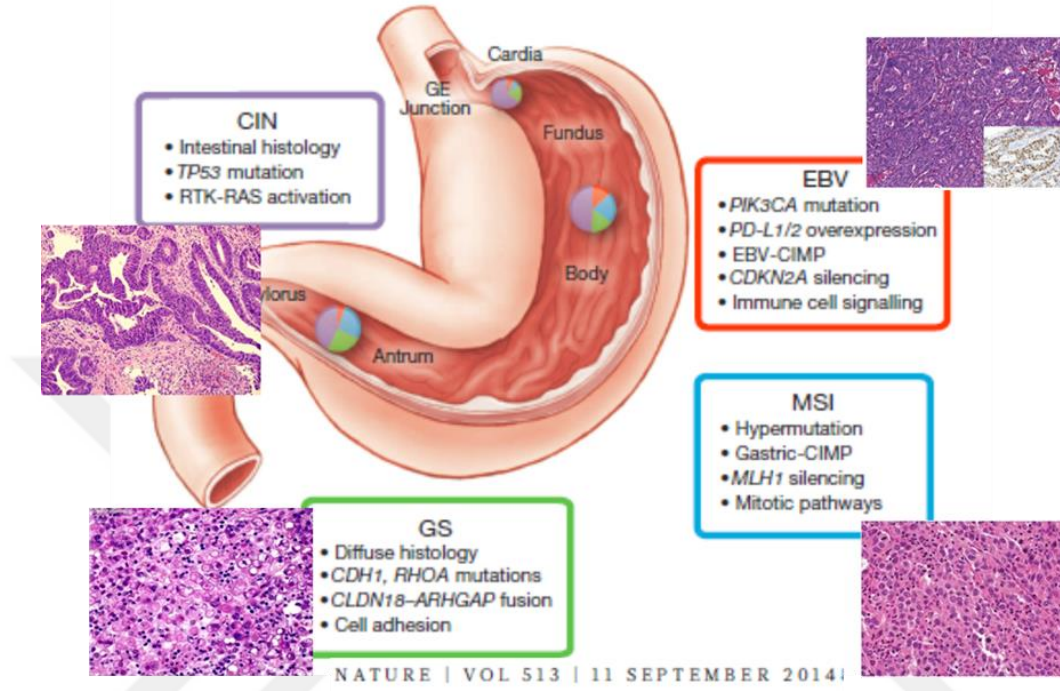
TCGA çalışması mide kanserlerini 4 moleküler alt gruba ayırmıştır: EBV, MSI, Genomik stabil ve Kromozomal instabil.

2.2.7.1. EBV Enfekte Tümörler

EBV insan kanserlerinde artmış riskle ilişkili olarak tanımlanmış ilk virüstür. EBV ilişkili mide kanseri, tüm mide kanserlerinin yaklaşık %10’unu oluşturmaktadır[20]. Bu kanserlerde farklı kromozomal değişiklikler ve transkripsiyon paternleri bulunmaktadır. Epigenetik değişiklikler, özellikle tümör baskılayıcı genlerin promoter bölgelerindeki DNA metilasyonu, EBV pozitif tümörlerde, EBV negatiflere göre daha sıktır[21]. TCGA çalışması, promoter metilasyonu ile EBV ilişkisini ve PI3K/Akt ve JAK2 sinyal yollarıyla EBV ilişkisini tanımlamıştır[22]. EBV ilişkili mide kanserlerinin PI3K inhibitörlerine duyarlılığı ve bu tedavilere yanıtı daha fazladır.

Bir diğer sonuç ise EBV subtipindeki tümörlerde artmış PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonunun varlığıdır. Bu durumun prognozla ilişkisi henüz netleştirilememiş

olsa da EBV subtipindeki tümörler PD-1/PD-L1, PD-L2 yeni tedaviler için bir hedef olarak görülmektedir[22].



Şekil 2. Mide kanseri moleküler sınıflaması

PI3K/Akt: PIK3CA amplifikasyonu, PI3K/Akt sinyal yolu ile mide karsinogenezinde hücre proliferasyonu ve sağkalımını artırarak rol oynar[22]. “PI3K-Akt-mammalian target of rapamycin (mTOR)” yolu, neoplastik hücrelerde PTEN işlev kaybı ve PIK3CA aktive edici mutasyonları gibi mekanizmalar yoluyla en sık “up”regüle olan sinyal yollarından biridir. PIK3CA amplifikasyonu ve artmış pAkt ekspresyonu mide kanserlerinde kötü prognozla ilişkilidir [23]. Bu değişiklik mide kanserlerinde%4-25 oranlarında izlenmektedir[24].

Aktive edici PIK3CA mutasyonları veya azalmış PTEN ekspresyonu sebebiyle gelişen PI3K aktivasyonu, HER2 tedavisine direnç gelişmesini de indükleyebilmektedir[25].

Çok sayıda preklinik çalışma, kemoterapi ile birlikte PI3K inhibisyonu veya PI3K ile birlikte mTOR inhibisyonunun EBV ilişkili veya PI3K aktive kanserlerde etkili sonuçlar verdiğini göstermiştir [26].

PTEN delesyonu/inaktivasyonu: PTEN, PI3K-Akt-mTOR sinyal yolunda, tümör invazyonunu ve metastazı engelleyici önemli role sahiptir[26]. EBV enfeksiyonu, PI3K-Akt sinyal yolunun aktifleşmesini sağlayan PTEN geni promoter bölgesinde CpG ada metilasyonuna yol açarak PTEN ekspresyon kaybına sebep olur[27]. PTEN kaybı invazyon derinliği, diferansiasyon ve lenf nodülü metastazı ve dolayısıyla klinikopatolojik evreyle korelasyon gösterir[26].

PD-1/PD-L1, PD-L2: PD-1/PD-L1, PD-L2 yolu tümöre karşı yanıtta ki immün kontrol noktalarından biridir. PD-1'in PD-L1 ve PD-L2 ile bağlanması sonucunda, T hücre işlevlerinde azalma ve bunun sonucunda immün sürveyansın baskılanması ve tümör büyümesi gerçekleşir[28, 29].

PD-1 veya PD-L1 ekspresyonunu prognozla ilişkilendiren çalışmalar mevcut olsa da halen PD-L1 pozitifliğinin prognostik bir belirteç olup olamayacağı konusu aydınlatılabilmiş değildir. Günümüzde, nivolumab ve pembrolizumab adındaki anti-PD-1/PD-L1 monoklonal antikoları ileri evre melanom hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların mide kanserli hastalarda kullanılabilirliği henüz araştırma aşamasındadır[26].

JAK2 amplifikasyonu: Janus kinaz 2 (JAK2), Janus non-reseptör tirozin kinazları olarak bilinen bir molekül grubunun üyesidir ve JAK/STAT sinyal yolunu oluşturur. JAK/STAT yolu hücre proliferasyonu, sağkalımı ve diferansiasyonu ile ilişkili sinyalleri düzenler. Ek olarak PI3K/Akt/mTOR sinyal yolunun aktivitesini de uyarabilir[26].

JAK2 downregülasyonunun mide kanseri hücrelerindeki proliferasyonu belirgin şekilde baskıladığı bildirilmiştir. H.pylori cagA proteininin de hücrelerde JAK2 aktivasyonu yoluyla mide karsinogenezine katkı sağladığı düşünülmektedir[26].

2.2.7.2.MSİ tümörler

Mikrosatellit instabilitesi, DNA “mismatch” tamir genlerinin (MMR) inaktivasyonu ile karsinogeneze yol açan genetik değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Mikrosatellit instabil (MSİ) mide kanserlerinin, mikrosatellit stabil (MSS) tümörlerle karşılaştırıldığında klinik ve biyolojik farklılıklar bulunduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalar bu tümörlerin sıklıkla intestinal tipte histoloji gösterdiğini, daha az oranda lenf nodülü metastazı yaptığını ve daha iyi prognoza sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ancak bu tümörlerin histolojik tip ve sağkalım ile ilişkisinin bulunmadığı sonucuna ulaşan çalışmalar da mevcuttur[30, 31]. TCGA çalışmasına göre MSİ tümürlü olgular görece yaşlı ve sıklıkla kadın hastalardır[22]. Mide kanserlerinde MSİ esas olarak MLH1 genindeki promotor metilasyonu ile oluşmaktadır. MMR genlerindeki somatik mutasyonlar, sporadik mide kanserlerinde oldukça nadir olarak gözlenir[5].

MLH1: MutL homolog 1 (MLH1), DNA replikasyonundaki hataları düzelten anahtar bir MMR genidir. MLH1 genindeki işlev kaybı sıklıkla promotor metilasyonu ile oluşur. Bu durum genomda yüksek sayılarda gen mutasyonunun oluşmasına sebep olarak karsinogeneze yol açar. MLH-1 ayrıca hücre siklusu, sinyal iletimi ve apoptozis ile ilişkili moleküllerle de fiziksel ilişki halindedir. Bu etkileşimlerdeki bozulmalar da kanser gelişimine katkı sağlar[26].

ERBB2/ERBB3 mutasyonu: TCGA çalışması ERBB2 ve ERBB3 mutasyonlarını MSİ alt grubu içerisine almıştır[22]. ERBB2 ve ERBB3 amplifikasyonu sıklıkla MSS tümörlerde saptanırken, mutasyonları MSİ tümörlerde görülür. Çalışmalar KRAS mutasyonlarına eşlik eden veya tek başına ERBB2 mutasyonlarıyla meydana gelen ERBB2 sinyal ileti yolundaki değişikliklerin kanser gelişimine yol açabileceğini göstermektedir[32].

TCGA çalışması, ERBB2, ERBB3 ve bunlarla ilişkili molekülleri hedef olarak, ERBB3 mutasyonu ile ortaya çıkan onkogenik sinyallerin blokajını sağlayacak tedavilerin mümkün olabileceğini ortaya koymaktadır.

HER3, HER2 sinyal yolundaki öneminin yanında trastuzumab tedavisine direnç gelişmesinde de önemli role sahiptir. Çeşitli trastuzumab direnç

mekanizmaları içerisinde artmış HER3 aktivasyonu da sayılabilir[33]. Trastuzumab dirençli olgularda pertuzumab ve trastuzumab emtansin (T-DM1) umut verici tedaviler olarak görülmektedir[34].

2.2.7.3. Genomik Stabil Tümörler

EBV ilişkili ya da MSI tümörler dışındaki moleküler gruplar, yaygın somatik kopya sayısı değişiklikleri bulundurup bulundurmamalarına göre ayrılmaktadır. Genomik stabil gruptaki tümörler, mikrosatellit stabil ve genellikle diffüz tipte histoloji gösteren, az sayılarda somatik mutasyonları bulunduran, ancak daha yüksek düzeyde promotor CpG ada metilasyonu içeren tümörlerdir. TCGA çalışması, RHOA ve CDH1 mutasyonları ile CLDN18-ARHGAP26 füzyonlarının bu grupta yoğunlaştığını göstermiştir[22, 26].

CDH1 mutasyonu: CDH1 mutasyonu, herediter diffüz mide kanserinin ana sebebi olan nadir bir germline mutasyondur. İntestinal tip mide kanserleri, preneoplastik evrelerden progresyonla belirli bir sistematik içerisinde gelişirken, diffüz tip mide kanserlerinin CDH1 downregülasyonu sonucunda de novo olarak geliştiği düşünülmektedir[26].

RHOA mutasyonu: Diffüz tip mide kanseri gelişimindeki sürücü mutasyonları araştıran çalışmalar, bu tümörlerde yineleyen RHOA mutasyonlarının bulunduğunu ve bu mutasyonların diffüz tip mide kanserinin progresyonunda onkojenik sürücüler olabileceğini ortaya koymuştur[35].

CLDN18-ARHGAP26 füzyonu: Rho GTPaz aktive edici protein 26 (ARHGAP26), RhoA ve Cdc42 gibi küçük G proteinlerini GDP-bağlı inaktif formlarına dönüştüren bir Rho ailesi regülatör proteindir. ARHGAP26 bir tümör baskılayıcı olarak düşünülmektedir. Bu etkisini RhoA ve Cdc 42 gibi moleküllerin negatif regülasyonu ile göstermektedir. Bu moleküllerin Ras-ilişkili malign transformasyonda rolü bulunmaktadır[26].

CLDN18, claudin ailesinden bir gendir. Claudin ailesi genlerindeki ekspresyon kayıpları birçok malign tümörde, tümör invazyonu ve metastaz ile ilişkili bulunmaktadır. İntestinal fenotipteki mide kanserlerinde gözlenebilen claudin-18a2 downregülasyonu kötü prognoz göstermektedir[26].

2.2.7.4. Kromozomal instabil tümörler

Bu altgrup sıklıkla gastroözofageal bileşke ve kardial yerleşimli tümörlerde bulunmaktadır. Bu altgruptaki HER2, EGFR, VEGFR, c-MET ve FGFR2 gibi moleküller tedavi hedefi oluşturmaktadır. HER2 bugüne kadar mide kanserlerinde onaylanmış tek biyobelirteçtir. HER2 pozitif ileri evre mide kanserlerinde trastuzumab tedavisi kullanılmaktadır. HER2 pozitifliği sıklıkla intestinal fenotiple birlikte dir. EGFR mutasyonları mide kanserlerinde nadirdir; amplifikasyonları ya da artmış ekspresyonu ise düşük veya orta sıklıkta tanımlanmıştır[26]. c-MET aktivasyonu, reseptör tirozin kinaz işlevlerini aktive ederek hücre proliferasyonuna ve antiapoptotik sinyallerin oluşmasına yol açar. Bunlara ek olarak c-MET amplifikasyonu, EGFR, HER2 ve HER3 aktivasyonu yoluyla PI3K/Akt sinyal yolunu etkileyebilir ve böylelikle mide kanserlerinde hedefe yönelik tedavilere direnç gelişmesinde rol alabilir[26, 36].

2.2.8. Tümör İnfiltrate Eden Lenfositler

İmmün sistemin temel görevi, doğuştan ve adaptif immün sistem hücre ve komponentlerinin uyum içerisinde yer aldığı inflamatuvar reaksiyonları başlatarak dokularda homeostazisi sağlamaktır. Neoplastik süreçler, dokuların normal yapısını bozarak, yeni gelişen tümörü yok etmeye yönelik immün yanıtların oluşmasına sebep olur. Tümör ve immün hücre etkileşimi üç fazda gerçekleşir: eliminasyon, denge ve kaçış. İmmün sistem ile neoplastik hücreler arasındaki etkileşim tümör gelişiminin erken aşamalarında başlamaktadır. Bu aşamada kuvvetli şekilde immünojenik olan tümör hücreleri immün sistem tarafından yok edilir. Eliminasyonun tam olmadığı durumda ise neoplastik hücreler immün kontrolden kaçma yeteneği kazanır. Denge ve kaçış aşamalarında, agresif ve daha az immünojenik olan hücreler immün sistemi aşarak yaşamayı sürdürür ve klinik olarak gözlenebilen tümörü oluşturur[37]. Birçok solid tümörde (over, kolon, küçük hücreli dışı akciğer kanserleri, melanom, meme kanseri vd.), yaygın immün infiltrasyonun varlığı iyi klinik sonuçlarla ilişkili bulunmuştur[38-42]. Hastalar sıklıkla kaçış fazında tanı alırken, tümör ve immün hücreler arasındaki etkileşim evrimini sürdürür. İleri hastalık evrelerinde bile hastaların sağkalımını doğrudan veya dolaylı şekilde etkileyen immün parametreler tanımlanmıştır.

Tümör infiltre eden immün hücreler birçok tümörde sıklıkla gözlenmekle birlikte, doğuştan ve adaptif immün yanıtları oluşturan hücrelerin kompozisyonu tümör tipi ve organlara göre farklılıklar göstermektedir. Çalışmalar, çeşitli tümörlerde spesifik immün hücre tiplerinin varlığının klinik yanıtlarla ilişkilerini ortaya koymuştur.

Tümör mikroçevresi, bulundurduğu immün hücre gruplarına göre tümör gelişimini baskılayıcı veya kolaylaştırıcı rol oynayabilir. Örnek olarak, tümör ilişkili nötrofiller ve makrofajlar, pro-tümör (N1 ve M1 hücreler) ve anti-tümör (N2 ve M2 hücreler) işlevleriyle iki gruba ayrılabilir[43, 44]. Dendritik hücreler çeşitli dokularda ve lenf nodlarında bulunan ve antijen sunan hücrelerdir. Dendritik hücre gruplarının bir kısmı immünsupresif etki gösterirken, bir kısmı ise bunun tersi etki gösterir[45]. NK hücreler, MHC proteinleri ekspresyonunu kaybetmiş hücreleri hedef alır. Ayrıca NK hücreler, diğer immün hücrelerin diferansiasyonu, aktivasyonu ve migrasyonunu sağlayan sitokinleri üreterek tümör mikroçevresini şekillendirir[46]. T ve B lenfositler hücre yüzeylerindeki T ve B hücre reseptörleriyle antijene özgü yanıtların oluşmasını sağlar. T lenfositler, farklı işlevler gösteren çeşitli altgruplara farklılaşır. Bazı CD4+ yardımcı T hücreler anti-tümör (Th1), pro-tümör (Th1) ve regülatör işlevler gösterirken; sitotoksik CD8+ T lenfositler çoğunlukla tümör hücrelerini öldürür ve çeşitli sitokinleri salgılar[47]. B lenfositler antijen sunma, antikor ve sitokinleri üretme gibi işlevlerinin yanında immün yanıtları baskılayan regülatör hücreler gibi de davranabilir[48, 49].

2.2.8.1. Mide kanserleri ve TİL

Tümör infiltre eden lenfositler, tümöre karşı yanıtta önemli bir hücresel komponenti oluşturur. T hücre grupları, CD8+ sitotoksik T hücreler, CD4+ yardımcı T hücreler, CD45RO bellek T hücreleri, Foxp3+ regülatör T hücrelerinden oluşur. CD8 sitotoksik T hücreler doğrudan tümör hücrelerini öldürerek aktif bir rol oynar ve genellikle varlığı iyi prognozla ilişkili olarak düşünülür[50, 51]. Öte yandan, IL-17 üreten CD8+ T hücreler (Tc17), inflamasyonun ilerlemesini sağlar ve bu durum kötü prognozla ilişkili olabilmektedir[52]. CD4+ lenfositler, heterojen bir lenfosit grubunu (Th1, Th2, Th3, Th17, Treg, Th22 vd.) oluşturur ve her bir grup farklı sitokinleri salgılayabilir. Th1 hücreler (IFN-gama üreten CD4+ T hücreler) sitotoksik

T hücreleri aktive edebilirken, Th2 hücreler (IL-4 üreten CD4+ T hücreler) hümmoral immüneyi uyarabilir. Th1 aktivasyonu anti-tümör immüneyenin oluşmasında Th2 aktivasyonuna göre daha etkilidir. Bununla uyumlu olarak, postoperatif dönemde periferik kanda yüksek Th1/Th2 oranı bulunduran olguların iyi prognoz gösterdiği saptanmıştır[53]. Dolaşımdaki yüksek Th17 ve Th22 miktarları ise mide kanserlerinde tümör progresyonu ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur[54]. CD4+ regülatör T hücreler efektör T hücreleri baskılayıcı işlev gösterir ve bu hücreler Foxp3 pozitifliği ile karakterizedir. Yüksek orandaki Foxp3+ T hücre varlığı birçok çalışmada kötü prognozla ilişkili bulunmuştur[55-57]. Yüksek oranlardaki CD45RO T hücre infiltrasyonunun ilerlemiş mide karsinom olgularında anlamlı şekilde iyi prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir[58]. CD56+ ve CD57+ altgruplardan oluşan NK benzeri T hücreler immün yanıtların düzenlenmesinde önemli rol oynar. İlerlemiş mide kanserlerinde dolaşımda artmış CD57+ hücre varlığı kötü prognozu göstermektedir[59].

B lenfositlerin esas görevi, antijenlere karşı antikor üretimini sağlamaktır. B hücrelerinin tümör progresyonuyla ilişkili işlevleri daha az bilinmektedir. Ancak bazı çalışmalarda mide kanserli olgularda CD19+ ve CD20+ B hücrelerinin varlığının iyi klinik sonuçlarla ilişkili olduğu bulunmuştur[60].

NK hücreleri doğrudan tümör hücrelerini öldürerek anti-tümör immün yanıtların oluşmasına katkı sağlamaktadır. Tümörde yüksek oranda NK hücreleri bulunduran mide kanserli hastalarda daha uzun sağkalım süreleri saptanmıştır[61].

2.2.9. PD-1/PD-L1 İmmün Kontrol Noktası

PD-1, antijenle karşılaşan T hücrelerin oluşturacağı yanıtları düzenleyen bir dizi koreseptörden biridir. Bu molekülün işlevlerini anlayabilmek için öncelikle kısaca T hücre aktivasyonuna değinmek yerinde olacaktır. T hücrelerin proliferasyonu, efektör veya bellek T hücrelerine dönüşebilmeleri için gerekli temel iki basamak bulunmaktadır. Bunlardan ilki antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki MHC molekülleri ile T hücre reseptörü etkileşimidir. Bu aşamada T hücresi MHC molekülü ile sunulan antijeni tanır. İkinci aşamada ise T hücresi antijene karşı oluşturacağı yanıtın belirlenebilmesi için gerekli doğrulama sinyallerini almalıdır. Bu

sinyaller çeşitli koreseptörler tarafından oluşturulur. Koreseptörler başlıca B7/CD28 ailesi ve TNF/TNF reseptör ailesi olmak üzere iki grupta toplanmaktadır. B7/CD28 ailesi üyeleri genellikle efektör T hücre yanıtını baskılayan sinyaller oluştururken, TNF/TNF reseptör ailesi genellikle T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunu uyaran sinyaller oluşturur. B7/CD28 ailesinin bir üyesi olan PD-1 de inhibitör sinyaller oluşturan koreseptörlerden biridir[29].

PD-1, 2. kromozom üzerindeki Pdccl1 geni tarafından kodlanan 288 aminoasitlik (aa) tip I transmembran proteindir. PD-1, T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, aktive monositler ve dendritik hücrelerde eksprese edilebilir. Dinlenme halindeki T hücrelerde eksprese edilmezken, aktivasyon sonrası ekspresyonu gerçekleşir. T veya B hücre reseptörü ligasyonu, lenfositlerin yüzeyinde PD-1 upregülasyonunu sağlayabilir. Normal reaktif lenfoid dokuda, PD-1 germinal merkez ilişkili T hücrelerinde eksprese edilir. PD-1'in PD-L1 ve PD-L2 olmak üzere iki ligandı bulunmaktadır[29].

PD-L1, 9. kromozom üzerindeki Cd274 geni tarafından kodlanan 290 aa tip I transmembran proteindir. PD-L1 yapısal olarak T ve B hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar, mezenkimal kök hücreler ve mast hücrelerinde eksprese edilir. Ayrıca PD-L1 ekspresyonu birçok non-hematopoetik hücrede bulunabilir ve aktivasyon sonrası birçok hücre tipinde upregülasyonu gözlenebilir. Tip I ve tip II interferonlar (IFN) PD-L1'in upregülasyonunu sağlar[62, 63]. PD-L1 promoter'ını analiz eden çalışmalar, hem yapısal hem de uyarılabilir PD-L1 ekspresyonunun, transkripsiyon başlama bölgesindeki 200-320 bazlık iki IRF-1 (interferon regülatör faktör - 1) bağlama bölgesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir[64]. PD-L1 ekspresyonu için gerekli sinyal yollarını araştıran çalışmalarda, MyD88, TRAF6 ve MEK inhibe edildiğinde PD-L1 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. JAK2 de PD-L1 indüksiyonunda rol almaktadır. PTEN kaybı veya inhibisyonunda, kanserlerde post-transkripsiyonel PD-L1 ekspresyonu artmaktadır[65].

PD-L2, Cd274'e komşu bir gen olan Pdccl1lg2 tarafından kodlanır. PD-L2 ekspresyonu, PD-L1 ekspresyonuna göre daha sınırlı olarak izlenir. PD-L2, uyarılabilir şekilde dendritik hücrelerde, makrofajlarda ve mast hücrelerinde eksprese edilir. PD-L2'nin transkripsiyonel regülasyonu ile ilgili daha az bilgi bulunmaktadır.

Monosit ve makrofajlarda ekspresyonu, GM-CSF, IL-4 ve IFN- γ ile indüklenebilmektedir[29].

PD-1/PD-L1, T hücre yanıtının efektör fazını baskılamaktadır. Bu durum, T hücre aktivasyonunun regülasyonu, T hücre proliferasyonunun inhibisyonu ve aktive T hücrelerinin apoptozise yönlendirilmesi gibi T hücre yanıtlarının çeşitli fazlarında immün toleransın oluşmasına sebep olur. PD-1/PD-L1 regülasyon mekanizması, T hücre reseptörü (TCR) ilişkili sinyal moleküllerinin defosforilasyonu ve T hücrelerine inhibitör sinyallerin aktarımı ile yakından ilişkilidir. TCR sinyali hücre içine Ca²⁺ akışına neden olur. Bunun sonucunda T hücrelerinin aktivasyonu ve diferansiasyonu için gerekli çok sayıda sinyal yolu aktive edilmiş olur[65].

T hücresinde PI3K/Akt sinyal yolunun aktivasyonu ile Glut1 ekspresyonu artar ve bununla birlikte hücre içine glukoz alımı ile glikoliz ve protein sentezinin uyarımı gerçekleşir. PD-1 uyarımı sonrasında PI3K/Akt yolu inhibe edilir. Bu durumda hücrenin hayatta kalmasını sağlayan Bcl-xL gibi proteinlerin inhibisyonu, hücre membranında glukoz taşıyıcılarının ekspresyonunda azalma ve glikolitik enzim aktivitesinde düşüş ile T hücre proliferasyonunun baskılanması gözlenir. IL-2 sekresyonundaki azalma ile CD4 ve CD8⁺ T hücre anejisi meydana gelir. Ayrıca PD-1/PD-L1 etkileşimi, RAS aktivasyonunun inhibisyonu ve MEK/Erk MAP sinyal yolunda baskılanmaya da yol açarak T hücre proliferasyonunun önlenmesini sağlar. GATA-3 ve Tbet gibi T hücre transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu azalır. Tbet, Th1 ve CD8⁺ T hücrelerin diferansiasyonunu sağlayan, inhibitör reseptörleri downregüle eden önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Tümör dokusunda Tbet⁺ lenfositleri artmış olarak bulunduran hastalarda daha uzun sağkalım gözlenmektedir.

PD-1 ayrıca siklin bağımlı kinaz inhibitörleri olan p27kip1 ve p15INK4B gibi molekülleri inhibe ederek hücre siklusunu da etkiler. Bu etki sonucunda T hücrelerinin G1 fazından S fazına geçişi engellenir[65].

PD-1 ve PD-L1 bağlanması, CD8⁺ sitotoksik T hücrelerin proliferasyonu, yaşam süresini ve efektör etkilerini sınırlar, TİL'lerde apoptozise yol açar. Yüksek düzeylerdeki PD-1 ekspresyonu, diğer inhibitör reseptörlerin oluşturduğu sinyallerle birlikte, TİL işlevlerini kısıtlar ve tümör mikroçevresinde sayılarının azalmasına

neden olur. Bunlara ek olarak TİL, malign melanomda tümör mikroçevresinde PD-L1 ekspresyonunun ve triptofan katabolize edici enzim indoleamin-2,3-dioksijenaz (IDO) ve Foxp3+ Treg hücrelerinin artışına neden olur. Bu durum TİL'lerin intrinsik bir negatif geribesleme mekanizması içerisinde yer aldığını göstermektedir. PD-1/PD-L1 etkileşimi IDO düzeyini yükselterek triptofan metabolizmasında meydana getirdiği değişiklikle T hücre aktivasyonunu inhibe eder[65].

PD-1 sinyal yolunun aktivasyonu efektör T hücre işlevlerini baskılamamanın yanı sıra, immünsupresif Treg hücre işlevlerini de artırır. Çalışmalarda, akciğer kanserli hastalarda dolaşımdaki Treg hücre sayısının sağlıklı bireylerdekinin yaklaşık iki katı düzeye ulaştığı ve tümör dokusunda PD-1 eksprese eden Treg'lerin daha yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar PD-1/PD-L1 yolunun Treg indüksiyonunda ve adaptif immünitinin bozulmasında rol oynadığını ortaya koymaktadır[65].

Mide kanserleri açısından literatür incelendiğinde bu konudaki çalışmaların büyük kısmının Uzakdoğu popülasyonunu kapsadığı ve gastrik karsinomlardaki PD-L1 ile PD-1 ekspresyonlarının çoğunlukla kötü prognostik faktör olarak öne sürüldüğü dikkati çekmektedir. Daha az sayıdaki yayında ise PD-L1 ile PD-1 ekspresyonlarının prognozla ilişkisinin olmadığı ya da iyi prognostik faktörler olarak kabul edilebilecekleri bildirilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

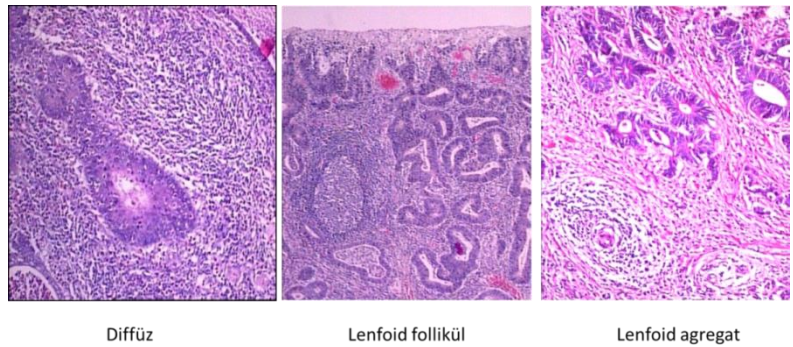
3.1. Olguların Seçimi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında kayıtlı, 2005-2010 yılları arasında mide karsinomu tanısıyla opere edilmiş olguların, parafin bloklarında immünohistokimyasal çalışmalarda kullanılmak üzere yeteri miktarda tümör dokusu bulunduran ve klinik takip bilgilerine ulaşılabilen 220 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olguların 180'inde onkolojik tedavi (kemoterapi) bilgilerine ulaşılmış ve buna göre %82'sinde standart FUFA (Florourasil + Folinik asit) rejiminin uygulandığı anlaşılmıştır.

Olguların yaş ve cinsiyet bilgileri bilgisayar kayıtlı arşiv sisteminden elde edilmiştir. Tümör boyutu, lokalizasyonu ve Borrmann tipi olgulara ait patoloji raporlarındaki tanımlamalar kullanılarak kaydedilmiştir.

Olgulara ait tümör içeren tüm H&E boyalı lamalar tekrar değerlendirilerek, DSÖ 2010 sınıflamasına göre tümörlerin histolojik tipleri, T ve N kategorileri, Lauren histolojik tipleri, tümör grade'leri (1-3 şeklinde), lenfovasküler veya perinöral invazyonun varlığı, tümör tomurcuklanmasının varlığı, tümör büyüme paterni (infiltratif veya ekspansil), stromal reaksiyon şekilleri (stromal desmoplazi, lenfoid stroma, stromal eozinofili veya granülomatöz yanıt), H.pylori varlığı kaydedilmiştir. Olgulara ait metastatik hastalık bilgisi (M kategorisi) klinik kayıtlardan elde edilmiş ve TNM evresi (AJCC/UICC) böylelikle belirlenebilmiştir. Tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) değerlendirilirken, Uluslararası TİL Çalışma Grubunun meme kanserlerinde TİL değerlendirmesi için önerdiği skaladan yararlanılmıştır[42]. Buna göre tümör stromasındaki lenfositlerin oranı bu skala

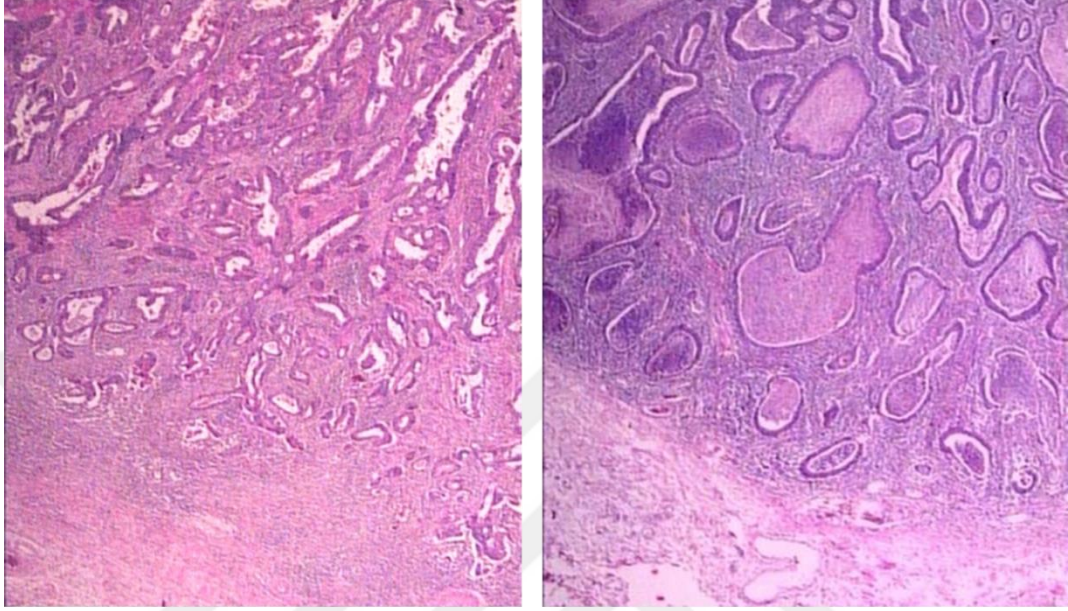
kullanılarak, x20 büyütmede izlenen tümör alanındaki stromal lenfosit yüzdesi belirlenirken, lenfositlerin yoğun olarak bulunduğu üç odak tespit edilmiş ve



Resim 6. Lenfoid infiltrasyon paternleri

bu odaklarda elde edilen yüzde değerlerinin ortalaması alınmıştır.

Ayrıca intratümöral (tümör hücreleri arasına infiltre olan) ve tümör invazyon sınırındaki lenfositler “var/yok” şeklinde değerlendirilmiştir.



İnfiltratif sınır

Eksansil sınır

Resim 7. Tümör büyüme paternleri

3.2. Doku “Array” Bloklarının Hazırlanışı

Doku “array” yöntemi ile aynı parafin blokta birden çok doku örneği birlikte incelenebilmektedir. Çalışmada, bu amaçla, deri biyopsilerinde kullanılmak üzere tasarlanmış “punch” biyopsi aperiye kullanılarak, bir lam üzerinde çok sayıda olgunun temsil edilmesi sağlanmıştır. Olgulara ait orijinal H&E kesitlerinde tümörü temsil edecek uygun alan mikroskopta işaretlendikten sonraher bir olgudan tümör dokusunu temsil edecek ikişer kor olmak üzere 4 mm çaplı doku silindirleri “punch” biyopsi aperiyeyle alınarak yeni parafin bloklar oluşturulmuştur. Oluşturulan bu parafin blokların her birinde 7 farklı olguya ait 14 doku silindiri bulunmaktadır. Silindirler numaralandırılarak belirli bir sıra ile bloklanmıştır. Bu yeni bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler pozitif yüklü lamlar üzerine alınarak immünohistokimyasal incelemeler için hazırlanmıştır. Ayrıca immünohistokimyasal

incelemeler için referans olması amacıyla her bloktan birer H&E boyalı kesit hazırlanmıştır.



Resim 8. Doku "array" bloklarının hazırlanışı

3.3. Doku “Array” Kesitlerinin TİL Değerlendirilmesi Açısından Doku “array” yönteminin validasyonu

Olgularda stromal TİL yüzdesi, olgulara ait önceki tümör içeren H&E boyalı kesitlerde ve ayrıca doku “array” bloklarından hazırlanan H&E kesitlerde değerlendirilerek kaydedilmiş ve doku “array” bloklarının TİL değerlendirmesi açısından uygunluğunun valide edilmesi için her iki yöntemle belirlenen TİL yüzdeleri arasındaki korelasyona bakılmıştır. Tümör stromasındaki lenfosit yüzdesi belirlenirken, x20 objektif ile lenfositlerin yoğun olarak bulunduğu üç odak tespit edilmiş ve bu odaklarda elde edilen yüzde değerlerinin ortalaması alınmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal Boyama

Doku “array” yöntemiyle hazırlanan kesitlerde PD-1 (klon NAT105; dilüsyon 1:300; Cell Marque) ve PD-L1 (klon SP142; dilüsyon 1:100; Spring BioScience) antikoları kullanılarak boyamalar gerçekleştirilmiştir. Boyamalar Ventana otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems; Roche; ABD), Ventana Optiview DAB kit kullanılarak yapılmıştır. Pozitif dış kontrol olarak PD-1 için tonsil, PD-L1 için tonsil ve plasenta dokuları kullanılmıştır.

Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal antikolar

Antikor	Antijen açığa çıkarma yöntemi / Süre	Antikor inkübasyon süresi	Klon	Dilüsyon	Tedarikçi
PD-L1	EDTA / 48 dk	120 dk	SP142	1:100	Spring BioScience
PD-1	EDTA / 48 dk	120 dk	NAT105	1:300	Cell Marque

3.5. İmmünohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi

PD-1 boyalı kesitlerde, PD-1 ile boyanma gösteren stromal lenfositler/immün hücrelerin oranı yüzde olarak kaydedilmiştir. PD-L1 ile tümör hücrelerinde ve stromal lenfositler/immün hücrelerdeki boyanmalar ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği değerlendirilirken, boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi belirtilmiş ve 1-3 şeklinde (“zayıf”, “orta”, “kuvvetli”) boyanmanın şiddeti derecelendirilmiştir. Tümör hücrelerindeki membranöz boyanmalar dikkate alınmış, $\geq 1\%$ boyanma oranları pozitiflik olarak kabul edilmiştir [66, 67]. Stromal lenfositler/immün hücrelerdeki PD-1 ve PD-L1 boyanmaları yüzde olarak

kaydedilmiş ve öncelikle ≥ 1 boyanma oranı pozitif kabul edilmiş, istatistiksel analizi derinleştirmek amacıyla ek olarak > 1 boyanma oranı pozitif kabul edilerek olgular iki aşamalı değerlendirilmiştir.

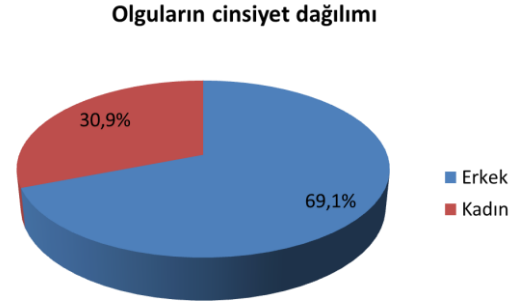
3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz ve hesaplamalar için SPSS 20.0 (Windows) yazılımı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Mann Whitney U, Chi-Square ve Fisher's exact test kullanılarak yapılmıştır. Boyanma yüzdeleri, tümör boyutu vd. gibi sürekli değişkenler arasındaki ilişkilerin belirlenebilmesi için Spearman korelasyon analizi, sağkalımla ilgili tek değişkenli analizlerin yapılması amacıyla da Kaplan-Meier ve log-rank testleri kullanılmıştır. Bu testlerden elde edilen istatistiksel olarak anlamlı sonuçların çok değişkenli analizleri için Cox regresyon analizi yapılarak prognostik parametreler belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

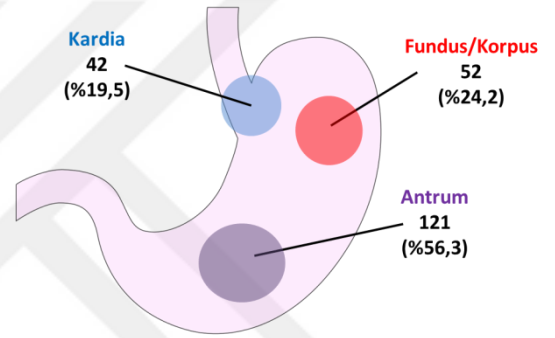
4.1. Olgular

Çalışmaya dahil edilen mide karsinomu tanısı almış 220 olgunun 152'si (%69,1) erkek, 68'i (%30,9) kadındır. Olguların yaş dağılımı 20-86 yaşlar arasında olup, ortalama yaş 57,3' tür (kadın=53,8; erkek=58,8).



Şekil 3. Olguların cinsiyet dağılımı

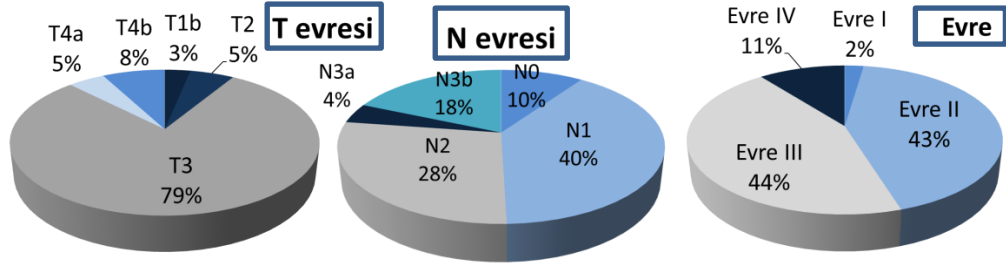
Olguların 215'inde tümörün lokalizasyonu belirlenebilmiştir. Bu 215 olgunun 42'sinde (%19,5) kardia, 52'sinde (%24,2) fundus/korpus, 121'inde (%56,3) antrum yerleşimli tümör bulunmaktadır. Tümör uzun çapı 1 cm ile 15 cm arasında değişmekte olup, ortalama çap 5,7 cm olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. Olguların tümör lokalizasyonlarına göre dağılımı

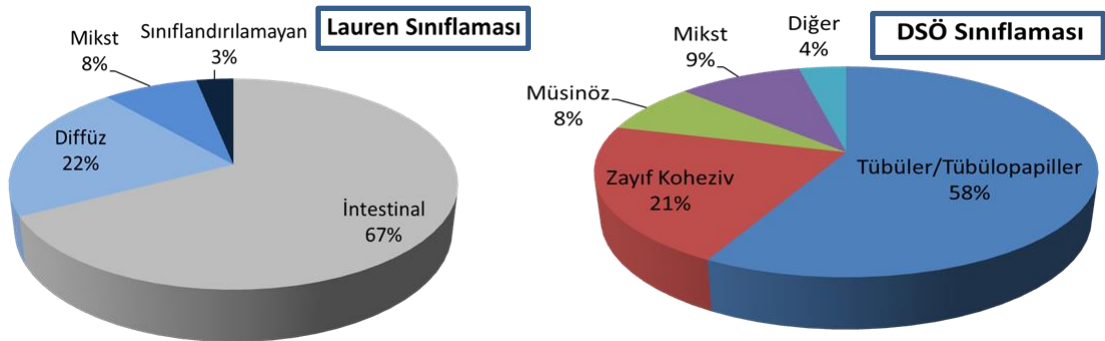
Tümörler Borrmann'a[5] göre makroskopik olarak sınıflandırıldığında, Borrmann tipi belirlenebilen 216 olgunun 6'sı (%2,8) tip 0, 6'sı (%2,8) tip 1, 12'si (%5,6) tip 2, 167'si (%77,3) tip 3, 25'i (%11,6) tip 4 olarak değerlendirilmiştir.

Olgular TNM evrelemesi uygulanarak değerlendirildiğinde, tümörlerin 7'sinin (%3,2) T1b, 12'sinin (%5,5) T2, 172'sinin (%78,9) T3, 10'unun (%4,6) T4a, 17'sinin (%7,8) T4b evresinde olduğu görülmüştür. Metastatik lenf nodülü sayısına göre değerlendirilen N evresi 21 (%9,7) olguda N0, 86 (%39,8) olguda N1, 60 (%27,8) olguda N2, 9 (%4,2) olguda N3a, 40 (%18,5) olguda N3b olarak belirlenmiştir. Olguların 23'ünde (%10,6) uzak organ metastazı (M1) bulunmaktadır. Bu bulgularla klinik evrelemeye göre, 1 (%0,4) olgu Evre IA, 4 (%1,9) olgu Evre IB, 23 (%10,6) olgu Evre IIA, 70 (%32,3) olgu Evre IIB, 39 (%18) olgu Evre IIIA, 48 (%22,1) olgu Evre IIIB, 9 (%4,1) olgu Evre IIIC, 23 (%10,6) olgu Evre IV kategorisine girmektedir.



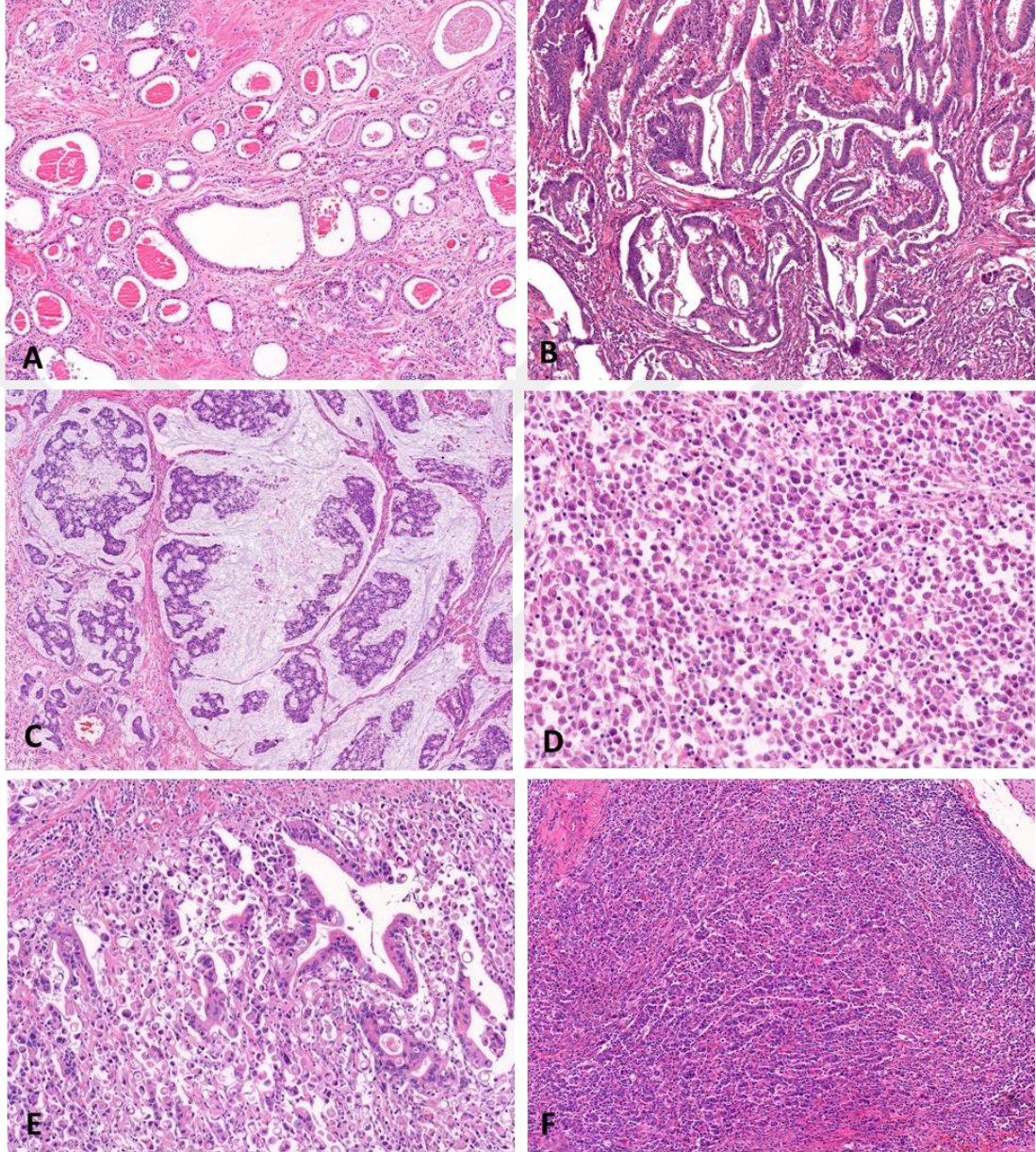
Şekil 5. Olguların T, N kategorileri ve evre gruplarına göre dağılımı

Tümörler histopatolojik özellikleriyle değerlendirildiğinde, Lauren sınıflamasına[5] göre 148 (%67,3) olgu intestinal, 47 (%21,4) olgu diffüz, 18 (%8,2) olgu mikst tümör grubuna girmekte, 7'si (%3,2) sınıflandırılmayan kategorisindedir. DSÖ 2010 sınıflamasına[5] göre 127 (%57,7) olgu tübüler veya tübülopapiller, 47 (%21,4) olgu zayıf koheziv, 17 (%7,7) olgu müsinöz adenokarsinom; 21 (%9,5) olgu mikst karsinom, 3 (%1,4) olgu adenoskuamöz karsinom, 2 olgu (%1) nöroendokrin karsinom, 1 (%0,4) olgu mikst adenonöroendokrin karsinom ("MANEC") ve 1 (%0,4) olgu andiferansiye karsinom olarak sınıflandırılmış, 1 olgu ise (%0,4) midenin pleomorfik dev hücreli karsinomu olarak değerlendirilmiştir. Mikst karsinomların 14'ünde (%6,7) tübüler/tübülopapiller ve zayıf koheziv, 3'ünde (%1,4) tübüler/tübülopapiller ve müsinöz, 2'sinde (%1) müsinöz ve zayıf koheziv tipte karsinom komponentleri birlikte izlenmiş, 1 (%0,4) olguda tübüler, müsinöz ve zayıf koheziv tipte morfolojik özellikler bir arada saptanmıştır. Tümörlerin 4'ü (%1,8) grade 1, 47'si (%21,4) grade 2, 169'u (%76,8) grade 3 özelliğindedir.

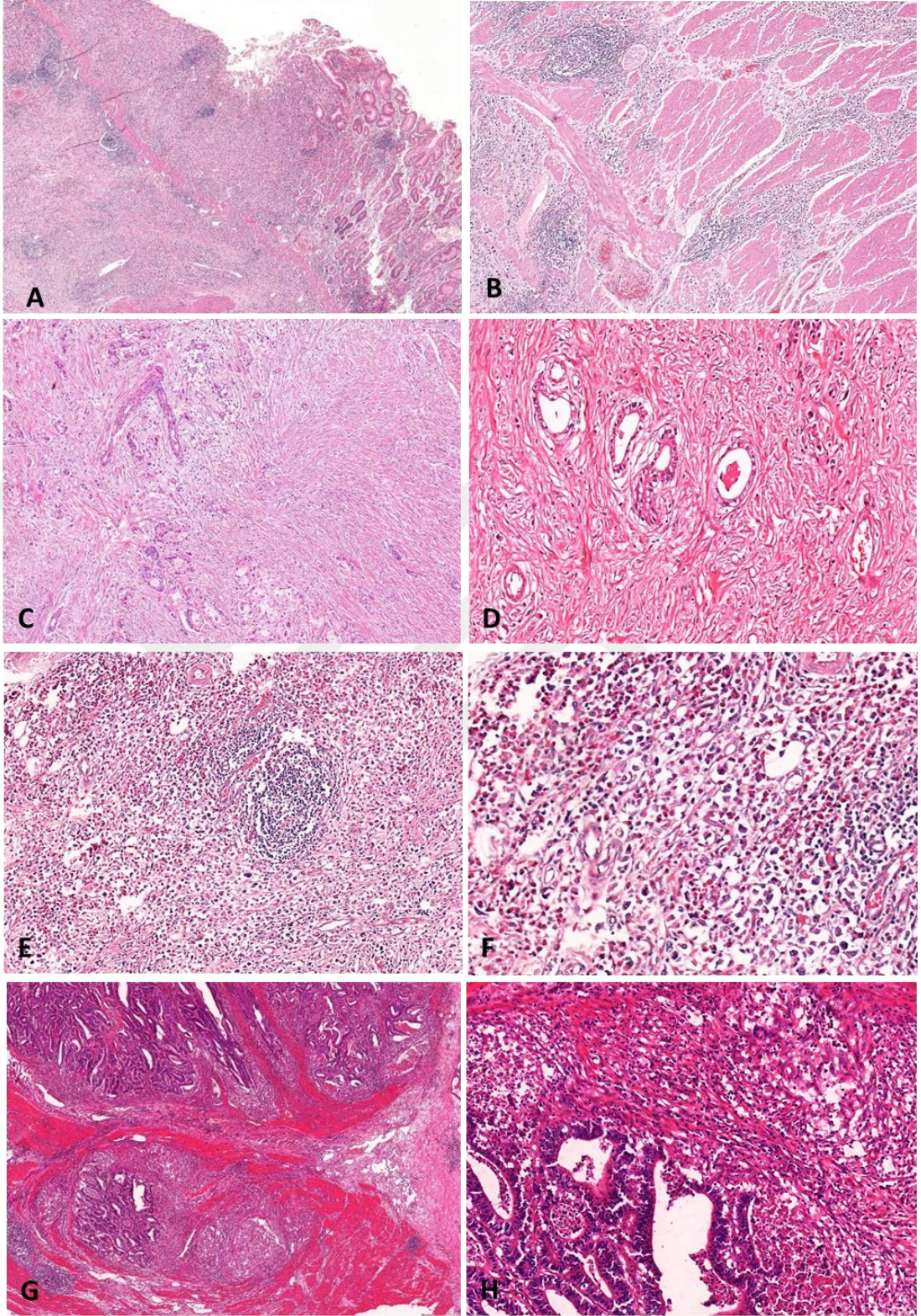


Şekil 6. Olguların Lauren ve DSÖ histolojik alttiplerine göre dağılımı

Olguların 163'ünde (%74,1) lenfovasküler invazyon, 144'ünde (%65,5) perinöral invazyon mevcuttur. Tümör tomurcuklanması 37 (%16,8) olguda izlenmiştir.



Resim 9. DSÖ (2010) sınıflamasına göre histolojik alttipler. A. Tübüler; B. Tübülopapiller; C. Müsinöz; D. Zayıf koheziv; E. Mikst (Tübüler+taşlı yüzük hücreli); F. Lenfoid stroma gösteren.



Resim 10. Stromal reaksiyon paternleri. A-B panelinde lenfoid agregat ve foliküller; C-D panelinde stromal desmoplazi; E-F panelinde eozinofiller; G-H panelinde granülomatöz reaksiyon görülmektedir.

Tümörlerdeki stromal reaksiyonlara bakıldığında, 198 (%90) olguda stromal desmoplazi, 17 (%7,7) olguda belirgin lenfoid stroma, 4 (%1,9) olguda stromal eozinofili ve 1 olguda (%0,4) granülomatöz yanıt varlığı gözlenmiştir. Olguların 208'inde (%94,5) tümörler infiltratif büyüme paterni sergilerken, 12'si (%5,5) ekspansil büyüme göstermiştir.

Tüm olgular arasında H.pylori pozitifliği gösteren olguların sayısı 67'dir (%30,5).

4.2. İmmünohistokimyasal bulgular

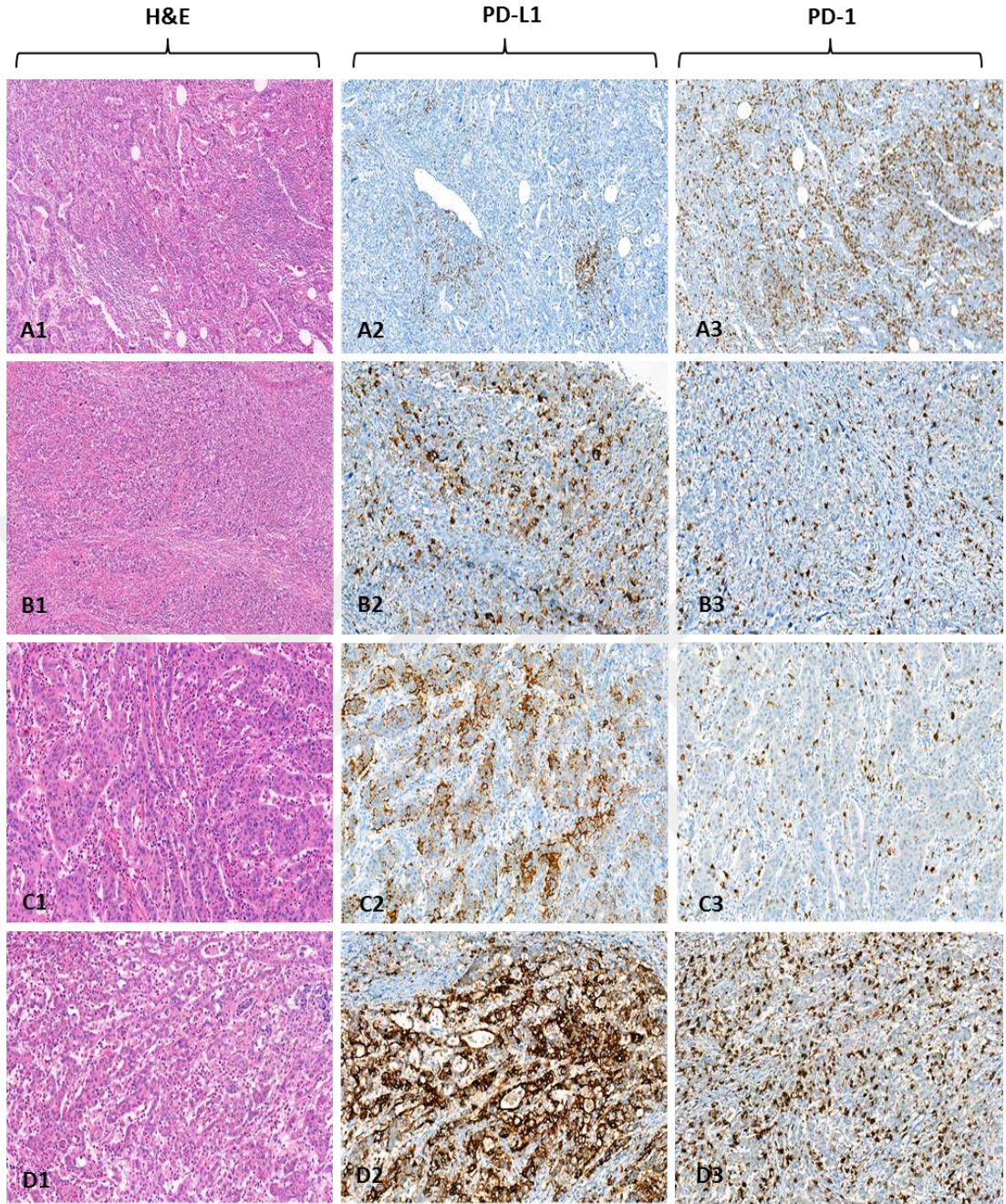
4.2.1. PD-L1 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Parametrelerin İlişkisi

PD-L1 pozitifliği membranöz boyanma şeklinde olup, tümör hücrelerinde ve immün hücrelerde ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Tümör hücrelerinde membranöz PD-L1 ekspresyonu 220 olgunun 30'unda (%13,6) saptanmıştır. Olgularda tümör hücrelerindeki boyanma yüzdeleri %1 ile %80 (medyan %5), PD-L1 boyanma şiddeti ise 1-3 (medyan 2) arasında değişmektedir.

İmmün hücrelerde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde, PD-L1 boyanması 220 olgunun 200'ünde (%90,9) saptanmıştır. Ancak immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde bu oran %45 (99/220) olarak bulunmuştur. İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri %1 ile %30 arasında değişmektedir (ortalama %5,01±6,17; medyan %1).

Yaş Dağılımı: PD-L1 pozitif olgularda yaş aralığı 36 ile 80 yaş arasındadır ve ortalama yaş 60,13±11,48 (medyan 61)'dir. Yaş dağılımı açısından PD-L1 negatif olgularla (ortalama yaş 56,83±11,45; medyan 56) karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,143). Tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti ile yaş dağılımları arasında da ilişki saptanmamıştır (sırasıyla p=0,826 ve p=0,579).



Resim 11. İmmünohistokimyasal boyamalara örnekler. Panelde 1 numaralı kolon olguların H&E görünümünü, 2 numaralı kolon PD-L1, 3 numaralı kolon PD-1 ekspresyonlarını vermektedir. Buna göre olgu A'da PD-L1 immün hücrelerde pozitifken, olgu B, C, D'de tümör hücrelerinde giderek artan oranda membranöz pozitiflik göstermektedir. Olgularda değişen oranlarda PD-1 ekspresyonları görülmektedir.

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren olgularda yaş aralığı 20 ile 86 yaş arasındadır ve ortalama yaş $57,88 \pm 11,43$ (medyan 57)'tür. İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması göstermeyen olgularla (ortalama yaş $51,3 \pm 10,54$; medyan 48)

karşılaştırıldığında yaş ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (p=0,014). Ancak immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yaş ortalamaları arasında fark gözlenmemiştir (p=0,21). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi/şiddeti ile yaş dağılımları arasında ilişki saptanmamıştır (p=0,939).

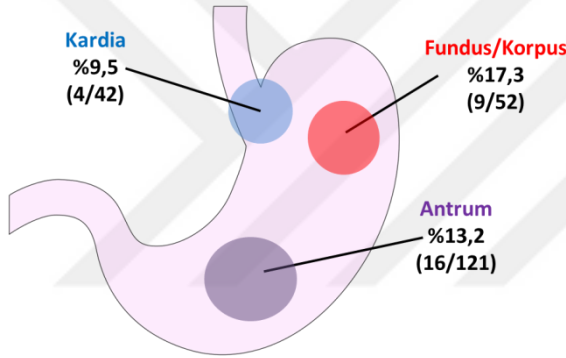
Cinsiyet: PD-L1 pozitifliği gösteren 30 olgunun 23'ü erkek, 7'si kadındır. Buna göre PD-L1 pozitifliği erkeklerde %15,1 (23/152) oranında, kadınlarda ise %10,3 (7/68) oranında saptanmıştır. Erkek ve kadın hastalar arasında tümördeki PD-L1 pozitiflik oranı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,334). Tümör hücrelerindeki boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında, boyanma yüzdesi erkeklerde ortalama %13,65±18,67 (medyan %5), kadınlarda ortalama %16,14±23,90 (medyan %5) olarak bulunmuştur (p=0,501). Boyanma şiddetleri açısından da erkek ve kadın olgular arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,886).

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren 200 olgunun 137'si erkek, 63'ü kadındır. Buna göre immün hücrelerde PD-L1 boyanması erkeklerde %90,1 (137/152) olguda, kadınlarda ise %92,6 (63/68) olguda saptanmıştır. Erkek ve kadın hastalar arasında immün hücrelerde PD-L1 boyanma oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,549). İmmün hücrelerdeki boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında, boyanma yüzdesi erkeklerde ortalama %5,24±6,63 (medyan %1), kadınlarda ortalama %4,52±5,03 (medyan %1) olarak bulunmuştur (p=0,822). İmmün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde de cinsiyet grupları arasında boyanma sıklığı açısından fark gözlenmemiştir (p=0,319)

Tablo 4. Cinsiyet gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Cinsiyet	220													
Erkek	152	69,1	23	15,1	129	84,9	137	90,1	15	9,9	65	42,8	87	57,2
Kadın	68	30,9	7	10,3	61	89,7	63	92,6	5	7,4	34	50	34	50

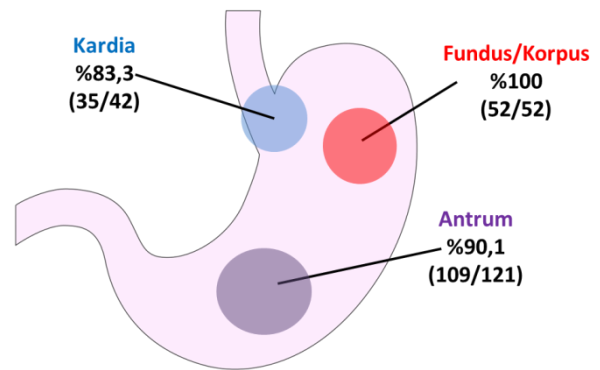
Tümör Lokalizasyonu: Kardia yerleşimli tümörlerde %9,5 (4/42), fundus/korpus yerleşimli tümörlerde %17,3 (9/52), antrum yerleşimli tümörlerde %13,2 (16/121) oranında PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. Bu oranlar arasında



istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,543). Tümör hücrelerindeki boyanma yüzdeleri kardia lokalizasyonlu tümörlerde ortalama $10 \pm 7,07$ (medyan %7,5), fundus/korpus lokalizasyonlu tümörlerde ortalama $14,56 \pm 24,86$

(medyan %5), antrum lokalizasyonlu tümörlerde ortalama $15,93 \pm 19,56$ (medyan %5)'dir (p=0,911). Tümör lokalizasyonu ve boyanma şiddeti arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,694).

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren olguların oranı kardia yerleşimli tümörlerde %83,3 (35/42), fundus/korpus yerleşimli tümörlerde %100 (52/52), antrum yerleşimli tümörlerde %90,1 (109/121)'dir. Bu oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,005). Buna göre



Şekil 8. Lokalizasyona göre immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği

fundus/korpus yerleşimli tümörlerde, immün hücrelerde PD-L1 boyanması görülme sıklığı, kardia ve antrum yerleşimli tümörlerdekine göre daha yüksektir ($p<0,001$ ve $p<0,05$). Ancak immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde böyle bir fark saptanmamıştır ($p=0,797$). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından, farklı lokalizasyonlu tümör grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,751$).

Tablo 5. Tümör lokalizasyonuna göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1 ($\geq\%1$)				İmmün Hücrelerde PD-L1 ($>\%1$)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Tümör	215													
Lokalizasyonu														
Kardia	42	19,5	4	9,5	38	90,5	35	83,3	7	16,7	17	40,5	25	59,5
Fundus/Korpus	52	24,2	9	17,3	43	82,7	52	100	0	0	24	46,2	28	53,8
Antrum	121	56,3	16	13,2	105	86,8	109	90,1	12	8,8	56	46,3	65	53,7

Tümör uzun çapı: Tümör uzun çapı, PD-L1 pozitif olgularda 2,5 cm ile 14 cm arasında değişmekte olup, ortalama $6,48\pm 2,71$ cm (medyan 6,25 cm)'dir. Tümör boyutu açısından PD-L1 negatif olgularla (ortalama $5,62\pm 2,49$ cm; medyan 5 cm) karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,105$). Tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti ile de tümör boyutu arasında ilişki saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,921$ ve $p=0,662$).

Tümör boyutu, immün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren olgularda 1 cm ile 15 cm arasında değişmekte olup, ortalama $5,64\pm 2,45$ cm (medyan 5,3 cm)'dir. Tümör boyutu açısından, immün hücrelerde PD-L1 boyanması göstermeyen olgularla (ortalama $6,8\pm 3,1$ cm; medyan 6,5 cm) karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,119$). Benzer şekilde immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde de bu açıdan bir fark gözlenmemiştir ($p=0,57$). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi ile tümör boyutu arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,183$).

Borrmann Sınıflaması: Borrmann tip 1 tümörlerde %33,3 (2/6), tip 2 tümörlerde %16,7 (2/12), tip 3 tümörlerde %13,2 (22/167), tip 4 tümörlerde %16 (4/25) oranında PD-L1 pozitifliği gözlenmiştir. Saptanan bu oranlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,493). Borrmann tip 0 olarak sınıflanan olgularda (6 olgu) tümör hücrelerinde PD-L1 boyanmasına rastlanmamıştır. Borrmann grupları arasında, boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti açısından da anlamlı fark bulunmamaktadır (sırasıyla p=0,055 ve p=0,350).

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren olguların oranı Borrmann tip 0 tümörlerde %83,3 (5/6), tip 1 tümörlerde %100 (6/6), tip 2 tümörlerde %91,7 (11/12), tip 3 tümörlerde %91,6 (153/167), tip 4 tümörlerde %84 (21/25)'tür. Saptanan bu oranlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,486). Ancak immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, Borrmann tip 2 ve tip 3 (ülser özellikteki lezyonlar) tümörlerde immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (%41,7 ve %49,7; p=0,037). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da Borrmann grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,099).

Tablo 6. Borrmann gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Borrmann	216													
0	6	2,8	0	0	6	100	5	83,3	1	16,7	0	0	6	100
1	6	2,8	2	33,3	4	66,7	6	100	0	0	2	33,3	4	66,7
2	12	5,6	2	16,7	10	83,3	11	91,7	1	8,3	5	41,7	7	58,3
3	167	77,3	22	13,2	145	86,8	153	91,6	14	8,4	83	49,7	84	50,3
4	25	11,6	4	16	21	84	21	84	4	16	28	28	18	72

TNM Evrelemesi: Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği gösteren olguların 1'i T2, 25'i T3, 3'ü T4a, 1'i T4b kategorisindedir. T1 kategorisindeki tümörler içerisinde PD-L1 pozitifliğine rastlanmamıştır. Her bir T kategorisi içerisindeki PD-L1 pozitif tümörlerin oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,409)

(Tablo 4). T kategorileri arasında tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından da fark bulunmamaktadır (p=0,512). Gruplardaki olgu sayılarının az oluşu, boyanma şiddeti açısından değerlendirme olanağı vermemiştir.

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren olguların 6'sı T1b, 12'si T2, 154'ü T3, 10'u T4a, 17'si T4b kategorisindedir. Her bir T kategorisi içerisindeki immün hücrelerde PD-L1 boyanması gösteren tümörlerin oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,42) (Tablo 4). T kategorileri arasında, immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından da fark bulunmamaktadır (p=0,193).

Tablo 7. T kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)					
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
T	218													
Kategorisi														
T1a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T1b	7	3,2	0	0	7	100	6	85,7	1	14,3	1	14,3	6	85,7
T2	12	5,5	1	8,3	11	91,7	12	100	0	0	7	58,3	5	41,7
T3	172	78,2	25	14,5	147	85,5	154	89,5	18	10,5	78	45,3	94	54,7
T4a	10	4,6	3	30	7	70	10	100	0	0	5	50	5	50
T4b	17	7,8	1	5,9	16	94,1	17	100	0	0	7	41,2	10	58,8

N0 olguların %28,6'sı (6/21), N1 olguların %14'ü (12/86), N2 olguların %11,7'si (7/60), N3b olguların %10'u (4/40) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği göstermektedir. Bu oranlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,19) (Tablo 5). N3a kategorisinde PD-L1 pozitif olguya rastlanmamıştır. N kategorileri arasında tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından fark izlenmemiştir (sırasıyla p=0.464 ve p=0.55).

N0 olguların %95,2'si (20/21), N1 olguların %89,5'i (77/86), N2 olguların %88,3'ü (53/60), N3a olguların %88,9'u (8/9), N3b olguların %97,5'i (39/40) immün hücrelerde PD-L1 boyanması göstermektedir. N kategorileri arasında immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından da fark izlenmemiştir (p=0.591).

Tablo 8. N kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

N Kategorisi	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
N	220													
N0	21	9,7	6	28,6	15	71,4	20	95,2	1	4,8	10	47,6	11	52,4
N1	86	39,8	12	14	74	86	77	89,5	9	10,5	42	48,8	44	51,2
N2	60	27,8	7	11,7	53	88,3	53	88,3	7	11,7	22	36,7	38	63,3
N3a	9	4,2	0	0	9	100	8	88,9	1	11,1	5	55,6	4	44,4
N3b	40	18,5	4	10	36	90	39	97,5	1	2,5	17	42,5	23	57,5

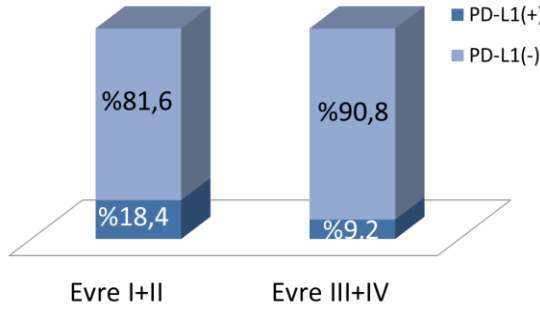
Uzak organ metastazı bulunduran (M1) olguların %8,7'sinde (2/23), bulundurmayan (M0) olguların %13,9'unda (27/194) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. Buna göre M0 ve M1 olgular arasında tümördeki PD-L1 pozitifliği açısından anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,747). Aynı şekilde M0 ve M1 olgular arasında PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,709 ve p=1.00)

Uzak organ metastazı bulunduran (M1) olguların %82,6'sında (19/23), bulundurmayan (M0) olguların %92,3'ünde (179/194) immün hücrelerde PD-L1 boyanması saptanmıştır. Buna göre M0 ve M1 olgular arasında immün hücrelerdeki PD-L1 boyanması açısından anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,126). Benzer şekilde M0 ve M1 olgular arasında, immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından da anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,17).

Tablo 9. M kategorilerine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

M Kategorisi	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
M	217													
M0	194	89,4	27	13,9	167	86,1	179	92,3	15	7,7	90	46,4	104	53,6
M1	23	10,6	2	8,7	21	91,3	19	82,6	4	17,4	7	30,4	16	69,6

PD-L1 pozitif olguların 5'i Evre IIA, 13'ü Evre IIB, 4'ü Evre IIIA, 5'i Evre IIIB, 2'si Evre IV olarak sınıflanmıştır. Olgular düşük (Evre I+II) ve yüksek evre (Evre III+IV) olarak karşılaştırıldığında, düşük evreli olguların (n=18/98; %18,4), yüksek evreli olgulardan (n=11/119; %9,2) anlamlı olarak daha yüksek oranda PD-L1 pozitifliği bulundurduğu görülmüştür (p=0,049). Klinik evre grupları arasında tümör hücrelerindeki boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,912 ve p=0,317).



Şekil 9. Evre gruplarında, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği

İmmün hücrelerde PD-L1

boyanması gösteren olguların 1'i Evre IA, 4'ü Evre IB, 21'i Evre IIA, 62'si Evre IIB, 36'sı Evre IIIA, 46'sı Evre IIIB, 9'u Evre IIIC, 19'u Evre IV olarak sınıflanmıştır. Olgular düşük (Evre I+II) ve yüksek evre (Evre III+IV) olarak karşılaştırıldığında, düşük evreli olguların %89,8'inin (88/98), yüksek

evreli olguların %92,4'ünün (110/119) immün hücrelerde PD-L1 boyanması bulundurduğu görülmüştür. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p=0,493). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da klinik evre grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0,05).

İmmün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki PD-L1 boyanmaları pozitif kabul edilerek yapılan analizlerde T, N, M ve klinik evre grupları arasında, immün hücrelerde PD-L1 pozitiflik sıklığı açısından fark saptanmamıştır (p>0,05).

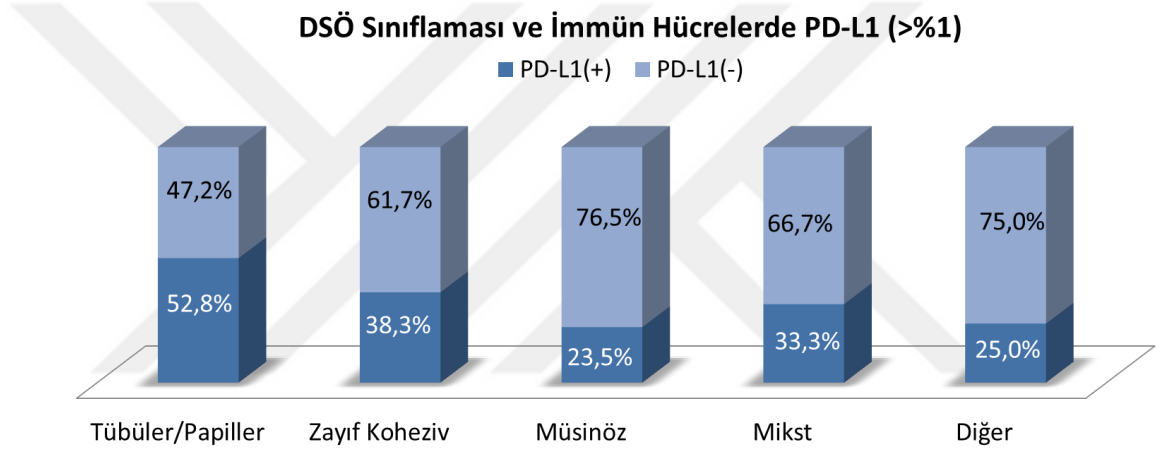
Tablo 10. Evre gruplarına göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Evre	217													
Evre I+II	98	45,2	18	18,4	80	81,6	88	89,8	10	10,2	48	48,9	50	51,1
Evre III+IV	119	54,8	11	9,2	108	90,8	110	92,4	9	7,6	49	41,2	70	58,8

Histopatolojik alttipler-Lauren[5]: Lauren sınıflamasına göre intestinal tipteki tümörlerin %15,5'inde (23/148), diffüz tipteki tümörlerin %10,6'sında (5/47), mikst tipteki tümörlerin %5,6'sında (1/18) tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gözlenmiştir. PD-L1 pozitif olgulardan biri adenoskuamöz karsinom özelliğindedir ve bu olgu Lauren sınıflamasına göre sınıflandırılmayan kategoride değerlendirilmiştir. Saptanan bu oranlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,717). Gruplardaki olgu sayıları yetersiz olduğundan boyanma yüzde ve şiddetleri açısından karşılaştırmalar yapılamamıştır.

İntestinal tipteki tümörlerin %91,9'unda (136/148), diffüz tipteki tümörlerin %85,1'inde (40/47), mikst tipteki tümörlerin %94,4'ünde (17/18) immün hücrelerde PD-L1 boyanması gözlenmiştir. Lauren sınıflamasına göre sınıflandırılmayan kategoride değerlendirilen 7 olgunun tümünde immün hücrelerde PD-L1 boyanması mevcuttur. Saptanan bu oranlar arasında ve ayrıca %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmaların pozitif kabul edildiği durumda yapılan analizlerde de anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,929 ve p=0,715). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da Lauren grupları arasında fark gözlenmemiştir (p=0,391).

Histopatolojik alttipler-DSÖ[5]: DSÖ sınıflamasına göre olgular histolojik tiplere ayrıldığında, tübüler/tübülopapiller karsinomların %15,7'sinde (20/127), müsinöz karsinomların %17,6'sında (3/17), zayıf koheziv karsinomların %10,6'sında (5/47) PD-L1 pozitifliği gözlenmiştir. PD-L1 pozitif diğer olgulardan biri adenoskuamöz karsinom, bir diğeri ise mikst karsinom (tübüler ve zayıf koheziv karsinom komponentleri içeren) özelliğindedir. Bu histolojik tipler arasında tümör hücrelerindeki PD-L1 pozitifliği görülme oranları açısından anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,723). DSÖ histolojik tipi ile tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti arasında anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla p=0,184 ve p=0,24).



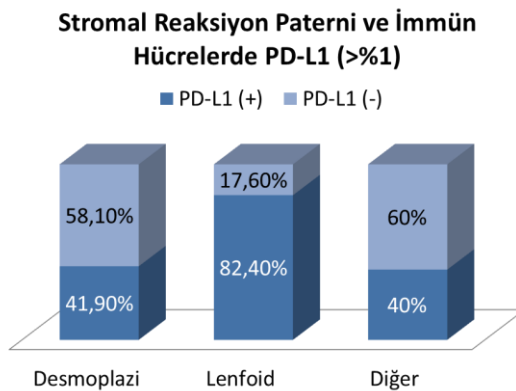
Şekil 10. DSÖ sınıflaması ve immün hücrelerde PD-L1

Tübüler/tübülopapiller karsinomların %92,9'unda (118/127), müsinöz karsinomların %82,4'ünde (14/17), zayıf koheziv karsinomların %89,4'ünde (42/47) immün hücrelerde PD-L1 boyanması gözlenmiştir (mikst karsinomlar ve diğer gruplar için bkz. Tablo 8). Bu histolojik tipler arasında, immün hücrelerdeki PD-L1 boyanması görülme sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05). Ancak immün hücrelerde %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde, tübüler/tübülopapiller karsinomlarda sıklık (%52,8) diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur (p=0,024). Boyanma yüzdeleri açısından bakıldığında, tübüler/tübülopapiller karsinomlarda immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdelерinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,05).

Tablo 11. Histolojik tümör alttiplerine (DSÖ 2010) göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde PD-L1		İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)							
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
DSÖ Sınıflaması	220													
Tübüler/	127	57,7	20	15,7	107	84,3	118	92,9	9	7,1	67	52,8	60	47,2
Tübülopapiller														
Müsinöz	17	7,7	3	17,6	14	82,4	14	82,4	3	17,6	4	23,5	13	76,5
Zayıf Koheziv	47	21,4	5	10,6	42	89,4	42	89,4	5	10,6	18	38,3	29	61,7
Mikst	21	9,5	1	4,8	20	95,2	18	85,7	3	14,3	7	33,3	14	66,7
Diğer	8	3,6	1	12,5	7	87,5	8	100	0	0	2	25	6	75

Stromal Reaksiyon: Stromal desmoplazi gösteren olguların %12,6'sında (25/198), diğer tip stromal reaksiyonları bulunduran olguların (4 olguda lenfoid stroma ve 1 olguda granümatöz yanıt olmak üzere) %22,7'sinde (5/22) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği gözlenmiştir (p=0,194). Bu gruplar arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,416 ve p=0,914).



Şekil 11. Stromal reaksiyon paterni ve immün hücrelerde PD-L1

%1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, stromal desmoplazi gösteren olgularda immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği (%41,9) diğer

Stromal desmoplazi gösteren olguların %89,9'unda (178/198), diğer stromal reaksiyonları bulunduran olguların (17 olguda lenfoid stroma, 4 olguda stromal eozinofili, 1 olguda granümatöz yanıt olmak üzere) tamamında immün hücrelerde PD-L1 boyanması gözlenmiştir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı olmamakla birlikte (p=0,506), immün hücrelerde

gruplara göre daha düşük oranda saptanmıştır (p=0,006). Stromal desmoplazi gösteren olgularda immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri de diğer olgulara göre daha düşük bulunmuştur (p=0,003).

Tablo 12. Stromal reaksiyon tipine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde						İmmün Hücrelerde				İmmün Hücrelerde			
	PD-L1						PD-L1				PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Stromal Reaksiyon	220													
Stromal	198	90	25	12,6	173	87,4	178	89,9	20	10,1	83	41,9	115	58,1
Desmoplazi														
Lenfoid	17	7,7	4	23,5	13	76,5	17	100	0	0	14	82,4	3	17,6
Stroma														
Diğer	5	2,3	1	20	4	80	5	100	0	0	2	40	3	60

Tümör Grade'i: Tümör grade'i açısından değerlendirildiğinde grade 2 tümörlerin %8,5'i (4/47), grade 3 tümörlerin %15,4'ü (26/169) PD-L1 pozitifdir. Grade 1 olguların (4 olgu) hiçbirinde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliğine rastlanmamıştır. Bu oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,445). Grade grupları arasında tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark bulunmamaktadır (sırasıyla p=0,077 ve p=0,93).

Grade 1 tümörlerin %75'i (3/4), grade 2 tümörlerin %91,5'i (43/47), grade 3 tümörlerin %91,1'i (154/169) immün hücrelerde PD-L1 boyanması bulundurmaktadır. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,424 ve p=0,951). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da grade grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,936).

Tablo 13. Tümör grade'ine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

Grade	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
220														
1	4	1,8	0	0	4	100	3	75	1	25	2	50	2	50
2	47	21,4	4	8,5	43	91,5	43	91,5	4	8,5	22	46,8	25	53,2
3	169	76,8	26	15,4	143	84,6	154	91,1	15	8,9	75	44,4	94	55,6

Tümör Tomurcuklanması (“Budding”): Tümör tomurcuklanması bulunduran olguların %16,2’si (6/37), bulandırmayan olguların %13,1’i (24/183) tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu göstermektedir. Bu oranlar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır. Ayrıca bu iki grup arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,705 ve p=0,494).

Tümör tomurcuklanması bulunduran olguların %89,2’si (33/37), bulandırmayan olguların %91,3’ü (167/183) immün hücrelerde PD-L1 boyanması göstermektedir. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1’den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,753 ve p=0,395). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,13).

Tablo 14. Tümör tomurcuklanması ve PD-L1 boyanma oranları

Tümör Tomurcuklanması	Tümör Hücrelerinde PD-L1						İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
220														
Var	37	16,8	6	16,2	31	83,8	33	89,2	4	10,8	19	51,4	18	48,6
Yok	183	83,2	24	13,1	159	86,9	167	91,3	16	8,7	80	43,7	103	56,3

Lenfovasküler İnvazyon (LVİ): LVİ bulunduran olguların %14,1'inde (23/163), bulandırmayan olguların %12,3'ünde (7/57) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifdir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p=0,729). Bu iki grup arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,886 ve p=0,924).

LVİ bulunduran olguların %90,8'inde (148/163), bulandırmayan olguların %91,2'sinde (52/57) immün hücrelerde PD-L1 boyanması saptanmıştır. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,922 ve p=0,61). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,984).

Tablo 15. Lenfovasküler invazyon ve PD-L1 boyanma oranları

	Toplam		Tümör Hücrelerinde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1				İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)			
			Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)
Lenfovasküler İnvazyon	220													
Var	163	74,1	23	14,1	140	85,9	148	90,8	15	9,2	75	46	88	54
Yok	57	25,9	7	12,3	50	87,7	52	91,2	5	8,8	24	42,1	33	57,9

Perinöral İnvazyon (PNİ): PNİ bulunduran olguların %11,8'inde (17/144), bulandırmayan olguların %17,1'inde (13/76) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifdir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p=0,276). Bu iki grup arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,837 ve p=0,094).

PNİ bulunduran olguların %90,3'ünde (130/144), bulandırmayan olguların %92,1'inde (70/76) immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği bulunmaktadır. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark

bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,654$ ve $p=0,955$). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,901$).

Tablo 16. Perinöral invazyon ve PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde		İmmün Hücrelerde				İmmün Hücrelerde							
	PD-L1		PD-L1				PD-L1 (>%1)							
	Toplam	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif					
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Perinöral İnvazyon	220													
Var	144	65,5	17	11,8	127	88,2	130	90,3	14	9,7	65	45,1	79	54,9
Yok	76	34,5	13	17,1	63	82,9	70	92,1	6	7,9	34	44,7	42	55,3

İnvazyon Paterni: İnfiltratif büyüme paterni gösteren tümörlerin %13,5'inde (28/208), ekspansil büyüme paterni gösteren tümörlerin %16,7'sinde (2/12) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifdir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0,67$). Bu iki grup arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi açısından da anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,901$). Gruplardaki olgu sayıları yeterli olmadığından boyanma şiddeti açısından karşılaştırma yapılamamıştır.

İnfiltratif büyüme paterni gösteren tümörlerin %90,9'unda (189/208), ekspansil büyüme paterni gösteren tümörlerin %91,7'sinde (11/12) immün hücrelerde PD-L1 boyanması mevcuttur. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,925$ ve $p=0,811$). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,958$).

Tablo 17. İnvazyon paternine göre olguların PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde		İmmün Hücrelerde				İmmün Hücrelerde							
	PD-L1		PD-L1		PD-L1		PD-L1 (>%1)		PD-L1 (>%1)					
	Toplam	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif					
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
İnvazyon Paterni	220													
İnfiltratif	208	94,5	28	13,5	180	86,5	189	90,9	19	9,1	94	45,2	114	54,8
Ekspansil	12	5,5	2	16,7	10	83,3	11	91,7	1	8,3	5	41,7	7	58,3

Helicobacter pylori: H.pylori pozitif olguların %10,4'ünde (7/67), negatif olguların %15'inde (23/153) tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifdir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p=0,362). Bu iki grup arasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,666 ve p=0,311).

H.pylori pozitif olguların %94'ünde (63/67), negatif olguların %89,5'inde (137/153) immün hücrelerde PD-L1 boyanması saptanmıştır. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,287 ve p=0,257). İmmün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,289).

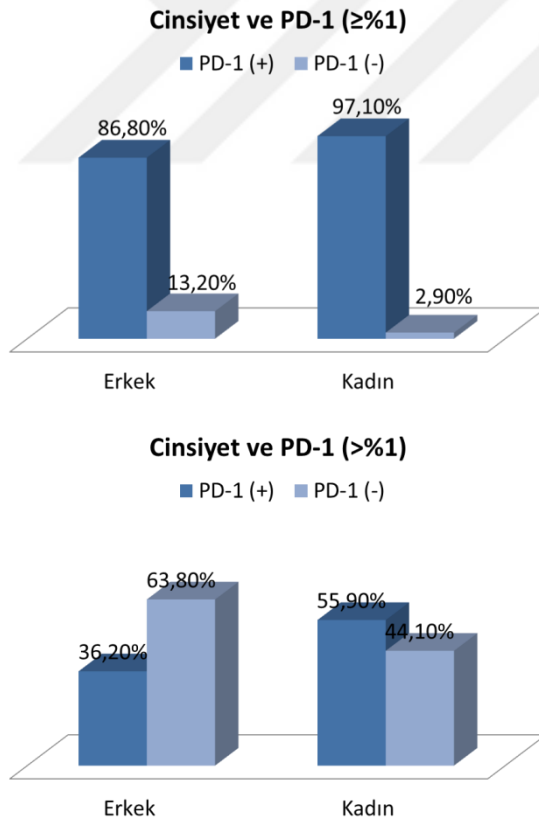
Tablo 18. H.pylori ve PD-L1 boyanma oranları

	Tümör Hücrelerinde		İmmün Hücrelerde				İmmün Hücrelerde							
	PD-L1		PD-L1		PD-L1		PD-L1 (>%1)		PD-L1 (>%1)					
	Toplam	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif					
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
H.pylori	220													
Var	67	30,5	7	10,4	60	89,6	63	94	4	6	34	50,7	33	49,3
Yok	153	69,5	23	15	130	85	137	89,5	16	10,5	65	42,5	88	57,5

4.2.2. PD-1 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Parametrelerin İlişkisi

PD-1 ile yalnızca stromadaki immün hücrelerde sitoplazmik pozitiflik gözlenmiş, tümör hücrelerinde herhangi bir boyanma saptanmamıştır. İmmün hücrelerde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde, PD-1 boyanması 220 olgunun 198'inde (%90) saptanmıştır. Ancak immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde bu oran %42,3 (93/220) olarak bulunmuştur. İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma oranları %1 ile %50 arasında değişmektedir (ortalama %4,67±6,58; medyan %1).

Yaş: İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren olgularda yaş aralığı 20 ile 86 yaş arasındadır ve ortalama yaş 57,07±11,49 (medyan 57)'dur. İmmün hücrelerde PD-1 boyanması göstermeyen olgularla (ortalama yaş 59,18±11,48; medyan 56,5) karşılaştırıldığında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde yaş ortalamaları arasındaki



Şekil 12. Cinsiyet grupları ve PD-1

fark anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla p=0,414 ve p=0,848). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdesi ile yaş dağılımları arasında ilişki saptanmamıştır (p=0,826).

Cinsiyet: İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren 198 olgunun 132'si erkek, 66'sı kadındır. Buna göre immün hücrelerde PD-1 pozitifliği kadınlarda (n=66/68; %97,1) erkeklere (n=132/152; %86,8) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede (p=0,002) yüksek bulunmuştur. Ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek

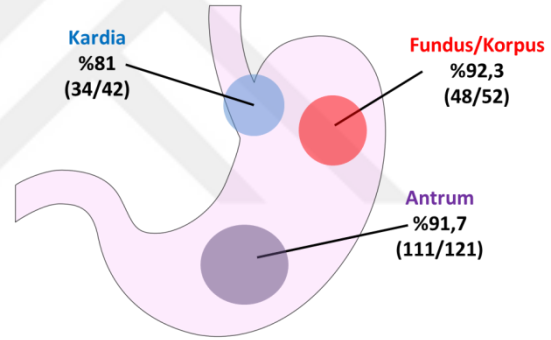
orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde saptanan oranlar (erkeklerde %36,2;

kadınlarda %55,9) arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,006). İmmün hücrelerdeki boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında, boyanma yüzdesi erkeklerde ortalama %4,4±6,38 (medyan %1), kadınlarda ortalama %5,19±6,98 (medyan %1) olarak bulunmuştur (p=0,081).

Tablo 19. Cinsiyet gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1				İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)					
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Cinsiyet	220									
Erkek	152	69,1	132	86,8	20	13,2	55	36,2	97	63,8
Kadın	68	30,9	66	97,1	2	2,9	38	55,9	30	44,1

Tümör Lokalizasyonu: İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren olguların oranı kardias yerleşimli tümörlerde %81 (34/42), fundus/korpus yerleşimli tümörlerde %92,3 (48/52), antrum yerleşimli tümörlerde %91,7



(111/121)'dir. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif

Şekil 13. Lokalizasyona göre PD-1 pozitifliği

kabul edildiğinde yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,109 ve p=0,268). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdesi açısından, farklı lokalizasyonlu tümör grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,403).

Tablo 20. Tümör lokalizasyonuna göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Tümör	215									
Lokalizasyonu										
Kardia	42	19,5	34	81	8	19	13	31	29	69
Fundus/Korpus	52	24,2	48	92,3	4	7,7	24	46,2	28	53,8
Antrum	121	56,3	111	91,7	10	8,3	53	43,8	68	56,2

Tümör uzun çapı: Tümör uzun çapı, immün hücrelerde PD-1 boyanması gösteren olgularda 1 cm ile 15 cm arasında değişmekte ve ortalama $5,68 \pm 2,45$ cm (medyan 5,5 cm), immün hücrelerde PD-1 boyanması göstermeyen olgularda ortalama $6,33 \pm 3,19$ cm (medyan 5,75 cm) olup anlamlı farklılık göstermemektedir ($p=0,469$). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdesi ile tümör çapı arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,801$).

Borrmann Sınıflaması: İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren olguların oranı Borrmann tip 0 tümörlerde %100 (6/6), tip 1 tümörlerde %83,3 (5/6), tip 2 tümörlerde %83,3 (10/12), tip 3 tümörlerde %88,6 (148/167), tip 4 tümörlerde %100 (25/25)'tür. Saptanan bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,214$ ve $p=0,444$). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdesi açısından da Borrmann grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,442$).

Tablo 21. Borrmann gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Borrmann	216									
0	6	2,8	6	100	0	0	1	16,7	5	83,3
1	6	2,8	5	83,3	1	16,7	2	33,3	4	66,7
2	12	5,6	10	83,3	2	16,7	5	41,7	7	58,3
3	167	77,3	148	88,6	19	11,4	68	40,7	99	59,3
4	25	11,6	25	100	0	0	14	56	11	44

TNM Evrelemesi: İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren olguların 7'si T1b, 12'si T2, 151'i T3, 10'u T4a, 16'sı T4b kategorisindedir. Her bir T kategorisi içerisindeki immün hücrelerde PD-1 boyanması gösteren olguların oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,654). T kategorileri arasında, immün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da fark bulunmamaktadır (p=0,324).

Tablo 22. T kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
T Kategorisi	218									
T1a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T1b	7	3,2	7	100	0	0	1	14,3	6	85,7
T2	12	5,5	12	100	0	0	7	58,3	5	41,7
T3	172	78,2	151	87,8	21	12,2	71	41,3	101	58,7
T4a	10	4,6	10	100	0	0	4	40	6	60
T4b	17	7,8	16	94,1	1	5,9	8	47,1	9	52,9

N0 olguların %90,5'i (19/21), N1 olguların %89,5'i (77/86), N2 olguların %88,3'ü (53/60), N3a olguların %100'ü (9/9), N3b olguların %90'ı (36/40) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği göstermektedir. Bu oranlar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,989). Boyanma yüzdeleri açısından karşılaştırıldığında N0

ve N1 kategorilerindeki tümörlerdeki ortalama PD-1 boyanma yüzdeleri (sırasıyla ortalama %9,0±9,98 [medyan 5] ve %3,97±5,94 [medyan 1]) arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (p=0,042). Ancak diğer kategoriler arasında böyle bir fark saptanmamıştır.

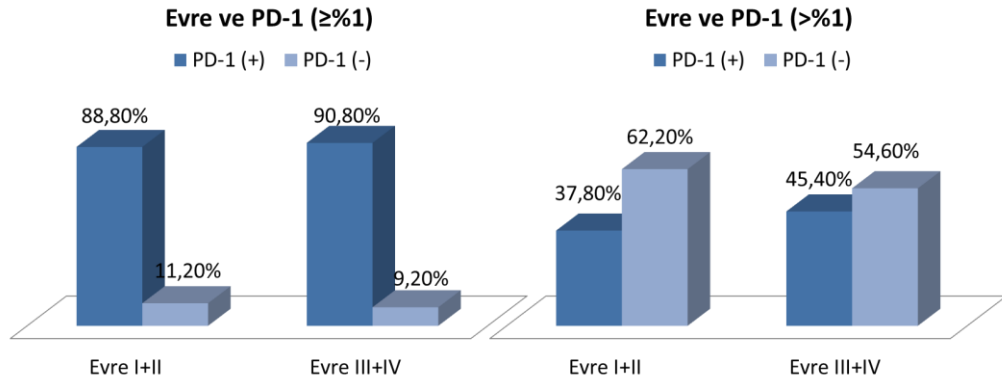
Tablo 23. N kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
N Kategorisi	216									
N0	21	9,7	19	90,5	2	9,5	13	61,9	8	38,1
N1	86	39,8	77	89,5	9	10,5	31	36	55	64
N2	60	27,8	53	88,3	7	11,7	24	40	36	60
N3a	9	4,2	9	100	0	0	3	33,3	6	66,7
N3b	40	18,5	36	90	4	10	20	50	20	50

Uzak organ metastazı bulunduran (M1) olguların %87'sinde (20/23), bulundurmayan (M0) olguların %90,2'sinde (175/194) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği saptanmıştır. Buna göre M0 ve M1 olgular arasında immün hücrelerdeki PD-1 pozitifliği açısından anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,712). Aynı şekilde M0 ve M1 olgular arasında, immün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdesi açısından da anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,818).

Tablo 24. M kategorilerine göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
M Kategorisi	217									
M0	194	89,4	175	90,2	19	9,8	82	42,3	112	57,7
M1	23	10,6	20	87	3	13	9	39,1	14	60,9



Şekil 14. Evre grupları ve PD-1

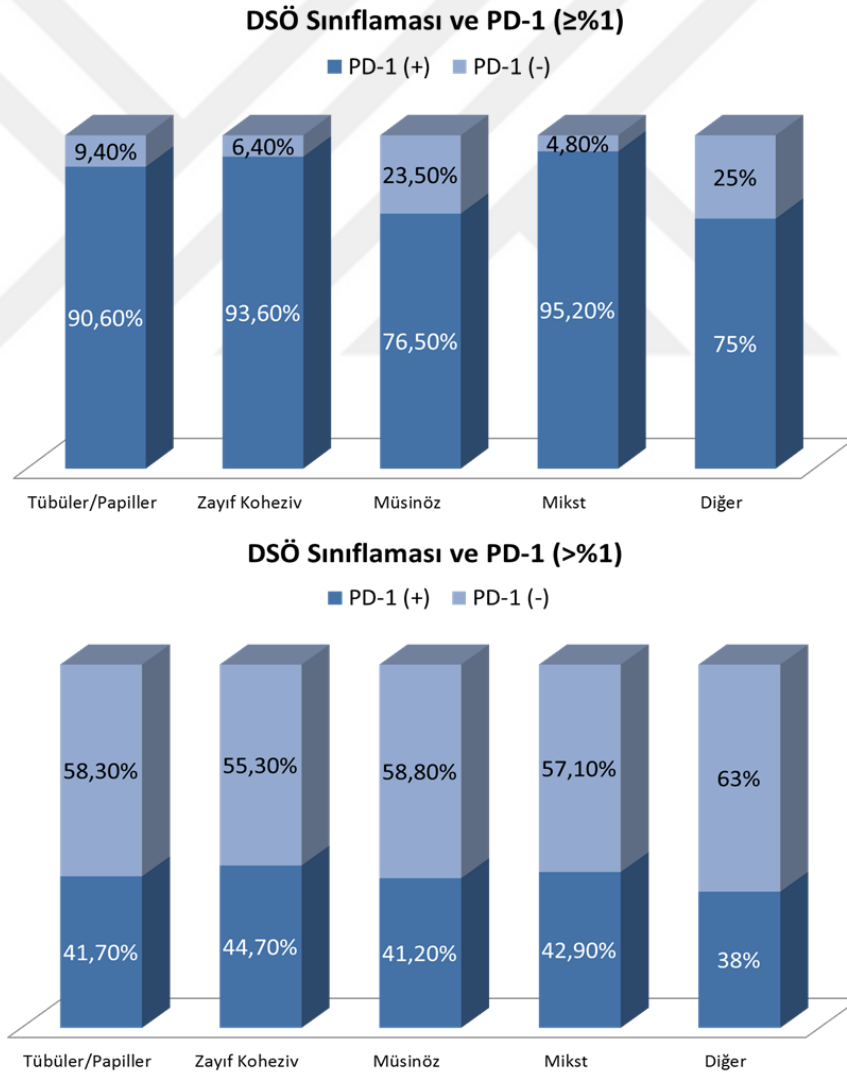
İmmün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösteren olguların 1'i Evre IA, 4'ü Evre IB, 21'i Evre IIA, 61'i Evre IIB, 34'ü Evre IIIA, 46'sı Evre IIIB, 8'i Evre IIIC, 20'si Evre IV olarak sınıflanmıştır. Olgular düşük (Evre I+II) ve yüksek (Evre III+IV) evre olarak karşılaştırıldığında, düşük evreli olguların %88,8'inin (87/98), yüksek evreli olguların %90,8'inin (108/119) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği gösterdiği gözlenmiştir. Bu oranlar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0,63$). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından klinik evre grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 25. Evre gruplarına göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Evre	217									
Evre I+II	98	45,2	87	88,8	11	11,2	37	37,8	61	62,2
Evre III+IV	119	54,8	108	90,8	11	9,2	54	45,4	65	54,6

İmmün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki PD-1 boyanmaları pozitif kabul edilerek yapılan analizlerde T, N, M ve klinik evre grupları arasında, PD-L1 pozitiflik sıklığı açısından fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Histopatolojik alttipler (Lauren): Lauren sınıflamasına göre intestinal tipteki tümörlerin %90,5'inde (134/148), diffüz tipteki tümörlerin %89,4'ünde (42/47), mikst tipteki tümörlerin %94,4'ünde (17/18) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği gözlenmiştir. Lauren sınıflamasına göre sınıflandırılmayan kategoride değerlendirilen 7 olgunun 5'inde immün hücrelerde PD-1 pozitifliği mevcuttur. Saptanan bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,279 ve p=0,581). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da Lauren grupları arasında fark gözlenmemiştir (p=0,623).



Şekil 15. DSÖ sınıflaması ve PD-1

Histopatolojik alttipler (DSÖ, 2010): DSÖ sınıflamasına göre olgular histolojik tiplere ayrıldığında, tübüler/tübülopapiller karsinomların %90,6'sında (115/127), müsinöz karsinomların %76,5'inde (13/17), zayıf koheziv karsinomların %93,6'sında (44/47) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği gözlenmiştir (mikst karsinomlar ve diğer gruplar için bkz. Tablo 23). Bu gruplar arasında PD-1 pozitifliği açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır (p=0,015). Buna göre PD-1 pozitifliği sıklığının müsinöz karsinomlarda daha az olduğu görülmektedir. Ancak immün hücrelerdeki %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde böyle bir fark gözlenmemiştir (p=0,96). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da DSÖ grupları arasında fark saptanmamıştır (p=0,997).

Tablo 26. Histolojik tümör alttiplerine (DSÖ 2010) göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
DSÖ Sınıflaması	220									
Tübüler/	127	57,7	115	90,6	12	9,4	53	41,7	74	58,3
Tübülopapiller										
Müsinöz	17	7,7	13	76,5	4	23,5	7	41,2	10	58,8
Zayıf Koheziv	47	21,4	44	93,6	3	6,4	21	44,7	26	55,3
Mikst	21	9,5	20	95,2	1	4,8	9	42,9	12	57,1
Diğer	8	3,6	6	75	2	25	3	37,5	5	62,5

Stromal Reaksiyon: Stromal desmoplazi gösteren olguların %90,4'ünde (179/198), diğer stromal reaksiyonları bulduran olguların (15 olguda lenfoid stroma, 3 olguda stromal eozinofili, 1 olguda granümatöz yanıt olmak üzere) %86,4'ünde (19/22) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği gözlenmiştir. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla

p=0,468 ve p=0,439). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,074).

Tablo 27. Stromal reaksiyon tipine göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)				
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Stromal Reaksiyon	220										
Stromal Desmoplazi	198	90	179	90,4	19	9,6	82	41,4	116	58,6	
Lenfoid Stroma	17	7,7	15	88,2	2	11,8	9	52,9	8	47,1	
Diğer	5	2,3	4	80	1	20	2	40	3	60	

Tümör Grade'i: Tümör grade'i açısından değerlendirildiğinde grade 1 tümörlerin %100'ü (4/4), grade 2 tümörlerin %87,2'si (41/47), grade 3 tümörlerin %90,5'i (153/169) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği göstermektedir. Bu oranlar arasında ve ayrıca immün hücrelerde %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,729 ve p=0,737). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da grade grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,734).

Tablo 28. Tümör grade'ine göre olguların PD-1 boyanma oranları

Grade	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)				
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
	220										
1	4	1,8	4	100	0	0	2	50	2	50	
2	47	21,4	41	87,2	6	12,8	18	38,3	29	61,7	
3	169	76,8	153	90,5	16	9,5	73	43,2	96	56,8	

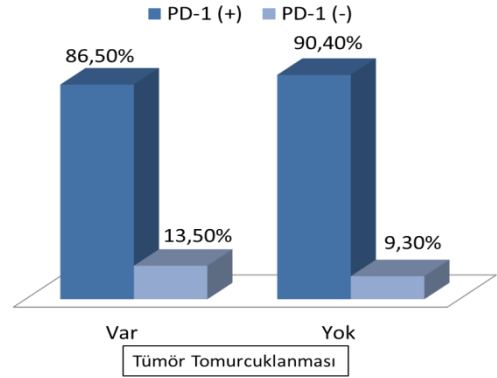
Tümör Tomurcuklanması:

Tümör tomurcuklanması bulunduran olguların %86,5'i (32/37), bulundurmayan olguların %90,7'si (166/183) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği göstermektedir. Bu oranlar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır (p=0,385). Ancak %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, tümör tomurcuklanması bulunduran olgularda PD-1 pozitifliğinin anlamlı olarak daha sık (%59,5) bulunduğu görülmüştür (p=0,02). İmmün

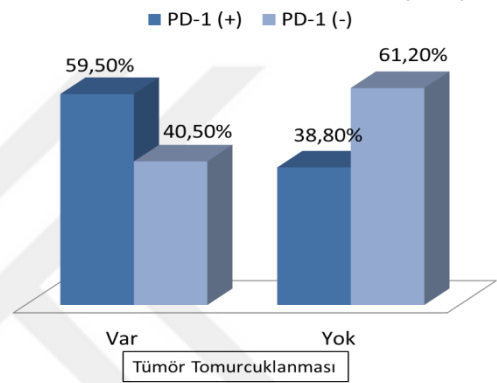
hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından bakıldığında tümör

tomurcuklanması bulunduran olgularda immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri (ortalama %7,24±8,85; medyan %10), tümör tomurcuklanması bulundurmayan olgulardakine (ortalama %4,16±5,75; medyan %1) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,006).

Tümör Tomurcuklanması ve PD-1 (≥%1)



Tümör Tomurcuklanması ve PD-1 (>%1)



Şekil 16. Tümör tomurcuklanması ve PD-1

Tablo 29. Tümör tomurcuklanması ve PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)					
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
Tümör Tomurcuklanması	220											
Var	37	16,8	32	86,5	5	13,5	22	59,5	15	40,5		
Yok	183	83,2	166	90,7	17	9,3	71	38,8	112	61,2		

Lenfovasküler İnvazyon (LVI): LVI bulunduran olguların %88,3'ünde (144/163), bulundurmayan olguların %94,7'sinde (54/57) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği saptanmıştır. Bu oranlar ve ayrıca %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,166 ve p=0,976). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,842).

Tablo 30. Lenfovasküler invazyon ve PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Lenfovasküler İnvazyon	220									
Var	163	74,1	144	88,3	19	11,7	69	42,3	94	57,7
Yok	57	25,9	54	94,7	3	5,3	24	42,1	33	57,9

Perinöral İnvazyon (PNI): PNI bulunduran olguların %88,9'unda (128/144), bulundurmayan olguların %92,1'inde (70/76) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği bulunmaktadır. Bu oranlar arasında ve ayrıca %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,45 ve p=0,3). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,357).

Tablo 31. Perinöral invazyon ve PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Perinöral İnvazyon	220									
Var	144	65,5	128	88,9	16	11,1	58	40,3	86	59,7
Yok	76	34,5	70	92,1	6	7,9	35	46,1	41	53,9

İnvazyon Paterni: İnfiltratif büyüme paterni gösteren tümörlerin %90,4'ünde (188/208), ekspanzil büyüme paterni gösteren tümörlerin %83,3'ünde (10/12) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği mevcuttur. Bu oranlar arasında ve ayrıca %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,342$ ve $p=0,965$). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,589$).

Tablo 32. İnvazyon paternine göre olguların PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
İnvazyon Paterni	220									
İnfiltratif	208	94,5	188	90,4	20	9,6	88	42,3	120	57,7
Ekspanzil	12	5,5	10	83,3	2	16,7	5	41,7	7	58,3

Helicobacter pylori: H.pylori pozitif olguların %91'inde (61/67), negatif olguların %89,5'inde (137/153) immün hücrelerde PD-1 pozitifliği saptanmıştır. Bu oranlar ve ayrıca %1'den daha yüksek orandaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde yapılan analizlerde anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,732$). İmmün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri açısından da bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,531$).

Tablo 33. H.pylori ve PD-1 boyanma oranları

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)			
	Toplam		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
H.pylori	220									
Var	67	30,5	61	91	6	9	31	46,3	36	53,7
Yok	153	69,5	137	89,5	16	10,5	62	40,5	91	59,5

4.2.3. TİL ve Klinikopatolojik Parametreler

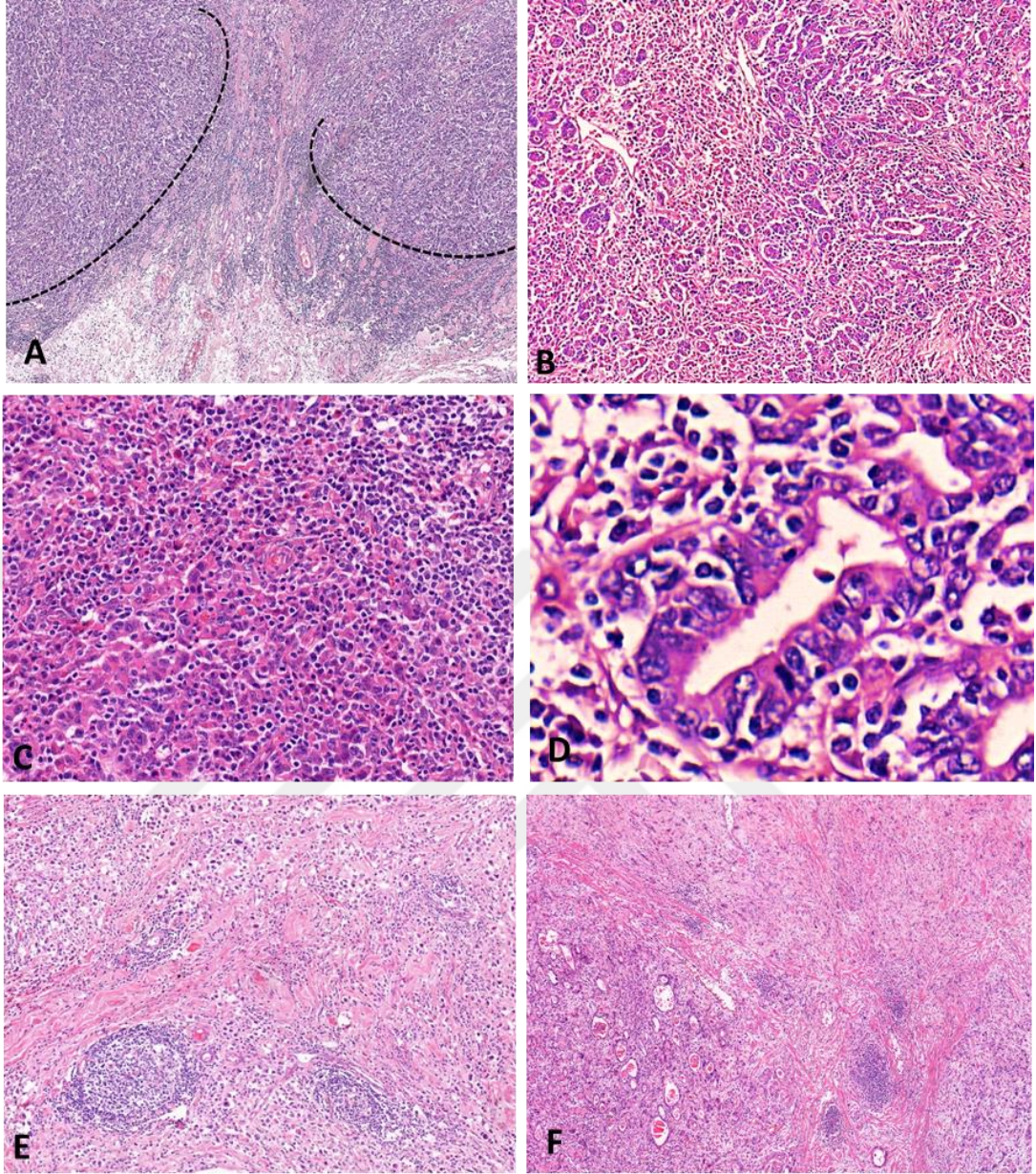
Olgularda stromal TİL yüzdesi, olgulara ait daha önceden hazır olarak bulunan tümör içeren H&E boyalı kesitlerin tümünde ve ayrıca bu çalışma için hazırlanan doku “array” bloklarından hazırlanan H&E kesitlerde değerlendirilmiş ve iki şekilde elde edilen yüzde değerleri arasında korelasyon bulunduğu anlaşılmıştır ($p<0,001$). Böylece çalışmada doku “array” yönteminin TİL değerlendirmesi açısından validasyonu sağlanmıştır. Stromal TİL varlığı ile tüm klinikopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerin ilişkisi değerlendirilirken, tümör stroması, tümör dokusu ve invazyon sınırını içeren orijinal H&E kesitlerdeki TİL değerleri kullanılmıştır.

Stromal TİL yüzdesi 220 olguda ortalama $\%19,77\pm15,91$ (medyan 17; $\%1-77$) olarak bulunmuştur. Olguların 35’inde ($\%15,9$) intratümöral, 73’ünde ($\%33,2$) invazyon sınırında TİL varlığı gözlenmiştir. Aşağıda verilen TİL ile ilgili bulgular, yalnızca hazır kesitlerde elde edilen verileri içermektedir.

Yaş: Olgularda stromal TİL yüzdeleri ile yaş dağılımı arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0,492$). Yaş ortalamaları açısından, intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulduran olgularla buldurmayan olgular arasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,111$ ve $p=0,229$).

Tablo 34. İnatümöral ve invazyon sınırında TİL varlığına göre yaş ortalamaları

	Yaş				
	Ortalama	Std. Sapma	Medyan	Min.	Maks.
İnatümöral TİL					
Var	60,11	10,41	59	43	80
Yok	56,74	11,63	56	20	86
İnvazyon Sınırında TİL					
Var	58,60	11,26	58	35	84
Yok	56,62	11,58	56	20	86



Resim 12. Olgularda izlenen TİL paternleri. A. İnvazyon sınırında TİL. B. Stromal diffüz TİL. C-D. İntratümöral TİL. E. Lenfoid folikül. F. Lenfoid agregat.

Cinsiyet: Erkek ve kadın olgular arasında stromal TİL yüzdeleri; intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,543$, $p=0,942$ ve $p=0,45$).

Tablo 35. Cinsiyet gruplarında TİL

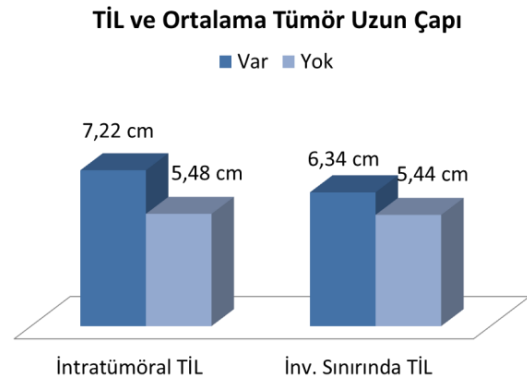
	İnatümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Cinsiyet	n	%	n	%	n	%	n	%					
Erkek	24	15,8	128	84,2	48	31,6	104	68,4	19,41	15,90	17	1	70
Kadın	11	16,2	57	83,8	25	36,8	43	63,2	20,62	16,01	17	1	77

Lokalizasyon: Farklı lokalizasyonlu tümör grupları arasında da stromal TİL yüzdeleri; intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark gözlenmemektedir (sırasıyla $p=0,179$, $p=0,604$ ve $p=0,438$).

Tablo 36. Tümör lokalizasyonu ve TİL

	İnatümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Lokalizasyon	n	%	n	%	n	%	n	%					
Kardia	5	11,9	37	88,1	12	28,6	30	71,4	15,98	13,69	13	1	60
Fundus/Korpus	10	19,2	42	80,8	21	40,4	31	59,6	22,33	17,73	17	1	77
Antrum	18	14,9	103	85,1	39	32,2	39	67,8	19,98	15,84	17	1	70

Tümör uzun çapı: Stromal TİL yüzdesi ile tümör uzun çapı arasında ilişki bulunmamıştır ($p=0,292$). İnatümöral veya invazyon sınırında TİL bulunduran olgularda tümör çaplarının, diğer olgulara göre



Şekil 17. İnatümöral ve invazyon sınırında TİL ve ortalama tümör uzun çapı

anlamli olarak yuksek olduğu gözlenmiştir (sirasıyla $p<0,001$ ve $p=0,004$).

Tablo 37. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumuna göre ortalama tümör uzun çapı

	Tümör Uzun Çapı (cm)				
	Ortalama	Std. Sapma	Medyan	Min.	Maks.
İntratümöral TİL					
Var	7,22	2,27	7,1	3,5	15
Yok	5,48	2,49	5	1	14
İnvazyon Sınında TİL					
Var	6,34	2,45	6,5	1	15
Yok	5,44	2,53	5	1,5	14

Borrmann Sınıflaması: Borrmann tipleri arasında stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,055$). İntratümöral ve invazyon sınırında TİL varlığı değerlendirildiğinde olguların dağılımları arasında farklılıklar gözlenmiştir (Tablo 32).

Tablo 38. Borrmann gruplarında TİL

	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Borrmann	n	%	n	%	n	%	n	%					
0	0	0	6	100	2	33,3	4	66,7	4,50	8,57	1	1	22
1	2	33,3	4	66,7	1	16,7	5	83,3	24,67	26,36	12,5	5	70
2	6	50	6	50	10	83,3	2	16,7	22,25	17,40	17	5	57
3	25	15	142	85	55	32,9	112	67,1	20,07	15,63	17	1	77
4	2	8	23	92	5	20	20	80	18,88	14,36	17	1	60

TNM Evrelemesi: T grupları arasında ortalama TİL yüzdelerinin farklılık gösterdiği saptanmıştır. T1b kategorisindeki olgularda stromal TİL yüzdesinin daha düşük olduğu görülmektedir (Tablo 33). İntratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından T grupları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır (sirasıyla $p=0,167$ ve $p=0,718$).

Tablo 39. T gruplarında TİL

T kategorisi	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
1a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1b	0	0	7	100	2	28,6	5	71,4	7,57	7,63	8	1	22
2	3	25	9	75	3	25	9	75	25,33	16,12	23,5	1	50
3	26	15,1	146	84,9	62	36	110	64	20,53	16,21	17	1	77
4a	4	40	6	60	2	20	8	80	17,50	17,33	11,5	1	60
4b	2	11,8	15	88,2	4	23,5	13	76,5	14,65	11,82	12	1	40

N grupları arasında stromal TİL yüzdeleri; intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,358$, $p=0,128$ ve $p=0,081$).

Tablo 40. N gruplarında TİL

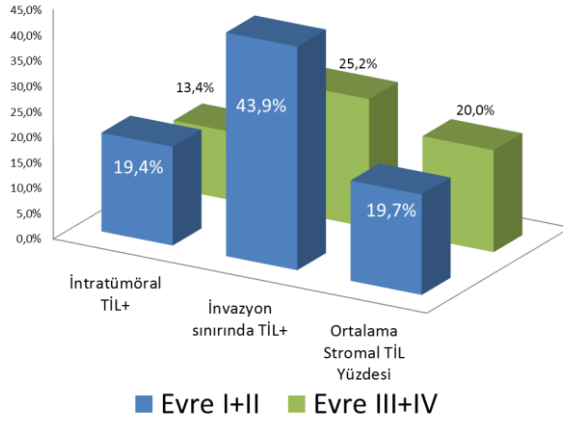
N kategorisi	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
0	7	33,3	14	66,7	8	38,1	13	61,9	20,14	15,36	17	1	60
1	15	17,4	71	82,6	38	44,2	48	55,8	18,31	15,23	13	1	70
2	8	13,3	52	86,7	15	25	45	75	20,57	18,11	17	1	77
3a	0	0	9	100	2	22,2	7	77,8	17,89	17,42	10	1	47
3b	5	12,5	35	87,5	10	25	30	75	22,93	13,89	21	1	53

M grupları arasında stromal TİL yüzdeleri, intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark gözlenmemektedir (sırasıyla $p=0,058$, $p=0,137$ ve $p=0,081$).

Tablo 41. M gruplarında TİL

M kategorisi	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
0	34	17,5	160	82,5	69	35,6	125	64,4	14,70	14,26	10	1	50
1	1	4,3	22	85,7	4	17,4	19	82,6	20,48	16,03	17	1	77

Evre gruplarında TİL



Şekil 18. Evre gruplarında TİL

Olgular Evre I+II ve Evre III+IV şeklinde gruplandırıldığında, bu iki grup arasında stromal TİL yüzdeleri ve intratümöral TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,921$ ve $p=0,236$). Evre I+II tümörlerde invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı, Evre III+IV tümörlere göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,004$).

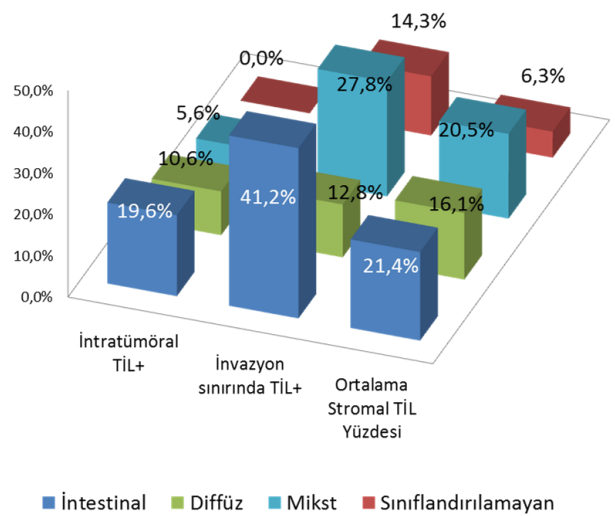
Tablo 42. Evre gruplarında TİL

	İnatümöral TİL		İnvazyon Sınırında TİL		Stromal TİL Yüzdesi								
	Var	Yok	Var	Yok	Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.				
Evre	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
Evre I+II	19	19,4	79	80,6	43	43,9	55	56,1	19,69	15,63	17	1	70
Evre III+IV	16	13,4	103	86,6	30	25,2	89	74,8	20,01	16,22	17	1	77

Histolojik Altıpler (Lauren):

Lauren sınıflamasına göre “sınıflandırılmayan” kategorisindeki 7 olguda, hazır kesitlerdeki TİL yüzdeleri diğer gruplara göre düşük bulunmuştur ($p=0,025$). İnvazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı, intestinal tip tümörlerde, diffüz tip tümörlere göre yüksektir ($p=0,003$). İnatümöral TİL bulundurma sıklığı Lauren grupları arasında anlamlı farklılık göstermemektedir ($p=0,268$).

Lauren gruplarında TİL



Şekil 19. Lauren gruplarında TİL

Tablo 43. Lauren gruplarında TİL

	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Lauren	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
İntestinal	29	19,6	119	80,4	61	41,2	87	58,8	21,43	17,13	17	1	77
Diffüz	5	10,6	42	89,4	6	12,8	41	87,2	16,11	11,49	17	1	43
Mikst	1	5,6	17	94,4	5	27,8	13	72,2	20,50	14,40	18	1	43
Sınıflandırılmayan	0	0	7	100	1	14,3	6	85,7	6,29	3,68	5	1	13

Histolojik Alttipler (DSÖ): DSÖ histolojik grupları arasında, stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,656$). Tübüler/tübülopapiller karsinom olgularında intratümöral TİL bulundurma sıklığı diğer olgulara göre yüksektir ($p=0,004$). Ayrıca tübüler/tübülopapiller karsinomlarda invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı, zayıf koheziv ve müsinoz karsinomlara göre yüksek bulunmuştur ($p=0,007$).

Tümör Grade'i: Tümör grade'i açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında stromal TİL yüzdeleri; intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,324$, $p=0,396$ ve $p=0,136$).

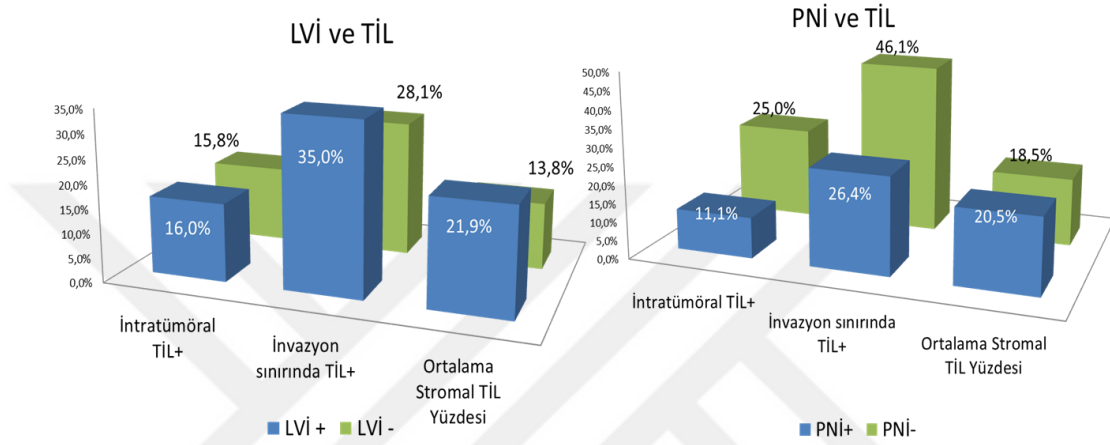
Tablo 44. Tümör grade'i ve TİL

	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Grade	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)					
1	0	0	4	100	1	25	3	75	21,75	8,88	23,5	10	30
2	5	10,6	42	89,4	21	44,7	26	55,3	18,04	17,01	13	1	60
3	30	17,8	139	82,2	51	30,2	118	69,8	20,22	15,75	17	1	77

Tümör Tomurcuklanması ("Budding"): Tümör tomurcuklanması bulunduran ve bulundurmayan olgular arasında, stromal TİL yüzdeleri; intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamaktadır (sırasıyla $p=0,747$, $p=0,125$ ve $p=0,297$).

Tablo 45. Tümör tomurcuklanması ve TİL

Tümör	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
Tomurcuklanması	n	%	n	%	n	%	n	%					
Var	9	24,3	28	75,7	15	40,5	22	59,5	21,65	18,68	13	1	70
Yok	26	14,2	157	85,8	58	31,7	125	68,3	19,41	15,32	17	1	77



Şekil 20. Lenfovasküler ve perinöral invazyon ve TİL

Lenfovasküler invazyon: Lenfovasküler invazyon bulunduran olgularda, bulundurmayan olgulara göre, stromal TİL yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). Bu iki grup arasında intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamaktadır (sırasıyla $p=0,977$ ve $p=0,341$).

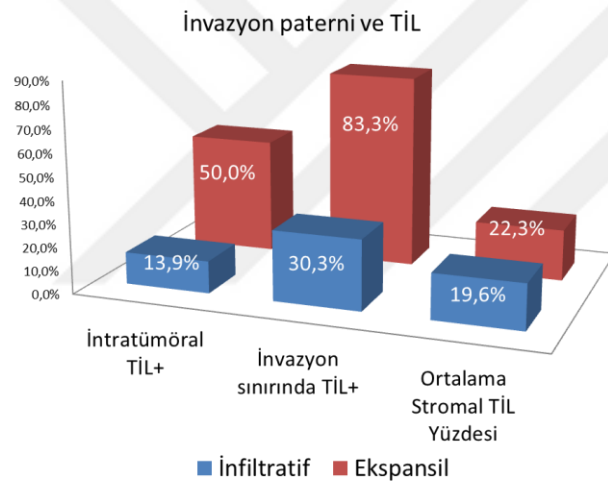
Tablo 46. Lenfovasküler invazyon ve TİL

LVi	İntratümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)					
Var	26	16	137	84	57	35	106	65	21,87	16,41	20	1	77
Yok	9	15,8	48	84,2	16	28,1	41	71,9	13,84	12,71	10	1	63

Perinöral İnvazyon: Perinöral invazyon bulunduran ve bulundurmayan olgular arasında, stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,195$). Perinöral invazyon bulunduran olgularda, intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı anlamlı olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,003$).

Tablo 47. Perinöral invazyon ve TİL

	İnatümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
PNİ	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)					
Var	16	11,1	128	88,9	38	26,4	106	73,6	20,47	15,50	17	1	70
Yok	19	25	57	75	35	46,1	41	53,9	18,49	16,67	14	1	77



Şekil 21. İnvazyon paterni ve TİL

İnvazyon Paterni: İnfiltratif ve ekspansil büyüme paterni gösteren tümör grupları arasında, stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,595$). Ekspansil büyüme paterni gösteren tümörlerde, intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı anlamlı olarak yüksektir (sırasıyla $p=0,005$ ve $p<0,001$).

Tablo 48. İnvazyon paterni ve TİL

	İnatümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdesi				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
İnvazyon Paterni	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
İnfiltratif	29	13,9	179	86,1	63	30,3	145	69,7	19,64	15,85	17	1	77
Ekspansil	6	50	6	50	10	83,3	2	16,7	22,25	17,40	17	5	57

Helicobacter pylori: H.pylori bulunduran ve bulundurmeyan olgular arasında, stromal TİL yüzdeleri ve intratümöral TİL bulundurma sıklığı açısından anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla $p=0,902$ ve $p=0,181$). H.pylori bulunduran olgularda, invazyon sınırında TİL bulundurma sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$).

Tablo 49. H.pylori ve intratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu

	İnatümöral TİL				İnvazyon Sınırında TİL				Stromal TİL Yüzdeleri				
	Var		Yok		Var		Yok		Ort.	Std. Sapma	Med.	Min.	Maks.
H.pylori	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)					
Var	14	20,9	53	79,1	33	49,3	34	50,7	20,19	16,52	17	1	67
Yok	21	13,7	132	86,3	40	26,1	113	73,9	19,61	15,68	17	1	77

4.2.4. TİL ve PD-L1

Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği bulunduran ve bulundurmeyan olgular arasında stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,743$). İnatümöral TİL varlığında tümörde PD-L1 pozitifliği daha sık olarak gözlenmiştir ($p<0,001$). İnvazyon sınırında TİL varlığı açısından bakıldığında böyle bir fark saptanmamıştır ($p=0,393$). Stromal TİL yüzdeleri ile tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,956$). İnatümöral TİL bulunduran olgularda, bulundurmeyanlara göre, tümörde PD-L1 boyanma yüzdeleri anlamlı olarak yüksektir ($p=0,012$). İnvazyon sınırında TİL varlığı açısından bakıldığında böyle bir fark gözlenmemiştir ($p=0,172$).

Tablo 50. PD-L1 ve ortalama stromal TİL yüzdeleri

Stromal TİL Yüzdesi				
	Ortalama	Medyan	Min.-Maks.	p değeri
Tümör Hücrelerinde				
PD-L1				
Pozitif	18,07±13,29	16	1-50	0,743
Negatif	20,06±16,29	17	1-77	
İmmün Hücrelerde				
PD-L1				
Var	20,63±16,19	17	1-77	0,012
Yok	11,35±9,26	10	1-33	
İmmün Hücrelerde				
PD-L1 (>%1)				
Pozitif	22,28±16,85	17	1-77	0,039
Negatif	17,74±14,85	13	1-70	

Tablo 51. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu

Tümör Hücrelerinde PD-L1							
	Toplam		Pozitif		Negatif		p değeri
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	
İnatratümöral TİL							
Var	35	15,9	13	37,1	22	62,9	<0,001
Yok	185	84,1	17	9,2	168	90,8	
İnvazyon Sınırında TİL							
Var	73	33,2	12	16,4	61	83,6	0,393
Yok	147	66,8	18	12,2	129	87,8	

Tablo 52. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu

	İmmün Hücrelerde PD-L1						P değeri	İmmün Hücrelerde PD-L1 (>%1)				P değeri
	Toplam		Pozitif		Negatif			Pozitif		Negatif		
	n	(%)	N	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)	
İntratümöral TİL	220											
Var	35	15,9	34	97,1	1	2,9	0,212	29	82,9	6	17,1	<0,001
Yok	185	84,1	166	89,7	19	10,3		70	37,8	115	62,2	
İnvazyon Sınında TİL	220											
Var	73	33,2	69	94,5	4	5,5	0,189	45	61,6	28	38,4	<0,001
Yok	147	66,8	131	89,1	16	10,9		54	36,7	93	63,3	

Tablo 53. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile ortalama PD-L1 boyanma yüzdeleri

	Tümörde PD-L1 Yüzdesi				p değeri	İmmün hücrelerde PD-L1 Yüzdesi				p değeri	
	Ortalama	Medyan	Min.-Maks.			Ortalama	Medyan	Min.-Maks.			
İntratümöral TİL											
Var	25,54±25,45	10	1-80	0,012	11,32±8,25	10	1-30	<0,001			
Yok	5,59±5,15	5	1-20		3,72±4,73	1	1-30				
İnvazyon Sınında TİL											
Var	24,42±27,13	10	1-80	0,172	6,72±6,81	5	1-30	<0,001			
Yok	7,44±7,5	5	1-30		4,11±5,62	1	1-40				

İmmün hücrelerde PD-L1 boyanması bulunduran olgularda, bulundurmayan olgulara göre stromal TİL yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,012). İmmün hücrelerde %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, stromal TİL yüzdeleri açısından benzer şekilde fark izlenmiştir (p=0,039). İntratümöral veya invazyon sınırında TİL bulunduran ve bulundurmayan olgular, immün hücrelerde PD-L1 boyanması gösterme sıklığına göre karşılaştırıldığında, iki durumda da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,212 ve p=0,189). Ancak immün hücrelerde %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, intratümöral veya invazyon sınırında TİL bulunduran

olgulara, immün hücrelerde PD-L1 pozitifliği görülme sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Stromal TİL yüzdeleri ile immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,121$). İntratümöral ve invazyon sınırında TİL bulunduran olgularda, bulundurmayanlara göre, immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri yüksek olarak izlenmiştir ($p<0,001$).

4.2.5. TİL ve PD-1

İmmün hücrelerde PD-1 boyanması bulunduran olgularla, bulundurmayan olgular arasında stromal TİL yüzdeleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,176$). İmmün hücrelerde %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, PD-1 pozitifliği gösteren olgularda, stromal TİL yüzdeleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). İntratümöral veya invazyon sınırında TİL bulunduran ve bulundurmayan olgular, immün hücrelerde PD-1 boyanması gösterme sıklığına göre karşılaştırıldığında, iki durumda da anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,215$ ve $p=0,115$). Ancak immün hücrelerde %1'den daha yüksek oranlardaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde, invazyon sınırında TİL bulunduran olgularda, bulundurmayanlara göre PD-1 pozitifliği görülme sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,038$). Stromal TİL yüzdeleri ile immün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri korelasyon göstermektedir ($p=0,005$). İntratümöral ve invazyon sınırında TİL bulunduran olgularda immün hücrelerdeki PD-1 boyanma yüzdeleri yüksek olarak izlenmiştir (sırasıyla $p=0,019$ ve $p=0,026$).

Tablo 54. PD-1 ve ortalama stromal TİL yüzdeleri

	Stromal TİL Yüzdesi			p değeri
	Ortalama	Medyan	Min.-Maks.	
İmmün Hücrelerde PD-1				
Var	20,23±16,01	17	1-77	0,176
Yok	15,82±14,68	10	1-50	
İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)				
Pozitif	23,3±16,51	18	1-77	0,002
Negatif	17,21±15,00	12	1-67	

Tablo 55. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile immün hücrelerde PD-1 ekspresyonu

	İmmün Hücrelerde PD-1						İmmün Hücrelerde PD-1 (>%1)							
	Toplam		Pozitif		Negatif		p değeri	Pozitif		Negatif		p değeri		
	n	(%)	N	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)			
İntratümöral TİL	220						0,215							0,117
Var	35	15,9	34	97,1	1	2,9		19	54,3	16	45,7			
Yok	185	84,1	164	88,6	21	11,4	74	40	111	60				
İnvazyon Sınırlarında TİL	220						0,115							0,038
Var	73	33,2	69	94,5	4	5,5		38	52,1	35	47,9			
Yok	147	66,8	129	87,8	18	12,2	55	37,4	92	62,6				

Tablo 56. İntratümöral veya invazyon sınırındaki TİL durumu ile ortalama PD-1 boyanma yüzdeleri

	İmmün hücrelerde PD-1 Yüzdesi			p değeri
	Ortalama	Medyan	Min.-Maks.	
İntratümöral TİL				0,019
Var	8,53±11,24	5	1-50	
Yok	3,87±4,80	1	1-40	
İnvazyon Sınırlarında TİL				0,026
Var	6,17±8,47	5	1-50	
Yok	3,86±5,17	1	1-40	

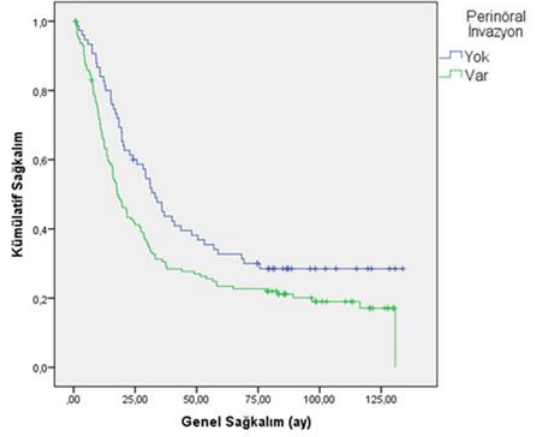
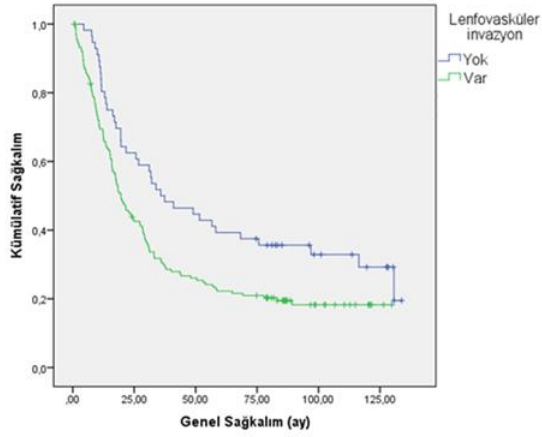
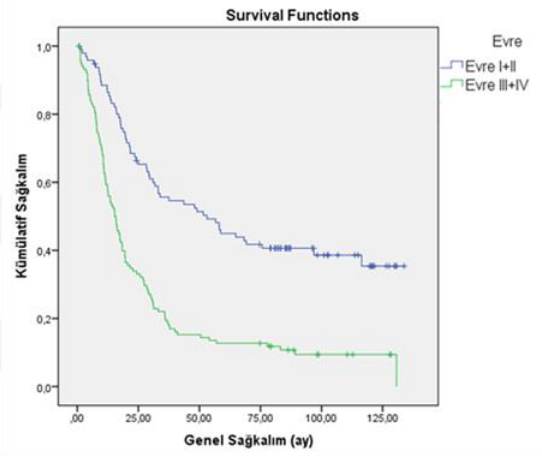
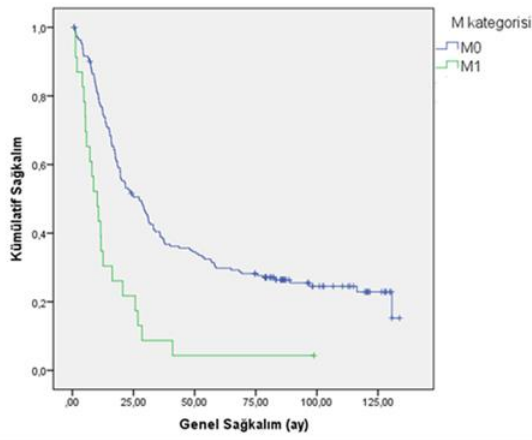
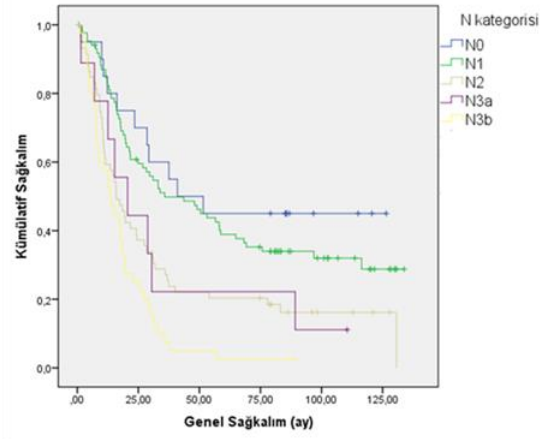
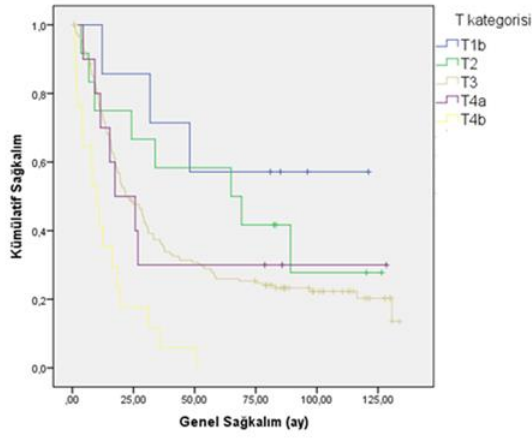
4.3. Sağkalım ile İlgili Analizler

Olgularda genel sağkalım ortalama $46,90 \pm 3,33$ ay olarak bulunmuştur. Kaplan-Meier sağkalım analizi uygulanarak elde edilen sonuçlara göre, klinikopatolojik özelliklerden T, N ve M kategorileri, hastalık evresi, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı, invazyon sınırındaki TİL varlığı sağkalım üzerinde anlamlı olarak etkili bulunmuştur. Cinsiyet, tümör lokalizasyonu, Borrmann grupları, Lauren ve DSÖ sınıflaması, tümör grade'i, invazyon paterni, tümör tomurcuklanması ("budding"), intratümöral TİL varlığı, stromal lenfoid reaksiyon paterni, H.pylori varlığı açısından bakıldığında ise gruplar arasında sağkalımda anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

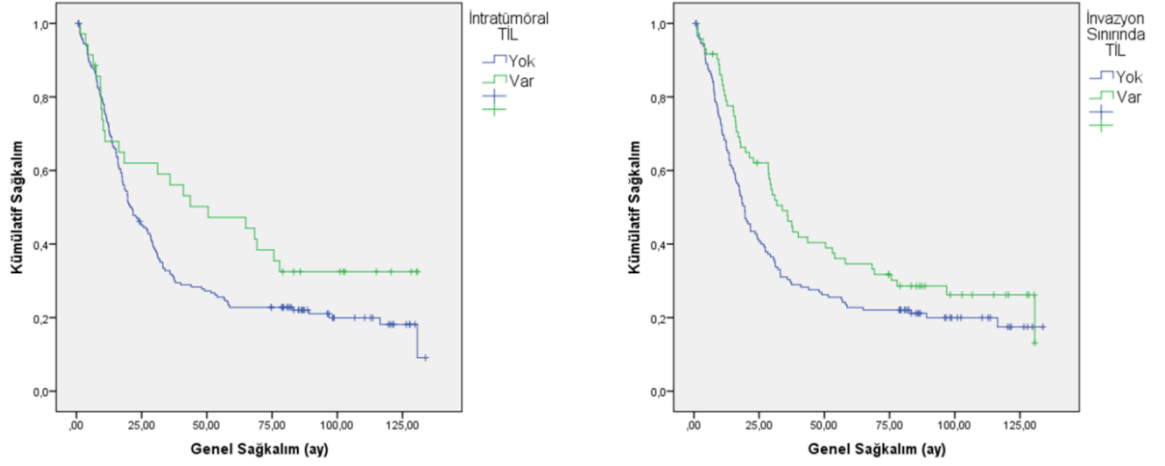
PD-L1 ve PD-1 ekspresyonları açısından değerlendirildiğinde, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi

(63,28±8,84 ay), diğerk olgulara (43,87±3,48 ay) göre anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur (p=0,036). İmmün hücrelerdeki PD-L1 ve PD-1 pozitifliği açısından bakıldığında gruplar arasında sağkalım süreleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla p=0,833 ve p=0,184).

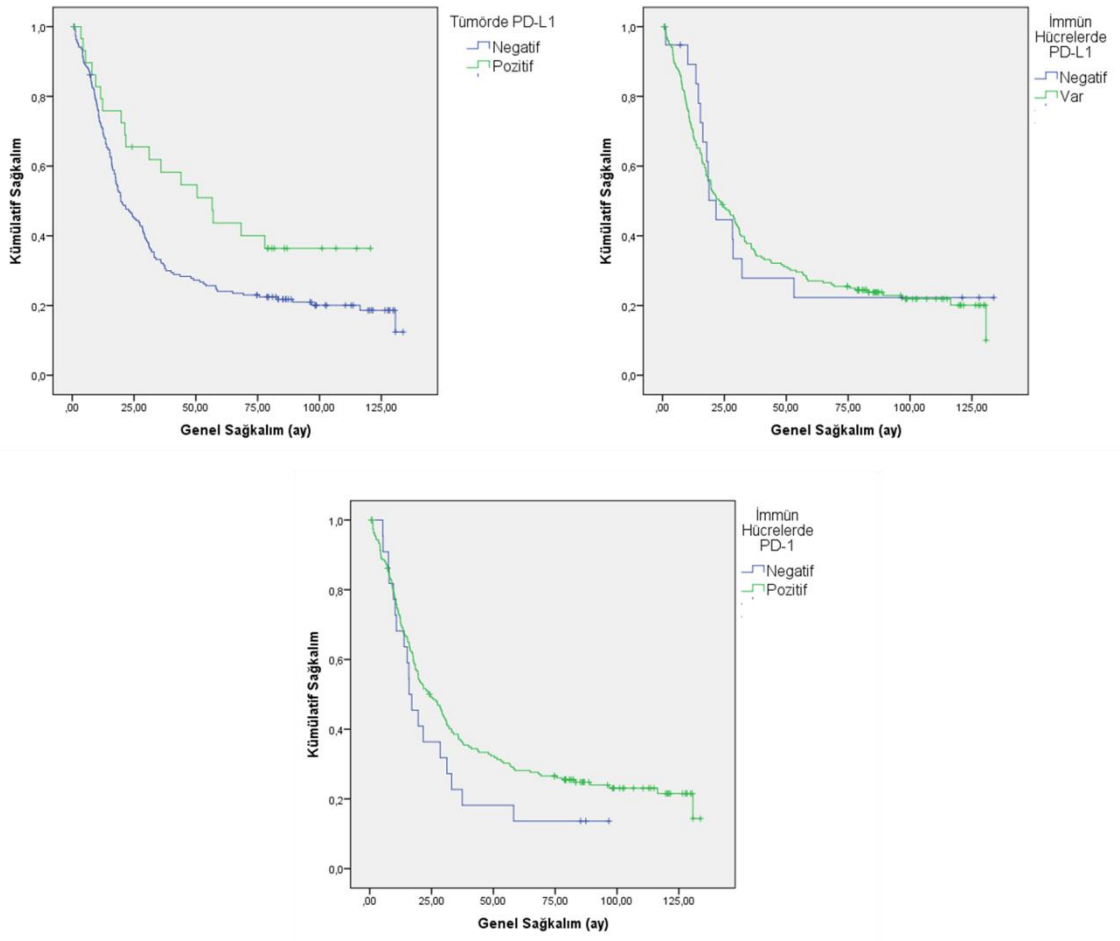
Cox regresyon analizi uygulanarak yapılan, çok değışkenli analizlerde değerlendirilen tüm parametreler arasında T, N, M evreleri ve lenfovasküler invazyon varlığı bağımsız prognostik faktörler olarak belirlenmiştir. Önceki analizlerde anlamlı ilişki bulundurduğu saptanan perinöral invazyon, invazyon sınırında TİL varlığı ve tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliğinin bağımsız prognostik faktörler olarak değerlendirilemeyeceğı gözlenmiştir.



Şekil 22. Sağkalımla ilişkili klinikopatolojik parametreler



Şekil 23. İntratümöral veya invazyon sınırında TİL varlığı ile sağkalım ilişkisi



Şekil 24. PD-L1 ve PD-1 pozitifliği ile sağkalım ilişkisi.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda tümörlerde immün mikroçevrenin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar, hastalarda tümöre karşı daha iyi bir immün yanıt oluşturabilecek immün tedavilerin etkinliğinin ve bu tedavilerden en yüksek yararı görecektir hasta gruplarının belirlenmesini sağlayacak biyobelirteçlerin araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur. CTLA-4 ve PD-1 gibi T hücre aktivasyonunu önleyen ve tümör hücrelerinin immün yanıtta kaçmasını sağlayan koreseptörlerin tanımlanması, bu mekanizmaları hedef alan yeni tedavilerin kullanıma girmesiyle sonuçlanmıştır. CTLA-4'e karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor olan ipilimumab ileri evre melanom hastalarında bir tedavi seçeneği olarak, PD-1'i hedef alan nivolumab ve pembrolizumab; PD-1'in ligandı olan PD-L1'i hedef alan atezolizumab gibi tedavi ajanları melanom, küçük hücreli dışı akciğer kanserleri, böbrek kanserleri ve mesane kanserleri gibi tümör gruplarında klinik kullanıma girmektedir[7].

Çalışmamızda mide kanseri tanısı almış geniş bir hasta grubunda PD-1 ve PD-L1 ekspresyonlarının ve tümör infiltrate eden lenfositlerin, klinikopatolojik özellikler ve sağkalım ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamıza dahil edilen olgularda PD-L1 ekspresyon oranı %13,6 iken, daha önce yapılan çalışmalarda bu oran %12-63 olarak bildirilmektedir[67-76]. PD-L1 pozitiflik oranlarında gözlenen bu değişkenliğin, popülasyonlar arasında tümör mikroçevresinde meydana gelen değişikliklerin çeşitliliği, mide adenokarsinomlarında yüksek orandaki heterojenite, immünohistokimyasal incelemede farklı sensitivite ve spesifisite gösteren antikorların kullanılması, bu antikorların pozitifliğinin değerlendirilmesinde araştırmacılar tarafından farklı eşik değerlerin uygulanması gibi birçok nedene bağlı olabileceği anlaşılmaktadır. Tablo 57'de özetlendiği gibi literatürdeki çalışmalarda farklı klonlar ve farklı antikorlar kullanılmış ve buna bağlı olarak da PD-L1 pozitiflik oranlarında farklılıklar ortaya çıkmıştır.

Tablo 57. Literatürde, çalışmalarda kullanılan antikolar

Yıl	Yazar	Kullanılan PD-L1 Antikoru
2006	Wu C ve ark[72]	Klon 2H11; Suzhou Üniversitesi Biyoteknoloji Üniversitesi, Çin Halk Cumhuriyeti.
2014	Jiang D ve ark[69]	B7-H1; 1:100; Soochow Üniversitesi Medikal Biyoteknoloji Enstitüsü, Suzhou, Çin Halk Cumhuriyeti.
2014	Hou J ve ark[70]	Anti-PD-L1; tavşan, poliklonal; 1:250; Abcam, Cambridge, MA, ABD.
2015	Zhang L ve ark[68]	Anti-PD-L1; tavşan, poliklonal; 1:50; Abcam, Cambridge, MA, ABD.
2015	Geng Y ve ark[74]	Klon 2H11; Novus, ABD.
2016	Eto S ve ark[71]	Anti-PD-L1; tavşan, monoklonal; 1:100; Abcam, Cambridge, MA, ABD.
2016	Mo ve ark[66]	Klon SP263; Ventana, Tucson, AZ, ABD.
2016	Cho ve ark[77]	Klon SP142; Ventana, Tucson, AZ, ABD.
2017	Koh J ve ark[75]	E1L3N; tavşan, monoklonal; CellSignalling, Danvers, ABD.
2016	Dai C ve ark[78]	MKP1A07310; tavşan, monoklonal; Merck-Serono, Darmstadt, Almanya.
2016	Kawazoe ve ark[79]	Klon SP142; Ventana, Tucson, AZ, ABD.
2016	Böger C ve ark[67]	E1L3N; tavşan, monoklonal; 1:75; CellSignalling, Danvers, ABD.
2016	Kim JW ve ark[80]	Anti-PD-L1; tavşan, poliklonal; 1:1500; Abcam, Cambridge, MA, ABD.
2017	Çalışmamız	Klon SP142; 1:100; Spring BioScience, ABD.

Tüm bu etkenlere ek olarak, çalışmamızda, tümör kitlesini temsil eden küçük bir doku alanını inceleme imkanı veren doku “array” yönteminin kullanılmış olması, literatüre göre daha düşük bir PD-L1 pozitifliği oranı bulunmasındaki sebeplerden biri olarak düşünülebilir. Literatürde de immünohistokimyasal uygulamalar için doku elde edilmesinde farklı yöntemlerin kullanılmış olduğu görülmektedir. Birçok araştırmacı gastrektomi materyallerinde tümörü temsil eden bir parafin bloktaki tümör alanının tamamını kullanmayı tercih ederken, bazı araştırmacılar doku “mikroarray” blokları veya biyopsi materyallerini kullanmıştır[68, 73, 80]. Örneğin Böger ve ark, rezeksiyon materyaline ait tümör kesitlerinde PD-L1 pozitifliği gösteren olgulara ait endoskopik biyopsi materyallerinden hazırlanan kesitlerde tümörlerin %33,1’inde PD-L1 ekspresyonu bulunmadığını gözlemlemiştir[67]. Literatürde PD-L1 immünohistokimyası için seçilecek olan tümör alanı konusunda kesin bir uzlaşma bulunmasa da biyopsi ya da doku “array” materyallerinin bu amaçla kullanımının klinik sonuçlara etkileri yorumlanırken tümör temsiliyetlerinin de göz önünde bulundurulması önem kazanmaktadır. Çalışmalar arasındaki immünohistokimyasal değerlendirme farklılıkları da dikkati çekmektedir. Çalışmaların büyük kısmı tümör hücrelerindeki membranöz PD-L1 boyanmalarını pozitiflik kabul ederken, bazı çalışmalarda sitoplazmik boyanmaların da pozitif olarak

değerlendirildiği görülmektedir[68, 71, 80]. Bu da mide kanserlerinde PD-L1 pozitiflik oranlarındaki farklılığı ve diğer çalışmalara göre daha yüksek pozitiflik oranlarını açıklamaktadır.

Bazı çalışmalarda ise yukarıda tartışılan nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan beklenenden düşük PD-L1 ekspresyonu sorununu çözmek amacıyla PD-L1'in tümör veya immün hücrelerdeki ekspresyonuna dayanılarak pozitifliğe karar verildiği görülmektedir. Buna karşın, bizim gibi diğer birçok araştırmacı da PD-L1 ekspresyonunun tümör dokusu ve immün hücrelerdeki pozitifliğini ayrı ayrı değerlendirerek, özellikle tümördeki ekspresyonu prognozla ilişkilendirmiştir.

Çalışmamızda, PD-L1 ekspresyonu tümör hücrelerinde ve tümörü infiltre eden immün hücrelerde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tümörlerde izlenen immünespresif proteinlerin artmış ekspresyonu, tümörün endojen konakçı immünesine karşı bir yanıtı olabileceği gibi, tümöre ait intrinsik bir mekanizmayla da gelişebilir[80]. Bir çalışmada immünespresif protein ekspresyonu over kanserlerinde tümör infiltre eden lenfositlerle korelasyon göstermiştir. Başka bir çalışmada ise meme kanserlerinde INF- γ 'nın tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir[80]. Bu bulgular PD-L1 gibi immünespresif proteinlerin, tümör hücrelerinde endojen konakçı immünesine bir yanıt olarak eksprese edilebileceğine kanıt oluşturmaktadır. Diğer yandan Kim ve ark çalışmalarında, mide kanserli olgularda PD-L1, CTLA-4 ve IDO ekspresyonlarının korelasyon gösterdiği, ancak bu immünespresif proteinlerin ekspresyonunun tümör mikroçevresindeki immün hücre yoğunluğuyla korele olmadığı sonucuna ulaşmıştır[80]. Bu sonuçlar, immünespresif protein ekspresyonunun, yalnızca tümör mikroçevresi ile değil, tümör kaynaklı olabileceğini de düşündürmektedir. Çalışmamızda da, bu görüşle uyumlu olacak şekilde, tümör hücrelerindeki PD-L1 pozitifliği ile stromal TİL yüzdesi arasında bir ilişki saptanmazken, immün hücrelerdeki PD-L1 pozitifliği, stromal TİL yüzdesi ile korele bulunmuştur.

Çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitif olgularla, negatif olguların yaş dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir. Literatüre bakıldığında iki çalışmada PD-L1 pozitifliğinin ileri hasta yaşı ile ilişkili bulunduğu görülmektedir[69, 76]. Ancak diğer çalışmalarda böyle bir ilişki saptanmamıştır.

Böger ve ark'ın çalışması dışında, literatürdeki çalışmaların çoğunda olduğu gibi çalışmamızda da cinsiyet grupları arasında PD-L1 pozitifliği açısından herhangi bir fark bulunmadığı görülmüştür. Böger ve ark'ın çalışmasında erkeklerde, kadınlara göre mide karsinomlarında PD-L1 pozitifliğinin anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir[67].

Literatürde tümör lokalizasyonunun PD-L1 ekspresyonunu etkileyebileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Jiang ve ark, kardial tümörlerinde, korpus ve antrum tümörlerine göre anlamlı olarak yüksek PD-L1 ekspresyonu bulmuş[69], benzer şekilde Böger ve ark da proksimal tümörlerde, distal tümörlerden daha yüksek oranda PD-L1 pozitifliği bildirmiştir[67]. Çalışmamızda da fundus/korpus lokalizasyonlu tümörlerde, antrumdakilere göre daha yüksek PD-L1 ekspresyonu izlenmiş, ancak bu farkın anlamlı düzeyde olmadığı görülmüştür.

Tümör uzun çapı ile tümördeki PD-L1 pozitifliği arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar incelendiğinde, Zhang ve ark ile Wu ve ark'ın yapmış olduğu çalışmalarda PD-L1 ekspresyonu büyük tümör çapı ile ilişkili bulunmuştur[68, 72]. Diğer çalışmalarda [69, 70, 74] ve bizim çalışmamızda böyle bir ilişki saptanmamıştır.

Tümörler T evresi açısından incelendiğinde, Wu ve ark yaptığı çalışmada T3 tümörlerde %51,4, T1 ve T2 tümörlerde %20 oranında PD-L1 pozitifliği bildirmiştir[72]. Chang ve ark ise T1 tümörlerde %20,8, T2 tümörlerde %16,3, T3 tümörlerde %19,2, T4 tümörlerde %43,8 pozitiflik oranları saptamıştır[73]. Bu iki çalışmanın sonucuna göre PD-L1 pozitif tümörlerin daha yüksek T evresinde olduğu gözlenmektedir. Böger ve ark ise en yüksek pozitiflik oranını T2 tümörlerde (%48,2) gözlemlemiş, T3 ve T4 tümörlerde bu oranların ilginç şekilde daha düşük bulunduğunu bildirmiştir[67]. Çalışmamızda ise tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile T evresi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmaya dahil edilen olguların büyük kısmının T3 kategorisinde toplanması ve gruplardaki olgu sayılarının az olması istatistiksel analiz sonuçlarının yorumlanmasını güçleştirmektedir. Lenf nodülü metastazı varlığı ile PD-L1 pozitifliği arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar incelendiğinde, çalışmaların bir bölümünde, lenf nodülü metastazı bulduran olgularda PD-L1 pozitifliğinin belirgin olarak sık görüldüğü

saptanmışken[70, 72-74], diğer çalışmalarda lenf nodülü metastazı veya N kategorileri açısından bakıldığında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da N0 olguların %28,6'sı, N1 olguların %14'ü, N2 olguların %11,7'si, N3b olguların %10'u tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği göstermektedir. Buna göre oranlar arasında anlamlı fark bulunmamakla birlikte N evresi yükseldikçe PD-L1 ekspresyonunda azalma olduğu anlaşılmaktadır. Uzak organ metastazı açısından bakıldığında literatürde M kategorisi yönünden olguları inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. Böger ve ark PD-L1 pozitifliğini M0 tümörlerde (%26), M1 tümörlere (%15,2) göre daha sık olarak gözlemlemiştir[67]. Bizim çalışmamızda da M0 olguların %13,9'unda, M1 olguların %8,7'sinde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. Jiang ve ark ise M0 ve M1 olgulardaki PD-L1 pozitiflik oranlarını sırasıyla %40,9 ve %44,7 olarak bildirmiştir[69]. Çalışmamızda olgular düşük (Evre I+II) ve yüksek evre (Evre III+IV) olarak karşılaştırıldığında, düşük evreli olguların (n=18/98; %18,4), yüksek evreli olgulardan (n=11/119; %9,2) anlamlı olarak daha yüksek oranda PD-L1 pozitifliği bulundurduğu görülmüştür. Bu sonuçlar Çin'de yapılmış iki çalışmanın sonuçlarıyla karşıt özelliktedir. Bunlardan Hou ve ark Evre I+II olgularda %45, Evre II+III olgularda %73 oranında PD-L1 pozitifliği bulurken; Geng ve ark da bu oranlara benzer şekilde Evre I+II olgularda %45, Evre III+IV olgularda %78 oranında pozitiflik saptamıştır[70, 74]. Bu popülasyonlarda tümördeki PD-L1 ekspresyonunun ileri hastalık evresiyle belirgin şekilde ilişkili olduğu görülmektedir. Böger ve ark da çalışmalarında evreler arasında, tümördeki PD-L1 pozitiflikleri açısından anlamlı fark bulunduğunu ortaya koymuştur (Evre IA: %15,9; Evre IB: %38,2; Evre IIA: %26,3; Evre IIB: %37,8 Evre IIIA: %32,7; Evre IIIB: %16,2; Evre IIIC: %24,6; Evre IV: %15,6)[67]. Ancak Böger'in çalışmasında ileri evreyle, oranlarda artma veya azalma şeklinde bir ilişkinin bulunmadığı görülmektedir.

Çalışmamızda PD-L1 ile ilişkisini araştırdığımız invazyon paterni, stromal reaksiyonun özelliği, lenfovasküler ve perinöral invazyon, tümör tomurcuklanması ve H.pylori varlığı gibi diğer klinikopatolojik özelliklerle tümör hücrelerindeki PD-L1 pozitifliği arasında ilişki bulunmadığı gözlenmiştir.

Stromal/immün hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonu değerlendirildiğinde, PD-L1 boyanması gösteren olguların, diğer olgulara göre daha ileri yaş ortalaması gösterdiği saptanmış, fundus/korpus lokalizasyonlu tümörlerde immün hücrelerdeki PD-L1 boyanmasına daha sık olarak rastlanmıştır. Diğer klinikopatolojik özellikler ile immün hücrelerdeki PD-L1 boyanması arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda, PD-1 ekspresyonunun beklendiği gibi yalnızca tümör stromasındaki ve tümör infiltre eden immün hücrelerde bulunduğu görülmüştür. PD-1 için %1 eşik değeri kullanıldığında olgularımızın %42,3'ünde PD-1 pozitifliği saptanırken, literatürdeki ekspresyon oranlarının %27 ile %54 arasında değiştiği görülmüştür[67, 71, 73].

Çalışmamızda immün hücrelerde PD-1 pozitif olgularla, negatif olguların yaş dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, literatürde de benzer şekilde herhangi bir ilişkinin yer almadığı gözlenmiştir[67, 71, 73].

Çalışmamızda kadınlarda PD-1 pozitifliğinin erkeklere göre daha yüksek oranda bulunduğunu gözlenmiş, ancak literatürde PD-1 pozitifliği açısından cinsiyetler arasında böyle bir fark bildirilmemiştir[67, 71].

Çalışmamızda ve literatürdeki tek çalışmada[67] tümör lokalizasyonu ile PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı görülmüştür.

Tümör uzun çapı, Borrmann sınıflaması, TNM evrelemesi açısından çalışmamızda PD-1 ekspresyonu anlamlı farklılık göstermemiştir. Evreyle ilgili az sayıdaki çalışmada da anlamlı sonuç elde edilmemiştir[67, 71].

Lauren sınıflamasına göre histolojik alttipler ile PD-1 ekspresyonu ilişkisine bakıldığında yalnızca Chang ve ark'nın çalışmasında intestinal tipteki tümörlerde daha yüksek ekspresyonun bulunduğu gözlenmiş[73], bizim çalışmamızda ve Böger'in çalışmasında ise anlamlı ilişki saptanmamıştır. Buna karşın çalışmamızda kullanılan DSÖ sınıflamasının alttiplerinde PD-1 pozitifliğinin müsinöz karsinomlarda diğer tiplere göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Chang ve ark PD-1 ekspresyonunun tümör grade'yle pozitif korelasyon gösterdiğini saptamış[73], ancak çalışmamızda ve diğer çalışmalarda bu açıdan anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Lenfovasküler ve perinöral invazyonla PD-1 ilişkisi değerlendirildiğinde Chang ve ark'ın çalışması dışındaki diğer çalışmalarda ve bizim çalışmamızda herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Chang ve ark lenfatik invazyon gösteren tümörlerde yüksek PD-1 ekspresyonunun daha sık olduğunu ortaya koymuşlardır[73]. Benzer şekilde H.pylori ile de anlamlı ilişki bulunmadığı gözlenmiştir[67].

Son yıllarda tümör hücresi - tümör mikroçevresi arasındaki ilişki tümörlerin değerlendirilmesi ve prognoz belirlenmesinde giderek önem kazanmaktadır. Tümör infiltre eden lenfositler (TİL), tümöre karşı yanıtta tümör mikroçevresinin en önemli komponentini oluşturmaktadır. TİL, T hücre grupları, CD8+ sitotoksik T hücreler, CD4+ yardımcı T hücreler, CD45RO bellek T hücreleri, Foxp3+ regülatör T hücrelerinden oluşmaktadır. Birçok organ tümöründe olduğu gibi gastrik karsinomlarda da diğer klinikopatolojik parametrelerin yanı sıra TİL değerlendirmesinin yer aldığı çalışmalar bulunmaktadır. Bazılarında TİL'lerin immüfenotipik alttipleri araştırılırken, bir kısmında H&E değerlendirmesiyle sınırlı kalındığı görülmektedir[78]. Çalışmamızda H&E kesitlerde yaptığımız değerlendirme sonucunda stromal TİL yüzdeleri ile T grupları, Lauren'e göre histolojik alttipler (intestinal tip TİL > diffüz ve diğer tipler), lenfovasküler invazyon varlığı arasında anlamlı ilişki bulunduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde Dai ve ark düşük TNM evreli tümörlerde daha yüksek TİL skoru saptamışlardır[78]. Bu konudaki diğer çalışmalardan birinde CD3 pozitif TİL'lerin Lauren sınıflamasına göre diffüz tipte daha yüksek olduğu [80], diğerinde CD8 pozitif TİL'lerin intestinal tipte daha yüksek bulunduğu[73] ve bir başka çalışmada yüksek evre ve nodal metastaz ile Foxp3+ Treg'lerin oranının korele olduğu gösterilmiştir[70]. Çalışmamızda TİL'ler daha ayrıntılı olacak şekilde invazyon sınırı ve epitelyal tümör adalarını infiltre eden TİL'ler olarak da değerlendirilmiştir. Buna göre intratümöral ve invazyon sınırında TİL bulunduran tümörlerin daha büyük çapta, DSÖ sınıflamasına göre tübülopapiller tipte oldukları, daha düşük oranda perinöral

invazyon gösterdikleri, daha çok ekspansil tipte büyüme paterni gösterdikleri anlaşılmıştır. Ayrıca invazyon sınırında TİL bulunma sıklığı ile düşük evre ve H.pylori varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Çalışmamızda, stromal TİL yüzdeleri ile tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında bir ilişki saptanmazken, intratümöral TİL varlığında tümörde PD-L1 pozitifliği daha sık olarak gözlenmiş ve bu olgularda tümörde PD-L1 boyanma yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Benzer olarak immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu bulduran olgularda, buldurmeyen olgulara göre stromal TİL yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İntratümöral ve invazyon sınırında TİL bulduran olgularda, buldurmeyenlere göre, immün hücrelerdeki PD-L1 ve PD-1 boyanma yüzdeleri yüksek olarak izlenmiştir. Stromal TİL yüzdeleri ile immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında korelasyon izlenmezken, PD-1 ile stromal TİL yüzdesinin korele olduğu görülmüştür. Özellikle tümör adaları içinde TİL varlığı, EBV-assosiyeye ve MSI pozitif tümörlerde daha sık izlenen bir bulgudur. Çalışmamızda tümörlerin bu özellikleri ayrıca değerlendirilmemiştir. Ancak Tİllerin ayrıntılı olarak değerlendirilmesi ve PD-L1 ile korelasyon göstermesi tümörlerin moleküler özellikleri ve dolayısıyla prognozları açısından önemli ipuçları verebilecektir. Bu nedenle çalışmamızda kullanılan yöntemin (stromal/intratümöral/invazyon sınırı) TİL değerlendirmesi açısından daha sağlıklı olduğu düşünülebilir.

Sağkalım analizlerine göre T, N ve M kategorileri, hastalık evresi, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı, invazyon sınırındaki TİL varlığının sağkalım üzerinde anlamlı olarak etkili olduğu anlaşılmıştır.

PD-L1 ve PD-1 ekspresyonları açısından değerlendirildiğinde, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi, diğer olgulara göre anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur. Ancak çok değişkenli analizlerde PD-L1 pozitifliğinin bağımsız bir prognostik faktör olmadığı görülmüştür. İmmün hücrelerdeki PD-L1 ve PD-1 pozitifliği açısından bakıldığında gruplar arasında sağkalım süreleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir.

Literatür incelendiğinde bu konudaki çalışmaların büyük kısmının Uzakdoğu popülasyonunu kapsadığı ve gastrik karsinomlardaki PD-L1 ile PD-1 ekspresyonlarının çoğunlukla kötü prognostik faktör olarak öne sürüldüğü dikkati çekmektedir (Tablo 48). Daha az sayıdaki yayında ise PD-L1 ile PD-1 ekspresyonlarının prognozla ilişkisinin olmadığı ya da iyi prognostik faktörler olarak kabul edilebilecekleri bildirilmektedir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıkların sebebi olarak, bir kısmında olgu sayısının azlığı, PD-L1 pozitifliğini saptamak için farklı antikoların kullanılmış olması, pozitiflik değerlendirme yöntemlerindeki ve seçilen eşik değerlerdeki farklılıklar gösterilebilir. Ayrıca bazı yazarlar, bu değişik sonuçların, Asya ve Asya-dışı toplumlarda, mide karsinomlarındaki T hücre işlevlerine ilişkin tümör immünitesi özelliklerindeki farklılıklara da dayandırılabilceğini öne sürmektedir[67].

Tablo 58. Mide kanserlerinde PD-L1 ekspresyonu ile ilgili literatür sonuçları

Yıl	Yazar	Vaka sayısı	PD-L1+ / Boyanma şekli*	PD-1+	Prognostik faktör PD-L1/PD-1
2006	Wu C ve ark[72]	102	%42,2 (Sit.)	-	Kötü/-
2014	Jiang D ve ark[69]	205	%43 (Sit.&Memb.)	-	Kötü/-
2014	Hou J ve ark[70]	111	%63 (Sit./Memb.)	-	Kötü/-
2015	Zhang L ve ark[68]	132	%50,8 (Sit.)	-	Kötü/-
2015	Geng Y ve ark[74]	100	%65 (Sit.&Memb.)	-	Kötü/-
2016	Eto S ve ark[71]	105	%24,8 (Sit.)	%26,7	Kötü/Kötü
2017	Koh J ve ark[75]	392	%25 (Memb.)	-	İlişki yok/-
2017	Thompson ED ve ark[76]	34	%12 (Memb.)	-	Kötü/-
2016	Dai C ve ark[78]	398	%14,1 (Memb.)	-	İlişki yok/-
2016	Böger C ve ark[67]	465	%30,1 (Memb.)	%53,8	İyi/İyi
2016	Kim JW ve ark[80]	243	%43,6 (Sit.&Memb.)	%50,2	İyi/İlişki yok
2017	Çalışmamız	220	%13,6 (Memb)	%90	İlişki yok/İlişki yok

*Sit. – Sitoplazmik pozitiflik, Memb. – Membranöz pozitiflik.

TİL ile sağkalım ilişkisine bakıldığında, çalışmamızda invazyon sınırında TİL varlığında sağkalımın daha iyi olduğu gözlenmiş, ancak çok değişkenli analizlerde bunun bağımsız bir faktör olmadığı saptanmıştır. Submukozal invazyon gösteren 130 olguya ait gastrektomi materyallerini inceleyen bir çalışmada, submukozal invazyon bölgesinde lenfoid infiltrasyon varlığında daha az oranda lenf nodülü metastazı

bulunduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda N evresi ile TİL arasında böyle bir ilişki saptanmamıştır.

Lenfositik infiltrasyon gösteren tümörler birçok organda karşımıza çıkmaktadır. Mide karsinomları da sıklıkla lenfositik infiltrasyon bulunduran tümörler arasındadır. Tümör içerisindeki ve çevresindeki lenfoplazmasitik infiltrasyonun tümör ve konakçı arasındaki etkileşimi yansıttığı ve prognozla ilişkili olabileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Genel olarak bakıldığında yoğun bir lenfoid hücre infiltrasyonunun varlığı, daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmektedir.

Malign melanom ve akciğer kanseri gibi tümörlerde, PD-L1 pozitifliğinin anti-PD-1/PD-L1 tedavilere daha yüksek yanıt oranlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak mide kanserlerinde, PD-1/PD-L1 pozitifliğinin sağkalım üzerine olan tedaviden bağımsız etkileri de araştırılmalı ve tedavi etkilerinden ayırt edilmelidir. Şu an için PD-L1/PD-1 ekspresyonu, anti-PD-1/PD-L1 tedavileri için prediktif biyobelirteç olarak düşünülmektedir. Ancak PD-L1 için bir biyobelirteç skorunun nasıl geliştirilebileceği, biyopsi/doku “array” materyallerinin PD-L1/PD-1 ekspresyonunu belirlemede kullanılabilirliği, örnekleme hatalarını minimuma indirebilmek amacıyla hangi klinikopatolojik özelliklerin PD-L1/PD-1 ekspresyonuyla ilişkilendirilebileceği ve göz önünde bulundurulması gerektiği soruları yanıt beklemektedir. Bu çalışmada mide kanserlerinde PD-L1/PD-1 ekspresyonu geniş ve uygulanan kemoterapi rejimi açısından homojen bir seride değerlendirilmiş ve klinikopatolojik prognostik parametreler ve sağkalımla ilişkilendirilerek immünterapi açısından hasta seçimine katkı sağlayabilecek sonuçlar elde edilmeye çalışılmıştır. Bu sonuçların literatüre önemli katkılarının olacağına ve mide kanserli hastaların değerlendirilmesinde onkologlara prognostik açıdan yararlı bilgiler sağlayacağına inanılmaktadır.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda mide kanserli geniş bir hasta grubunda, tümörde ve tümör dokusundaki immün hücrelerde PD-1, PD-L1 ekspresyonu ve TİL varlığı ile klinikopatolojik özellikler ve sağkalım arasındaki ilişki araştırılmıştır.
- Tümör hücrelerindeki PD-L1 pozitifliği açısından bakıldığında, PD-L1 pozitif olguların, negatif olanlara göre genel sağkalımlarının anlamlı olarak daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak çok değişkenli analizlerde PD-L1'in bağımsız bir prognostik faktör olmadığı görülmüştür. Ayrıca PD-L1 pozitif tümörlerin oranı düşük evre (Evre I+II) hastalıkta, yüksek evredekilere (Evre III+IV) göre daha yüksek bulunmuştur.
- Stromal/immün hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonu değerlendirildiğinde, PD-L1 boyanması gösteren olguların, diğer olgulara göre daha ileri yaş ortalaması gösterdiği saptanmış, fundus/korpus lokalizasyonlu tümörlerde immün hücrelerdeki PD-L1 boyanmasına daha sık olarak rastlanmıştır. Diğer klinikopatolojik özellikler ile immün hücrelerdeki PD-L1 boyanması arasında bir ilişki saptanmamıştır.
- PD-1 ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde, kadınlarda saptanan PD-1 sıklığının daha yüksek olduğu bulunmuştur. DSÖ sınıflamasına göre incelenen histolojik alttipler arasında PD-1 ekspresyonu açısından farkların bulunduğu gözlenmiştir. Müsinöz karsinomlarda daha düşük oranda PD-1 ekspresyonu saptanmıştır. PD-1 ile diğer klinikopatolojik özellikler arasında bir ilişki saptanmamıştır.
- İmmün hücrelerde PD-L1 ve PD-1 ekspresyonu ile sağkalım arasında bir ilişki gözlenmemiştir.
- Stromal TİL yüzdeleri ile T grupları, Lauren'e göre histolojik alttipler (intestinal tip TİL > diffüz ve diğer tipler), lenfovasküler invazyon varlığı arasında anlamlı ilişki bulunduğu gözlenmiştir.
- İntratümöral ve invazyon sınırında TİL bulduran tümörlerin daha büyük çapta, DSÖ sınıflamasına göre tübülopapiller tipte oldukları, daha düşük oranda perinöral invazyon gösterdikleri, daha çok ekspansil tipte büyüme paterni gösterdikleri görülmüştür. Ayrıca invazyon sınırında TİL bulunma sıklığı ile düşük evre ve H.pylori varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

- Stromal TİL yüzdelерinin immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgularda yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca stromal TİL yüzdeleri ile PD-1 boyanma yüzdeleri korelasyon göstermiştir. İntratümöral TİL bulunduran olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği daha sık ve PD-L1 boyanma yüzdeleri daha yüksek olarak gözlenmiştir. İnvazyon sınırında TİL bulunduran olgularda genel sağkalımın daha iyi olduğu görülmüştür.
- Diğer klinikopatolojik parametrelerden sağkalıma etkisi olanlar T, N, M kategorileri, hastalık evresi, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı olarak bulunmuştur.



ÖZET

Son yıllarda tümöre karşı daha iyi bir immün yanıtın oluşturulabilmesine yönelik immün tedavilerin geliştirilmesi, bu tedavilerden en yüksek yararı görecektir hasta gruplarının belirlenmesini sağlayacak biyobelirteçlerin ortaya konmasını sağlamıştır. Bunlar arasında yer alan PD-1, immünite ve tolerans süreçlerinde T hücre işlevlerinin düzenlenmesinde önemli görevleri bulunan bir koreseptör proteindir ve PD-L1 ve PD-L2 olarak adlandırılan ve tümör hücrelerinde de eksprese edilebilen iki ligandı bulunmaktadır. Tam bir görüş birliği olmamakla birlikte, bazı çalışmalarda PD-L1 ekspresyonunun mide kanserlerinde, hedefe yönelik tedavilere yanıtı öngören, prediktif bir biyobelirteç olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışmada, 220 mide kanseri tanısı almış olguya ait rezeksiyon materyallerinden elde edilen tümör dokularında, tümör mikroçevresinin önemli komponentlerinden biri olan tümör infiltre eden lenfositlerin (TİL) yoğunluğu ve immünohistokimyasal olarak PD-1 ve PD-L1 ekspresyonlarının klinikopatolojik prognostik faktörler ve sağkalımla ilişkileri araştırılmıştır. Olguların stromal TİL yüzdeleri ile tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında bir ilişki saptanmazken, intratümöral TİL varlığında tümörde PD-L1 pozitifliği daha sık olarak gözlenmiş ve bu olgularda tümörde PD-L1 boyanma yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Benzer olarak immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgularda, bulundurmayan olgulara göre stromal TİL yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İntratümöral ve invazyon sınırında TİL bulunduran olgularda, bulundurmayanlara göre, immün hücrelerdeki PD-L1 ve PD-1 boyanma yüzdeleri yüksek olarak izlenmiştir. Stromal TİL yüzdeleri ile immün hücrelerdeki PD-L1 boyanma yüzdeleri arasında korelasyon izlenmezken, PD-1 ile stromal TİL yüzdesinin korele olduğu görülmüştür. PD-L1 ve PD-1 ekspresyonları sağkalım açısından değerlendirildiğinde, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi, diğer olgulara göre anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur. Sonuçlarımız, literatür eşliğinde değerlendirildiğinde, PD-L1 ve PD-1 ekspresyonlarının immünoterapiyenin yarar görebilecek hasta gruplarının belirlenmesi ve olguların prognostik değerlendirmesine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: PD-1, PD-L1, Tümör infiltre eden lenfositler, Mide karsinomu, Prognoz.

SUMMARY

The development of immune therapy modalities for better tumour immune response has prompted the identification of biomarkers to predict patients who would benefit from such therapies. PD-1, a co-receptor, regulates T cell function in tolerance and immune response with its two ligands expressed in tumour cells, PD-L1 and PD-L2. Despite lack of consensus, data from several studies suggest that PD-L1 expression could be a biomarker predicting tumour response to targeted therapy. In the present study, 220 gastric carcinomas were evaluated for TILs, and immunohistochemical expression of PD-L1 and PD-1 in association with other prognostic markers and patient survival. There was no correlation between stromal TILs and PD-L1 expression in tumour cells which was significantly more frequently observed in the presence of intratumoural TILs. Similarly, stromal TILs were higher in cases with PD-L1 expression by immune cells. Higher PD-L1 and PD-1 expression were observed in cases containing TILs within the tumour and also at the invasive front. There was no correlation between stromal TILs and PD-L1 expressions in immune cells in contrast to PD-L1 which was correlated with stromal TILs. When cases were evaluated for survival, PD-L1 expression in tumour cells was associated with better survival. In conclusion, the results of the present study suggest that PD-L1 and PD-1 expression may be useful in predicting cases who would benefit from immune therapy and also may aid in better prognostic stratification.

Key words: PD-1, PD-L1, Tumor-infiltrating lymphocytes, Gastric carcinoma, Prognosis.

KAYNAKLAR

1. Ferlay, J., ve ark., *Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012*. International journal of cancer, 2015. **136**(5): p. E359-E386.
2. Gültekin, M. ve G. Boztaş, *Türkiye kanser istatistikleri*. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2014. **43**.
3. Siegel, R.L., K.D. Miller, ve A. Jemal, *Cancer statistics, 2015*. CA: a cancer journal for clinicians, 2015. **65**(1): p. 5-29.
4. Ohtsu, A., *Chemotherapy for metastatic gastric cancer: past, present, and future*. Journal of gastroenterology, 2008. **43**(4): p. 256-264.
5. Bosman, F.T., W.H. Organization, ve I.A.f.R.o. Cancer, *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 2010: International Agency for Research on Cancer.
6. Baniak, N., ve ark., *Gastric biomarkers: a global review*. World J Surg Oncol, 2016. **14**(1): p. 212.
7. D'Errico, G., H.L. Machado, ve B. Sainz, *A current perspective on cancer immune therapy: step-by-step approach to constructing the magic bullet*. Clinical and Translational Medicine, 2017. **6**(1): p. 3.
8. Fife, B.T. ve K.E. Pauken, *The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2011. **1217**(1): p. 45-59.
9. Mills, S.E., *Histology for Pathologists*. 2012: Wolters Kluwer Health.
10. Tan, D. ve G. Lauwers, *Advances in Surgical Pathology: Gastric Cancer*. 2012: Wolters Kluwer Health.
11. Shepherd, N.A., ve ark., *Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology*. 2012: Wiley.
12. Milne, A.N., ve ark., *Early onset gastric cancer: on the road to unraveling gastric carcinogenesis*. Current molecular medicine, 2007. **7**(1): p. 15-28.
13. Riddell, R. ve D. Jain, *Lewin, Weinstein and Riddell's Gastrointestinal Pathology and its Clinical Implications*. 2014: Wolters Kluwer Health.

14. Bigelow, E., ve ark., *Immunohistochemical staining of B7-H1 (PD-L1) on paraffin-embedded slides of pancreatic adenocarcinoma tissue*. J Vis Exp, 2013(71).
15. Koelzer, V.H., ve ark., *Tumor budding in upper gastrointestinal carcinomas*. Frontiers in oncology, 2014. **4**: p. 216.
16. Gulluoglu, M., ve ark., *Tumor Budding Is Independently Predictive for Lymph Node Involvement in Early Gastric Cancer*. International journal of surgical pathology, 2015. **23**(5): p. 349-358.
17. Tanaka, K., ve ark., *Tropomyosin-related receptor kinase B at the invasive front and tumour cell dedifferentiation in gastric cancer*. British journal of cancer, 2014. **110**(12): p. 2923-2934.
18. Wang, K., ve ark., *Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer*. Nature genetics, 2014. **46**(6): p. 573-582.
19. Wang, K., ve ark., *Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer*. Nature genetics, 2011. **43**(12): p. 1219-1223.
20. Fukayama, M., *Epstein-Barr virus and gastric carcinoma*. Pathology international, 2010. **60**(5): p. 337-350.
21. Chang, M.-S., ve ark., *CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus*. Clinical Cancer Research, 2006. **12**(10): p. 2995-3002.
22. Cancer Genome Atlas Research, N., *Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma*. Nature, 2014. **513**(7517): p. 202-9.
23. Murakami, D., ve ark., *Expression of phosphorylated Akt (pAkt) in gastric carcinoma predicts prognosis and efficacy of chemotherapy*. Gastric Cancer, 2007. **10**(1): p. 45-51.
24. Li, V.S.W., ve ark., *Mutations of PIK3CA in gastric adenocarcinoma*. BMC cancer, 2005. **5**(1): p. 29.

25. Eichhorn, P.J., ve ark., *Phosphatidylinositol 3-kinase hyperactivation results in lapatinib resistance that is reversed by the mTOR/phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor NVP-BEZ235*. Cancer research, 2008. **68**(22): p. 9221-9230.
26. Sunakawa, Y. ve H.-J. Lenz, *Molecular classification of gastric adenocarcinoma: translating new insights from the cancer genome atlas research network*. Current treatment options in oncology, 2015. **16**(4): p. 1-18.
27. Hino, R., ve ark., *Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma*. Cancer research, 2009. **69**(7): p. 2766-2774.
28. Pardoll, D.M., *The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy*. Nature Reviews Cancer, 2012. **12**(4): p. 252-264.
29. Keir, M.E., ve ark., *PD-1 and its ligands in tolerance and immunity*. Annu. Rev. Immunol., 2008. **26**: p. 677-704.
30. Oki, E., ve ark., *Chemosensitivity and survival in gastric cancer patients with microsatellite instability*. Annals of surgical oncology, 2009. **16**(9): p. 2510-2515.
31. Choi, Y.Y., ve ark., *Is microsatellite instability a prognostic marker in gastric cancer?: A systematic review with meta-analysis*. Journal of surgical oncology, 2014. **110**(2): p. 129-135.
32. Jaiswal, B.S., ve ark., *Oncogenic ERBB3 mutations in human cancers*. Cancer cell, 2013. **23**(5): p. 603-617.
33. Gradishar, W., *Emerging approaches for treating HER2-positive metastatic breast cancer beyond trastuzumab*. Annals of oncology, 2013. **24**(10): p. 2492-2500.
34. Nahta, R. ve F.J. Esteva, *HER2 therapy: molecular mechanisms of trastuzumab resistance*. Breast Cancer Research, 2006. **8**(6): p. 215.
35. Kakiuchi, M., ve ark., *Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma*. Nature genetics, 2014. **46**(6): p. 583-587.
36. Smolen, G.A., ve ark., *Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-*

665752. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006. **103**(7): p. 2316-2321.
37. Dunn, G.P., ve ark., *Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape*. Nature immunology, 2002. **3**(11): p. 991-998.
 38. Hwang, W.-T., ve ark., *Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis*. Gynecologic oncology, 2012. **124**(2): p. 192-198.
 39. Galon, J., ve ark., *Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome*. Science, 2006. **313**(5795): p. 1960-1964.
 40. Zeng, D.-Q., ve ark., *Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer*. Oncotarget, 2016. **7**(12): p. 13765.
 41. Thomas, N.E., ve ark., *Tumor-infiltrating lymphocyte grade in primary melanomas is independently associated with melanoma-specific survival in the population-based genes, environment and melanoma study*. Journal of Clinical Oncology, 2013. **31**(33): p. 4252-4259.
 42. Salgado, R., ve ark., *The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014*. Annals of Oncology, 2015. **26**(2): p. 259-271.
 43. Gregory, A.D. ve A.M. Houghton, *Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy*. Cancer research, 2011. **71**(7): p. 2411-2416.
 44. Galdiero, M.R., ve ark., *Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer*. Immunobiology, 2013. **218**(11): p. 1402-1410.
 45. Volovitz, I., ve ark., *Dendritic Cells in the Context of Human Tumors: Biology and Experimental Tools*. International Reviews of Immunology, 2016. **35**(2): p. 116-135.
 46. Vivier, E., ve ark., *Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer*. Nat Rev Immunol, 2012. **12**(4): p. 239-252.
 47. Chen, X., ve ark., *CD4+CD25+ regulatory T cells in tumor immunity*. International Immunopharmacology, 2016. **34**: p. 244-249.

48. Siliņa, K., ve ark., *Manipulation of tumour-infiltrating B cells and tertiary lymphoid structures: a novel anti-cancer treatment avenue?* Cancer Immunology, Immunotherapy, 2014. **63**(7): p. 643-662.
49. Gorosito Serrán, M., ve ark., *The regulatory role of B cells in autoimmunity, infections and cancer: Perspectives beyond IL10 production.* FEBS letters, 2015. **589**(22): p. 3362-3369.
50. Lee, H., ve ark., *Prognostic implications of type and density of tumour-infiltrating lymphocytes in gastric cancer.* British journal of cancer, 2008. **99**(10): p. 1704-1711.
51. Chiaravalli, A.M., ve ark., *Intratumour T cells, their activation status and survival in gastric carcinomas characterised for microsatellite instability and Epstein–Barr virus infection.* Virchows Archiv, 2006. **448**(3): p. 344-353.
52. Zhuang, Y., ve ark., *CD8+ T cells that produce interleukin-17 regulate myeloid-derived suppressor cells and are associated with survival time of patients with gastric cancer.* Gastroenterology, 2012. **143**(4): p. 951-962. e8.
53. Ubukata, H., ve ark., *Evaluations of interferon- γ /interleukin-4 ratio and neutrophil/lymphocyte ratio as prognostic indicators in gastric cancer patients.* Journal of surgical oncology, 2010. **102**(7): p. 742-747.
54. Liu, T., ve ark., *Increased circulating Th22 and Th17 cells are associated with tumor progression and patient survival in human gastric cancer.* Journal of clinical immunology, 2012. **32**(6): p. 1332-1339.
55. Kashimura, S., ve ark., *CD83+ dendritic cells and Foxp3+ regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer.* Gastric Cancer, 2012. **15**(2): p. 144-153.
56. Perrone, G., ve ark., *Intratumoural FOXP3-positive regulatory T cells are associated with adverse prognosis in radically resected gastric cancer.* European Journal of Cancer, 2008. **44**(13): p. 1875-1882.
57. Shen, Z., ve ark., *Higher intratumoral infiltrated Foxp3+ Treg numbers and Foxp3+/CD8+ ratio are associated with adverse prognosis in resectable gastric cancer.* Journal of cancer research and clinical oncology, 2010. **136**(10): p. 1585-1595.

58. Wakatsuki, K., ve ark., *Clinical impact of tumor-infiltrating CD45RO+ memory T cells on human gastric cancer*. *Oncology reports*, 2013. **29**(5): p. 1756-1762.
59. Akagi, J. ve H. Baba, *Prognostic value of CD57+ T lymphocytes in the peripheral blood of patients with advanced gastric cancer*. *International journal of clinical oncology*, 2008. **13**(6): p. 528-535.
60. Yu, Q.-M., C.-D. Yu, ve Z.-Q. Ling, *Elevated circulating CD19+ lymphocytes predict survival advantage in patients with gastric cancer*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012. **13**(5): p. 2219-2224.
61. Chang, W.-J., ve ark., *Inflammation-related factors predicting prognosis of gastric cancer*. *World J Gastroenterol*, 2014. **20**(16): p. 4586-4596.
62. Rocha, B., A. Grandien, ve A.A. Freitas, *Anergy and exhaustion are independent mechanisms of peripheral T cell tolerance*. *Journal of experimental medicine*, 1995. **181**(3): p. 993-1003.
63. Barber, D.L., ve ark., *Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection*. *Nature*, 2006. **439**(7077): p. 682-687.
64. Sakaguchi, S., *Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses*. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004. **22**: p. 531-562.
65. Inman, B.A., ve ark., *Costimulation, coinhibition and cancer*. *Current cancer drug targets*, 2007. **7**(1): p. 15-30.
66. Ma, C., ve ark., *Programmed Death-Ligand 1 Expression Is Common in Gastric Cancer Associated With Epstein-Barr Virus or Microsatellite Instability*. *Am J Surg Pathol*, 2016. **40**(11): p. 1496-1506.
67. Boger, C., ve ark., *PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients*. *Oncotarget*, 2016. **7**(17): p. 24269-83.
68. Zhang, L., ve ark., *Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors*. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015. **8**(9): p. 11084-91.
69. Jiang, D., ve ark., *The role of B7-H1 in gastric carcinoma: clinical significance and related mechanism*. *Med Oncol*, 2014. **31**(11): p. 268.

70. Hou, J., ve ark., *Correlation between infiltration of FOXP3+ regulatory T cells and expression of B7-H1 in the tumor tissues of gastric cancer*. *Exp Mol Pathol*, 2014. **96**(3): p. 284-91.
71. Eto, S., ve ark., *Programmed cell death protein 1 expression is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection*. *Gastric Cancer*, 2016. **19**(2): p. 466-71.
72. Wu, C., ve ark., *Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance*. *Acta Histochem*, 2006. **108**(1): p. 19-24.
73. Chang, H., ve ark., *Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group*. *Oncotarget*, 2016. **7**(49): p. 80426-80434.
74. Geng, Y., ve ark., *Expression of costimulatory molecules B7-H1, B7-H4 and Foxp3+ Tregs in gastric cancer and its clinical significance*. *Int J Clin Oncol*, 2015. **20**(2): p. 273-81.
75. Koh, J., ve ark., *Clinicopathologic implications of immune classification by PD-L1 expression and CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes in stage II and III gastric cancer patients*. *Oncotarget*, 2017. **8**(16): p. 26356.
76. Thompson, E.D., ve ark., *Patterns of PD-L1 expression and CD8 T cell infiltration in gastric adenocarcinomas and associated immune stroma*. *Gut*, 2016.
77. Cho, J., ve ark., *Programmed cell death-ligand 1 expression predicts survival in patients with gastric carcinoma with microsatellite instability*. *Oncotarget*, 2017.
78. Dai, C., ve ark., *Concordance of immune checkpoints within tumor immune contexture and their prognostic significance in gastric cancer*. *Mol Oncol*, 2016. **10**(10): p. 1551-1558.
79. Kawazoe, A., ve ark., *Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients*. *Gastric Cancer*, 2016.

80. Kim, J.W., ve ark., *Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer*. *Gastric Cancer*, 2016. **19**(1): p. 42-52.



