

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

**ÖZEĞAGUS SKUAMÖZ HÜCRELİ
KARSİNOMLARINDA TÖMÖR İNFİLTRE
EDİCİ LENFOSİTLERİN VE TÖMÖR
TOMURCUKLANMASININ PROGNOSTİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

Dr. Burçin ERGÜL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru ŞENER

ERZURUM – 2023



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Adı, Soyadı : Burçin ERGÜL	Sınav tarihi: 21 / 09 / 2023
Anabilim Dalı : Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ebru ŞENER	
Tezin Konusu : Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinomlarında Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin Ve Tümör Tomurcuklanmasının Prognostik Parametrelerle İlişkisi	
Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

II. KARAR
Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçen tez, jüri üyelerince “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak; ☒ Kabulüne
1. Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY’nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)
2. Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY’nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişkisinin kesilmesine)
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ				
	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Doç. Dr. Remzi ARSLAN	Tıbbi Patoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ebru ŞENER	Tıbbi Patoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Onur CEYLAN	Tıbbi Patoloji	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TEŞEKKÜR	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Özefagus Embriyolojisi.....	4
2.2. Özefagus Anatomisi	5
2.2.1. Özefagusun Arteriyel Beslenmesi	7
2.2.2. Özefagusun Venöz Drenajı	7
2.2.3.Özefagusun Lenfatik Drenajı	7
2.2.4. Özefagusun İnnervasyonu	8
2.3. Özefagus Histolojisi	8
2.3.1. Mukoza	9
2.3.2. Submukoza	10
2.3.3. Muskülaris Propria	10
2.3.4. Adventisya.....	10
2.4. Özefagus Kanseri Epidemiyolojisi.....	10
2.5. Özefagus Kanseri Etyolojisi ve Risk Faktörleri.....	13
2.6. Skuamöz Hücreli Karsinom	17
2.6.1. Klinik Özellikler.....	17
2.6.2. Tanı ve Evreleme Yöntemleri	17
2.6.3. Makroskopik Özellikler.....	19
2.6.4. Mikroskopik Özellikler	20
2.6.5. Skuamöz Hücreli Karsinomların Histopatolojik Alt Tipleri	21
2.6.5.1. Verrüköz Skuamöz Hücreli Karsinom	21
2.6.5.2. İğsi Hücreli (Spindle) Skuamöz Hücreli Karsinom.....	22

2.6.5.3. Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinom (BSHK)	22
2.6.6. Tümöral Yayılım ve Evreleme	23
2.6.6.1. Tümöral Yayılım	23
2.6.6.2. Evreleme	24
2.6.8. Tedavi	28
2.7. Tümör Tomurcuklanması	30
2.7.1. Tümör Tomurcuklanmasının Tarihçesi, Tanımı ve Patogenezi	30
2.7.2. Tümör Tomurcuklanmasının Klinik Önemi ve Prognostik Değeri	33
2.7.3. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi	35
2.8. Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler	37
2.8.1. Kanser Gelişimi ve İmmün Sistem	37
2.8.2. Tümör Mikroçevresi ve Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin Tanımı	38
2.8.3. Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinomunda TIL Biyobelirteçlerinin Önemi	41
2.8.3.1. CD4+ ve CD8+ T Lenfositler ve Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinom	42
2.8.3.2. FOXP3+ T Lenfositler ve Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinom	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Etik Kurul ve Proje Destek Bilgileri	45
3.2. Olguların Seçimi, Verilerin Toplanması ve Klinikopatolojik Parametreler	45
3.3. Olguların Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi	46
3.4. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi	47
3.5. İmmünohistokimyasal Yöntem	48
3.6. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	49
3.7. İstatiksel Değerlendirme	51
4. BULGULAR	52
4.1. Genel Veriler	52
4.2. Tümör Tomurcuklanması ve Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler (CD4+, CD8+, FOXP3+) ile İlgili Veriler	55
4.3. Tümör Tomurcuklanmasının Klinik ve Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi.	56
4.4. Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin (CD4+, CD8+, FOXP3+ ve oranlarının) Klinik ve Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi	62

4.5. Tümör Tomurcuklanmasının Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler (CD4+, CD8+, FOXP3+ ve Oranları) ile İlişkisi	68
4.6. Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin (CD4+, CD8+, FOXP3+) Birbirleri ile İlişkisi	69
5.TARTIŞMA	70
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	91
7. KAYNAKLAR	95



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Özefagus Kanserlerinin İki Ana Tipi İçin Risk Faktörleri.....	16
Tablo 2. Özefagus Patolojik TNM Sınıflaması (AJCC 8th)	25
Tablo 3. Özefagus Kanserinde Patolojik Evreleme (pTNM)	26
Tablo 4. Antikorların Bilgileri ve Boyanma Yöntemleri	49
Tablo 5. Olguların Demografik ve Prognostik Verileri.....	53
Tablo 6. Olguların Tümör Tomurcuklanması Verileri	55
Tablo 7. Olguların Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlere ait İmmünohistokimyasal Verileri	55
Tablo 8. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Cinsiyet İle İlişkisi	56
Tablo 9. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tanı Yaşı İle İlişkisi	56
Tablo 10. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Histolojik Grade ile İlişkisi	57
Tablo 11. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tümör Çapı ile İlişkisi	57
Tablo 12. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Lenfovasküler İnvazyon İle İlişkisi	58
Tablo 13. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Perinöral İnvazyon ile İlişkisi	58
Tablo 14. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tümör İnvazyon Derinliği ile İlişkisi	59
Tablo 15. Tümör Tomurcuklanma Skorlarının Patolojik Tümör Evresi ile İlişkisi	60
Tablo 16. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Lenf Nodu Metastazı İle İlişkisi	60
Tablo 17. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Patolojik Evre ile İlişkisi	61
Tablo 18. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Sağkalım Süreleri İle İlişkisi ..	61
Tablo 19. CD4+/CD8+ Skorlarının Cinsiyet ile İlişkisi.....	63
Tablo 20. FOXP3+ TIL ve CD8+/FOXP3+ Skorlarının Tanı Yaşı ile İlişkisi ...	63
Tablo 21. CD4+ TIL Skorlarının Histolojik Grade ile İlişkisi	64
Tablo 22. CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL Skorlarının İnvazyon Derinliği ile İlişkisi	65
Tablo 23. CD4+,CD8+, FOXP3+ TIL Skorlarının Patolojik Tümör Evre Grupları ile İlişkisi	66

Tablo 24. FOXP3+ TIL Skorlarının Lenf Nodu Metastazı İle İlişkisi.....	66
Tablo 25. CD4+ ve FOXP3+ TIL Skorlarının Patolojik Evre ile İlişkisi.....	67
Tablo 26. FOXP3+/CD4+ Skorlarının Sağkalım Süreleri İle İlişkisi	68
Tablo 27. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının CD4+, CD8+, FOXP3+ ve Oranları İle İlişkisi	68
Tablo 28. CD8+ TIL Skorlarının CD4+ TIL Skorları ile İlişkisi.....	69
Tablo 29. FOXP3+ TIL Skorlarının CD8+ TIL Skorları ile İlişkisi	69



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Özefagusun Histolojisi	9
Şekil 2. Her İki Cinsiyet İçin 2020'de En Yaygın Kansere Vakalarının Dağılımı	11
Şekil 3. Her İki Cinsiyet İçin 2020'de Kansere Bağlı Ölümün Dağılımı	11
Şekil 4. 2020'de Özofagus Kanseri İçin Cinsiyete Göre Bölgeye Özgü Yaşa Göre Standardize Edilmiş İnsidans Oranları.....	13
Şekil 5. Japonya Özefagus Derneği Makroskopik Klasifikasyonu (Tip 0-4)	20
Şekil 6. TT, EMT ve KKH arasındaki etkileşimler	33
Şekil 7. Tümörün invaziv kenarında düşük (A) ve orta (B) tümör tomurcuklanması.....	48
Şekil 8. Tümörün invaziv kenarında yüksek (A) tümör tomurcuklanması ve tümör tomurcuklanması izlenmeyen invaziv sınır (B).....	48
Şekil 9. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) CD4+ tümör infiltrate edici lenfositler	50
Şekil 10. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) CD8+ tümör infiltrate edici lenfositler	51
Şekil 11. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) FOXP3+ tümör infiltrate edici lenfositler.....	51
Şekil 12. Tümör Tomurcuklanması Skorlarına Göre Sağkalım Grafiği	62

KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC	: Amerikan Kanser Ortak Komitesi
AK	: Adenokanser
BMI	: Body Mass Index
BSHK	: Bazoloid Skuamöz Hücreli Karsinom
CAP	: College of American Pathologists
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EGJ	: Özefagogastrik Bileşke
EMR	: Endoskopik Mukozal Rezeksiyon
EMT	: Epitelyal Mezenkimal Geçiş
ESD	: Endoskopik Submukozal Diseksiyon
ESGE	: Avrupa Gastrointestinal Endoskopi Derneği
ESM	: Ekstrasellüler Matris
GI	: Gastrointestinal
GÖR	: Gastroözefageal Reflü
GLOBOCAN	: Küresel Kanser Gözlemevi
H&E	: Hemotoksilen ve Eozin
HPV	: Human Papilloma Virüs
ITBCC	: Uluslararası Tümör Tomurcuklanması Konsensus Konferansı
JES	: Japonya Özefagus Derneği
JSCCR	: Japonya Kolorektal Kanser Topluluğu
KKH	: Kanser Kök Hücreleri
LVİ	: Lenfovasküler İnvazyon
MET	: Mezenkimal Epitelyal Transizyon
NBI	: Dar Bant Görüntüleme
ÖK	: Özefagus Kanseri
ÖSHK	: Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinom
PNI	: Perinöral İnvazyon
SE	: Skuamöz Epitel
SHK	: Skuamöz Hücreli Karsinom
TIL	: Tümör İnfiltrat Edici Lenfositler

TMÇ	: Tümör Mikroçevresi
TNM	: Tümör-Lenf nodu-Metastaz
TT	: Tümör Tomurcuklanması
UICC	: Uluslararası Kanser Kontrol Birliği



TEŞEKKÜR

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalımızda uzmanlık eğitimim süresince her türlü bilgi, yetenek ve mesleki deneyimleri ile bana ışık tutan, bilgi ve becerilerimin gelişmesinde katkıları bulunan, Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Remzi ARSLAN'a ve tez danışmanım Doç. Dr. Ebru ŞENER'e, değerli hocalarım Prof. Dr. Sare ŞİPAL, Prof. Dr. Elif DEMİRCİ, Doç. Dr. Betül GÜNDOĞDU, Doç. Dr. Sevilay ÖZMEN, Doç. Dr. Onur CEYLAN ve Dr. Öğr. Üyesi Rabia DEMİRTAŞ'a en içten teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Her koşulda destekçim olup, bilgi ve her tecrübesini benimle paylaşan arkadaşım, sevgili kıdemlim Uzm. Dr. Keziban Ülke ESİN'e, asistanlık yıllarım boyunca birlikte çalıştığım, birbirimize destek olduğumuz ve onlarla çalışmaktan mutluluk duyduğum kıymetli dostlarım araştırma görevlisi arkadaşlarım Numan, Özge, Serenay, Yakup, Derya, Ayşenur ve Zehra'ya; yardımlarını ve güler yüzlerini esirgemeyen teknisyen arkadaşlarıma, sekreterlerimize ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın ve eğitimimin her anında yanımda olan, aldığım bütün kararlarda arkamda olan, bugünlere gelmemde en büyük emek ve özveriyi gösteren anneme ve babama, iyi günde kötü günde hayatımın her aşamasında bana destek olan, sevgisi ve anlayışı ile her zaman yanımda olan yol arkadaşım, eşim Uzm. Dr. Ersin ERGÜL'e ve umut kaynağımız, hayatımıza neşe katan oğlum Deniz Arel'e en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Burçin ERGÜL

ÖZET

Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinomlarında Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin ve Tümör Tomurcuklanmasının Prognostik Parametrelerle İlişkisi

Çalışmamızda özefagus skuamöz hücreli karsinom (ÖSHK) tanılı özefajektomi materyallerinde tümör tomurcuklanması (TT) değerlendirilmesi ve tümör infiltrate edici lenfosit (TIL) alt tiplerinin (CD4+, CD8+, FOXP3+) immünohistokimyasal olarak analizi, sonuçların klinikopatolojik prognostik parametrelerle ve birbirleriyle ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamız kapsamında preoperatif neoadjuvan tedavi almamış özefajektomi materyallerinde ÖSHK tanısı alan 75 olgu incelenmiştir. Olgulara ait H&E preparatlar CAP protokolüne göre yeniden değerlendirilmiştir. Tümöral alan ve TIL'leri en iyi temsil eden kesitlere immünohistokimyasal olarak CD4, CD8, FOXP3 çalışılmıştır. Belirteçlerin ekspresyonları manuel olarak 10 BBA'da sayılmış, ortalamaya göre kesme değeri belirlenerek düşük/yüksek olarak skorlanmıştır. TT 2016 ITBCC'nin sistemine göre değerlendirilmiş ve skorlanmıştır.

Çalışmamızda yüksek TT; kötü histolojik grade, ileri patolojik tümör evresi (pT) ve daha kısa süreli sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Düşük CD4+ TIL; kötü histolojik grade, artmış invazyon derinliği, ileri pT, ileri patolojik evre ve düşük TT ile ilişkili; yüksek FOXP3+ TIL artmış invazyon derinliği, lenf nodu metastazı varlığı, ileri patolojik evre ile ilişkili; düşük FOXP3+/CD4+ daha uzun sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. CD8+ ile prognostik parametreler arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamıştır. CD4+ ve CD8+ TIL arasında korele, FOXP3+ ve CD8+ TIL arasında ters ilişki saptanmıştır.

Çalışmamız sonucu TT'nin yüksek malignite potansiyeli ve azalmış postoperatif sağkalımı gösteren kötü prognoz ile ilişkili iyi bir belirteç olabileceğini ve patoloji raporlarında bulunması gerektiğini düşündürmüştür. FOXP3+ lenfosit sayısında artışın tümör yayılımı ve metastaz ile ilişkili ve CD4+ lenfosit sayısında artışın anti-tümör etkisinin olduğu saptanmıştır. TT ve TIL alt tiplerinin

bireyselleştirilmiş risk değerlendirmesinde, operasyon sonrası daha ileri tedaviden yarar sağlayacak hastaların belirlenmesinde ve yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesine katkı sağlayacak belirteçler olabileceği düşünülmüştür. TIL alt tipleri ve TT'nın birlikte değerlendirilmesi her iki faktörün tek başına olduğundan daha üstün prognoz değerlendirmesi ve hasta sınıflandırması elde etmemize yardımcı olabilir. ÖSHK tanılı olgularda TT ve TIL alt tipleriyle ilgili az sayıda çalışmanın olması ve sonuçlarının birbirinden farklı olması nedeniyle daha geniş çaplı vaka serileriyle çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Özefagus, Skuamöz Hücreli Karsinom, Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler, Tümör Tomurcuklanması

ABSTRACT

The Relationship of Tumor-infiltrating Lymphocytes and Tumor Budding with Prognostic Parameters in Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus

In our study, it was aimed to evaluate tumor budding (TB) and immunohistochemical analysis of tumor infiltrating lymphocyte (TIL) subtypes (CD4+, CD8+, FOXP3+) in esophagectomy materials diagnosed with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), and to examine the relationship between the results with clinicopathological prognostic parameters and each other.

Within the scope of our study, a total of 75 cases were investigated that has ESCC diagnosed esophagectomy specimens that didn't receive preoperative neoadjuvant therapy. The H&E slides of the cases were reevaluated according to the CAP protocols. CD4, CD8, FOXP3 were studied immunohistochemically to the sections that best representing the tumoral area and TILs best. The expression of these markers were manually counted 10 HPF and a cut off value was determined based on the average count to score them as low/high. TT was evaluated and scored according to the 2016 ITBCC's system.

High TT was found to be associated with worse histological grade, advanced pathological tumor stage (pT), and shorter survival. Low CD4+ TIL was associated with worse histological grade, increased depth of invasion, advanced pT, advanced pathological stage and low TT; high FOXP3+ TIL was associated with increased depth of invasion, presence of lymph node metastases, advanced pathological stage; low FOXP3+/CD4+ was found to be associated with longer survival. There was no significant statistical relationship between CD8+ TIL and prognostic parameters. It was found correlation between CD4+ and CD8+ TIL, and inverse correlation between FOXP3+ and CD8+ TIL.

The results of our study suggested that TT may be a good marker associated with poor prognosis, showing high malignancy potential and decreased postoperative survival, and should be included in pathology reports. It was determined that an

increase in FOXP3+ lymphocyte count was associated with tumor spread and metastasis, and an increase in CD4+ lymphocyte count had an anti-tumor effect. It is thought that TT and TIL subtypes may be markers that will contribute to the individualized risk assessment, identifying patients who will benefit from further treatment after the operation, and the development of new treatment modalities. Evaluation of TIL subtypes and TT together may help us to obtain superior prognostication and patient classification than alone. Multicenter studies with larger case series are needed because of there are few studies on TT and TIL subtypes in cases with ESCC and the results are contradictory.

Keywords: Esophagus, Squamous Cell Carcinoma, Tumor Infiltrating Lymphocyte, Tumor Budding

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Özefagus kanseri (ÖK), 2020 yılı Küresel Kanser Gözlemevi (GLOBOCAN) tahmini verilerine göre insidans açısından diğer kanser türlerine göre yedinci, kansere bağlı ölümler arasında altıncı sıradadır (1). ÖK’da erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık 2-4 kat artmış insidans ve ölüm oranı mevcuttur (2). 2017 Türkiye Kanser İstatistikleri verilerine bakıldığında ÖK ölüm oranı %1 olarak görülmekle birlikte aynı yıl dünyada bu oran %5,3’tür. Yapılan bir çalışmada bu oran Erzurum ilimizde %5 olarak tespit edilmiş olup Türkiye ortalamasının oldukça üzerindedir (3). Türkiye kanser istatistiklerine göre sırası ile erkek ve kadınlarda görülme sıklığı 100.000 kişide 1,8 ve 1 olarak bildirilmiştir (4).

ÖK, adenokarsinom (AK) ve skuamöz hücreli karsinom (SHK) olarak 2 ana histolojik alt tipe göre sınıflandırılabilir. Dünya genelinde, SHK hem erkek hem de kadın hastalarda en çok görülen ortak alt tip olup, tüm ÖK’nın %85’ini oluşturmaktadır (5). SHK 30 yaş öncesi oldukça nadir olmakla birlikte, hem kadın hem de erkeklerde ortalama 65 yaş civarında pik yapmaktadır (6).

Tanı ve tedavideki son gelişmelere rağmen ÖK’nın beş yıllık sağkalımı yaklaşık %20 olup, özellikle ileri evre prognozu hala çok kötüdür (7). Öyle ki yapılan çalışmalarda ortalama yaşam süresi 14 ay olarak belirtilmiştir (8).

Kemoterapi ve cerrahi rezeksiyon, ÖSHK tedavisinde önemli gelişmelere katkıda bulunmuş olsa da, ÖSHK tedaviden sonra relaps, metastaz ve direnç gelişimine eğilimlidir. Kemoterapi direncinin gelişimi ise multifaktöriyeldir. Birçok çalışma apoptoz, otofaji bozukluğu, gelişmiş DNA onarımı, epitelyal mezenkimal transizyon (EMT), ilaç metabolizma enzimlerinin inaktivasyonu ve membran taşıyıcılarının ekspresyonu veya aktivitesindeki değişikliklerin ilaç direncinin gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Bunun üzerine ileri evre ÖSHK’ların hayatta kalma oranını ve kalitesini iyileştirmek için yeni tedavi modalitelerine ihtiyaç duyulmuştur. İmmünomodülatörlerin, terapötik aşılardan, monoklonal antikorların uygulanmasını içeren immünoterapi, immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI’ler) ve adaptif hücreli immünoterapi, ÖK tedavisinde yeni bir yöntem olmakla birlikte

melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi farklı tümör tipleri için umut verici bir terapötik strateji olarak kabul edilmiştir (9, 10). Bu açıdan da bireyselleşmiş risk değerlendirmesi yaparak immünoterapiden fayda sağlayacak hastaları belirlemek ve bireyselleştirilmiş yeni tedavi modalitelerinin geliştirilebilmesi için prognoz ve sağkalım ile ilişkili olabilecek muhtemel prognostik belirteçlerin araştırılması büyük önem taşımaktadır (10, 11).

TT, yayılma ve metastaz yapma özelliğine sahip, izole edilmiş tek bir kanser hücresi veya beşten az kanser hücresinden oluşan bir küme olarak tanımlanır. TT, 2016 Uluslararası Tümör Tomurcuklanması Konsensus Konferansı (ITBCC) ile kolorektal kanser evrelemesinde raporlama sistemine dahil edilmiştir (12). Özefagus kanserli hastalarda da TT'nın bazı çalışmalarda tek başına yüksek malignite potansiyeli ve ameliyat sonrası sağkalımı azaltan patolojik bir belirteç olduğu sonucu öngörülmüştür (13, 14).

TIL'ler esas olarak T hücrelerinden oluşan heterojen lenfosit popülasyonudur, çok sayıda anti-tümör efektör veya regülatör T hücreleri içerirler. Tümör mikroçevresinde ve tümöre karşı konak immün cevabında anahtar rol oynarlar (15, 16). Patolojik inceleme ile gözlemlenen morfolojik lenfositik reaksiyon, tümör hücrelerine karşı konakçı immün yanıtının bir göstergesidir ve çeşitli tümörlerde bağımsız bir prognostik biyobelirteç oldukları kanıtlanmıştır (17). TIL'ler, hücre zarındaki spesifik antijenlere göre birkaç alt tipe ayrılabilir (CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+ TIL vb.). TIL alt tiplerinin her biri, tümörün ilerlemesinde farklı rollere sahiptir. Birkaç çalışma, TIL alt tiplerinin ÖSHK'lı hastalar için potansiyel prognostik biyobelirteçlerden biri olabileceğini de doğrulamıştır (18, 19).

Literatürde ÖSHK'da TT ve TIL'e dair az sayıda çalışma mevcut olup bu çalışmalarda TIL'in prognostik rolü bu lenfositlerin tipine göre değişkenlik göstermekte ve sonuçları farklılık gösteren yayınlar bulunmaktadır (20, 21, 22).

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde preoperatif neoadjuvan tedavi almamış, ÖSHK tanılı özefajektomi materyallerinde TT değerlendirilmesi, TIL alt tiplerinin (CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+TIL) immünohistokimyasal olarak

analizi ve oranlanması ile sonuçların cinsiyet, yaş, histolojik grade, tümör çapı, invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon (LVI), perinöral invazyon (PNI), patolojik evre, lenf nodu metastazı, sağkalım gibi demografik, histopatolojik ve prognostik veriler ile karşılaştırılması yanı sıra TT ve TIL alt tipleri arasındaki ilişkinin incelenmesi ve literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Özefagus Embriyolojisi

Gastrointestinal (GI) sistem genellikle “bağırsak” olarak adlandırılan sindirim sisteminin içi boş organlarını (yutak, yemek borusu, mide, bağırsak ve kolon) ve GI yolu türevlerini (tiroid, timus, paratiroid, akciğerler, karaciğer ve pankreas) içeren kompleks fizyolojik bir sistemdir. Üç germ tabakası da bağırsak oluşumuna katılır. Endoderm ve mezoderm, sırasıyla epitel tabakasını ve kas tabakalarını oluştururken; ektoderm, "enterik sinir sistemi" olarak adlandırılan GI yol boyunca bulunan nöral pleksusları oluşturur. Sefalokaudal ve lateral embriyo katlanması ve endoderm kaplı yolk kesesinin birleşmesi, embriyonik bağırsağın gelişiminin ilk basamağıdır. Embriyonun ön ve arka uçlarında, ilkel bağırsağı oluşturmak üzere birleşen iki kör uçlu endodermal invajinasyonun oluşumuna yol açar. Bu ilkel bağırsak yapısı daha sonra üç ana alana ayrılır: ön bağırsak (yemek borusu ve mide), orta bağırsak (ince bağırsak) ve arka bağırsak (kolon). Anatomik olarak, ön bağırsak ayrıca ön ve arka ön bağırsak olmak üzere iki kısma ayrılır. Ön bağırsak yemek borusu, trakea ve akciğerleri ve arka ön bağırsak mide, pankreas ve karaciğeri oluşturur. Farklı işlevlerine rağmen, sindirim ve solunum sistemleri gelişmekte olan ön bağırsaktan kaynaklanan ortak bir embriyojenik kökene sahiptir (23).

Embriyolojik gelişimin başlarında trakea ve özefagus embriyolojik ön bağırsağın anterior bölgesinde tek lümeni paylaşırlar ve burada respiratuar divertikül belirir. Bu divertikül, ön bağırsağın dorsal kısmından özefagotrakeal septum aracılığıyla ayrılır. Özefagotrakeal septum özefagusun dorsalinde endodermal hücrelerden oluşur ve ön bağırsağın proksimal kısmının ventralinden trakea, dorsalinden özefagus oluşmaya başlar. İki ayrı kanal haline gelen özefagus ve trakea bir yandan uzarken diğer taraftan birbirlerinden ayrılır. Bu özefagotrakeal ayrılma ortalama 4-6. gestasyonel haftalarda meydana gelir (24, 25).

Özefagus spesifikasyonu meydana geldikten sonra, gelişmekte olan embriyoda birkaç önemli değişiklik görülebilir. Gelişimin yaklaşık altıncı haftasında sirküler ve longitudinal kas katmanları oluşmaya başlar ve miyenterik pleksusun ganglion

hücreleri ortaya çıkar. Altıncı haftada başlayan kas tabakaları dokuzuncu haftada tamamlanır. Yedinci haftaya gelindiğinde, mezodermal kaynaklı hücreler, özefagusa nihai kan akışını oluşturan submukozal tabakada proliferasyon olur. Özefagus innervasyonu, embriyonun gelişimi boyunca devam eder ve dördüncü haftadan başlayarak bağırsak tüpü boyunca rostral-kaudal olarak göç eden ve dokuzuncu gelişim haftasında göçlerini sona erdiren nöral krest hücrelerinin proliferasyonuna ve göçüne bağlıdır. Altıncı haftada, kas tabakaları oluşmaya başladığında, nöronal krest orijinli hücreler kas tabakaları arasından içeri doğru göç ederek sonunda submukozal pleksusa yol açar. Erken dördüncü haftada nöronal gelişimle başlayan bu süreç, doğumdan sonra da devam eden yavaş bir olgunlaşma süreci ile devam eder (26).

Özefagus epiteli embriyonel evrede respiratuar epitelden zor ayrılan basit kolumnar tiptedir. Hızla proliferasyon olarak özefagus lümenini tamamen tıkar. Sekizinci gestasyonel haftada kolumnar hücreler arasında vakuoller oluşmaya başlar. Silyalı hücreler onuncu haftada görülmeye başlar ve özefagus tek bir lümen haline gelir. Epiteldeki vakuoller 14. haftada kaybolur. Bu aşamada epitel psödostrafiye kolumnar epitel halini alır. Dördüncü ayda silyalı hücreler stratifiye skuamöz epitel ile yer değiştirmeye başlar ve bu doğuma kadar devam eder. Özefagusun proksimal ve distalinde silyalı epitele ait adacıklar kalır ve bunlar daha sonra özefagus glandlarını oluşturur (27, 28).

2.2. Özefagus Anatomisi

Özefagus farinksten sonra gelen yiyecekleri sindirim ve emilimin gerçekleşeceği mideye doğru iten, trakea ve kalbin arkasında vertebranın önünde seyreden, yetişkinlerde yaklaşık 24-34 cm uzunluğunda dinamik, kaslı ve tübüler bir organdır. Başlangıcı boyunda krikoid kıkırdığın alt sınırındaki (faringoözofageal bileşke) C5-6. vertebra olup, superior ve posterior mediasten boyunca vertebral kolonun anteriorunda uzanır. Diyaframı geçtikten sonra (T10 seviyesi) midenin kardiya bölgesinde (T11 seviyesi, sternumun ksifoid çıkıntısına da karşılık gelen) sonlanır (29). Özefagusun yaklaşık 5 cm'si boyunda, 17-18 cm'si mediastende, 1-1,5 cm'si diaframda ve 2-3 cm'si karındadır. Yemek borusunun uzunluğu cinsiyete ve

yaşıya göre farklılık gösterir. Yenidoğanda ortalama 18 cm iken, üç yaşına gelindiğinde 22 cm ve on yaşında 27 cm boyutlarındadır (30).

Özefagus üç anatomik bölüme ayrılmıştır: servikal, torasik ve abdominal.

Servikal özefagus: Ortalama 5 cm uzunluktadır. Altıncı servikal vertebra seviyesinden anteriorda suprasternal çentik, posteriorda birinci ve ikinci torasik vertebra arasındaki boşluğa kadar uzanır. Servikal özefagus her iki yanda karotis kılıfları ve tiroid bezi, önde trakea, arkada vertebral kolon ve prevertebral fasya ile sınırlanmıştır (31).

Torasik Özefagus: Superior-posterior mediastende vertebral kolon ile trakea arasında yer alır ve suprasternal çentikten (T1 seviyesi) diyaframa (T10 seviyesi) kadar uzanır. Özefagus T4 vertebral seviyesinde aortik arkın arkasında ve sağında yer alır. T8 seviyesinden diyafragmatik hiatusa kadar aortun önünde yer alır. Aort ile yakın komşuluk sebebiyle koroziv madde vb. bağılı özefagus perforasyonu durumlarında aorta-özefageal fistüller oluşur (32).

Abdominal Özefagus: Diyaframı (T10 seviyesi) geçmesiyle başlar yüksek küçük kurvatüre uzanan midenin kardiasıyla (T11 seviyesi) birleşmesiyle biter. Burada yaklaşık 2-6 cm uzunluğundadır. Sağda karaciğerin kaudat lobu, solda midenin fundusu, önde karaciğerin sol lobunun arka yüzü ve turunkus vagalis anterior ile komşuluk yapar. Abdominal özefagusun ön ve yan yüzeyi periton ile kaplıdır (31).

Özefagusda lümenin daraldığı 4 yer vardır; yukarıdan aşağıya doğru sırasıyla:

- 1. Darlık; faringoözefageal darlık:** En dar yerdir. Ön kesici dişlerden itibaren 15. cm'dedir. Lümen çapı 1,4 cm'dir. Gastrointestinal sistemde apendiks vermiformis orifisinden sonra en dar ikinci yerdir. Bu darlığa üst özefageal sfinkter de denir.
- 2. ve 3. Darlık; bronkoaortik darlık:** Arkus aortayı ve sol ana bronşu çaprazladığı yerdir. İkinci darlık ön kesici dişlerden itibaren 21. ve 22. cm'de, üçüncü darlık ise 27. cm'de yer alır. Lümen çapı 1,5-1,7 cm'dir.

4. Darlık; diyafragmatik darlık: Özefagusun hiatustan geçtiği yerdir. Ön kesici dişlerden itibaren 38. cm'dedir. Lümen çapı 1,6-1,9 cm'dir. Bu son darlığa alt özefageal sfinkter de denir.

Midenin kardiya kısmıyla birleştiği yerde darlık bulunmaz (30, 33).

2.2.1. Özefagusun Arteriyel Beslenmesi

Özefagusun vaskülarizasyonu komşu organlardan çıkan küçük dallarla sağlanır. İnferior tiroid arterin dalları, üst özefageal sfinkter ve servikal özefagusu, aortik özefageal arterler veya bronşiyal arterlerin terminal dalları torasik özefagusu, sol gastrik arter ve sol frenik arterin bir dalı, alt özefageal sfinkter ve özefagusun en distal segmentini besler. Özefagusu besleyen arterler, submukozada geniş, kapsamlı bir vasküler ağ şeklinde son bulur. Bol miktarda kan temini ve potansiyel olarak anastomotik vasküler pleksus, özefagus enfarktüsünün nadirliğini açıklayabilir (34).

2.2.2. Özefagusun Venöz Drenajı

Venöz kan daha sonra yukarıda belirtilen submukozal pleksustan superior vena kavaya akar. Azigot sistem özefagusun proksimal ve distal kısımlarının drenajını sağlarken, özefagusun orta kısmı portal venden dallanan sol gastrik venin yardımcıları aracılığıyla drenaj alır. Özefagus venöz sisteminin retrograd akımı venöz dilatasyona ve varislere neden olur ve bu varisler ölümcül kanamalara neden olabilir (32).

2.2.3. Özefagusun Lenfatik Drenajı

Özefagusun lenfatik drenajı çizgili ve düz kas bölgelerinde farklılık gösterir. Özefagusun proksimal üçte birinden gelen lenfatikler, derin servikal lenf düğümlerine ve ardından torasik kanala drene olur. Özefagusun orta üçte birinden gelen lenfatikler, üst ve arka mediastinal düğümlere drene olur. Özefagusun distal üçte birinin lenfatikleri sol gastrik arteri takip ederek gastrik ve çölyak lenf nodlarına ulaşır. Bu üç drenaj bölgesi arasında brankiojenik ve vücut mezenkiminden gelen lenfatik yolların ikili embriyojenik kökenine bağlı olarak birçok bağlantı vardır. Bölgedeki çift yönlü

lenf akışı, malignitenin alt yemek borusundan üst yemek borusuna yayılmasından sorumludur (29).

2.2.4. Özefagusun İnnervasyonu

Özefagus, glandüler sekresyonu, vasküler çapı ve çizgili ve düz kas aktivitesini düzenleyen parasempatik ve sempatik innervasyon alır. Parasempatik sinir kaynağı, üst özefagusun ve farinksin çizgili kas innervasyonu sağlar ve beyin sapından kaynaklanır (nükleus ambigu). Vagusun dorsal motor çekirdeği, miyenterik pleksusta gangliyonlarda son bulan distal özefagus düz kas segmenti ve alt özefagus sfinkterinin innervasyonu için başlangıç noktasıdır. Sempatik sinir kaynağı, servikal ve torasik sempatik zincirden (spinal segmentler T1-T10) gelir ve vasküler kasılmayı, özefagus sfinkter kasılmalarını, kas duvarının gevşemesini ve glandüler ve peristaltik aktivitedeki artışları düzenler. Sempatik ve parasempatik lifler kas tabakaları arasında ve submukozada bulunur. Ağrı duyusunu taşıyan lifler sempatik liflerle birlikte seyreder ve ağrı duyusu sternumun alt yarısında hissedilir (29, 34).

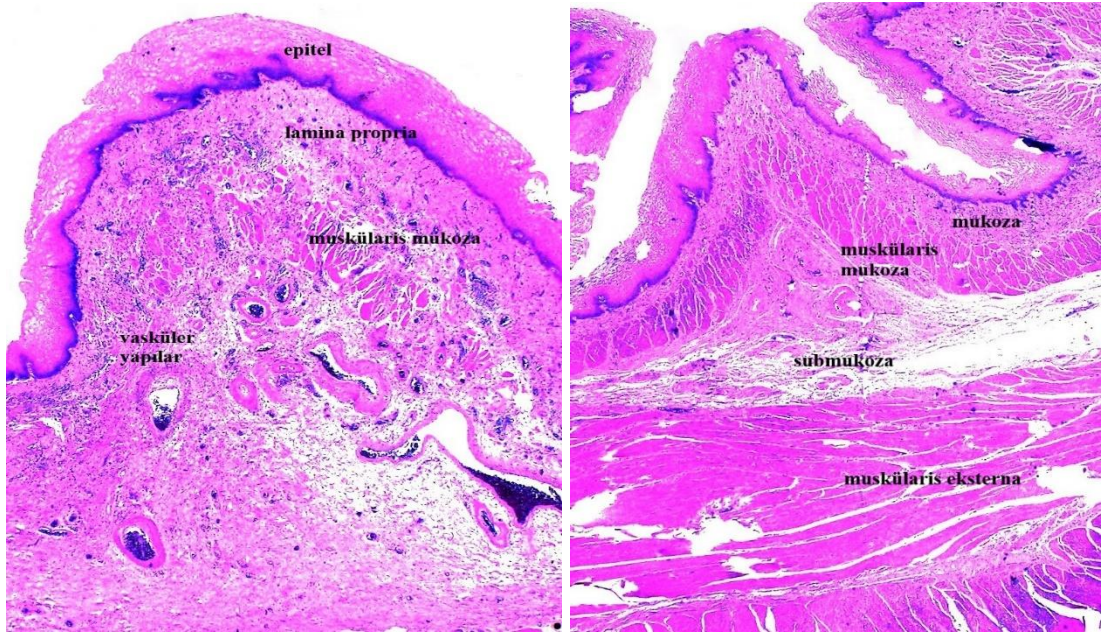
2.3. Özefagus Histolojisi

Özefagus, GI sistem organları içinde seroza tabakası (distal kısım hariç) ve mezenterisi olmayan tek organdır. Serozal tabakanın olmaması nedeniyle özefagus perforasyonları ve malignitelerin yayılması kolaylaşır. Ayrıca gevşek tabakanın varlığı özefagusun mediastenden künt diseksiyon işlemi ile cerrahi olarak daha kolay eksize edilmesini sağlamakla birlikte anastomoz ve cerrahi onarımı zorlaştırır (28, 35).

Özefagus duvarı içten dışa doğru; mukoza, submukoza, muskularis propriya ve adventisya olmak üzere 4 tabakadan oluşur. Özefagus, GI sistemin diğer organlarıyla kıyaslandığında özellikle distal kısmında muskularis mukaza tabakası en kalın organdır (36).

2.3.1. Mukoza

Nonkeratinize çok katlı yassı (skuamöz) epitel (SE), lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmaktadır. SE stromadan lümeneye doğru sırasıyla stratum bazale veya germinativum denilen bazal hücre tabakasından, stratum intermedium veya spinosum denilen dikenli tabakadan ve stratum superficiale veya korneum denilen yüzeyel tabakadan oluşur. Lamina propria'nın protrüzyonlarının epitelin iç sınırında oluşturduğu dalgalanmalar düzensiz görünüm oluşturup, rete çıkıntısı ya da dermal papilla olarak adlandırılır (28). Bazal hücre tabakası bazofilik, silindirik bir ve dört hücre tabakasından oluşur ve toplam epitel kalınlığının %15'ini geçmez. Ancak gastroözefageal reflü (GÖR) durumlarında kalınlaşır. SE sitotoksik T hücreleri (intraepitelyal lenfositler) ve langerhans hücreleri içerir, bazal tabakasında ise nöroendokrin hücreler ve melanositler bulunur (36). Lamina propria kollajen ve elastik liflerden oluşur; müköz tip özefageal bezler, kardiya bezlerini andıran bezler, küçük kan damarları, terminal lenfatikler, foliküller içerir. Proksimal özefagusta lamina propriada tübüloalveolar bezler, distalde tübüler bezler bulunur. B ve T helper hücreleri temel olarak lamina propriada izlenmektedir. Muskularis mukoza lamina propriayı submukozadan ayıran düz kas hücrelerinden oluşmaktadır (Şekil 1) (28, 37).



Şekil 1. Özefagusun Histolojisi

2.3.2. Submukoza

Meissner pleksus nöronlarını, lenfatik kanalları, kan arterlerini ve özefagus bezlerini barındıran yoğun bir bağ dokusu ağıdır. Bu özefagus bezleri miktar ve dağılım bakımından farklılık gösteren küboidal hücrelerden oluşan asiniler şeklinde düzenlenmiştir. Epitel dokusunu korumak ve onarmak için çok önemli olan bikarbonat ve epidermal büyüme faktörü gibi maddelerin yanı sıra bir kayganlaştırıcı olan mukus oluşturur ve yayarlar. Bu bezlerin salgıları kıvrımlı toplama kanallarından geçerek özefagus lümenine taşınır (38).

2.3.3. Muskülaris Propria

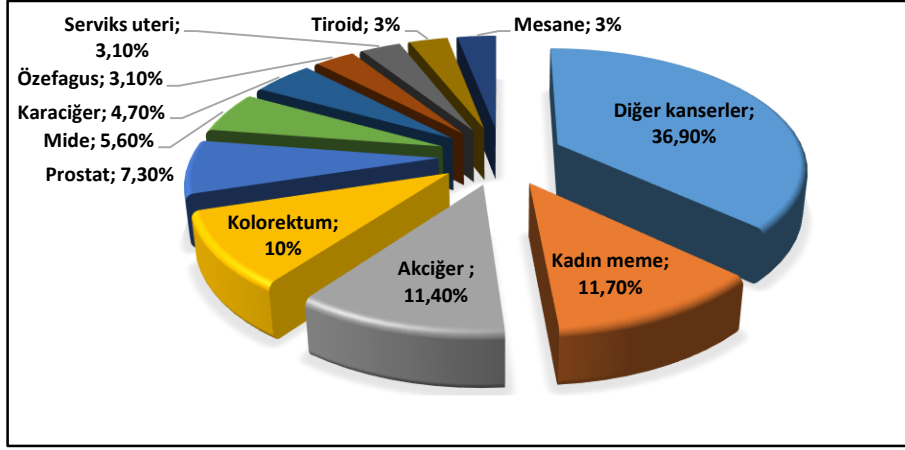
İçte sirküler dışta longitudinal seyirli olmak üzere iki kas katmanından oluşmaktadır. Genel olarak iç katman dıştan daha kalındır. Bu katmanlar arasında myenterik sinir pleksusu (Auerbach pleksusu) bulunur. Özefagusun proksimal üçte birinde muskülaris propria, çizgili kastır. Aortik ark seviyesinde düz kas olarak devam eder ve distal üçte ikisinde sadece düz kas mevcuttur (39).

2.3.4. Adventisya

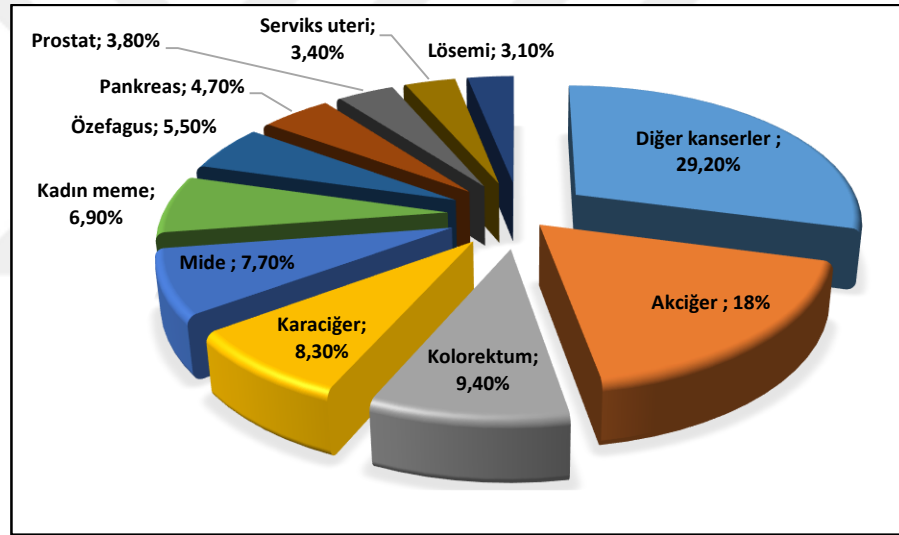
Özefagusu dıştan kaplayarak çevre dokulara bağlayan, gevşek bağ dokusundan oluşan tabakadır. Abdominal özefagusun dış kısmı seroza (periton) ile kaplıdır (36).

2.4. Özefagus Kanseri Epidemiyolojisi

ÖK, 2020 yılı GLOBOCAN tahmini verilerine göre insidans açısından 19.3 milyon yeni tanı alan kanser vakası içerisinde 604.000 milyon vaka ile diğer kanser türlerine göre yedinci sıradadır (Şekil 2) (1). Ayrıca, kanser nedeni 9.9 milyon ölüm arasında 544.000 ölüm ile kansere bağlı ölümler arasında altıncı sıradadır (Şekil 3) (1). Bu haliyle ÖK'nin teşhis edilen yaklaşık 32 kanserden birinden (%3.1) ve kansere bağlı ölümlerde yaklaşık 18 kanserden birinden (%5.5) sorumlu olduğu gösterilmektedir (1).



Şekil 2. Her İki Cinsiyet İçin 2020'de En Yaygın Kanser Vakalarının Dağılımı



Şekil 3. Her İki Cinsiyet İçin 2020'de Kansere Bağlı Ölümünün Dağılımı

ÖK açısından 2020 yılı GLOBOCAN verilerine göre ülkemizde 1405 yeni vaka, 1338 ölüm bildirilmiştir (40).

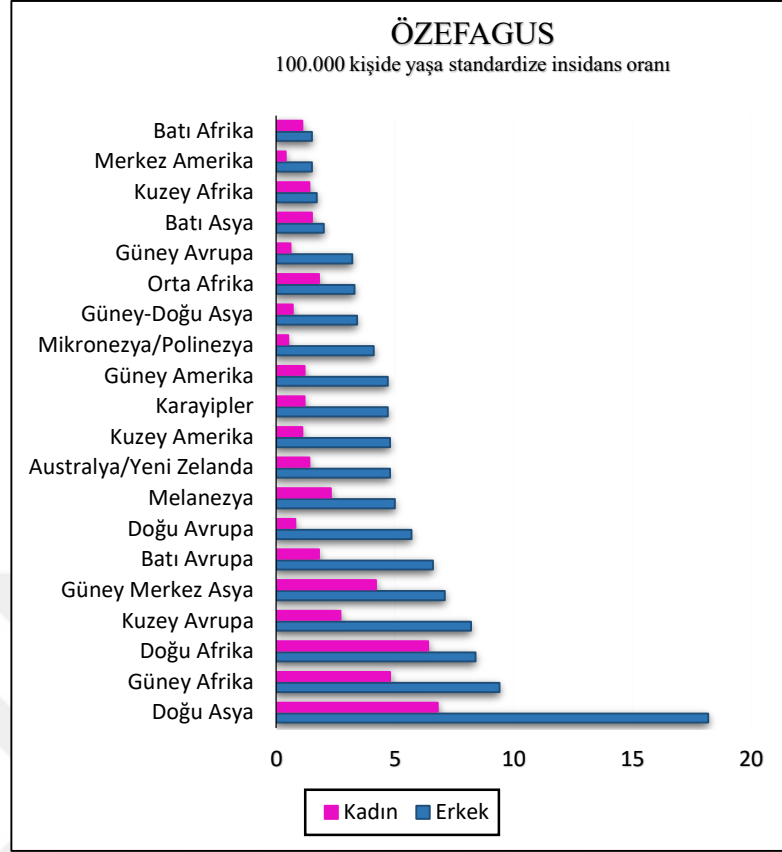
2017 Türkiye Kanseri İstatistikleri verilerine bakıldığında ÖK ölüm oranı %1 olarak görülmekle birlikte aynı yıl dünyada bu oran %5,3'tür. Yapılan bir çalışmada bu oran Erzurum ilimizde %5 olarak tespit edilmiş olup Türkiye ortalamasının oldukça üzerindedir (3).

ÖK vakalarının yaklaşık %70'i erkeklerde görülmekle birlikte, erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık 2-4 kat artmış insidans ve ölüm oranı mevcuttur. Oranlar, erkekler için gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir, kadınlar için ise benzerdir (1,2). Ülkemizde sağlık bakanlığı tarafından 2017 yılında yayınlanan Türkiye Kanser İstatistikleri verilerinde sırası ile erkek ve kadınlarda görülme sıklığı 100.000 kişiye 1,8 ve 1 olarak bildirilmiştir (4).

ÖK, AK ve SHK olarak 2 ana histolojik alt tipe göre sınıflandırılabilir. 2020'de tahminen 85.700 AK vakası ve 512.500 SHK vakası tespit edilmiştir. Kalan 6000 vaka diğer histolojik alt tiplerde tanımlanmıştır. Dünya genelinde, SHK hem erkek hem de kadın hastalarda en çok görülen ortak alt tip olup, tüm ÖK'nın %85'ini oluşturmaktadır (5).

SHK 30 yaş öncesi oldukça nadir olmakla birlikte, hem kadın hem de erkeklerde ortalama 65 yaş civarında pik yapmaktadır (6).

Doğu Asya, kısmen Çin'deki nüfus yoğunluğu nedeniyle hem erkekler hem de kadınlar için en yüksek bölgesel insidans oranlarını sergilemektedir. Bunu Güney Afrika, Doğu Afrika, Kuzey Avrupa ve Güney Orta Asya takip etmektedir (Şekil 4) (1). ÖK insidansındaki coğrafi varyasyon en yaygın görülen SHK ve AK arasında da büyük oranda farklılık gösterir. SHK insidansı Çin, Türkiye, kuzeydoğu İran, Kazakistan, güney ve doğu Afrika'da yüksektir. Batı popülasyonlarında ÖK epidemiyolojisinde dramatik bir değişim olmuştur, öyle ki AK Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa'da ÖK'nin baskın alt tipi haline gelmiştir (1, 41, 42).



şekil 4. 2020'de Özofagus Kanseri İçin Cinsiyete Göre Bölgeye Özgü Yaş'a Göre Standardize Edilmiş İnsidans Oranları

Gelişen yeni tanı ve tedavi modaliteleri ile son yirmi yılda çoğu kanser türü için genel sağkalım daha iyiye gitmekle birlikte; pankreas, akciğer ve ÖK gibi birkaç kanser, esas olarak ileri evrelerde ortaya çıkması ve aynı zamanda etkisiz kemoterapötik ajanlar nedeniyle kötü sağkalım sonuçları göstermektedir (2). Histolojik alt tipine göre SHK'da sağkalım beşinci yılda %20,1 iken, AK'da bu oran %11,5 'tur (7). Lokal ileri evre tanılı olgular için tek başına cerrahi veya perioperatif kemoterapi küratif bir tedavi yöntemidir. Tanı alındığında ileri evre olan olgular için sistemik kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi temel tedavi prosedürünü oluşturmaktadır (43).

2.5. Özefagus Kanseri Etyolojisi ve Risk Faktörleri

ÖK, AK ve SHK olarak 2 ana histolojik alt tipe göre sınıflandırılır. Bu iki ana alt tipin etiyolojileri birbirlerinden farklılık göstermektedir.

- **İrk:** Beyaz tenli ırklarda AK gelişme riskinin siyah tenli ırklara göre 3 - 4 kat fazla olduğu görülmüştür. Cook ve ark. yaptığı bir çalışmada SHK, siyahlarda tüm özefagus kanserlerinin %87'sini, beyazlarda ise yalnızca %45'ini oluşturmaktadır ve bunun nedeni sigara, alkol gibi yaşam tarzı farklılıklardan kaynaklandığı tespit edilmiştir (44, 45).
- **Sosyoekonomik düzey:** Düşük sosyoekonomik düzey SHK, yüksek sosyoekonomik düzey ise AK riskini artırmaktadır. Özellikle Barrett özefagus ve AK gelişiminde sosyoekonomik durum ile paralel ilişki saptanmıştır (45).
- **Beslenme alışkanlıkları:** ÖK patogenezinde diyet ve beslenme faktörleri diğer kanserlere göre belirgin rol oynar. Genellikle yüksek insidans bölgelerinde yaşayan toplumların yaygın besin kanserojenlerine maruz kaldıkları, belirli beslenme eksiklikleri olduğu tespit edilmiştir. Karbonhidrat açısından zengin, düşük hayvansal protein, meyve ve yeşil sebzelerin daha az oranda tüketilmesi ÖK gelişimiyle ilişkili bulunmuştur. Spesifik olarak, nitrozaminlere ve bunların öncüllerine (nitratlar ve nitritler) maruziyet yüksek insidansla (Çin, İran, Güney Afrika, Hindistan, Güney Tayland gibi) ilişkilidir. Alınan nitratların başlıca kaynakları salamurla edilmiş sebzeler, tütülenmiş et veya balık ve alkollü içeceklerdir (46). Ayrıca A, B, C, E vitamin eksiklikleri, kalsiyum, çinko selenyum, molibden, β -karoten, folik asit gibi mineral eksiklikleride özefagus karsinogenezi etkiler (47).
- **Sigara ve alkol:** Sigara dumanı oral, faringeal, laringeal, pankreas, akciğer ve diğer kanserlerin nedeni olduğu kadar ÖK'nin de bir nedenidir. Sigara dumanı, IARC tarafından değerlendirilen 60'tan fazla kanserojen içerir. Özefagus kanserlerine neden olan sigara dumanındaki en yaygın kanserojen *N-nitrosamindir*. Sigaranın ÖK insidansı ile ilişkili yapılan çalışmalarda, AK gelişim riskini SHK'a göre daha çok artırdığı görülmüştür. Asetaldehit, alkolle ilişkili karsinogeneze en toksik etanol metabolitidir, etanolün kendisi ise DNA metilasyonunu inhibe ederek ve retinoid metabolizması ile etkileşerek karsinogenezi uyarır. Alkolün SHK riskini artırdığı, AK için predispozan bir faktör olmadığı farklı çalışmalarda sunulmuştur (48, 49).
- **Obezite:** Kanser hücresi için önemli bir enerji kaynağı olan adipositler ve inflamatuvar hücreler, tümör gelişimine katkı sağladığı bilinen adipokinleri ve

sitokinleri salgıladığından; artmış adipoz doku tümör gelişimine katkı sağlayarak tümör progresyonunu ve kontrolsüz büyümeyi destekler (50). Diğer kanserlerle de kıyaslandığında obezite ile en ilişkili kanser AK olarak birçok çalışmada tespit edilmiştir. AK aksine SHK'da obezite ile ilgili artmış risk gözlenmemiştir. Özefagus SHK riskinin bazı çalışmalarda zayıf insanlarda kötü beslenmeyle ilişkili olarak arttığı belirlenmiştir (51).

- **Gastroözefageal reflü:** Reflü semptomlarının kronikleşmesi özellikle Barret özefagusu olan prekanseröz lezyonların gelişmesine ve daha sonrada AK'e dönüşümüne neden olur. Barret özefagus distal özefagus SE'i ile proksimal mide kolumnar epitelinin yer değiştirmesi ve intestinal metaplazi gelişmesi ve özefagus AK'unun prekanseröz lezyonu olarak tanımlanır (52).
- **Enfeksiyöz ajanlar:** Human Papilloma Virus (HPV) özellikle tip 16 ve 6 ile artan ÖSHK arasında yapılan çoğu çalışmada anlamlı bir ilişki bulunmasına karşın daha az çalışmada ise riski artırmadığı tespit edilmiştir. HPV'nin AK ve barret özefagusu ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (51). H.pylori gram negatif bir bakteridir. Mide AK riskini artırır. Epidemiyolojik çalışmalarda, H. Pylori enfeksiyonu ile ÖSHK arasında bir ilişki göstermemiş olup özefageal AK gelişiminde koruyucu etkisi izlenmiştir (41).
- **Genetik:** ÖSHK'da en önemli onkogen siklin olup, kanserli olguların % 40-60'ında ve premalign lezyonların ise % 30'unda siklin-D1 ekspresyonu artmıştır. Bunun yanı sıra siklin-E, hst-1, c-myc, int-2 onkogenleri; transforme edici büyüme faktörü (TGF), trombositin üretilmiş büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi büyüme faktörleri de kanserli dokularda belirgin olarak mevcuttur. ÖSHK'da p53 en sık mutasyona uğradığı tespit edilen gen olup, kanserlerin %70'inde p53 mutasyonu vardır. Sıklıkla mutasyona uğrayan diğer genler ise retinablastom (Rb), p16, APC, CDKN2A, PIK3CA, NFE2L2, NOTCH1, MLL2, FAT1 ve ZNF750'dir (45, 51).

- **Predispozan faktörler:**

Akalazya: Akalazyalı hastalarda SHK gelişme insidansı normale göre 16-33 kat daha fazladır. Barret özefagus ve AK ilişkisi ise olgu sunumlarıyla sınırlıdır (45).

Tylosis: Avuç içlerinde ve ayak tabanlarında hiperkeratoz ile karakterize otozomal dominant bir hastalık olan tilozis, ÖK ile ilişkili tek kanıtlanmış genetik bozukluktur. Tilozisli hastalarda ÖSHK gelişme oranı %95'lere ulaşmaktadır. TEC (özefagus kanserli tilozis) geni kromozom 17q25 lokalizasyonundadır (53).

Kostik yaralanma: Kostik yutma öyküsü olan hastalarda SHK insidansı genel popülasyondan 1000 kat daha fazladır. Tipik olarak özefagusun orta 1/3'ünde trakeal bifürkasyon seviyesinde kanser gelişimi olur. Çoğu olguda ortalama dördüncü ve beşinci dekatlarda, genel toplumdan 10-20 yıl erken kanser gelişmektedir (53).

Ayrıca iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma, baş ve boyun SHK, Plummer-Vinson sendromu, çölyak hastalığı, geçirilmiş mide rezeksiyonu ve tiroid hastalığı öyküsü olan hastalarda da ÖSHK gelişme riskinin arttığı bildirilmiştir (53).

Ülkemizde Doğu Anadolu bölgesinde SHK insidansı ülke geneline göre daha yüksektir. Yapılan bir çalışmada bölgesel risk faktörleri tespit edilmiştir. Bunlar “T faktörleri” olarak isimlendirilebilir; Tütsüleme, Tezek, Tandır, Tuzlu beslenme, Tea (sıcak çay),Tütün, Tobacco (sigara),Toksinler (mantarlar), Temizlik (ağız, diş, el vs. hijyen yetersizliği), Toprak ve su. Ayrıca Van otlı peyniri de bu risk faktörleri arasında sayılabilir. Bazı araştırmalara göre SHK için kanserojen olan nitrit ve nitrat oranı bu peynir çeşidinde daha yüksek bulunmuştur (54, 55).

Her iki alt tip için risk faktörleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Özefagus Kanserlerinin İki Ana Tipi İçin Risk Faktörleri

Risk faktörleri	Skvamöz Hücreli Karsinom	Adenokarsinom
Düşük gelir düzeyi	+++	-
Sigara	+++	++
Alkol	++	+
Obezite	-	++
GÖR	-	+++
Barret Özefagusu	-	+++
HPV	++	-
H. Pylori	Bilinmiyor	Koruyucu etki

2.6. Skuamöz Hücreli Karsinom

2.6.1. Klinik Özellikler

Özefagus AK ve SHK arasındaki demografik ve risk faktörlerindeki farklılıklara rağmen klinik tablo benzerdir. Endoskopik görünüm de benzerdir. AK'nın yaklaşık dörtte üçü distal özefagusta bulunurken, SHK proksimal ve orta özefagusta daha sık görülür (56).

Erken evre ÖSHK genellikle sinsi seyretmekle birlikte özefagus duvarındaki kasların koordinasyonundaki bir sorun ve/veya geç evresinde özefagusun mekanik daralması nedeniyle yiyecekler mideye geçemeyebilir. Özefagusta seroza olmaması radyal distansiyona izin verir. Bu yüzden tümör progresif büyümesine rağmen, lümenin %80-90'ı bloke edilene kadar disfaji belirgin hale gelmez. Tanı alındığında sıklıkla çoktan ilerlemiştir. Özefagus kanserinin neden olduğu disfaji kronik ve ilerleyicidir. Disfaji katı gıda ile başlar, sıvı gıda ile devam eder. Özefagusta izlenen kilo kaybı diğer kanserlerde gelişen kilo kaybından daha fazladır. Çünkü burada hem tümörün katabolik etkisi hem de tıkaçıcı etkisi mevcuttur. Kısmi tıkanıklığın üzerindeki özefageal spazmlarından, ülserasyonlarından veya tümörün aort, spinal kord gibi mediastinal yapılara direk invazyonundan kaynaklanabilen göğüs ağrısı sıklıkla tariflenir. Kusma, regürjitasyon, öksürük, ses kısıklığı, aspirasyon pnömonisi, melena, hematemez, vena cava superior sendromu, lenfadenopatiler, plevral efüzyonlar diğer bulgu ve belirtilerdendir (57).

2.6.2. Tanı ve Evreleme Yöntemleri

ÖK'de semptomların ileri dönemde ortaya çıkması ve pratikte belirgin fizik muayene bulgularının olmayışı nedeniyle tetkikler önem arz etmektedir. Kullanılan bu tetkikler aynı zamanda tedaviye yanıt, nüks ve komplikasyonların değerlendirilmesinde de yer almaktadır.

Tanıda izlenecek yol haritasında geleneksel olarak ilk yöntem çift kontrastlı baryum özefagus grafisidir. Baryumlu grafide dolum defekti (polipoid tümörler),

özefagusta mukozal düzensizlik içeren darlıklar ve “elma çekirdeği” daralmaları özefagus kanseri için karakteristik özelliklerdir. Baryumlu grafi trakeoözefageal fistül şüphesi varlığında gereklidir. Ayrıca diğer patolojilerin varlığını (hiatal herni veya divertikül gibi) tespit etmekte anlamlıdır. Baryumlu grafide kanser şüphesi geliştiğinde kesin tanı için histopatolojik inceleme gereklidir. Bununla birlikte; tümörün yeri, tanısı ve boyutu gibi özellikler, baryumlu grafiye göre endoskopi ile daha doğru değerlendirilmektedir Endoskopi aynı zamanda biyopsi imkanı tanımakta ve günümüzde ilk tanı aşamasında tercih edilmektedir (58, 59).

Endoskopi ÖSHK tanısında altın standart yöntemdir. Standart endoskopide intramukozal kanser genellikle flat görülür ve mukoza kontur yüzeyi çok az değişir, bu da tespiti zorlaştırır. İleri dönemde ise lezyon mukozadan kabarık, vejetan, ülser, çökmüş, erozyene ya da bütün bunların kombinasyonu şeklinde izlenebilir. Tanıyı doğrulamak için biyopsi alınır ya da alınamadığı durumlarda fırçalama yapılarak sitoloji değerlendirilir. Lugol iodin kullanılarak yapılan kromoendoskopi özellikle erken evre kanserlerde ve displazi değerlendirilmesinde tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Lugol, iyot içeren ve normal özefageal skuamöz hücrelerde bulunan glikojen tarafından aktif olarak alınan vital bir boyadır. ÖK alanlarındaki hücreler glikojen açısından fakirdir, bu da lugol boyasında iyodin alımının azalmasına neden olur ve boyanma olmaz ; "pembe renkli işaret" olarak görünür. Lugol boyası iyoda aşırı duyarlılık, larenjit, pnömonit ve mide bulantısı gibi yan etkilere yol açabilir (60). Avrupa, Amerika ve Fransız GI endoskopi toplulukları, özefagus kromoendoskopisi ile üst GI endoskopi taramasını uzun süredir kullanmaktadır. Bu teknik oldukça duyarlı olmasına rağmen, çeşitli çalışmalarda özgüllüğü düşük olarak gösterilmiştir. Alternatif bir modalite, seçilen ışık dalga boylarının kullanımına dayanan ve erken evre SHK saptamak için yüksek hassasiyet ve özgüllük sergileyen dar bant görüntülemesidir (NBI). NBI mide-bağırsak kanalının mukozası içindeki mukoza yüzeyinin ve mikro damar yapısının ayrıntılı bir değerlendirmesini sağlayan bir optik görüntü geliştirme tekniğidir. Artık Avrupa Gastrointestinal Endoskopi Derneği (ESGE) kılavuzlarında özefagus taraması için lugol kromoendoskopi ile birlikte NBI önerilmektedir (60, 61).

Histopatoloji oluşturulduktan ve lezyon tanımlandıktan sonra evreleme ve tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi için invazyon derecesi ve metastatik yayılımın

belirlenmesi gerekir. Lokal lezyonları değerlendirmek için konvansiyonel bilgisayarlı tomografi tercih edilir; akciğer parankimi veya mediastinel tutulumu dışlamak için göğüs bilgisayarlı tomografisi, karaciğer metastazları veya aortik, çölyak, retroperitoneal lenf nodları yayılımını değerlendirmek için batin bilgisayarlı tomografisi gibi. Trakeal tutulumu değerlendirmek için ise bronkoskopi yapılabilir.

Preoperatif evreleme için birkaç modalite önerilir. Bunlardan biri transözefageal ultrasonografi (EUS) olup lezyonun özefagus duvarına invazyon derinliğini ve bölgesel lenf nodu metastazını bilgisayarlı tomografiye göre daha etkili değerlendirir. Pozitron emisyon tomografisi ise doğru bir şekilde evreleme, uzak metastaz değerlendirmesi, kemoterapi ve radyokemoterapi sonrası yanıtı öngörme için kullanılır (58).

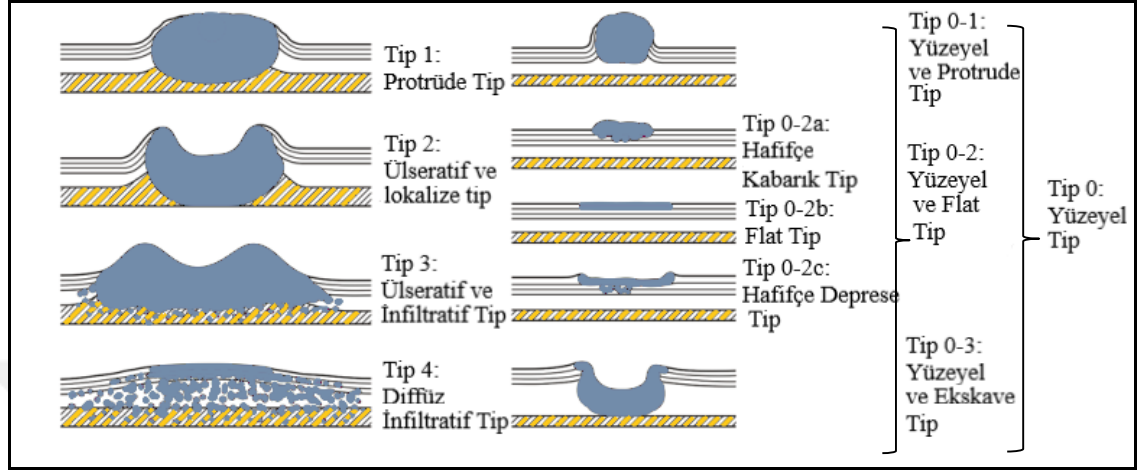
2.6.3. Makroskopik Özellikler

SHK'lar genellikle orta ve alt özefagusta yerleşir; yaklaşık %10'u servikal ve üst torasik bölgelerde bulunur (62). Distal yerleşimli tümörler ise sıklıkla mideye invaze olur. İnvazyon derinliği makroskopik olarak tespit edilebilen SHK'lar Japonya Özefagus Derneği (JES) tarafından submukozaya kadar invaze olanları yüzeysel (erken) tip (Tip 0) ve muskularis propriaya kadar invaze tümörler ilerlemiş (geç) tip (Tip 1-5) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 5) (63).

Submukozal yayılma ise, her zaman fark edilemeyebilir; bazende tümör >5 cm'ye kadar ulaşır. Yüzeysel özefagus kanserleri pembe-kahverengi veya gri-beyaz, sıg çöküntüler, plak benzeri kalınlaşmalar veya mukozada yükselmeler olarak görülür. İlerlemiş özefagus kanserleri ise ekzofitik veya ülserle kitlelere dönüşür ve bazen lümeni obstrükte eder (64).

Makroskopik görünüm histopatolojik tip hakkında fikir verebilir. Polipoid tümörler genellikle karsinosarkom, SHK veya malign melanom morfolojisindedir. Vejetan tip tümörler genellikle orta-iyi differansiye SHK'lardır. Plato tip tümörler genellikle bazoloid skuamöz karsinom, adenoid kistik karsinom, az differansiye SHK ya da AK'lardır. Ülserle ve lokalize tip tümörler genelde SHK'lardır. Diffüz infiltratif

tip tümörler genellikle adenoskuamöz ya da mukoepidermoid karsinomlardır. Subepitelyal tip tümörler genellikle küçük hücreli karsinom ya da bazaloid skuamöz karsinomlardır (27).



Şekil 5. Japonya Özefagus Derneği Makroskopik Klasifikasyonu (Tip 0-4)

2.6.4. Mikroskopik Özellikler

SHK neoplastik SE'nin bazal membranını aşarak lamina propria ve daha derin katmanlara horizontal ve vertikal bir şekilde invazyonu olarak tanımlanan epitelyal malign bir neoplazmdır.

Neoplastik hücreler belirgin nükleollü, iri hiperkromatik nükleuslu, geniş eozinofilik stoplazmalıdır. Keratinizasyona bağlı mürekkep lekesi görüntüsü verirler. Bu hücreler özefagus duvarı içerisinde küçük tek tek dağılır ya da solid neoplastik hücre adaları oluşturur. İnfiltratif ya da ekspansif büyüme paterni gösterir. SHK hücre ve adaları skuamöz differansiasyonun patognomonik bulgusu olan keratinizasyon ve intersellüler bridge ile karakterizedir. Neoplastik oluşum belirgin lenfositik infiltrat, desmoplastik stroma ile çevrelenir.

ÖSHK'lar, diğer yerlerdeki SK gibi immünohistokimyasal olarak CK5/6, p40, p63 ile reaktivite gösterir.

SHK skuamöz diferansiyasyonun derecesine, nükleer atipiyeye ve mitotik aktiviteye göre iyi (G1), orta (G2) ve kötü (G3) diferansiye olarak derecelendirilir. Neoplastik oluşum normal skuamöz epitele ne kadar benziyorsa o kadar iyi diferansiyedir.

İyi diferansiye (G1) SHK: Kolayca fark edilebilen geniş eozinofilik sitoplazmaya sahip hücreler, hücreler arası belirgin bridge, az sayıda kompakt bazaloid hücre ile bol miktarda keratinizasyon (skuamöz inciler) içeren değişken boyutlu poligonal epiteloid nestlerden oluşur. Mitotik aktivite genellikle düşüktür.

Orta derece diferansiye (G2) SHK: En sık görülen tiptir. İyi diferansiye SHK ile az diferansiye SHK arasında özelliklere sahiptir. Fokal keratinizasyon içeren düzensiz nestler ve trabeküllerden oluşur. Skuamöz inciler genelde yoktur.

Kötü diferansiye (G3) SHK: Solid, merkezinde nekroz bulunan bazal benzeri hücre tabakaları ya da tek hücreler halinde infiltrasyon gösterir. Keratinizasyon yok ya da minimaldir. Pleomorfik, iri, bizar hücreler bulunabilir. Mitotik aktivite yüksektir.

İndiferansiye (Gx) SHK: Histolojik olarak skuamöz diferansiyasyon göstermez. Ancak skuamöz belirteçler ile immün ekspresyon mevcuttur.

Olguların bir kısmında fokal glandüler, müsinöz, nöroendokrin diferansiyasyon, küçük hücre değişimi bulunabilir (65, 66, 67, 68).

2.6.5. Skuamöz Hücreli Karsinomların Histopatolojik Alt Tipleri

SHK'nın histopatolojik alt tipleri WHO 2019 sınıflamasıyla verrüköz, içsi hücreli, bazaloid olmak üzere üç tip olarak belirtilmiştir (65).

2.6.5.1. Verrüköz Skuamöz Hücreli Karsinom

Sadece birkaç seride bildirilen nadir bir alt tiptir. Bu alt tip skuamöz papillomun malign bir muadilini temsil edebilir. Genellikle kronik iritasyon, özefajit,

eski bir özefageal yaralanma zemininden gelişir. Bazı vakalarda HPV (Tip 11 ve 51 gibi) ile verrüköz karsinom ilişkisi bildirilmiştir. Minimal sitolojik atipi ve mitotik aktivite ile SHK'nın iyi diferansiye bir alt tipidir. Karsinomun arşitektürü yüzeyde egzofitik papiller çıkıntılar, belirgin akantoz ve bazalde büllöz itme, genişleme ile karakterizedir. Araya giren bir granüler tabaka olmadan çanaklaşma şeklinde keratin koleksiyonları mevcuttur. Verrüköz karsinom genellikle pT1 evresinde olup, nadiren lenf nodu ve uzak metastaz görülür. Prognoz genellikle iyidir (65, 68, 69).

2.6.5.2. İğsi Hücreli (Spindle) Skuamöz Hücreli Karsinom

Sarkomatoid ya da karsinosarkom olarak da bilinir. Primer özefageal kanserlerin %2'sini oluşturur. Daha derin invazyon yapmaktan ziyade egzofitik büyümesinden dolayı klasik SHK'dan daha iyi sağkalım oranı mevcuttur (65). Makroskopik olarak 15 cm çapa ulaşabilen polipoid kitlelerdir. Yüzey pürüzsüz ya da ülser olabilir. Genelde bir pedikül ile özefagus duvarına tutunmakla birlikte bazen mukozaya geniş bir tabanla tutunurlar. Kesit yüzeyi tipik olarak gri-beyaz renkte ve yumuşaktır. Mikroskopik olarak bu tümörler bifaziktir. Karsinom ve sarkomatoid bileşenleri mevcuttur ve sarkomatoid bileşen çoğunluğu oluşturur. Epitelyal bileşen genellikle skuamöz olup minimal karsinoma in situ veya orta derece diferansiye nestler olarak değişken bir şekilde görülür. Sarkomatöz bileşen tipik olarak fasiküler veya storiform paternde farklılaşmamış, iğ şeklindeki hücrelerden oluşur. Bu hücreler farklılaşmamış bir matris içindedir. Dev hücreler, kemik ve kıkırdak gibi stromal farklılaşmalarda bildirilmiştir. Epitelyal komponent keratin ile immünreaktivite, stromal komponent vimentin ile immünreaktivite gösterir. Ayrıca stromal komponentte, keratinle odaksal daha zayıf bir şekilde reaktivite izlenir (65, 70).

2.6.5.3. Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinom (BSHK)

Diğer alt tiplere göre daha sık görülmesine rağmen yine de özefagus kanserlerinin sadece %5'ini oluşturur ve erkek cinsiyet baskınlığı vardır. BSHK'nın makroskopik görünümü SHK'ya benzer. Mikroskopik olarak bu tümörlerin ana bileşeni yüksek nükleer-sitoplazmik orana sahip, genellikle yoğun, hiperkromatik nükleuslu bazaloid hücrelerdir. Mitotik figürleri belirgindir. Neoplastik yapılanma

solid nestler, lobüler veya trabeküler yapılanmalar gösterir. Komedo benzeri nekroz veya psödoglandüler lümen sıklıkla bazaloid adaların merkezinde olur. Karakteristik olarak tümör hücre adaları periferik palizatlanma gösterir. Tümör adalarını çevreleyen veya tümör hücreleri arasında desmoplastik stroma bulunur. SHK bileşeni karsinoma in situ ya da daha yaygın olarak invaziv karsinom şeklindedir. BSHK, konvansiyonel SHK'ya göre agresif seyir gösterir ve kötü prognozludur (65, 71).

2.6.6. Tümöral Yayılım ve Evreleme

2.6.6.1. Tümöral Yayılım

ÖK'nin lenf nodu tutulumu, uzak metastaz ve lokal tümör invazyonu gibi yayılım şeklini bilmek; klinik belirtilerini ve komplikasyonlarını tahmin etmek ve böylece en iyi terapötik yaklaşımda bulunabilmek için büyük önem taşır. ÖSHK'ları özefagusun serozası olmaması ve lenf nodu drenajı açısından zenginlik ve farklılıklar göstermesi nedeniyle GI sistemin diğer organlarına göre daha hızlı yayılırlar (29, 72).

En yaygın metastaz bölgeleri reyonel lenf nodlarıdır. Lenfovasküler invazyon varlığı (LVI), multifokal tümör varlığı, tümör invazyon derinliği, hasta yaşı ve tümörün diferansiyasyon derecesi, lenf nodu metastazlarının varlığı için bağımsız prediktif parametrelerdir. Lenf nodu metastaz oranı mukozaya sınırlı karsinomlarda %5 iken, submukoza ve daha ileri invaze karsinomlarda bu oran %30, komşu organlara invaze olan karsinomlarda %80'dir. Özefagus longitudinal lenfatik damarlar, submukoza ve lamina propriada uzun drenaj bölgesi, akışı sağlayan çok sayıda kapakçık, çift yönlü drenaj ve torasik kanala ve ektramural lenf nodlarına doğrudan drenaj içerir. Bu bölgedeki çift yönlü lenf akışı, malignitenin alt özefagustan üst özefagusa yayılmasından sorumludur. Beklenmedik retrograd yayılımın nedeni bu gibi görünmektedir. Ayrıca longitudinal drenaj nedeniyle tümör dairesel yerine submukoza içerisinde özefagus uzun ekseni boyunca ilerler. Bu yüzden mukozal lezyonlara, sağlam bir mukozanın altına yayılan yaygın tümör eşlik edebilir. Primer tümörden çok uzakta submukozada satellit tümörler ve metastazlar görülebilir ve nispeten yüksek postoperatif nüks oranı ile tutarlı olabilir (29, 35, 65, 73).

Hematojen yolla en yaygın uzak metastaz karaciğer ve akciğere olur. Kemikler, adrenal glandlar ve beyin ise daha az sıklıkla etkilenir. Uzak metastaz ile ilgili Tustumi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada peritoneal karsinomatozis distal özefagus yerleşimli SHK'da %1,7; orta SHK'da %4,2; servikal SHK'da %0 ve karaciğer metastazı distal SHK'da %20,3; orta SHK'da %12,5; servikal SHK'da %5.3 oranında bulunmuştur (65, 72).

2.6.6.2. Evreleme

Kanser evresinin tespiti prognoz ve tedavi şekli açısından önemlidir. Bu amaçla birçok sınıflama sistemi öne sürülmüşse de bugün en kabul göreni tümör- lenf nodu- metastaz (TNM) sınıflandırma sistemidir. İlk olarak 1943'te geliştirilen ve daha sonra Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (UICC) ve Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) tarafından kabul edilen TNM sınıflaması yeni bilgi ve gelişmelere göre düzenli olarak güncellenmektedir. TNM sınıflandırması kanserlerin hem klinik hem de patolojik evrelemesinde kullanılan ana araçtır. TNM sınıflandırmasının sekizinci baskısında histopatolojik farklılaşma ve tümör yerleşimi ile ilgili T ve N faktörleri güncellenerek patolojik prognostik evreleme iyileştirildi ve mide kardiyasından EGJ'ye kadar olan ÖK kategorisine giren kanserlerin tanımında tümör merkezinin EGJ'ye uzaklığı 5 cm'den 2 cm'ye çekildi (74).

“p” sembolü, TNM'nin patolojik sınıflandırmasına karşılık gelir. Makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeye dayanmaktadır. “c” semboli TNM'nin klinik sınıflandırılmasına karşılık gelir. Klinik evre görüntüleme yöntemleri ile yapılan evrelemedir ve histopatolojik bulgular kullanılmaz.

pT (Tümörün İnvazyon Derinliği): Tümörün özefagus mukoza, submukoza, muskularis propria ve adventisya katmanları boyunca invazyon derinliğine göre yapılan sınıflandırmadır (Şekil 7).

pN (Lenf Nodu Tutulumu): AJCC yeni evreleme sistemine göre bu kategori metastatik lenf nodu sayısına göre sınıflandırılır.

pM (Uzak Metastaz): Komşuluk ve bölgesel olmayan lenf nodlarına ve organlara yayılım uzak metastaz olarak değerlendirilir.

AJCC 8. edisyonuna göre Tablo 2’de, pTNM evrelemesi ise Tablo 3’te gösterildiği gibidir (75).

Tablo 2. Özefagus Patolojik TNM Sınıflaması (AJCC 8th)

KATEGORİ	KRİTERLER
T Kategorisi	
Tx (Primer tümör)	Tümör değerlendirilemez
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	Bazal membran ile sınırlı malign hücreler, Yüksek dereceli displazi
T1	Tümör lamina propria, mükölaris mukoza veya submukozaya invaze
T1a	Tümör lamina propria veya mükölaris mukoza invaze
T1b	Tümör submukozaya invaze
T2	Tümör mükölaris propriaya invaze
T3	Tümör adventisyaya invaze
T4	Tümör komşu dokulara invaze
T4a	Tümör plevra, perikardiyum, azygos ven, diyafram veya peritona invaze
T4b	Tümör aort, vertebral gövde veya trake gibi diğer komşu yapılara invaze
N Kategorisi (Rejyonel lenf nodları)	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1-2 adet bölgesel lenf nodu metastazı
N2	3-6 adet bölgesel lenf nodu metastazı
N3	≥ 7 adet bölgesel lenf nodu metastazı
M Kategorisi (Uzak metastaz)	
Mx	Uzak metastaz değerlendirilemez
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 3. Özefagus Kanserinde Patolojik Evreleme (pTNM)

pT	pN	pM	G (Grade)	L (Tümör konumu)	Evre Grup
Tis	N0	M0	N/A	Herhangi bir yer	0
T1a	N0	M0	G1	Herhangi bir yer	IA
T1a	N0	M0	G2-3	Herhangi bir yer	IB
T1a	N0	M0	GX	Herhangi bir yer	IA
T1b	N0	M0	G1-3	Herhangi bir yer	IB
T1b	N0	M0	GX	Herhangi bir yer	IB
T2	N0	M0	G1	Herhangi bir yer	IB
T2	N0	M0	G2-3	Herhangi bir yer	IIA
T2	N0	M0	GX	Herhangi bir yer	IIA
T3	N0	M0	G1-3	Alt	IIA
T3	N0	M0	G1	Üst/orta	IIA
T3	N0	M0	G2-3	Üst/orta	IIB
T3	N0	M0	GX	Üst/orta/alt	IIB
T3	N0	M0	Herhangi bir grade	Konum bilinmiyor	IIB
T1	N1	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIB
T1	N2	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIIA
T2	N1	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIIA
T2	N2	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIIB
T3	N1-2	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIIB
T4a	N0-1	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IIIB
T4a	N2	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IVA
T4b	N0-2	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IVA
Herhangi bir T	N3	M0	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IVA
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	Herhangi bir grade	Herhangi bir yer	IVB

2.6.7. Prognostik Faktörler

Tanı ve tedavideki son gelişmelere rağmen ÖK hala yüksek mortaliteye sahiptir. ÖSHK’ da 5 yıllık sağ kalım %20,1’dir (7). Yapılan çalışmalarda ortalama yaşam süresi 14 ay olarak belirtilmiştir (8).

Prognostik faktörler şu şekildedir:

Cinsiyet: ÖSHK erkeklerde daha sık görülür ancak daha önce yapılan çalışmalarda, ÖSHK nedeniyle özefajektomi yapılan kadınların erkeklere göre daha iyi prognoza sahip olduğu belirtilmiştir (76).

Yaş: Sağkalım yaşla ters orantılı olarak ilişkilendirilmiştir. Bu durum hastalığın evresi, demografik ve yaşam tarzı özellikleri için düzeltme yapıldıktan sonra bile değişmemiştir. Bununla birlikte daha yaşlı ve daha genç hastalara aynı tedavi

uygulanabilirse sağkalımın yaşla belirgin değişmeyeceği düşünülmektedir. Daha yaşlı hastaların, özellikle cerrahi olmak üzere agresif tedaviler için uygun olmadığı veya tedaviyi reddetmeleri nedeniyle yaş ile sağkalım arasında ters orantı mevcuttur (77).

Kilo kaybı: SHK'da ilk semptomlardan-özefagus karsinomu tanısı alana kadar olan kilo kaybı yüzdesinin %5'den fazla olması ve tanı anında body mass index (BMI)'inin 20 kg/m²'den düşük olması daha kötü onkolojik evreyi öngören prognostik faktörlerdir (8, 78).

Tümör boyutu: Tümör uzunluğu sağkalımı tahmin etmek ve hastalık evresini yansıtmak için önemli bir prognostik faktördür. Bazı çalışmalarda tümörü $\geq 3,5$ cm olan hastaların, tümörü daha küçük olan hastalara göre daha kötü bir prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (79).

Histolojik grade: Tümörün diferansiyasyon derecesinin prognozu etkilediği düşünülmektedir. Kötü diferansiyasyona sahip tümör kötü bir sağkalıma yol açarken, yüksek ve orta derecede diferansiyasyona sahip tümör daha iyi bir prognoza sahiptir (80).

Patolojik evreleme: En önemli prognostik faktördür. T faktörü invazyon derinliğine göre belirlenmekte olup yüzeysel karsinomlarda tedavi sonrası kür olabilirken daha derin tümörlerde prognoz kötüleşmektedir. N faktörü lenf nodu metastaz sayısına göre belirlenmekte olup, sayı arttıkça prognoz kötüleşmektedir. Sonrasında sistemik metastaz olma riski lenf nodu metastaz sayısı ile de doğru orantılıdır. Bazı araştırmalarda ≤ 4 tutulmuş lenf nodu olan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranının %23 olduğu, ancak >4 lenf nodu metastazı olan hastalarda bu oranın %12'ye düştüğü bulunmuştur. Buna bağlı olarak, nüks olasılığı sırasıyla %53'ten %90'a yükseldiği belirtilmiştir (81).

Lenfovasküler invazyon: LVİ, mikrometastaz riskini arttırdığı düşünülerek çeşitli kanser türlerinde olumsuz sağkalım sonuçları ile ilişkilendirilmiştir. SHK'da LVİ, artmış invazyon derinliği, cerrahi sınıra yakınlığı veya artmış lenf nodu metastazı

gibi patolojik özelliklerle ilişkilidir. LVİ, hastalıksız sağkalım ve hastalığa özgü sağkalım için bağımsız olumsuz bir prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (82).

Cerrahi sınır: Cerrahi sınırlarda tümör devamlılığının görülmesi erken nüks ile direkt ilişkilidir.

İltihabi reaksiyon: Daha sonra ayrıntılı tartışılacak olan tümör mikroçevresinde görülen iltihabi yanıtın yoğunluğu ile tümör evresi ters orantılıdır. Dolayısıyla iltihabi reaksiyon iyi prognostik bir faktördür (83).

Diğer bulgular: Siklin-D1 içeren 11q13 amplifikasyonu SHK'da %50 oranında tespit edilmekte olup artmış lenf nodu metastazı, düşük sağ kalım, kemoterapiye düşük cevap oranı ile ilişkili bulunmuştur. SHK'da TGF- α ve EGFR overekspresyonu, özellikle birlikteliği olan vakalarda düşük sağkalım ile ilişkilidir. P53 mutasyonu %10-85 oranında görülmekte olup, aynı zamanda displazide de varlığı mevcuttur. Bu da p53 mutasyonunun tümörden daha önce geliştiğini göstermektedir ve düşük sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. P27 protein ekspresyon kaybı SHK'da %47 oranında tespit edilmiş olup ileri evre, düşük survey ile koreledir. Anaploidi varlığı displaziden SHK'ya gidişte bir belirleyicidir (84).

2.6.8. Tedavi

ÖSHK tedavisinde endoskopik yöntemler, cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve immünmodülatör tedaviler olmak üzere çok fazla yaklaşım vardır. Endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR), endoskopik submukozal diseksiyon (ESD) gibi endoskopik rezeksiyonlar erken evre SHK'da (Tis ve T1a) tercih edilir. Bu tümörlerde lenfatik olarak yayılma riski %2'den az olduğundan, özellikle çapı 2 cm'den küçük sirküferansiyel olmayan özellikle mukozal tümörler için kür tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır. Radyofrekans ablasyon ve fotodinamik terapi de yüzeysel karsinomların tedavisinde kullanılabilen modalitelerdir (85, 86).

Özefajektomi ve ardından rekonstrüktif cerrahi, komşu organlara invazyon veya uzak metastaz kanıtı olmayan hastaların tedavisinde en güvenilir yol olmuştur.

Çeşitli cerrahi yaklaşımlar mümkündür. Seçim tümörün boyutuna, konumuna ve terapötik stratejilere bağlıdır. Torasik özefajektomi için en yaygın üç teknik transhiatal yaklaşım, Ivor Lewis özefajektomi (sağ torakotomi ve laparotomi) ve McKeown tekniğidir (sağ torakotomiye takiben laparotomi ve boyun insizyonu ile servikal anastomoz) (87).

ÖK tedavisine kemoterapi eklemenin teorik avantajları, ameliyattan önce potansiyel tümörün evresinin düşürülmesi ve ayrıca mikrometastazların hedeflenmesi ve böylece uzak metastaz riskinin azaltılmasıdır. Ayrıca lokal ileri kanserlerde tümör rezeksiyonu tam olarak yapılamadığı için cerrahi prosedürlerin tek başına etkili olmadığı düşünülmektedir. Günümüzde bu amaçla tedavide kemoterapi sonrası cerrahi planlanmaktadır. Bu gruplarda preoperatif kemoradyoterapi ile sağkalım oranlarının arttığı tespit edilmiştir. Öte yandan, potansiyel dezavantajlar; toksisite ile ilişkili morbidite ve mortalite, ilaca dirençli tümör klonlarının seçimi ile hastalığın ilerlemesi ve kesin cerrahi tedavinin gecikmesidir. Neoadjuvan kemoterapi endikasyonunu belirlemek için bilgisayarlı tomografi veya glikoz analogu 2'-[18F]-floro-2'-deoksi-d-glukoz (FDG) ile pozitron emisyon tomografisi gereklidir (87).

Kemoterapi ve cerrahi rezeksiyon, ÖSHK tedavisinde önemli ilerlemelere katkıda bulunmuş olsa da, ÖSHK tedaviden sonra relaps, metastaz ve direnç gelişimine eğilimlidir ve bu da kötü bir prognoza neden olur. Kemoterapi direncinin gelişimi çok faktörlü bir süreçtir. Birçok çalışma, apoptoz, otofaji bozukluğu, gelişmiş DNA onarımı, EMT, ilaç metabolizma enzimlerinin inaktivasyonu ve membran taşıyıcılarının ekspresyonu veya aktivitesindeki değişikliklerin ilaç direncinin gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Bunun üzerine son dönemde yeni tedavi modaliteleri üzerinde durulmaktadır. Bunlardan hedefe yönelik tedavi ve immünoterapi ilerlemiş hastalığı olanlarda genel ve progresyonsuz sağkalımı artırmada önemli ilerlemeler kaydetmiştir.

Moleküler hedefli tedavinin klinik denemeleri esas olarak EGFR, HER2 ve VEGF'yi hedeflemeye dayanır. Bu sinyal yollarının düzenlenmesi, tümör hücrelerinin proliferasyonunu, hayatta kalmasını, göçünü, istilasını ve farklılaşmasını etkiler ve böylece tümör büyümesini inhibe eder.

Antijen sunan hücreler, özellikle dendritik hücreler, tümör hücrelerinin yüzeyinde antijen kaynaklı enflamasyonu tanıyabilir ve fagositize edebilir ve elde edilen antijenleri, adaptif bir yanıt üretmek için T veya B lenfositlerine sunar. Bununla birlikte, tümör hücreleri, bağışıklık saldırısından kaçmak için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. İmmünomodülatörlerin, terapötik aşılardan, monoklonal antikorların uygulanmasını içeren immünoterapi, immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI'ler) ve adaptif hücreli immünoterapi özefagus kanseri tedavisinde yeni bir yöntem olmakla birlikte melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. İleri evre ÖSHK tedavisinde ise umut verici sonuçlar göstermiştir (9, 10).

2.7. Tümör Tomurcuklanması

2.7.1. Tümör Tomurcuklanmasının Tarihçesi, Tanımı ve Patogenezi

TT kavramı ilk 1950'lerde İmai tarafından kanserde bir CPL evreleme sisteminde tümör filizlenmesi olarak tanımlandı. CPL sisteminde "C" tümör filizlenmesini, "P" peritümör veya stromal reaksiyonu, "L" lenfatik veya venöz invazyonu temsil etmektedir (88). Daha sonra 1985'de Gabbert ve arkadaşları tarafından tümörün invaziv kenarında dediferansiyasyon olarak tanımlandı. 1989 yılında Morodomi ve arkadaşları tarafından undifferansiye görünümde 5 veya daha fazla kanser hücresinden oluşan, mikrotübüler nest şeklinde yapılanma oluşturan ya da oluşturmayan, büyük bir kanser glandından tomurcuklanıyormuş gibi görünen alanlar olarak tanımlandı (89, 90). 2002'de ise Ueno ve arkadaşları tarafından izole tek bir kanser hücresi ve beşten az kanser hücresinden oluşan bir küme, tomurcuklanan odaklar olarak tanımlandı (91). Son olarak 2016'da ITBCC'de tek bir tümör hücresi veya 4'e kadar (<5) tümör hücresinden oluşan bir hücre kümesi olarak tanımlandı (12).

Malign neoplastik hücrelerin benzersiz ve temel özelliği, invazyon gösterme ve metastaz yapmadır. Bu süreçteki ilk adım bu hücrelerin bazılarının tümörün invaziv sınırından ayrışmasıdır. Bu genellikle dediferansiyasyon ya da transdiferansiyasyon ile ilişkilidir. İnvaziv sınırdaki neoplastik hücreler ana tümör kitlesinin yüzeyel ya da merkezi bölgelerindeki neoplastik hücrelere kıyasla daha agresif davranışlıdır. Bu

hücreler metastaz gelişiminde önemli olan EMT'ye maruz kalır (92). EMT geçirmiş olan tümör hücreleri histolojik olarak, invazif cephede tek hücreler veya farklılaşmamış tümör hücrelerinin küçük kümeleri olarak tanımlanan tümör tomurcuklarının varlığı ile temsil edilir. TT statik bir histolojik özellik değildir, bunun yerine yayılma ve metastaz yapma potansiyeline sahip agresif bir tümörün üstlendiği dinamik bir sürecin anlık görüntüsünü temsil eder. Güçlü, tutarlı kanıtlar TT'nin lenf nodu metastazının, uzak metastatik hastalığın, lokal nüksün, genel olarak daha kötü ve hastalıksız sağkalım süresinin ve bağımsız bir prognostik faktörün bir göstergesi olduğunu göstermektedir (93, 94).

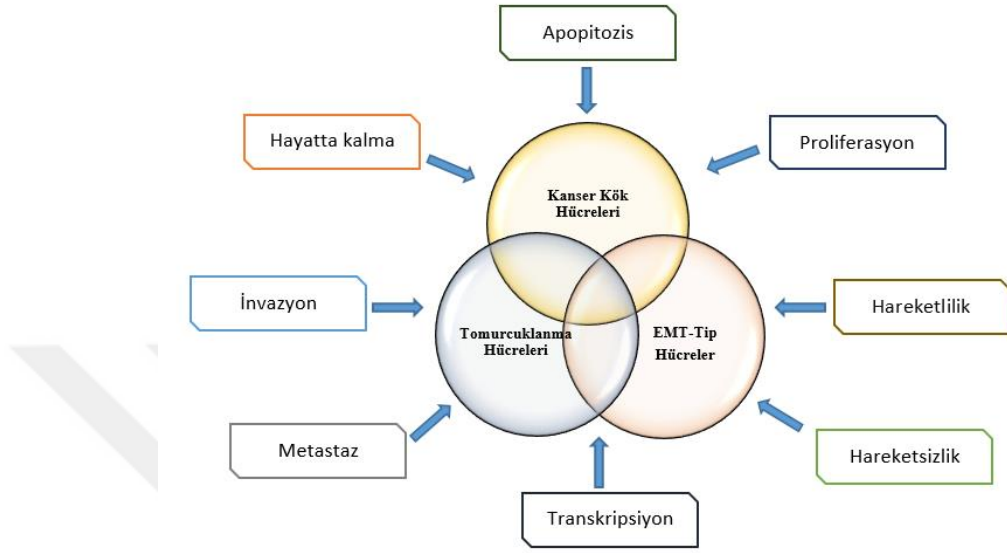
EMT, epitel hücrelerinin hücre-hücre adezyonlarını kaybettiği ve mezenkimal hücrelere özgü metastatik ve invaziv özellikler kazandığı çok adımlı dinamik bir hücresel olaydır. EMT ve bunun tersi olan mezenkimal-epitelyal transizyon (MET), embriyogenik gelişim, yara iyileşmesi ve doku onarımı sırasında anahtar rol oynayan fizyolojik süreçlerdir. EMT'nin anormal aktivasyonu, kanser metastazının bir özelliği olarak kabul edilir. EMT, epitelyal belirteç olan E-kadherinin membranöz lokalizasyonunun kaybını ve vimentin, N-kadherin, α -düz kas aktini veya fibronektin gibi bir veya daha fazla mezenkimal belirteçin düzeylerinde artışı ve epitelyal hücrelerin polarizasyon kaybını içerir. E-kadherin genellikle β -katenin'i hücre-hücre temasında tutar; membranöz seviyelerinde bir azalma, β -katenin'in nükleer translokasyonuna ve bunun sonucunda EMT ilerledikçe Wnt/ β -katenin sinyalinin aktivasyonuna neden olur (95). Moleküler düzeyde, APC mutasyonları sıklıkla yüksek dereceli tomurcuklanan kanserlerde bulunur, bu da WNT sinyalinin invazyonda görev aldığına dair ek kanıtlar sağlar. TGF- β sinyali ek olarak stromal yeniden şekillenmeye ve EMT'nin aktivasyonuna katkıda bulunabilir. Ayrıca, RAS, RAF, Rho, NF- κ B, Notch, STAT ve çeşitli mitojenle aktive olan protein kinazları içeren tirozin kinaz reseptör yollarının aktivasyonu, EMT aktivasyonuna ve tümör tomurcuklanmasının oluşumuna katkıda bulunur. Bazı çalışmalarda BRAF ve KRAS mutasyonlarının varlığı kolorektal kanserlerinde tümör tomurcuklanması ile ilişkilendirilmiştir (94, 96). Ayrıca ZEB1, ZEB2, SMAD, SNAI1, SNAI2 (SLUG), TWIST, GSC-3 β ve FOXC2 gibi bir veya daha fazla EMT'yi indükleyen transkripsiyon faktörünün seviyelerindeki bir artış da sıklıkla EMT ilerlemesine eşlik eder (94, 95). Bununla

birlikte TNF-a ve IL-6 gibi enflamatuar sitokinler de in vitro EMT'yi indükleyebilir (94).

Genel olarak, EMT'den türetilen tümör hücrelerinin ve yapılan birçok çalışmada TT'nin hipo-proliferatif olduğu düşünülür, bu da malign özelliklerini göstermesi için agresif hücresel mekanizmaların devreye girdiğini gösterir. Hücre döngüsü düzenleyicileri siklin-D1 ve p16, Wnt sinyal hedefleridir. Bunların aktivasyonu, EMT kaynaklı büyümenin durdurulması için önerilen bir mekanizmadır. Normal koşullar altında nükleer p16, hücre döngüsünü durduran direk bir siklin-D1 inhibitörüdür. Bununla birlikte, sitoplazmada bulunan CDK4, p16 ile bağlanarak, nükleusa taşınmasını bloke eder. Siklin-D1 aktivasyonu için ise CDK4 gereklidir. Bu nedenle, CDK4'ün yokluğunda, siklin-D1, CDK2 ile aktif olmayan bir kompleks oluşturur ve bu, p16 ve siklin D1'in görünüşte paradoksal birlikte up-regülasyonunu açıklar. Tümör tomurcuklanması metastaz ve invazyon ile olan açık ilişkisine rağmen, paradoksal olarak; proliferasyon belirteci Ki67'nin azalmış ekspresyonuna sahiptir. Ayrıca buna eşlik eden hücre döngüsü blokaj araçlarının siklin D1 ve p16'nın artmış ekspresyonuna sahiptir. Sonuç olarak TT düşük proliferasyon oranları gösterir (93, 97).

Kanser kök hücreleri (KKH) kavramı artmış kendini yenileme, farklılaşma ve çoğalma yeteneklerine sahip benzersiz bir hücre alt kümesini ifade eder. Normal doku kök hücreleriyle yaygın olarak paylaşılan "kök benzeri" özellikleri nedeniyle bu hücrelere KKH adı verilir. İlk olarak Akut Miyeloid Lösemide tanımlandıktan sonra kolorektal kanserler başta olmak üzere birçok solid tümörde tanımlanmıştır. KKH, artan invazivlik, kemoterapi direnci ve anjiyogeneze aracılık etme ve apoptoza direnme yeteneği ve metastatik bölgelerde yeniden farklılaşma yeteneği gibi agresif özellikler gösterirler. Bazı çalışmalar KKH'nin EMT yoluyla normal doku kök hücrelerinden veya epitel hücrelerinden kaynaklandığını göstermektedir. Örneğin kolorektal karsinom hücre dizilerinde EMT transkripsiyon faktörleri, varsayılan kök hücre işaretleri olan CD133 ve CD44'ün artan ekspresyonuna yol açar. Tüm bu nedenlerle TT olarak tanımladığımız EMT'ye uğrayan ayrılmış kanser hücreleri, hipoksik ortama uyum sağlamak için kök hücre fenotipi aldığı, göç eden bir KKH popülasyonunu temsil ettiği düşünülmektedir. CD133, CD44, ABCG5, CD90, CD24,

CD166, LGR5 (bir Wnt yolu hedefi) ve ALDH1 gibi farklı KKH yüzey belirteçleri tanımlanmıştır (97, 98, 99). TT, EMT ve KKH ilişkileri kabaca Şekil 6’da şematize edilmiştir (99).



Şekil 6.TT, EMT ve KKH arasındaki etkileşimler

2.7.2. Tümör Tomurcuklanmasının Klinik Önemi ve Prognostik Değeri

İlk olarak Morodomi ve arkadaşlarının rektal kanserler ile ilgili yaptığı çalışmada TT ile tümörün histolojik diferansiyasyonu arasında korelasyon görülmüştür. Rektal karsinomlarda LVİ ve lenf nodu metastazının kötü diferansiyasyon ve artmış TT ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (90). Bunun üzerine TT ile ilgili özellikle kolorektal kanserler başta olmak üzere özefagus, mide, pankreas, akciğer, baş-boyun kanserleri gibi birçok alanda çalışmalar yapılmıştır. 2016 ITBCC’de kolorektal kanserlerde TT olumsuz bir prognostik değer olarak tanımlanmış; tanıdan bağımsız olarak yüksek dereceli TT varlığı lenf nodu metastazı, uzak metastaz, lokal nüks ile ilişkilendirilmiştir. Değerlendirilme ve skorelama sistemi belirtilmiş ve raporlama protokollerinde yer alması gerektiği önerilmiştir. Nihai olarak 2017’de College of American Pathologists (CAP) Kolorektal Karsinom Raporlama Protokolünde TT, raporlanması gereken parametreler arasında yer almıştır (100).

Meme kanserlerine yapılan çalışmalarda yüksek dereceli TT'nin hastaların TNM evresi, EMT ve KKH skoru ile korele olduğu, TT'nin bağımsız bir prognostik faktör olduğu ve kötü sağkalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Yüksek dereceli TT olan hastalarda azalmış e-kadherin ekspresyonu ve artmış vimentin ekspresyonu saptanarak EMT ile de ilişkilendirilmiştir (98).

Mide AK'larına yapılan çalışmalarda TT yüksek derecesi T evresi, tümör boyutu ve derecesinden bağımsız olarak; TT izlenmeyen hastalara kıyasla daha düşük sağ kalım göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 5 yıllık sağkalım TT bulunmayan hastalarda %92,5 iken, TT bulunan hastalarda %38,5 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek dereceli TT tespit edilen hastaların daha ileri T evresi, N evresi, vasküler invazyon, kötü diferansiye tümörler ve daha büyük tümör boyutu ile başvurduğu belirlenmiştir (101).

Akciğer küçük hücreli dışı karsinomlarına yapılan çalışmalarda TT, 5 yıllık sağkalım, tümör boyutu, lenf nodu metastazı, vasküler invazyon, plevral invazyon, hava boşluklarına yayılım (STAS), tümör nekrozu, TNM evresi ile ilişkili; cinsiyet ve yaş ile ilişkisiz bulunmuştur. Ayrıca tümör trombüsü olan hastalarda TT oranı daha yüksek saptanmıştır (102).

Özefagus kanserlerinde ise çoğu çalışma SHK ile yapılmış olup, TT daha büyük tümör boyutu, daha yüksek TNM evresi, derin invazyon, infiltratif patern, lenfovasküler ve perinöral invazyon (PNI), intramural metastaz, lenf nodu metastazı, inkomplet tümör eksizyonu ile ilişkili bulunmuştur. Yüksek dereceli TT düşük 5 yıllık hastalıksız sağkalım ve düşük 3 yıllık sağkalım ile ilişkili izlenmiştir. ÖSHK'larında EMT ve TT ilişkisini bildiren çok fazla çalışma olmamakla birlikte, var olan çalışmalarda yüksek dereceli TT bulunan hastalarda zayıf membranöz E-kadherin ve güçlü sitoplazmik vimentin immünreaktivitesi izlenmiş olup, TT ve EMT ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalar T1 SHK'larda TT varlığının ek lenf nodu diseksiyonu gerektirdiğini belirtmektedir (20, 95, 103). Miyata ve arkadaşları, evre 2-4 olan 74 hastadan oluşan bir kohort kullanarak neo-adjuvan tariflenen rezeksiyonlarda TT'yi ele almış, TT'nin neo-adjuvan kemoterapi ve ardından ilerlemiş özefageal SHK için cerrahi alan hastalarda da yararlı bir prognostik gösterge olduğunu

vurgulamıştır. Özellikle rezeksiyon örneğinde yüksek dereceli TT olan hastaların 5 yıllık sağkalım oranı %17 iken, düşük dereceli TT'si olanlarda bu oran %49 bulunmuştur. Ayrıca, TT, zayıf bir klinik kemoterapi yanıtı ile önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir (101).

Sonuç olarak özefagus kanserinde TT'nin histopatolojik olarak değerlendirmek için prognostik öneme ve kişiselleştirilmiş hasta yönetimi için önemli bir değere sahip olduğu düşünülmektedir. Yüksek dereceli TT bulunan hastalar lokal ablatif tedavi prosedürleri yerine özefajektomiden fayda görebilir. Multimodalite tedavileri için özefagus kanseri olan yüksek riskli hasta seçimlerine yardımcı olabilir (101).

2.7.3. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi

TT başta kolorektal kanserler olmak üzere özefagus, pankreas, baş-boyun kanserleri, meme gibi birçok organın solid tümörlerinde çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda standart bir skorlama sistemi olmamasına rağmen TT'nin yapılan değerlendirme sisteminden bağımsız olarak bile kötü prognozun güvenilir bir belirtici olduğu tespit edilmiştir (104).

ÖSHK'da ise Moditz ve ark. ile Li ve ark. yaptığı bir çalışmada akciğer ve oral SHK'da daha sık kullanılan değerlendirme yöntemi kullanılmıştır. TT'nin bulunduğu en sıcak alanda 10 büyük büyütme alanı sayılarak <15 TT düşük TT aktivitesi, ≥ 15 TT yüksek TT aktivitesi olarak skorlanmıştır (13, 14). Yapılan diğer çalışmalarda ise genellikle Ueno ve arkadaşlarının kullandığı yöntemler benimsenmiştir (101). 2016'da toplanan ITBCC; Ueno ve arkadaşlarının ve Japon Kolorektal Kanser Topluluğu (JSCCR-Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum)' un görüşlerini benimseyerek TT değerlendirmesi için kolorektal kanserlerde uluslararası bir standardizasyon oluşturmuştur(12). 2017'de CAP kolorektal raporlama sistemine dahil edilmiştir. TT'nin ek prognostik faktör olarak resmen kabul edildiği kolorektal kanser ile karşılaştırıldığında; özefagus kanserlerinde TT ile ilgili çalışmalar sınırlı hasta sayısına ve küçük bir grup çalışma merkezine dayanmaktadır. Bu nedenle TT'nin

özefagus kanserlerinde de benzer bir rol üstlenip üstlenmeyeceğini belirlemek için çok merkezli büyük çalışmalara ve standardize skorlama sistemine ihtiyaç vardır.

ITBCC'ye göre TT değerlendirilmesi şu şekildedir (12):

- TT kanserin invaziv sınırındaki tek hücreler veya dört hücreye kadar olan kümeler olarak tanımlanır. Peritümöral ve intratümöral olarak sınıflandırılır. Peritümöral tomurcuklanma sadece endoskopik ve cerrahi rezeksiyon materyallerinde sayılırken, intratümöral tomurcuklanma hem biyopsi hem de rezeksiyon materyallerinde değerlendirilebilir.
- TT Hematoksilen&Eozin (H&E) kesitlerde sayılır. H&E değerlendirilmesinin sınırlı olduğu durumlarda (peritümöral inflamasyon, glandüler parçalanma, stromal hücreler ve fibroblastların ayırt edilememesi, retraksiyon artefaktı vb.) immünohistokimyadan destek alınabilir (panCK, CK5/6).
- Taşlı yüzük hücreli, medüller ve mikropapiller karsinomlarda TT değerlendirilmesi dikkatli yapılmalıdır. Eğer TT kesin olarak değerlendirilemiyorsa rapora değerlendirilemedi şeklinde belirtilmelidir.
- TT sayımı en yüksek tümör tomurcuğu yoğunluğuna sahip yani en sıcak alanda 0,785 mm²'lik alan sayılmalıdır. 0,785 mm²'lik alan çoğu mikroskopta 20x objektif alanına denk gelmektedir. Ancak mikroskoplara göre değişkenlik gösterir. En sıcak alan tespiti için 10x büyütme ile 10 ayrı alanın taranması önerilir.
- Üç kademeli bir derecelendirme sistemi önerilir:
 - 0-4 adet tümör tomurcuğu: düşük derece
 - 5-9 adet tümör tomurcuğu: orta derece
 - ≥ 10 adet tümör tomurcuğu: yüksek derece

2.8. Tümör İnfiltr Edici Lenfositler

2.8.1. Kanser Gelişimi ve İmmün Sistem

Hücrel immüitenin temel fonksiyonu sürekli olarak immün gözetim (sürveyans) yoluyla doku hemostazının korunarak doğal ve adaptif immün hücrelerin koordineli aktivasyonu ile inflamatuvar cevabın başlatılmasıdır. İmmün sistemin yeni transforne olan hücreleri tanıyabileceği ve yok edebileceği ilk olarak Burnet ve Thomas'ın kanser immün sürveyans hipotezinde somutlaştırılmıştır (105, 106). Son çalışmalar, immün sistemin aslında hücrel dönüşümü kolaylaştırabileceğini, tümör büyümesini önleyebileceğini veya kontrol edebileceğini ve tümörlerin antijenitesini şekillendirebileceğini kesin olarak belgelemiştir. Bu haliyle immün sürveyans (gözetim) sistemin bir parçası olup, çok yönlü bir yaklaşım olan tümör-konak ilişkisini karşılıklı olarak tanımlayan kanser immün düzenleme (immüediting) hipotezi ortaya çıkmıştır. İmmün sistemin yalnızca kanser gelişimine karşı koruma sağlamadığı, aynı zamanda tümör teşvik edici etkisi olan bu dinamik süreç üç aşamadan oluşur; eliminasyon, denge ve kaçış.

Eliminasyon fazı büyük oranda immün sürveyansa karşılık gelmektedir. Eliminasyon, hem doğal hem de adaptif immün sistemin etkili hücreleri olan lenfositler, makrofajlar, NK hücreler tarafından erken tümörlerin klinik olarak görünür hale gelmeden önce saptandığı ve yok edildiği bir kanser bağışıklığı düzenleme aşamasıdır. Eliminasyondan kaçan tümör hücreleri denge aşamasına girer. Kanser immün düzenlemesinin denge fazında, immün sistem tümörü fonksiyonel uyku hali durumunda tutar. Bazı tümör hücreleri, genetik ve epigenetik değişikliklere uğrar ve sürekli olan immün uyarı nedeniyle, immüiteden kaçmayı sağlayan (antijen kaybı veya antijen sunumundaki kusurlar) ve hücrel immün yanıtını (Treg, Th2, tümör ilişkili makrofajlar, myeloid kökenli baskılayıcı hücreler) baskılamayı (PD-L1) indükleyen tümör hücresi varyantları gelişir. Denge fazı, anti-tümör (IL-12, IFN- γ) ve tümörü destekleyen, bulunduğu mikroçevrenin yayılımı ve çoğalmaya uygun hale gelmesini sağlayan sitokinler (IL-10, IL-23) arasındaki bir dengedir. Kısaca tümör ve konak arasında karşılıklı etkileşim söz konusudur. Kanser immün düzenlemesinin kaçış aşaması sırasında, immün sistem tümörün aşırı büyümesini kısıtlamakta

başarısız olur ve tümör hücreleri ortaya çıkarak klinik olarak belirgin hastalığa neden olur. Bu fazda, tümör hücreleri immün tanımadan kaçır (tümör antijenlerinin kaybı, MHC sınıf I veya ko-stimülatör moleküllerin kaybı); dirençli (STAT-3), hayatta kalmayı sağlayan (anti-apoptotik molekül bcl2) ve immünsupresif (IDO, TDO, PD-L1 vb.) moleküller eksprese eder ve anjiogenezi kolaylaştıran sitokinler (VEGF, TGF- β , IL-6, M-CSF) salgılar. Hastalar en sık kaçış aşamasında tanı alır (106, 107). Ancak antitümöral immün yanıt gelişmeye devam eder ve ileri hastalık evrelerinde bile, immün parametrelerinin hasta sağkalımını doğrudan veya dolaylı olarak etkilediği görülmüştür. Son yıllarda immünoterapi çeşitli kanser türleri için önemli bir terapötik strateji olarak kabul edilmektedir. İmmünoterapi immün kontrol noktası yollarını süprese ederek malign hücrelerle savaşmak için hastaların kendi immün sistemini kullanır. Ancak bu ilaçların etkinliği çeşitli sebeplerle sınırlıdır. Bu ilaçlara yanıt vermesi muhtemel hastaları seçmek ve ilaç direncinin üstesinden gelmek için kombinasyon tedavisi belirleme de yenilikçi biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Son çalışmalar tümör hücresi intrinsik faktörlerinin (örn. PD-L1 ekspresyonu, tümör mutasyon yükü ve mikrosatellit instabilite), immün kontrol noktası inhibitörlerin etkinliği ile nispeten ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca immünoterapiye karşı kanser direncinde TIL, tümörle ilişkili makrofajlar (TIM) ve miyeloid kaynaklı supresif hücreler dahil olmak üzere ekstrinsik faktörlerde etkilidir (17).

2.8.2. Tümör Mikroçevresi ve Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin Tanımı

Tümör mikroçevresinin (TMÇ) tümör ilerlemesindeki mekanizmalarının son zamanlarda aydınlatılması, kanser immünoterapisi alanında dikkate değer bir gelişim sağladı. İmmün mekanizmaların belirlenmesi ve yeni prognostik biyobelirteçlerin tanımlanması, hayatta kalma oranlarını iyileştirmek için en iyi kanser tedavisini seçmeye yardımcıdır. TMÇ’de intratümöral ve stromal olmak üzere farklı hücre popülasyonları mevcuttur (108).

TMÇ, çoklu hücre tiplerinden (immün hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri) ve ayrıca ekstrasellüler matriks (ESM) ve salgılanan araçlar (büyüme faktörleri ve sitokinler, kemokinler) dahil olmak üzere hücre dışı bileşenlerden oluşan karmaşık bir ektopik ekosistemi ifade eder. Stromal hücreler esas olarak sızan immün

hücrelerini (TIL, NK hücreler, dentritik hücreler, eozinofiller, makrofajlar), tümör ilişkili fibroblastları (TIF) ve tümör ilişkili endotel hücrelerini (TIE) içerir; ESM ve büyüme faktörleri ve sitokinler gibi diğer salgılanan araçlar, hücreler ve bileşenleri en iyi temsil eden bileşenlerdir. TMÇ'de, tümör hücreleri ve onları çevreleyen stroma arasındaki çift yönlü iletişim, yalnızca birincil tümör büyümesine ve hayatta kalmasına katılmayan, aynı zamanda tümörün ilerlemesini, metastazını ve ilaç direncini kolaylaştıran ektopik ve tümörojenik ortamı yeniden oluşturur (109).

Esas olarak T lenfositlerinden oluşmakla birlikte, adaptif immün sistem hücrelerini içeren heterojen lenfosit popülasyonu olan TIL'ler, TMÇ'nin en önemli hücreleri olup ilk olarak 1986'da çeşitli tümörlerde bağımsız bir prognostik biyobelirteç oldukları kanıtlanmıştır. Artan kanıtlar, TIL'lerin çok sayıda anti tümör efektör veya düzenleyici T hücrelerinden (Treg'ler) oluştuğunu ve konağın tümöre karşı bağışıklık tepkisinde kilit faktörler olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, farklı TIL alt kümelerinin işlevlerinin değerlendirilmesi, tümör ilerlemesinin ve etkili anti-tümör stratejilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir (16).

Vücutta birbiriyle ilişkili iki tür adaptif immünite mevcuttur. Birisinde saldırgan karşı globin yapısında dolaşan antikorlar gelişir. Buna humoral bağışıklık ya da B hücre bağışıklığı denir. Diğerisi ise çok sayıda aktif lenfositin oluşumu ile gelişir. Bu özgül lenfositler saldırganı yok etmeye yöneliktir ve bu bağışıklığa hücresel ya da T hücre bağışıklığı denir. Vücuttaki tüm lenfositler embriyoda pluripotent hemopoietik kök hücrelerden üretilir. T lenfositler timus bezinde olgunlaşırken, B lenfositler fetal yaşamın orta döneminde karaciğerde, geç fetal dönem ve doğum sonrasında kemik iliğinde olgunlaşır. Naiv lenfositler olarak adlandırılan bu lenfositler primer lenfoid dokulardan ayrılarak doğal ve adaptif bağışıklık yanıtlarının oluşabileceği periferik lenfoid dokulara göç eder. Burada antijenle karşılaşan B lenfositlerin büyük bir kısmı plazma hücrelerine, T lenfositler ise aktif T lenfositlere dönüşür (110, 111).

Aktif T lenfositleri, efektör ve bellek T hücreleri olarak farklılaşır. Efektör T hücreleri ise görevlerine bağlı olarak yardımcı T (Th, helper), sitotoksik T ve baskılayıcı T hücresi olarak tanımlanır. Yardımcı T hücreleri CD4+ T hücreler olarak

bilinir ve T hücrelerin en büyük grubunu oluşturur. Tüm bağışıklık sistemi işlevlerinde ana düzenleyici görevi üstlenirler. CD4⁺ Th hücreleri spesifik olarak MHC-2 proteinlerini tanırlar ve ortaya çıkan sitokinler aracılığıyla Th1, Th2, Th17, Treg gibi alt gruplara farklılaşırlar. Sitotoksik T hücreleri CD8⁺ T hücreleri olarak bilinir ve mikroorganizmaları ve bazen de vücudun kendi hücrelerini öldüren direkt saldırı hücreleridir. Spesifik olarak MHC-1 proteinlerini tanırlar ve bağlandıkları hücrede perforin, granzim salgılayarak ya da Fas/FasL yoluyla hedef hücreyi direkt öldürür. Baskılayıcı (supresif) T hücreleri hakkında bilgi sınırlı olmakla birlikte hem CD4⁺ Th hücrelerini hemde sitotoksik T hücrelerini baskılamaktadır. Bu işlev immün yanıtın vücuda zarar verebilecek aşırı reaksiyonunu önlemeye yöneliktir ve immün toleransta (immüitenin denge fazı) yer alırlar. Baskılayıcı T hücreleri, Th hücreleri ile birlikte düzenleyici T hücreleri (Treg) olarak sınıflandırılırlar. CD4 ile birlikte FOXP3 ve CD25 (IL-2) ifade ederler (110, 111).

Sonuç olarak TIL'ler, melanom, kolorektal, yumurtalık, özefagus, karaciğer ve akciğer kanserleri dahil olmak üzere insan malignitelerinin yerel konak anti-tümör bağışıklığını temsil ettikleri için prognostik faktörler olarak kabul edilir. Birkaç çalışma, belirgin lenfositik infiltrasyonun daha iyi prognozla ilişkili olduğunu göstermiş olsa da, TIL'lerin bir alt kümesi olan düzenleyici lenfositlerin (Treg) hasta sağkalımını olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Kanser hastalarının prognozunu belirlemede TIL'lerin alt kümelerinin miktarının değil türünün daha kritik belirleyici olduğunu öne sürülmüştür (16, 112).

TIL alt tiplerinin her biri, tümörün ilerlemesinde farklı rollere sahiptir ve kabaca şu şekildedir; CD3, olgun T hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen, olgun T hücrelerinin yaygın bir farklılaşma antijenidir. CD4⁺T hücreleri, bağışıklık hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik edebilir ve bağışıklık hücreleri arasındaki etkileşimi koordine edebilir. CD8⁺T hücreleri, perforin salarak veya apoptozu teşvik ederek tümör hücrelerini öldüren ana antitümör efektör hücrelerdir. CD57, aktive edilmiş doğal öldürücü (NK) hücrelerin öldürme etkisinde yer alır ve granzim ve perforin gibi sitotoksinlerin ekspresyonu ile yakından ilişkilidir. FOXP3, anti-tümör immün yanıtını inhibe eden düzenleyici T (Treg) hücrelerinin bir belirteçidir. CD45RO T hücreleri, bellek T hücreleri olarak bilinir ve yardımcı

indüksiyon etkisine sahiptir. Bu nedenle, TIL'lerin tümörle ilişkili immün yanıtta rolü, farklı alt kümelerin etkileşimi tarafından düzenlenen bir tür kapsamlı etkidir. Birkaç çalışma, TIL'lerin özefagus karsinomlu hastalar için potansiyel prognostik biyobelirteçlerden biri olabileceğini doğrulamıştır, ancak TIL'lerin prognostik rolü tartışmalı ve birbirinden farklıdır (113).

TIL alt kümeleri, anti-tümör efektör ve düzenleyici hücreler olarak da incelenebilir. CD8+ T lenfositleri ve CD4+ yardımcı T lenfositleri efektör hücrelerdir ve olumlu bir prognozla ilişkili oldukları düşünülmektedir. CD8+ T hücreleri, anti-tümör bağışıklığının ana efektörleriyken, CD4+ yardımcı T hücreleri, CD8+ T hücrelerini indükler ve korur. Öte yandan, anti-tümör immün reaksiyonunu inhibe eden T hücrelerinin bir alt kümesi olan düzenleyici lenfositlerin, olumsuz prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir. Forkhead-winged-helix box (FOXP3), CD4+ yardımcı T hücreleri arasındaki "düzenleyici hücreleri" geleneksel "yardımcı hücrelerden" ayıran benzersiz bir moleküldür. Düzenleyici T hücrelerinin, T hücresi proliferasyonunu, antijen sunumunu ve sitokin üretimini baskılayarak konakçı anti-tümör bağışıklığını zayıflattığı bilinmektedir. Tümör ilerledikçe ve konakçada yerleştikçe, TIL popülasyonu, yardımcı CD4+ T hücreleri yerine düzenleyici T hücrelerini tercih edecek şekilde çarpıktır (112).

2.8.3. Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinomunda TIL Biyobelirteçlerinin Önemi

TIL'ler konak immünitesinin kanser hücresine karşı yanıtın bir tezahürü olarak kabul edilir. Bozulmuş immünitenin, insan tümörlerinin tümörejenezi ve/veya progresif davranışı ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. TIL'ler çeşitli karsinom türlerinde incelenmiş ve prognostik faktörler olarak belirtilmişlerdir. Bu nedenle, özellikle özefagus karsinomu olmak üzere malign tümörü olan hastaların immünolojik dinamiklerini değerlendirmek önemlidir (114).

ÖK'da TIL ve alt tipleri için yapılan çalışmalarda, çalışmaların sayısının az olması, olgu sayısının kısıtlı olması ve değerlendirme kriterlerindeki farklılıklardan dolayı literatürde heterojenite gözlenmektedir ve çalışılmaya devam etmektedir.

2.8.3.1. CD4+ ve CD8+ T Lenfositler ve Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinom

Sitotoksik T lenfositleri olan CD8+, spesifik tümör sonlandırıcı olarak immünolojik bir rol oynar. CD4+ yardımcı/indükleyici T lenfositleri, IFN- γ gibi sitokinler salgılayarak antitümör ve antianjiojenik aktivitede yer alır; lenfokinler üretir, böylece CD8+ T lenfositlerinin sitotoksik aktivitesini destekler. Ayrıca, CD4+ T hücreler, CD8+ için gerekli olan interlökin 2 gibi sitokinleri salgılayarak CD8+ T hücresi efektör fonksiyonlarının sürdürülmesi için gereklidir. Bu nedenle, hem CD4 hem de CD8'in aktivasyonu, tümör hücrelerinin sonlanmasına sinerjistik bir bağışıklık tepkisi gösterebilir (114, 115).

Nozoe ve ark. özefagus kanserli hastalar üzerinden yaptığı çalışmada özefagus kanserli hastalarda CD4+ oranının yüksek olduğu olgularda yaş ortalaması daha düşük bulunmuş olup, diğer faktörler ile ilişki saptamamışlardır. Ayrıca sağ kalım, yüksek CD4+ olan olgularda anlamlı derece daha iyi bulunmuştur (115).

Shumacher ve ark. yaptığı çalışmada CD8+ T lenfositlerinin yoğun olduğu özefagus karsinomlu olgularda lenf nodu metastaz oranının düştüğü, sağkalım oranlarının daha iyi olduğu, tümör çapı ile ters orantılı olduğu, iyi diferansiye tümörlerde daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (116).

Yagi ve ark.özefagus kanserinininterapötik rezeksiyonu olan 305 hastada PD-L1'in ekspresyonunu ve TIL durumunu inceledi. PD-L1 negatif ve TIL pozitif hastaların daha iyi genel sağkalıma sahip olduğunu ve TIL pozitifliğinin CD8 ekspresyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bulmuşlardır (18).

Wang ve arkadaşları yaptığı çalışmada CD8+ TIL seviyesinin sağkalımdan bağımsız olduğunu bulmuşlardır (117).

Jiang ve ark. yaptığı bir çalışmada CD4+ ve CD8+ TIL oranları ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulmamışlardır (118).

Yapılan bir çalışmada azalmış CD4/CD8 oranı tek başına CD8 ve CD4 oranlarına göre ÖSHK'lı hastalarda daha kötü prognozu temsil ettiği bildirilmiştir (115).

2.8.3.2. FOXP3+ T Lenfositler ve Özefagus Skuamöz Hücreli Karsinom

Transkripsiyon düzenleyicilerin forkhead-winged-helix box (FOX) protein üst ailesi, embriyonik gelişim ve yetişkin dokularının homeostazı sırasında hücre proliferasyonu, farklılaşması, hayatta kalması ve apoptozda pleiotropik roller oynar. FOXP ailesi, FOXP1, FOXP2, FOXP3 ve FOXP4 üyelerini içerir. İnsanlarda, FOXP3 geni (başlangıçta JM2 veya Scurfin olarak adlandırılır) X kromozomunda Xp11.23-Xq13.3'te bulunur. Gen ifadesinin geniş bir düzenleyicisi olarak FOXP3; CD4+ Treg hücrelerinin tanınmasında, tiplendirilmesinde ve fonksiyonunda anahtar rol oynar. CD4+ Treg hücrelerin gelişimini ve immünsüpresif etkilerini düzenler ve bu şekilde immün kaçışta rol oynar (119, 120).

ÖSHK'da TIL'ler arasında Treg (FOXP3+) sıklığındaki artışı ve bu artışın olumsuz bir prognostik etkiye sahip olabileceğini açıklayan çok sayıda çalışma olmakla birlikte aksini iddia eden çelişkili çalışmalarda mevcuttur (118).

Xia ve arkadaşları ÖSHK'da yaptığı bir çalışmada dokuda FOXP3+ lenfosit infiltrasyonu yüksek olan olgularda lenf nodu metastaz oranının daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Yaş, cinsiyet, TNM evresi, histolojik grade ile anlamlı ilişki saptamamıştır. FOXP3+ lenfosit sayısında artışın tümöre karşı immüniteyi baskılayarak tümör yayılımı ve metastaz ile ilişkili olabileceğini vurgulamıştır (121).

Yoshioka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek FOXP3 oranına sahip hastaların prognozunun düşük FOXP3 oranına sahip olanlardan daha iyi olduğunu, bunun toplam T lenfosit miktarındaki artıştan kaynaklandığını, CD8/CD4 ve CD4/CD8 ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (122).

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD8+ ve FOXP3+'ün tek başına değerlendirilmesinden, CD8+/FOXP3+ değerlendirilmesinin aralarındaki etkileşimi

daha iyi yansıtacağından hastanın immün sistemi hakkında daha iyi bilgi verebileceğini ve yüksek CD8+/FOXP3+ oranının daha iyi prognoz ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (15).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul ve Proje Destek Bilgileri

Çalışmanın etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Toplantısı'nda 30.06.2022 tarihinde 2022/553 karar sayısı ile alınmıştır. Proje Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, TTU-2022-11389 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.2. Olguların Seçimi, Verilerin Toplanması ve Klinikopatolojik Parametreler

Çalışmamızda; 2010-2022 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında değerlendirilen, çalışma kriterlerini karşılayan olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak hastanemiz otomasyon sisteminden taranmış ve klinik bilgilerine ulaşılmıştır. Çalışmaya dahil edilme kriterlerini histopatolojik olarak SHK tanısı alan özefajektomi öncesi neoadjuvan tedavi almamış ve bölümümüz arşivden bloklarına ulaşılabilen hastalar oluşturmaktadır.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesinde 2010-2022 yılları arasında özefajektomi yapılan 310 hasta tespit edilmiştir. Bunların 136'sı özefajektomi materyalinde SHK tanısı almış, diğerleri AK başta olmak üzere, mikst karsinomlar vb. tanılar almıştır. 136 olgunun klinikleri incelendiğinde, 85 tanesi operasyon öncesi neoadjuvan tedavi almamıştır. Bu olgulardan 10 hastanın hastanemiz arşivinden bloklarına ulaşılammıştır. Çalışmaya, dahil edilme kriterlerine uyan hastaların tamamı olan 75 hasta dahil edilmiştir.

Hastaların klinik ve demografik verileri (tanı yaşı, cinsiyeti, operasyon tarihi ve şekli, sağkalım bilgileri, operasyon sonrası klinik ve radyolojik verileri) hastanemiz otomasyon sistemi ve e-nabız bilgilerinden elde edilmiştir. Veriler Excel dosyasına kaydedilmiştir.

Olgularda TT ve TIL’lerde CD4+, CD8+, FOXP3+, CD8+/FOXP3+, CD4+/CD8+, CD4+/FOXP3+ skorunun; yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör histolojik grade’i, tümör invazyon derinliği, LVİ, PNİ, patolojik tümör evresi (pTNM), patolojik lenf nodu evresi (pN) ve sağkalım ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Ayrıca olgularda TT skorlarının TIL alt tipleri ve oranları (CD4+, CD8+, FOXP3+, CD8+/FOXP3+, CD4+/CD8+, CD4+/FOXP3+ skorları) ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

3.3. Olguların Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki olgulara ait %10’luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklar ve H&E boyalı preparatlar, histomorfolojik olarak CAP özefagus karsinomu raporlama formatındaki parametrelere, AJCC kanser evreleme kılavuzu 8. Baskı evrelemesine ve DSÖ 2019 tanı ve derecelendirmesine göre yeniden değerlendirilmiştir. Tüm lamalar iki adet gözlemci tarafından Olympus BX51 (Olympus Optical Co. LTD., Japan) ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. Resimler Zeiss AxioCam HRc (Carl Zeiss Microscopy, Germany) kamera ile çekilmiştir.

Histolojik grade olarak tümör iyi diferansiye (grade 1, mitoz sayısı az, belirgin keratinizasyon/keratin incileri mevcut), orta diferansiye (grade 2, parakeratotik yapıdan kötü keratin oluşumuna kadar değişkenlik gösterir, genelde keratin incileri yok) ve kötü diferansiye (grade 3, merkezi nekroz alanları içeren adalar mevcuttur, nadiren parakeratotik hücreler var) olarak kategorize edildi (65). Histolojik grade iyi, orta ve kötü diferansiye olan olgular olarak gruplandırıldı (20, 123). Tümör çapı ≤ 40 mm ve >40 mm şeklinde gruplandırıldı (15, 117, 124). LVİ lenfatik ve vasküler yapının lümeninde ve duvarında tümör hücresi varlığı/yokluğu olarak kaydedildi. PNİ nöral yapıya tümöral invazyon varlığı/yokluğu olarak kaydedildi. Lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı AJCC kanser evreleme kılavuzu 8. Baskısına göre N0: Lenf nodu metastazı yok, N1: 1-2 adet lenf nodu metastazı var, N2: 3-6 adet lenf nodu metastazı var, N3: ≥ 7 lenf nodu metastazı var olarak sınıflandırıldı (125). İnvazyon derinliği; tümörün ilerlediği en derin tabakaya invazyonuna göre lamina propria, muskularis mukoza, submukoza, muskularis propria, adventisya invazyonu şeklinde belirlendi. İnvazyon derinliği AJCC kanser

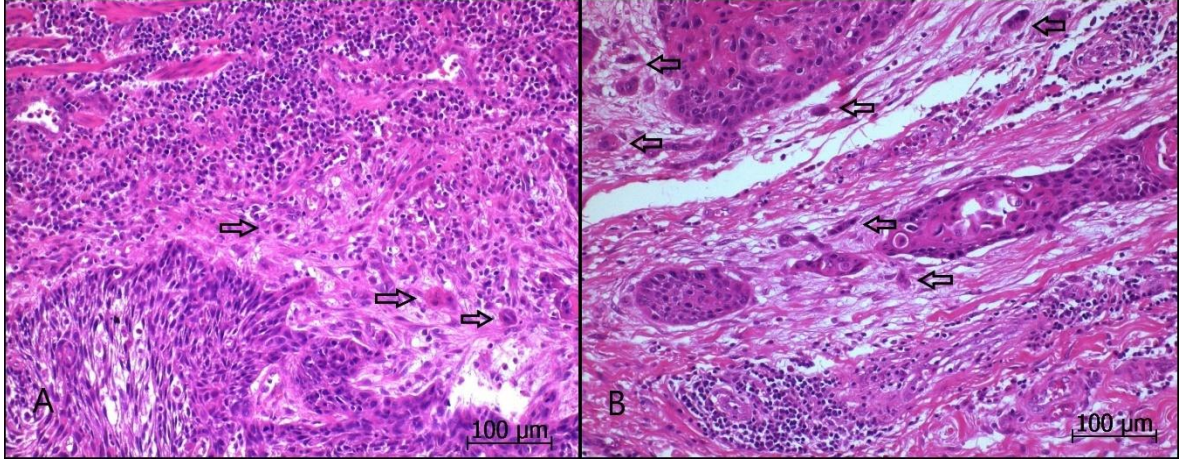
evreleme kılavuzu 8. Baskısına göre pT1a, pT1b, pT2, pT3, pT4a, pT4b olarak kategorize edildi (125). Ayrıca olgular pT1+pT2 (erken tümör evresi) ve pT3+pT4 (ileri tümör evresi) olarak iki grupta değerlendirildi (117, 118, 121). Patolojik tümör evrelemesi (pTNM) AJCC kanser evreleme klavuzunun 8. Baskısına göre evre 0, evre 1A, evre 1B, evre 2A, evre 2B, evre 3A, evre 3B, evre 4A, evre 4B olarak kategorize edildi (125). Hastaların sağ olanları operasyon yapıldığı tarihten çalışmanın güncel tarihine kadar ve eks olan hastaların sağ kalım süreleri ise operasyon tarihinden ölüme kadar geçen süre hesaplanarak ay cinsinden kaydedildi. Sağkalım gruplaması <12 ay, 12-35 ay, 36-59 ay ve ≥ 60 ay olarak dört grup şeklinde yapıldı.

3.4. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi

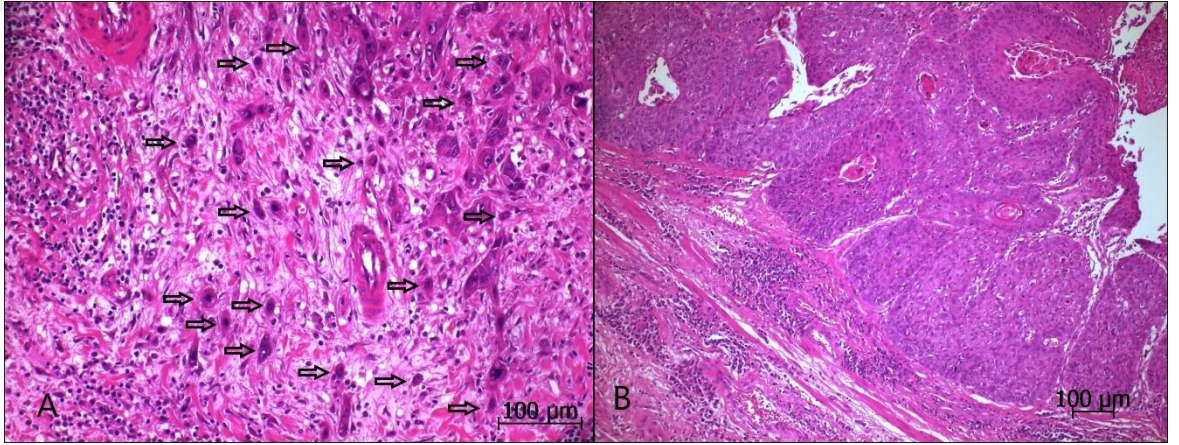
TT varlığı ve skorlanması ITBCC'nin 2016 yılı toplantısındaki öneriler göz önünde bulundurularak yapılmıştır (12). Buna göre TT, tümörün invaziv sınırındaki tek tümör hücreleri veya dört hücreye kadar olan tümör kümeleri olarak tanımlanmıştır. TT'nı taklit edebilecek inflamatuvar hücreler, fibroblastlar, multinükleer dev hücreler vb. değerlendirme dışı bırakılmıştır. Tümör bloklarına ait 4-5 μ m olan H&E boyalı preparatlarının tamamı tümör invaziv kenarı dikkate alınarak en sıcak alan tespiti için 10x büyütme ile Olympus BX51 ışık mikroskopu ile taranmıştır. TT'nin bulunduğu en yoğun alan 20x büyütmede (mercek çapı: 22 mm, saha alanı 0,950 mm²) sayıldı. Sonuçlar 0,785 mm²'lik alan standardizasyonunu sağlamak için mercekle çapımıza uygun normalizasyon faktörüne (1.210) bölünerek düzenlendi (12).

TT, üç kademeli bir derecelendirme sistemi ile ITBCC'ye göre skorlanmıştır (Şekil 7 ve 8):

- 1- 0-4 adet tümör tomurcuğu: düşük derece
- 2- 5-9 adet tümör tomurcuğu: orta derece
- 3- ≥ 10 adet tümör tomurcuğu: yüksek derece



Şekil 7. Tümörün invaziv kenarında düşük (A) ve orta (B) tümör tomurcuklanması



Şekil 8. Tümörün invaziv kenarında yüksek (A) tümör tomurcuklanması ve tümör tomurcuklanması izlenmeyen invaziv sınır (B)

3.5. İmmünohistokimyasal Yöntem

Her olgunun H&E boyalı tümör preparatları incelenerek yeterli tümör dokusu içeren, tümör stromasında ve invaziv sınırında TIL'i en iyi temsil eden (en sıcak alan) lamalar arasından bir adet lam tespit edilmiştir (16, 118). Seçilen lamlara ait bloklardan Leica RM2245 model mikrotom cihazı ile 4,5 µm kalınlığında kesilen kesitler Poly-L-Lysin kaplı pozitif yüklü lamlara alınmıştır. Formalin fikse kesitlerin hepsine T helper lenfositler için CD4 (anti-CD4, SP35, Ventana) Rabbit Monoclonal Primer Antibody, T sitotoksik lenfositler için CD8 (anti-CD8, SP57, Ventana) Rabbit Monoclonal Primer Antibody, T düzenleyici lenfositler (Treg) için FOXP3 (anti-FOXP3, 236A/E7, Abcam) Mouse Monoclonal primer Antibody ile boyama

yapılmıştır. Boyamalar tüm antikorlar için Ventana BenchMark Ultra kapalı boyama cihazında UltraView DAB Detection Kit kullanılarak yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak her üç antikor için insan tonsil dokusu kullanılmıştır. Doku dökülmesi sorunu yaşanan olgularda boyamalar tekrar edilmiştir.

Boyanma tekniği antikorların data-sheetine uygun olarak yapılmıştır ve Tablo 4’de gösterilmiştir. Uygulanan basamaklar sırasıyla şu şekildedir.

- Slaytların deparafinizasyonu (72 °C’ye kadar)
- Slaytlar 95 °C’ye kadar ısıtılıp ve 8 dakika süreyle hücre iyileştirici ile inkübe edildi.
- FOXP3 ve CD8 için EDTA (CC1) ile CD4 için Sitrat ile (CC2) antijen geri kazanımı yapıldı.
- Antikor inkübasyonu FOXP3 için 40 dk., CD8 için 32 dk., CD4 için 36 dk uygulandı.
- Arka plan boyaması için Hematoksilen 1 damla uygulandı ve 8 dk. inkübe edildi.
- Arka plan boyamasını iletmesi için bluing reagent uygulandı ve 4 dk. inkübe edildi.

Tablo 4. Antikorların Bilgileri ve Boyanma Yöntemleri

Antikor	Klon	Dilüsyon	Antijen açığa çıkarma	İnkübasyon	Kontrol	Üretici firma
anti-FOXP3	236A/E7	1/100	EDTA/64’	40’	Tonsil	Abcam
anti-CD4	SP35	Kullanıma hazır	Sitrat/56’	36’	Tonsil	Ventana
anti-CD8	SP57	Kullanıma hazır	EDTA/64’	32’	Tonsil	Ventana

3.6. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

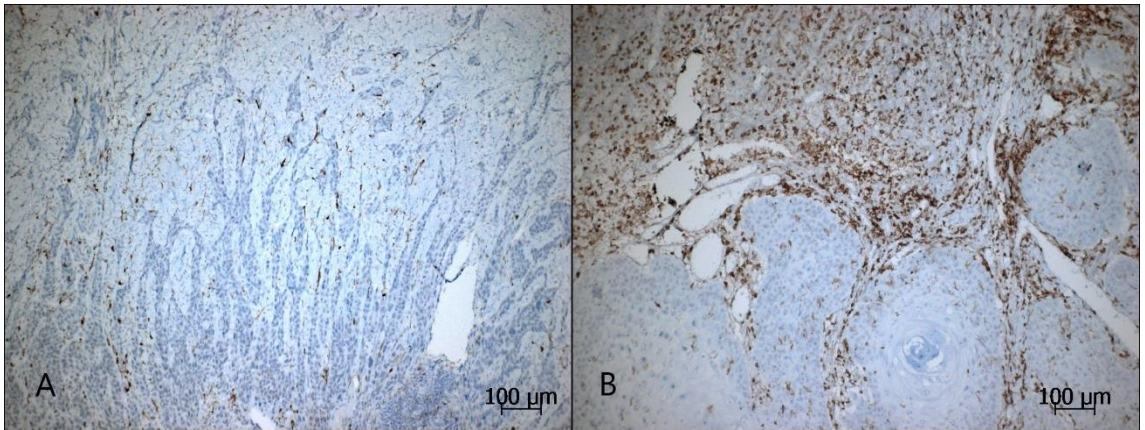
Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 marka ışık mikroskopunda değerlendirildi. FOXP3, CD4 ve CD8 boyalı immünohistokimya lamları küçük büyütmede (10x) tarandı. Her bir antikor için tümör stromasında ve invaziv sınırında

lenfosit boyanmalarının en yoğun olduğu (en sıcak alan) birbiriyle örtüşmeyen 10 farklı büyük büyütme alanı (10 BBA, 40x) belirlendi ve sayıldı. Her bir olguya ait antikor için ayrı ayrı kaydedildi (117, 118). Değerlendirmeye hemoraji ve nekroz alanları, normal çok katlı yassı epitel (özefagus epiteli) ve karsinoma in situ etrafındaki infiltrasyonlar ve polimorfonükleer lökositler dahil edilmedi.

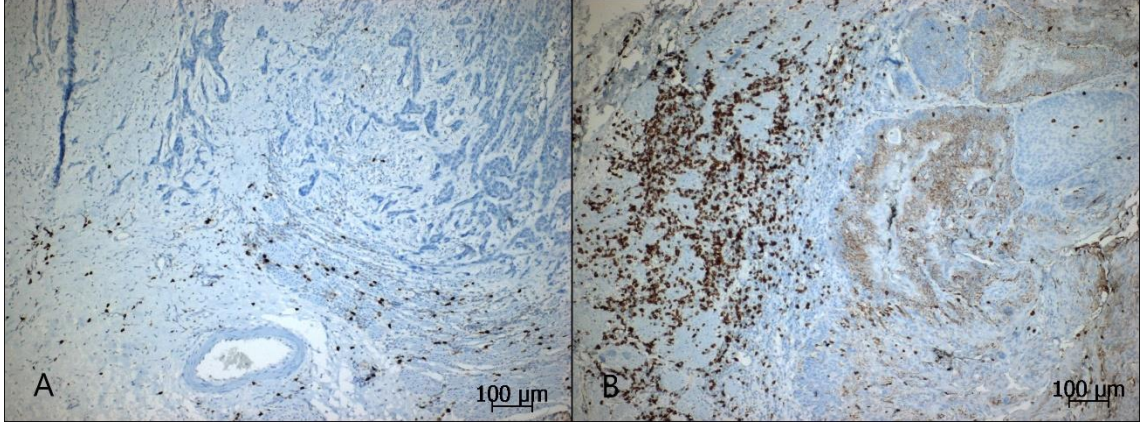
FOXP3 immünohistokimyası ile düzenleyici T lenfositler (Treg) tespit edilmiş olup, nükleer boyanma pozitif olarak değerlendirilmiştir. CD8 immünohistokimyası ile sitotoksik T lenfositler tespit edilmiş olup, sitoplazmik-membranöz boyanma pozitif olarak değerlendirilmiştir. CD4 immünohistokimyası ile T helper lenfositler tespit edilmiş olup sitoplazmik-membranöz boyanma pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Her bir antikor için ortalama lenfosit sayısı, çeşitli çalışmalarda olduğu gibi her vakayı düşük veya yüksek bir grup olarak kategorize etmek için kesme noktası olarak kullanıldı (15, 112, 126, 127)(Şekil 9, 10 ve 11).

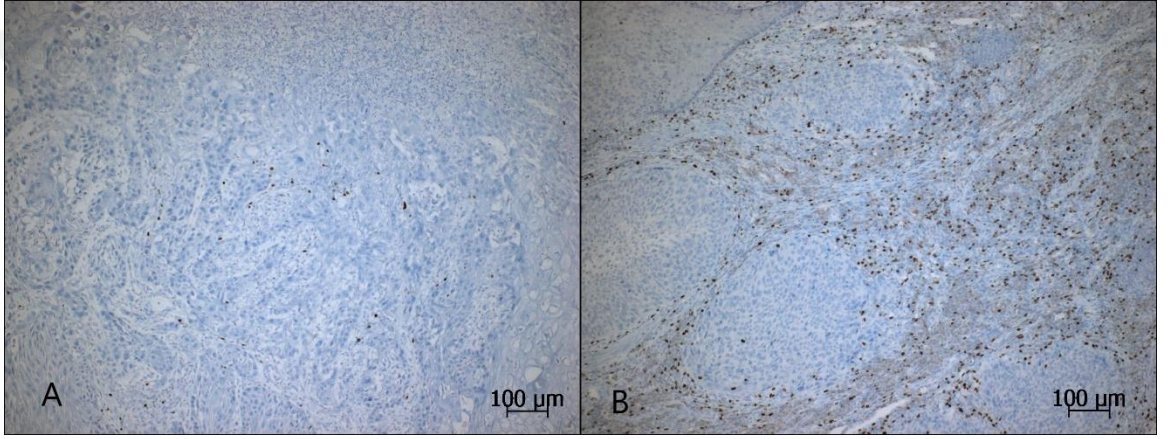
İstatistiksel değerlendirme de bu veriler (FOXP3+ düşük/yüksek, CD4+ düşük/yüksek ve CD8+ düşük/yüksek) ve bu verilerin oranları (CD8/FOXP3, CD4/FOXP3, CD4/CD8) kullanıldı.



Şekil 9. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) CD4+ tümör infiltre edici lenfositler



Şekil 10. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) CD8+ tümör infiltrate edici lenfositler



Şekil 11. Tümör stromasında düşük (A) ve yüksek (B) FOXP3+ tümör infiltrate edici lenfositler

3.7. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz Windows için SPSS 22,0 sürüm yazılım programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, min-max. değerler olarak ifade edildi.

Kategorik verilerin ikili analizinde Ki-kare Testi kullanıldı. Sağkalım analizlerinde ise Kaplan-Meier Analizi ve Survival tabloları kullanıldı.

Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilmiş olup $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Veriler

Çalışmamızda operasyon öncesi neo-adjuvan tedavi almamış, ÖSHK tanısı alan, toplam 75 adet özefajektomi materyali incelendi. Olguların tanı yaşı ortalama $56 \pm 10,055$ (min:33; maks:74)'ti. Olguların %65,3'ünün (n=49) 60 yaş ve altında, %34,7'sinin (n=26) 60 yaş üzerinde olduğu izlendi. Olguların %64'ü (n=48) kadın iken, %36'sı (n=27) erkekti.

Özefajektomi materyallerinin makroskopik incelemesinde ortalama tümör çapı $29,91 \pm 11,605$ mm (min:5 mm; max: 60 mm) idi. Tümör çapı vakaların %90,7'sinde (n=68) 40 mm ve altında iken, %9,3'ünde (n=7) 40 mm'nin üzerindeydi.

Çalışmaya dahil edilen 75 ÖSHK vakasının %22,7'si (n=17) iyi diferansiye, %70,7'si (n=53) orta diferansiye, %6,6'sı (n=5) kötü diferansiye olarak tespit edildi. Histolojik grade açısından olgular iyi+orta diferansiye ve kötü diferansiye olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre vakaların %93,4'ü (n=70) iyi+orta diferansiye, %6,6'sı (n=5) kötü diferansiyeydi.

Olguların %56'sında (n=42) LVİ mevcut iken, %44'ünde (n=33) tespit edilmedi. PNİ olguların %29,3'ünde (n=22) mevcut iken, %70,7'sinde (n=53) tespit edilmedi.

Olguların invazyon derinliği incelendiğinde; %4'ü (n=3) lamina propriaya, %2,7'si (n=2) muskularis mukozaya, %20'si (n=15) submukozaya, %17,3'ü (n=13) muskularis propriaya, %56'sı (n=42) adventisyaya invaze olarak gözlendi. Buna göre tanı anında olguların %6,7'si (n=5) pT1a, %20'si (n=15) pT1b, %17,3'ü (n=13) pT2, %56'sı (n=42) pT3 olarak tespit edildi. İnvazyon derinliği pT1a+pT1b+pT2 (erken evre) ve pT3+pT4a+pT4b (ileri evre) olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre olguların %44'ü (n=33) pT1+pT2 (erken evre) iken, %56'sı (n=42) pT3+pT4 (ileri evre) idi.

Olguların %94,7'sine (n=71) lenf nodu diseksiyonu yapılmış olup, %5,3'üne (n=4) diseksiyon yapılmamıştı. Lenf nodu diseksiyonu yapılan olguların %28,2'sinde (n=20) lenf nodu metastazı saptanırken, %71,8'inde (n=51) saptanmadı. Patolojik lenf nodu metastazı evrelemesine göre lenf nodu diseksiyonu yapılan olguların %71,8'i (n=51) pN0 iken, %16,9'u (n=12) pN1 (1-2 adet lenf nodu metastazı), %9,9'u (n=7) pN2 (3-6 adet lenf nodu metastazı), %1,4'ü (n=1) pN3 (≥ 7 adet lenf nodu metastazı) olarak değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen 75 olgunun 4 tanesinde lenf nodu diseksiyonu yapılmamış olup 71 olgunun patolojik evrelemesi belirlendi. Bu 71 olgunun %1,4'ü (n=1) evre 1A, %22,5'i (n=16) evre 1B, %49,3'ü (n=35) evre 2A, %4,3'ü (n=3) evre 2B, %1,4'ü (n=1) evre 3A, %19,7'si (n=14) evre 3B, %1,4'ü (n=1) evre 4A'ydı.

Çalışmaya dahil edilen 75 olgunun 73 tanesinin takibi ve sağkalım verilerine ulaşıldı. İki tanesinin operasyon sonrası takibine ulaşamadı. Ulaşılabilen 73 olgunun ölüme sebebiyet verebilecek bir hastalığı yoktu. Buna göre %54,8'i (n=40) sağ, %45,2'si (n=33) eks olmuştu. En kısa genel sağkalım 1 ay iken en uzun sağ kalım 150 aydı. Ortalama genel sağkalım süresi $57,75 \pm 39,6$ ay olarak saptandı. Genel sağkalım süresi 12 ay altında %13,7 (n=10) olgu, 12-35 ay arasında %20,55 (n=15) olgu, 36-59 ay arasında %20,55 (n=15), 60 ay ve üstünde %45,2 (n=33) olgu tespit edildi. Olgulara ait demografik ve prognostik veriler Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Olguların Demografik ve Prognostik Verileri

		n (%)
Yaş (yıl)	mean$\pm$sd	
	min-max	
	≤ 60	49 (65,3)
	> 60	26 (34,7)
Cinsiyet		
	Kadın	48 (64)
	Erkek	27 (36)
Tümör Çapı (mm)	mean$\pm$sd	29.91 $\pm$ 11,605
	min-max	5-60

Tablo 5. (Devamı)

	≤40	68 (90,7)
	>40	7 (9,3)
Histolojik Grade		
	İyi Diferansiye (G1)	17 (22,7)
	Orta Diferansiye (G2)	53 (70,7)
	Kötü Diferansiye (G3)	5 (6,6)
	G1+G2	70 (93,4)
	G3	5(6,6)
Lenfovasküler İnvazyon		
	Var	42 (56)
	Yok	33 (44)
Perinöral invazyon		
	Var	22 (29,3)
	Yok	53 (70,7)
İnvazyon Derinliği		
	Lamina propria	3 (4)
	Muskularis mukoza	2 (2,7)
	Submukoza	15 (20)
	Muskularis propria	13 (17,3)
	Adventisya	42 (56)
pT		
	pT1a+pT1b+pT2 (erken evre)	33 (44)
	pT3+pT4a+pT4b (ileri evre)	42 (56)
Lenf Nodu Diseksiyonu		
	Var	71 (94,7)
	Yok	4 (5,3)
Lenf Nodu Metastazı		
	Var	20 (28,2)
	Yok	51 (71,8)
Lenf Nodu Evrelemesi		
	pN0	51 (71,8)
	pN1	12 (16,9)
	pN2	7 (9,9)
	pN3	1 (1,4)
Patolojik Evreleme (pTNM)		
	Evre 1A	1 (1,4)
	Evre 1B	16 (22,5)
	Evre 2A	35 (49,3)
	Evre 2B	3 (4,3)
	Evre 3A	1 (1,4)
	Evre 3B	14 (19,7)
	Evre 4A	1 (1,4)
Sağkalım		
	Sağ	40 (53,3)
	Eks	33 (44)
	Bilinmiyor	2 (2,7)
Sağkalım Süresi (ay)		
	mean±sd	57,75±39,605
	min-max	1-150
	<12	10 (13,7)
	12-35	15 (20,55)
	36-59	15 (20,55)
	≥60	33 (45,2)

4.2. Tümör Tomurcuklanması ve Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler (CD4+, CD8+, FOXP3+) ile İlgili Veriler

TT skorlamasına göre olguların %58,6'sında (n=44) düşük, %26,7'sinde (n=20) orta, %14,7'sinde (n=11) yüksek TT izlendi (Tablo 6). Ayrıca olguların %15'inde (n=11) TT hiç bulunmamaktaydı.

Tablo 6. Olguların Tümör Tomurcuklanması Verileri

Tümör Tomurcuklanması	n (%)
Düşük	44 (58,6)
Orta	20 (26,7)
Yüksek	11 (14,7)

TIL'lerin değerlendirilmesinde CD4+ TIL skoru olguların %56'sında (n=42) düşük, %44'ünde (n=33) yüksek olarak izlendi. CD8+ TIL skoru olguların %76'sında (n=57) düşük, %24'ünde (n=18) yüksek olarak izlendi. FOXP3+ TIL skoru olguların %54,7'sinde (n=41) düşük, %45,3'ünde (n=34) yüksek olarak izlendi. CD4+/CD8+ olguların %53,3'ünde (n=40) düşük, %46,7'sinde (n=35) yüksek, CD8+/FOXP3+ olguların %74,7'sinde (n=56) düşük, %25,3'ünde (n=19) yüksek, FOXP3+/CD4+ olguların %54,7'sinde (n=41) düşük, %45,3'ünde (n=34) yüksek olarak izlendi (Tablo 7).

Tablo 7. Olguların Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlere ait İmmünohistokimyasal Verileri

	n (%)
CD4+ TIL	
Düşük	42 (56)
Yüksek	33 (44)
CD8+ TIL	
Düşük	57 (76)
Yüksek	18 (24)
FOXP3+ TIL	
Düşük	41 (54,7)
Yüksek	34 (45,3)
CD4+/CD8+	
Düşük	40 (53,3)
Yüksek	35 (46,7)
CD8+/FOXP3+	
Düşük	56 (74,7)
Yüksek	19 (25,3)
FOXP3+/CD4+	
Düşük	41 (54,7)
Yüksek	34 (45,3)

4.3. Tümör Tomurcuklanmasının Klinik ve Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi

TT düşük olan olguların %70,5'i (n=31) kadın, %29,5'u (n=13) erkekti. Orta olan olguların %45'i (n=9) kadın, %55'i (n=11) erkekti. Yüksek olan olguların %72,7'si (n=8) kadın, %27,3'ü (n=3) erkekti. Cinsiyet ile TT skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,117) (Tablo 8).

Tablo 8. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Cinsiyet İle İlişkisi

		Cinsiyet		Toplam	P
		Kadın n (% ^a)	Erkek n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	31 (70,5)	13 (29,5)	44 (58,6)	0,117
	Orta	9 (45)	11 (55)	20 (26,7)	
	Yüksek	8 (72,7)	3 (27,3)	11 (14,7)	
Toplam		48 (64)	27 (36)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT düşük olan olguların tanı yaşı %72,7'si (n=32) 60 yaş ve altında, %27,3'ü (n=12) 60 yaş üstündeydi. Orta olan olguların %50'si (n=10) 60 yaş ve altında, %50'si (n=10) 60 yaş üstündeydi. Yüksek olan olguların %63,6'sı (n=7) 60 yaş ve altında, %36,4'ü (n=4) 60 yaş üstündeydi. Tanı yaşı ile TT skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,207) (Tablo 9).

Tablo 9. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tanı Yaşı İle İlişkisi

		Yaş (yıl)		Toplam	P
		≤60 n (% ^a)	>60 n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	32 (72,7)	12 (27,3)	44 (58,6)	0,207
	Orta	10 (50)	10 (50)	20 (26,7)	
	Yüksek	7 (63,6)	4 (36,4)	11 (14,7)	
Toplam		49 (65,3)	26 (34,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT skorlarının tümörün histolojik grade'i ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %97,7'si (n=43) iyi-orta diferansiye iken, %2,3'ü (n=1) kötü diferansiye idi. Ortaolan olguların tamamı (%100, n=20) iyi-orta diferansiye idi. Yüksek olan

olguların %63,6'sı (n=7) iyi-orta diferansiye iken, %36,4'ü (n=4) kötü diferansiye idi. TT skorları ile histolojik grade arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0.001) (Tablo 10). Bu verilere göre kötü histolojik grade yüksek TT skoru ile ilişkili iken, düşük TT skoru ise iyi-orta diferansiyasyon ile ilişkiliydi.

Tablo 10. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Histolojik Grade ile İlişkisi

		Histolojik Grade		Toplam	P
		G1-G2 n (% ^a)	G3 n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	43 (97,7)	1 (2,3)	44 (58,6)	0,001
	Orta	20 (100)	0	20 (26,7)	
	Yüksek	7 (63,6)	4 (36,4)	11 (14,7)	
Toplam		70 (93,3)	5 (6,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square; G1, iyi diferansiye; G2, orta diferansiye; G3, kötü diferansiye

TT skorlarının tümör çapı ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %90,9'unun (n=40) tümör çapı 40 mm ve altında iken, %9,1'inin (n=4) tümör çapı 40 mm'den büyüktü. Orta olan olguların %85'inin (n=17) tümör çapı 40 mm ve altında iken, %15'inin (n=3) tümör çapı 40 mm'den büyüktü. Yüksek olan olguların tamamının (%100, n=11) tümör çapı 40 mm ve altındaydı. TT skorları ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,549) (Tablo 11).

Tablo 11. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tümör Çapı ile İlişkisi

		Tümör Boyutu (mm)		Toplam	P
		≤40 n (% ^a)	>40 n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	40 (90,9)	4 (9,1)	44 (58,6)	0,388
	Orta	17 (85)	3 (15)	20 (26,7)	
	Yüksek	11 (100)	0	11 (14,7)	
Toplam		68 (90,7)	7 (9,3)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT skorlarının tümörde LVİ varlığı ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %47,7'sinde (n=21) LVİ mevcut iken, %52,3'ünde (n=23) izlenmedi. Orta olan olguların %70'inde (n=14) LVİ mevcut iken, %30'unda (n=6) izlenmedi. Yüksek olan olguların %63,6'sında (n=7) LVİ mevcut iken, %36,4'ünde (n=4) izlenmedi. TT

skorları ve LVİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,215$) (Tablo 12).

Tablo 12. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Lenfovasküler İnvazyon İle İlişkisi

		Lenfovasküler İnvazyon		Toplam	P
		Var n (% ^a)	Yok n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	21 (47,7)	23 (52,3)	44 (58,6)	0,215
	Orta	14 (70)	6 (30)	20 (26,7)	
	Yüksek	7 (63,6)	4 (36,4)	11 (14,7)	
Toplam		42 (56)	33 (44)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT skorlarının tümörde PNİ varlığı ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %20,5'inde ($n=9$) PNİ mevcut iken, %79,5'inde ($n=35$) izlenmedi. Orta olan olguların %45'inde ($n=9$) PNİ mevcut iken, %55'inde ($n=11$) izlenmedi. Yüksek olan olguların %36,4'ünde ($n=4$) PNİ mevcut iken, %63,6'sında ($n=7$) izlenmedi. TT skorları ve PNİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,116$) (Tablo 13).

Tablo 13. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Perinöral İnvazyon ile İlişkisi

		Perinöral İnvazyon		Toplam	P
		Var n (% ^a)	Yok n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	9 (20,5)	35 (79,5)	44 (58,6)	0,116
	Orta	9 (45)	11 (55)	20 (26,7)	
	Yüksek	4 (36,4)	7 (63,6)	11 (14,7)	
Toplam		22 (29,3)	53 (70,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT skorlarının tümörün invazyon derinliği ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %6,8'inin ($n=3$) lamina propriaya (LP), %4,5'inin ($n=2$) muskularis mukozaya (MM), %27,3'ünün ($n=12$) submukozaya (SM), %20,5'inin ($n=9$) muskularis propria'ya (MP), %40,9'unun ($n=18$) adventisyaya (A) invaze olduğu izlendi. Orta olan olguların %10'unun ($n=2$) submukozaya, %15'inin ($n=3$) muskularis propriaya, %75'inin ($n=15$) adventisyaya invaze olduğu izlendi. Yüksek olan olguların %9,1'inin ($n=1$) submukozaya, %7,7'sinin ($n=1$) muskularis propriaya, %81,8'inin ($n=9$) adventisyaya invaze olduğu izlendi. TT skorları ve tümör invazyon

derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,250$) (Tablo 14). TT skorlamasının patolojik tümör evresi (pT) gruplarıyla ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların tanı anında %59,1'i ($n=26$) pT1a, pT1b, pT2 evresinde iken, %40,9'u ($n=18$) pT3, pT4a, pT4b evresindeydi. Orta olan olguların tanı anında %25'i ($n=5$) pT1a, pT1b, pT2 evresinde iken, %75'i ($n=15$) pT3, pT4a, pT4b evresindeydi. Yüksek olan olguların tanı anında %18,2'i ($n=2$) pT1a, pT1b, pT2 evresinde iken, %81,8'i ($n=9$) pT3, pT4a, pT4b evresindeydi. pT1a, pT1b, pT2 evresinde olan olguların %78,8'inde ($n=26$) düşük, %15,2'sinde ($n=5$) orta, %6,1'inde ($n=2$) yüksek tümör tomurcuklanması mevcuttu. pT3, pT4a, pT4b evresinde olan olguların %42,9'unda ($n=18$) düşük, %35,7'sinde ($n=15$) orta, %21,4'ünde ($n=9$) yüksek tümör tomurcuklanması mevcuttu. TT skorlaması ile patolojik tümör evre grupları (erken/ileri evre) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,007$) (Tablo 15). Bu verilere göre TT düşük olan olguların patolojik tümör evresinin pT1a, pT1b, pT2 (erken evre) olma oranı TT orta ve yüksek olanlara göre daha yüksek saptandı. Yüksek TT ileri patolojik tümör evresi ile ilişkiliydi.

Tablo 14. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Tümör İnvazyon Derinliği ile İlişkisi

		İnvazyon Derinliği					Toplam	P
		LP n(% ^a)	MM n(% ^a)	SM n(% ^a)	MP n(% ^a)	A n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	3 (6,8)	2 (4,5)	12 (27,3)	9(20,5)	18 (40,9)	44 (58,6)	0,250
	Orta	0	0	2 (10)	3 (15)	15 (75)	20 (26,7)	
	Yüksek	0	0	1 (9,1)	1 (9,1)	9 (81,8)	11 (14,7)	
Toplam		3 (4)	2 (2,7)	15 (20)	13 (17,3)	42 (56)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher's Exact Test; LP, lamina propria; MM, muskularis mukoza; SM, submukoza; MP, muskularis propria; A, adventisya.

Tablo 15. Tümör Tomurcuklanma Skorlarının Patolojik Tümör Evresi ile İlişkisi

		Patolojik Tümör Evresi (pT)		Toplam	P
		pT1a,pT1b,pT2 n (% ^a)	pT3,T4a,pT4b n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	26 (59,1)	18 (40,9)	58,6 (44)	0,007
	Orta	5 (25)	15 (75)	20 (26,7)	
	Yüksek	2 (18,2)	9 (81,8)	11 (14,7)	
Toplam		33 (44)	42 (56)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-Square

TT skorlarının lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %23,3'ünde (n=10) lenf nodu metastazı varken, %76,7'sinde (n=33) metastaz izlenmedi. Orta olan olguların %30'unda (n=6) lenf nodu metastazı varken, %70'inde (n=14) lenf nodu metastazı izlenmedi. Yüksek olan olguların %50'sinde (n=4) lenf nodu metastazı varken, %50'sinde (n=4) metastaz izlenmedi. TT skorları ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,297) (Tablo 16).

Tablo 16. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Lenf Nodu Metastazı İle İlişkisi

		Lenf Nodu Metastazı		Toplam	P
		Var n (% ^a)	Yok n (% ^a)	n (% ^b)	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	10 (23,3)	33 (76,7)	43 (60,5)	0,297
	Orta	6 (30)	14 (70)	20 (28,2)	
	Yüksek	4 (50)	4 (50)	8 (11,3)	
Toplam		20 (28,2)	51 (71,8)	71 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson Chi-square

TT skorlarının patolojik evre ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %2,3'ü (n=1) evre 1A, %30,3'ü (n=13) evre 1B, %46,5'i (n=20) evre 2A, %7'si (n=3) evre 2B, %11,6'sı (n=5) evre 3B, %2,3'ü (n=1) evre 4A iken, TT orta olan olguların %10'u (n=2) evre 1B, %60'ı (n=12) evre 2A, %5'i (n=1) evre 3A, %25'i (n=5) evre 3B, TT yüksek olan olguların %12,5'i (n=1) evre 1B, %37,5'i (n=3) evre 2A, %50'si (n=4) evre 3B idi. TT skorları ve patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,195) (Tablo 17).

Tablo 17. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Patolojik Evre ile İlişkisi

		Patolojik Evre (pTNM)							Toplam	P
		1A n (%) ^a	1B n(%) ^a	2A n(%) ^a	2B n(%) ^a	3A n(%) ^a	3B n(%) ^a	4A n(%) ^a	n (%) ^b	
TT	Düşük	1 (2,3)	13 (30,3)	20(46,5)	3 (7)	0	5(11,6)	1(2,3)	43 (60,5)	0,195
	Orta	0	2 (10)	12 (60)	0	1 (5)	5(25)	0	20 (28,2)	
	Yüksek	0	1 (12,5)	3(37,5)	0	0	4(50)	0	8 (11,3)	
Toplam		1 (1,4)	16 (22,5)	35(49,3)	3 (4,3)	1(1,4)	14(19,7)	1(1,4)	71 (100)	

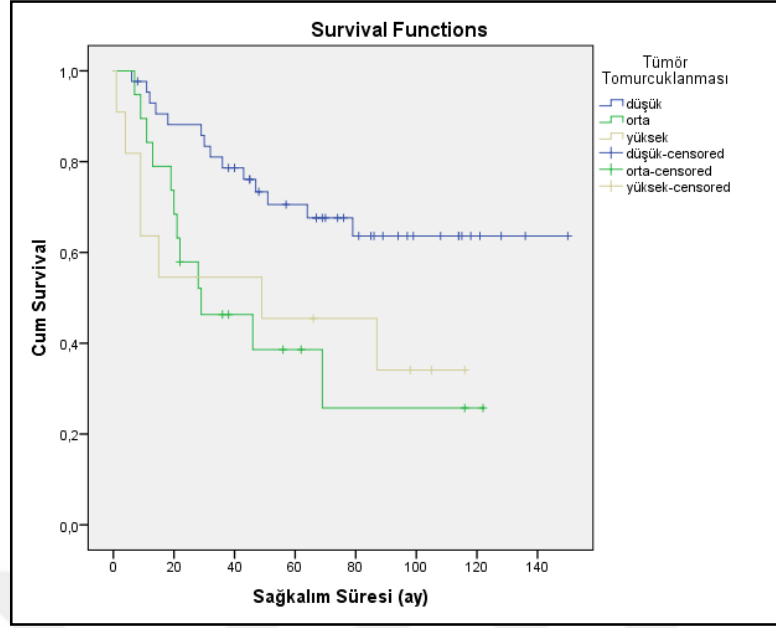
^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher's Exact Test

TT skorlarının sağkalım süreleri ile ilişkisi incelendiğinde TT düşük olan olguların %7'sinin (n=3) sağ kalım süresi 12 ay altında, %14'ünün (n=6) 12-35 ay arasında, %23,2'sinin (n=10) 36-59 ay arasında, %55,8'inin (n=24) 60 ay ve üzerindedir. Orta olan olguların %15,8'inin (n=3) 12 ay altında, %42,1'inin (n=8) 12-35 ay arasında, %21'inin (n=4) 36-59 ay arasında, %21,2'inin (n=4) 60 ay ve üstündedir. Yüksek olan olguların %36,3'ünün (n=4) 12 ay altında, %9,1'inin (n=1) 12-35 ay arasında, %9,1'inin (n=1) 36-59 ay arasında, %45,5'inin (n=5) 60 ay ve üzerindedir. TT skorları ile sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,016) (Tablo 18). TT yüksek olan olguların sağkalım sürelerinin 12 aydan az olma oranı TT düşük olanlara göre daha yüksek, TT orta olan olguların sağkalım sürelerinin 12-35 ay olma oranı TT düşük olanlara göre daha yüksek, TT düşük olan olguların sağkalım sürelerinin 60 ay ve üzerinde olma oranı TT orta olanlara göre daha yüksek saptandı. Ayrıca TT skoru düşük olan olguların sağkalım süreleri orta ve yüksek olanlara göre izlemin her aşamasında yüksek olarak saptandı (Şekil 12).

Tablo 18. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

		Sağkalım Süreleri (ay)				Toplam	P
		<12 n (%) ^a	12-35 n(%) ^a	36-59 n (%) ^a	≥60 n(%) ^a	n (%) ^b	
Tümör Tomurcuklanması	Düşük	7 (3)	6 (14)	10 (23,2)	24 (55,8)	43 (58,9)	0,016
	Orta	3(15,8)	8 (42,1)	4 (21,05)	4 (21,05)	19 (26)	
	Yüksek	4 (36,3)	1 (9,1)	1 (9,1)	5 (45,5)	11 (15,1)	
Toplam		10 (13,7)	15(20,55)	15(20,55)	33 (45,2)	73 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher's Exact Test



Şekil 12. Tümör Tomurcuklanması Skorlarına Göre Sağkalım Grafiği

4.4. Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin (CD4+, CD8+, FOXP3+ ve oranlarının) Klinik ve Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi

CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+ TIL, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile tümör çapı, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

CD4+/CD8+ skorları ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,034$) (Tablo 19). CD4+/CD8+ skoru düşük olan olguların %75'i ($n=30$) kadın iken, %25'i ($n=10$) erkekti. Yüksek olan olguların %37'si ($n=18$) kadın iken, %63'ü ($n=17$) erkekti. Bu sonuçlara göre yüksek düşük CD4+/CD8+ skoru kadın olgularda daha yüksek oranda izlenirken, erkek olgularda daha yüksek oranda yüksek CD4+/CD8+ skoru izlendi. CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+ TIL, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 19. CD4+/CD8+ Skorlarının Cinsiyet ile İlişkisi

		Cinsiyet		Toplam	P
		Kadın n (% ^a)	Erkek n (% ^a)	n (% ^b)	
CD4+/CD8+	Düşük	30 (75)	10 (25)	40 (53,3)	0,034
	Yüksek	18 (37)	17 (63)	35 (46,7)	
Toplam		48 (64)	27 (36)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square

FOXP3+ TIL ve CD8+/FOXP3+ skorları ile tanı yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,04 ve p=0,009) (Tablo 20). FOXP3+ TIL skoru düşük olan olguların %75,6'sı (n=31) 60 yaş ve altında, %24,4'ü (n=10) 60 yaş üzerindeydi. Yüksek olan olguların %53'ü (n=18) 60 yaş ve altında, %47'si (n=16) 60 yaş üzerindeydi. CD8+/FOXP3+ skoru düşük olan olguların %57,1'i (n=32) 60 yaş ve altında, %42,9'u (n=24) 60 yaş üzerindeydi. Yüksek olan olguların %89,5'i (n=17) 60 yaş ve altında, %10,5'i (n=2) 60 yaş üzerindeydi. Bu sonuçlara göre düşük FOXP3+ TIL skoru 60 yaş ve altında olmak ile ilişkiliydi. Ayrıca yüksek CD8+/FOXP3+ oranı 60 yaş ve altında olmak ile ilişkiliydi. CD4+ TIL, CD8+ TIL, CD4+/CD8+, FOXP3+/CD4+ skorları ile tanı yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

Tablo 20. FOXP3+ TIL ve CD8+/FOXP3+ Skorlarının Tanı Yaşı ile İlişkisi

		Yaş (yıl)		Toplam	P
		≤60 n (% ^a)	>60 n (% ^a)	n (% ^b)	
FOXP3+ TIL	Düşük	31 (75,6)	10 (24,4)	41 (54,7)	0,04
	Yüksek	18 (53)	16 (47)	34 (45,3)	
CD8+/FOXP3+	Düşük	32 (57,1)	24 (42,9)	56 (74,7)	0,009
	Yüksek	17(89,5)	2 (10,5)	19 (25,3)	
Toplam		49 (65,3)	26 (34,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square

CD4+ TIL skorları ile histolojik grade arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,04) (Tablo 21). CD4+ TIL skoru düşük olan olguların %88,1'i (n=37) iyi-orta diferansiye iken, %11,9'u (n=5) kötü diferansiye'idi. Yüksek olan olguların tamamı (%100, n=33) iyi-orta diferansiye'di. Sonuçlara göre yüksek CD4+ skoru iyi-orta diferansiye histolojik grade ile ilişkiliydi. Kötü diferansiye olguların tamamı

düşük CD4+ TIL skoruna sahipti. CD8+ TIL, FOXP3+ TIL, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile histolojik grade arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 21. CD4+ TIL Skorlarının Histolojik Grade ile İlişkisi

		Histolojik Grade		Toplam	P
		G1-G2 n (%) ^a	G3 n (%) ^a	n (%) ^b	
CD4+ TIL	Düşük	37 (88,1)	5 (11,9)	42 (56)	0,04
	Yüksek	33 (100)	0	33 (44)	
Toplam		70 (93,3)	5 (6,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square; G1, iyi diferansiye; G2, orta diferansiye; G3, kötü diferansiye

CD4+, FOXP3+ TIL skorları ile invazyon derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,007$, $p=0,030$) (Tablo 22). CD4+ skoru düşük olan olguların %7,1'i (n=3) lamina propriaya, %2,4'ü (n=1) muskularis mukozaya, %7,1'i (n=3) submukozaya, %16,7'si (n=7) muskularis propriaya, %66,7'si (n=28) adventisyaya invaze idi. CD4+ skoru yüksek olan olguların %3'ü (n=1) muskularis mukozaya, %36,4'ü (n=12) submukozaya, %18,2'si (n=6) muskularis propriaya, %42,4'ü (n=14) adventisya'ya invaze idi. Bu sonuçlara göre CD4+ skoru düşük olan olgularda invazyon derinliğinin adventisya olma oranı daha yüksek olarak izlendi. FOXP3+ skoru düşük olan olguların %7,3'ü (n=3) lamina propriaya, %4,9'u (n=2) muskularis mukozaya, %9,8'i (n=4) submukozaya, %14,6'sı (n=6) muskularis propriaya, %63,4'ü (n=26) adventisyaya invaze idi. FOXP3+ TIL skoru yüksek olan olguların %32,4'ü (n=11) submukozaya, %20,6'sı (n=7) muskularis propriaya, %47'si (n=16) adventisyaya invaze idi. Bu sonuçlara göre yüksek FOXP3+ skoru artmış invazyon derinliği ile ilişkiliydi. CD8+ skoru düşük olan olguların %5,3'ü (n=3) lamina propriaya, %17,5'i (n=10) submukozaya, %15,8'i (n=9) muskularis propriaya, %61,4'ü (n=35) adventisyaya invaze idi. CD8+ skoru yüksek olan olguların %11'i (n=2) muskularis mukozaya, %27,8'i (n=5) submukozaya, %22,2'si (n=4) muskularis propriaya, %39'u (n=7) adventisyaya invaze idi. Buna göre düşük CD8+ skoru olan olgularda invazyon derinliğinin adventisya olma oranı daha yüksek olarak izlendi. Ancak bu istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı ($p=0,074$). CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+,

FOXP3+/CD4+ skorları ile invazyon derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 22. CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL Skorlarının İnvazyon Derinliği ile İlişkisi

		İnvazyon Derinliği					Toplam	P
		LP n (%) ^a	MM n (%) ^a	SM n (%) ^a	MP n (%) ^a	A n (%) ^a	n (%) ^b	
CD4+ TIL	Düşük	3 (7,1)	1 (2,4)	3 (7,1)	7 (16,7)	28 (66,7)	42 (56)	0,007
	Yüksek	0	1 (3)	12 (36,4)	6 (18,2)	14 (42,4)	33 (44)	
CD8+ TIL	Düşük	3 (5,3)	0	10 (17,5)	9 (15,8)	35 (61,4)	57 (76)	0,074
	Yüksek	0	2 (11)	5 (27,8)	4 (22,2)	7 (39)	18 (24)	
FOXP3+	Düşük	3 (7,3)	2 (4,9)	4 (9,8)	6 (14,6)	26 (63,4)	41 (54,7)	0,03
	Yüksek	0	0	11 (32,4)	7 (20,6)	16 (47)	34 (45,3)	
Toplam		3 (4)	2 (2,7)	15 (20)	13 (17,3)	42 (56)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi, Fisher's Exact Test; LP: lamina propria, MM: muskularis mukoza, SM: submukoza, MP: muskularis propria, A: adventisya.

CD4+, FOXP3+ TIL skorları ile patolojik tümör evresi (pT) tek tek incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,01$; $p=0,015$). Ancak erken ve ileri evre grupları oluşturulduğunda bu istatistiksel anlamlı ilişki CD4+ TIL skorlarıyla elde edildi ($p=0,036$) (Tablo 23). CD4+ skoru düşük olan olguların patolojik tümör evreleri incelendiğinde %33,3'ü ($n=14$) pT1a, pT1b, pT2 iken %66,7'si ($n=28$) pT3, pT4a, pT4b'idi. CD4+ skoru yüksek olan olguların patolojik tümör evreleri incelendiğinde %57,6'sı ($n=19$) pT1a, pT1b, pT2 iken %42,4'ü ($n=14$) pT3, pT4a, pT4b'idi. Bu sonuçlara göre düşük CD4+ skoru ileri evre ile ilişkili iken yüksek CD4+ skoru erken evre ile ilişkiliydi. FOXP3+, CD8+, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile patolojik tümör evre grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$). CD8+ skoru düşük olan olguların patolojik tümör evreleri incelendiğinde %38,6'sı ($n=22$) pT1a, pT1b, pT2 iken %61,4'ü ($n=35$) pT3, pT4a, pT4b'idi. CD8+ skoru yüksek olan olguların patolojik tümör evreleri incelendiğinde %61,1'i ($n=11$) pT1a, pT1b, pT2 iken %38,9'u ($n=7$) pT3, pT4a, pT4b idi. CD8+ TIL skorları ve patolojik tümör evresi gruplarıyla istatistiksel anlamlı sonuç saptanmadı ($p=0,093$). Ancak oransal olarak bakıldığında düşük CD8+ TIL skoru ileri evre, yüksek CD8+ TIL skoru ise erken evre ile ilişkiliydi (Tablo 23).

Tablo 23. CD4+,CD8+, FOXP3+ TIL Skorlarının Patolojik Tümör Evre Grupları ile İlişkisi

		Patolojik Tümör Evresi (pT)		Toplam	P
		pT1a,pT1b,pT2 n (% ^a)	pT3,T4a,pT4b n (% ^a)	n (% ^b)	
CD4+ TIL	Düşük	14 (33,3)	28 (66,7)	42 (56)	0,036
	Yüksek	19 (57,6)	14 (42,4)	33 (44)	
CD8+ TIL	Düşük	22 (38,6)	35 (61,4)	57 (76)	0,093
	Yüksek	11 (61,1)	7 (38,9)	18 (24)	
FOXP3+ TIL	Düşük	15 (36,6)	26 (63,4)	41 (54,7)	0,155
	Yüksek	18 (53)	16 (47)	34 (45,3)	
Toplam		33 (44)	42 (56)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher Exact Test

FOXP3+ TIL skoru ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,013). FOXP3+ TIL skorlarının lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı ile ilişkisi incelendiğinde FOXP3+ düşük olan olguların %15,8'inde (n=6) lenf nodu metastazı varken, %84,2'sinde (n=32) metastaz izlenmedi. Yüksek olan olguların %42,4'ünde (n=14) lenf nodu metastazı varken, %57,6'sında (n=19) metastaz izlenmedi (Tablo 24). Bu sonuçlara göre düşük FOXP3+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda lenf nodu metastazı izlenmedi. Lenf nodu metastazı saptanan olgularda ise daha yüksek oranda yüksek FOXP3+ skoru tespit edildi. CD4+, CD8+, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile lenf nodu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05).

Tablo 24. FOXP3+ TIL Skorlarının Lenf Nodu Metastazı İle İlişkisi

		Lenf Nodu Metastazı		Toplam	P
		Var n (% ^a)	Yok n (% ^a)	n (% ^b)	
FOXP3+	Düşük	6 (15,8)	32 (84,2)	38 (53,5)	0,013
	Yüksek	14 (42,4)	19 (57,6)	33 (46,5)	
Toplam		20 (28,2)	51 (71,8)	71 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square

CD4+ skorlarının patolojik evre ile ilişkisi incelendiğinde CD4+ TIL skoru düşük olan olguların %2,6'sı (n=1) evre 1A, %12,8'i (n=5) evre 1B, %53,8'i (n=21) evre 2A, %2,6'sı (n=1) evre 2B, %28,2'si (n=11) evre 3B iken, CD4+ TIL skoru yüksek olan olguların %34,4'ü (n=11) evre 1B, %43,8'i (n=14) evre 2A, %6,2'si (n=2) evre 2B, %3,1'i (n=1) evre 3A, %9,4'ü (n=3) evre 3B, %3,1'i (n=1) evre 4A' idi. CD4+ TIL

skorları ve patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,036$) (Tablo 25). Bu sonuçlara göre CD4+ skoru yüksek olan olgular erken patolojik evre ile ilişkililiydi. FOXP3+ skorlarının patolojik evre ile ilişkisi incelendiğinde FOXP3+ TIL skoru düşük olan olguların %2,6'sı ($n=1$) evre 1A, %21,1'i ($n=8$) evre 1B, %63,2'si ($n=24$) evre 2A, %2,6'sı ($n=1$) evre 2B, %10,5'i ($n=4$) evre 3B iken, FOXP3+ TIL skoru yüksek olan olguların %24,3'ü ($n=8$) evre 1B, %33,3'ü ($n=11$) evre 2A, %6,1'i ($n=2$) evre 2B, %3'ü ($n=1$) evre 3A, %30,3'ü ($n=10$) evre 3B, %3'ü ($n=1$) evre 4A idi. FOXP3+ TIL skorları ve patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,045$) (Tablo 25). Bu sonuçlara göre FOXP3+ skoru düşük olan olgular erken patolojik evre ile ilişkililiydi. CD8+ TIL, CD4+/CD8+, FOXP3+/CD4+, CD8+/FOXP3+ skorları ile patolojik evre arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 25. CD4+ ve FOXP3+ TIL Skorlarının Patolojik Evre ile İlişkisi

		Patolojik Evre (pTNM)							Toplam	P
		1A n (%) ^a	1B n (%) ^a	2A n (%) ^a	2B n (%) ^a	3A n (%) ^a	3B n (%) ^a	4A n (%) ^a	n (%) ^b	
CD4+	Düşük	1 (2,6)	5 (12,8)	21 (53,8)	1 (2,6)	0	11 (28,2)	0	39 (55)	0,036
	Yüksek	0	11 (34,4)	14 (43,8)	2 (6,2)	1 (3,1)	3 (9,4)	1 (3,1)	32 (45)	
FOXP3+	Düşük	1 (2,6)	8 (21,1)	24 (63,2)	1 (2,6)	0	4 (10,5)	0	38 (53,5)	0,045
	Yüksek	0	8 (24,3)	11 (33,3)	2 (6,1)	1 (3)	10 (30,3)	1 (3)	33 (46,5)	
Toplam		1 (1,4)	16 (22,5)	35 (49,3)	3 (4,3)	1 (1,4)	14 (19,7)	1 (1,4)	71 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher's Exact Test

FOXP3+/CD4+ skorlarının sağkalım süreleri ile ilişkisi incelendiğinde FOXP3+/CD4+ düşük olan olguların %10,3'ünün ($n=4$) sağ kalım süresi 12 ay altında, %33,3'ünün ($n=13$) 12-35 ay arasında, %15,4'ünün ($n=6$) 36-59 ay arasında, %41'inin ($n=16$) 60 ay ve üzerindeydi. Yüksek olan olguların %17,6'sının ($n=6$) 12 ay altında, %5,9'unun ($n=2$) 12-35 ay arasında, %26,5'inin ($n=9$) 36-59 ay arasında, %50'sinin ($n=17$) 60 ay ve üzerindeydi. FOXP3+/CD4+ skorları ile sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,028$) (Tablo 26). CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL ve CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+ skorları ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 26. FOXP3+/CD4+ Skorlarının Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

		Sağkalım Süreleri(ay)				Toplam	P
		<12 n (% ^a)	12-35 n(% ^a)	36-59 n (% ^a)	≥60 n(% ^a)	n (% ^b)	
FOXP3+/CD4+	Düşük	4 (10,3)	13 (33,3)	6 (15,4)	16 (41)	39 (53,4)	0,028
	Yüksek	6 (17,6)	2 (5,9)	9 (26,5)	17 (50)	34 (46,6)	
Toplam		10 (13,7)	15(20,55)	15 (20,55)	33 (45,2)	73 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Fisher's Exact Test

4.5. Tümör Tomurcuklanmasının Tümör İnfiltrat Edici Lenfositler (CD4+, CD8+, FOXP3+ ve Oranları) ile İlişkisi

TT skoru ile CD4+ skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,041) (Tablo 23). CD4+ skoru düşük olan olguların %52,4'ünde (n=22) düşük TT skoru, %23,8'inde (n=10) orta TT skoru, %23,8'inde (n=10) yüksek TT skoru mevcuttu. CD4+ skoru yüksek olan olguların %66,7'sinde (n=22) düşük TT skoru, %30,3'ünde (n=10) orta TT skoru, %3'ünde (n=1) yüksek TT skoru mevcuttu. Bu sonuçlara göre yüksek CD4+ TIL skoru düşük TT skoru ile ilişkiliydi. TT skorları ile CD8+, FOXP3+ TIL skorları ve CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05) (Tablo 27).

Tablo 27. Tümör Tomurcuklanması Skorlarının CD4+, CD8+, FOXP3+ ve Oranları İle İlişkisi

		Tümör Tomurcuklanması			Toplam	P
		Düşük n (% ^a)	Orta n (% ^a)	Yüksek n (% ^a)	n (% ^b)	
CD4+	Düşük	22 (52,4)	10 (23,8)	10 (23,8)	42 (52)	0,041
	Yüksek	22 (66,7)	10 (30,3)	1 (3)	33 (48)	
CD8+	Düşük	30 (52,6)	31,6 (18)	9 (15,8)	57 (76)	0,148
	Yüksek	14 (77,8)	2 (11,1)	2 (11,1)	18 (24)	
FOXP3+	Düşük	23 (56,1)	10 (24,4)	8 (19,5)	41 (54,7)	0,422
	Yüksek	21 (61,8)	10 (29,4)	3 (8,8)	34 (45,3)	
CD4/CD8	Düşük	25 (62,5)	7 (17,5)	8 (20)	40 (53,3)	0,101
	Yüksek	19 (54,3)	13 (37,1)	3 (8,6)	35 (46,7)	
CD8/FOXP3	Düşük	57,1 (32)	17 (30,4)	7 (12,5)	56 (74,7)	0,382
	Yüksek	12 (63,2)	3 (15,8)	4 (21)	19 (25,3)	
FOXP3/CD4	Düşük	22 (53,6)	12 (29,3)	7 (17,1)	41 (54,7)	0,615
	Yüksek	22 (64,7)	8 (23,5)	4 (11,8)	34 (45,3)	
Toplam		44 (58,6)	20 (26,7)	11 (14,7)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi square

4.6. Tümör İnfiltrate Edici Lenfositlerin (CD4+, CD8+, FOXP3+) Birbirleri ile İlişkisi

CD8+ TIL skorları düşük olan olguların %63,2'sinin (n=36) CD4+ TIL skoru düşük iken, %36,8'inin (n=21) yüksekti. Yüksek olan olguların ise %33,3'ünün (n=6) CD8+ TIL skoru düşük iken, %66,7'sinin (n=12) yüksekti. CD8+ TIL skorları ile CD4+ TIL skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,026). CD4+ TIL oranı düşük olan olgularda CD8+ TIL oranının da düşük olduğu, yüksek olan olgularda ise CD8+ TIL oranının da yüksek olduğu izlendi (Tablo 28). FOXP3+ TIL skorları düşük olan olguların %85,4'ünün (n=35) CD8+ TIL skoru düşük iken, %14,6'sının (n=6) yüksekti. Yüksek olan olguların ise %64,7'sinin (n=22) CD8+ TIL skoru düşük iken, %35,3'ünün (n=12) yüksekti. CD8+ TIL skorları ile FOXP3+ TIL skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,037). FOXP3+ TIL skoru yüksek olan olgularda CD8+ TIL skorunun düşük olduğu izlendi (Tablo 29). FOXP3+ TIL skoru ile CD4+ TIL skoru arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı (p>0,05).

Tablo 28. CD8+ TIL Skorlarının CD4+ TIL Skorları ile İlişkisi

		CD4+		Toplam	P
		Düşük n (% ^a)	Yüksek n (% ^a)	n (% ^b)	
CD8+	Düşük	36 (63,2)	21 (36,8)	57 (76)	0,026
	Yüksek	6 (33,3)	12 (66,7)	18 (24)	
Toplam		42 (56)	33 (44)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square

Tablo 29. FOXP3+ TIL Skorlarının CD8+ TIL Skorları ile İlişkisi

		CD8+		Toplam	P
		Düşük n (% ^a)	Yüksek n (% ^a)	n (% ^b)	
FOXP3+	Düşük	35 (85,4)	6 (14,6)	41 (54,7)	0,037
	Yüksek	22 (64,7)	12 (35,3)	34 (45,3)	
Toplam		57 (76)	18 (24)	75 (100)	

^a satır yüzdesi, ^b sütun yüzdesi; Pearson chi-square

5.TARTIŞMA

Dünyada en sık tanı alan kanser sıralamasına göre ÖK, her iki cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde yedinci kanserdir ve kansere bağlı ölümlerde altıncı sıradadır (1). Farklı etyolojik ve epidemiyolojik faktörlere bağlı olarak bazı bölgelerde daha sık görülmektedir. İnsidansın arttığı bu bölgelerde mortalite ve morbidite de artabilmektedir (128). Gelişen yeni tanı modalitelerine rağmen ÖSHK'ları anatomik özellikleri nedeniyle klinik olarak ileri evrede saptandığından ve heterojenliğin bir sonucu olarak kemoterapiye dirençli seyretmesi nedeniyle kötü sağkalım sonuçları göstermektedir (2,7). Dünya genelinde, ÖSHK hem erkek hem de kadın hastalarda en çok görülen ortak alt tip olup, tüm özefagus kanserlerinin %85'ini oluşturmaktadır. SHK'da sağkalım beşinci yılda %20,1'dir (5, 7). ÖK, tedavisindeki son gelişmelere rağmen kötü prognoz göstermeye devam etmektedir. Ayrıca aynı evrede olan olgularda dahi prognozu farklılık göstermektedir. Son yıllarda çalışmalar bu farklılıkların nedenlerini ve özellikle ileri evre vakalarda yeni tedavi stratejilerini belirlemeye yönelmiştir. Umut verici yeni yollar; aşılama, immün kontrol noktası inhibisyonu, adaptif T hücre tedavisi dahil olmak üzere kanser immünoterapisini içermektedir. İmmünoterapi sonuçları da olguya göre değişiklik göstermektedir. Bu sebeple tedaviye yanıtın öngörücüsü olacak güvenilir prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır ve buna yönelik preklinik-klinik çalışmalar devam etmektedir (10, 11).

Mevcut retrospektif çalışmamızda araştırdığımız TT ve TIL biyobelirteçlerinin prognostik faktörler ile ilişkili olduğunu ve birbirleri ile ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (108, 112, 129, 130, 131, 132). Ancak ÖSHK ile ilgili bu çalışmalar sınırlı sayıda olup, birbirinden farklı sonuçlar içermektedir (20, 21, 22).

Çalışmamızda neo-adjuvan tedavi almadan opere edilen ve ÖSHK tanısı alan 75 olguya ait özefajektomi materyalinde TT, CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+TIL ve oranlarının skorları ile olgulara ait cinsiyet, yaş, histolojik grade, tümör çapı, invazyon derinliği, LVİ, PNI, patolojik evre, lenf nodu metastazı, sağkalım gibi demografik ve histopatolojik veriler arasındaki ilişki yanı sıra TT ve TIL alt tipleri arasındaki ilişki incelendi.

İnvazyon şeklinin özel bir hali tümör tomurcuklanmasıdır. Yayılma ve metastaz yapma potansiyeline sahip agresif bir tümörün histolojik görüntüsünü temsil eder. Diğer organ tümörlerinde yapılan birçok çalışma TT'nın uzak metastatik hastalığın, lenf nodu metastazının, nüksün ve kötü sağkalımın tanıdan bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir (93, 94). TT en çok kolorektal kanserlerde çalışılmış olup 2016 yılında ITBCC'de olumsuz bir prognostik değer olarak kabul edilmiş, 2017 yılında CAP kolorektal karsinom raporlama protokolünde raporlanması gereken parametreler arasında yer almıştır (12, 100) .

Özefagusta TT ilk olarak 2004'te Roh ve ark. tarafından SHK'larda bildirilmiştir (133). Çalışmalarında neo-adjuvan tedavi almamış 76 olguya ait özefajektomi materyallerinde TT'nı izole edilmiş tek bir kanser hücresi ve invaziv frontal lezyondaki büyük bir kanser yuvasından tomurcuklanmış gibi görünen beşten az farklılaşmamış kanser hücresinden oluşan bir küme olarak tanımlamışlardır. Tümör penetrasyonunun en derin olduğu H&E boyalı lam seçilerek 20x objektifte TT'nı sayarak; düşük dereceli (<5 tomurcuklanan odak/alan) ve yüksek dereceli (≥ 5 tomurcuklanan odak/alan) olarak iki gruba ayırmışlardır. Sonuç olarak düşük ve yüksek TT ile tümör çapı, patolojik evre, LVİ ve PNI varlığı arasında anlamlı ilişki izlemişler, yüksek TT varlığının düşük sağkalım ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (133). ÖSHK'da TT prognostik öneme sahip olduğu bildirilmesi nedeniyle özellikle son dekadda araştırmacıların çalıştığı bir konu olmuştur. Ancak henüz özefagus için standart değerlendirme kriterleri mevcut olmayıp, CAP özefagus karsinom raporlama protokolünde raporlanması gereken prognostik faktörler arasında yer almamaktadır (130).

ÖSHK'lar için TT'nı Nakagawa ve ark. yaptığı çalışmada invaziv sınırdaki tek izole tümör hücreleri veya <5 hücreden oluşan kümeler olarak tanımlanmış, hot-spot bir alanda 20x objektif ile sayılarak düşük (<5 adet) ve yüksek (≥ 5 adet) olarak skorlamıştır (103). Bu yöntem çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır (123, 134). Teramoto ve ark. yaptığı çalışmada benzer yöntem kullanılarak sayılmış ancak skorlama <3 adet düşük, ≥ 3 adet yüksek şeklinde yapılmıştır (135). Yine bu yöntemde farklı çalışmalarda uygulanmıştır (20). Bazı çalışmalar benzer şekilde sayım yaparak TT var ya da yok olarak skorlarken (136, 137), bazı çalışmalarda ise hot-spot alanların olduğu

10 BBA sayılarak <15 adet (düşük) ve ≥ 15 adet (yüksek) olarak skorlanmıştır (13, 14). TT değerlendirilmesinde farklı eşik değerler ve yöntemler kullanılmış olup, biz çalışmamızda ITBCC'nin kolorektal kanser için oluşturduğu sisteme göre değerlendirme yaptık (12).

Nakagawa ve ark. yaptığı çalışmada operasyon öncesi neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanısı alan 55 olguda TT ve e-cadherin ekspresyonunu prognostik parametrelerle karşılaştırmıştır. Olguların yaşı 43-77 arasında değişmekte olup ortalama yaş 62,3 saptanmıştır. Yaş ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (103). Yine Koike ve ark., Brown ve ark. yaptığı benzer çalışmalarda yaş ile TT arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (123, 138). Çalışmamızda olgular 33-74 yaş arasında olup ortalama tanı yaşı $56 \pm 10,055$ olarak saptandı ve olguların %65,3'ü 60 yaş ve altında, %34,7'si 60 yaş üzerindeydi. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak yaş ile TT arasında anlamlı ilişki saptanmadı. ÖSHK'lar dünya genelinde ortalama 65 yaşında pik yapmaktadır (6). Dünya geneline ve yapılan çalışmalara göre bölgemizde ÖSHK daha genç bir popülasyonda görülmekteydi. Bu durumun çalışmamızın yapıldığı merkezin, insidansın arttığı bir bölgede bulunmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Nakanishi ve ark. yaptığı çalışmada ÖSHK tanısı alan 82 olguda TT ile klinikopatolojik faktörler arasındaki korelasyonları ve bunların postoperatif prognoz üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Olgularının %12,2'si kadın, %87,8'i erkekti. Çalışmalarında cinsiyet ile TT arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (139). Buna benzer diğer çalışmalarda da cinsiyet ile TT arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (20, 136). Çalışmamızda olguların %64'ü kadın iken, %36'sı erkekti. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak cinsiyet ile TT arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Dünya GLOBOCAN verilerine göre dünya genelinde ÖSHK erkek cinsiyette 2-4 kat daha sık görülmektedir (1). İnsidansın arttığı bölgelerde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak kadın popülasyonundaki artış bizim çalışmamızda da gözlemlendi (140).

Teramoto ve ark. yaptığı bir çalışmada operasyon öncesi neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanısı alan 79 adet olguda TT'nın histopatolojik parametrelerle ilişkisi ve prognostik değeri araştırılmıştır. Bu çalışmada olguların histolojik derecesi

incelendiğinde düşük TT gösteren vakaların %92'si iyi ve orta diferansiye, %8'i kötü diferansiye iken, yüksek TT gösteren vakaların %76'sı iyi ve orta diferansiye iken, %24'ü kötü diferansiye olarak belirlenmiştir. TT skorları ile histolojik grade arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bildirmişlerdir (135). Yine 69 olgudan oluşan Brown ve ark. yaptığı çalışmada histolojik grade iyi, orta, kötü diferansiye olarak ele alınmış yüksek TT kötü diferansiyasyon ile ilişkilendirilmiştir (138). Bu çalışmaların aksine Niwa ve ark. yaptığı 78 olgudan oluşan histolojik grade iyi/orta ve kötü olarak ve Koike ve ark. yaptığı 136 olgudan oluşan çalışmada histolojik grade iyi, orta, kötü diferansiye olarak gruplandırılmış, TT ile arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (20, 123). Bizim çalışmamızda ise iyi ve orta diferansiye tümörlerin %61,4'ünde düşük, %28,6'sında orta, %10'unda yüksek tümör tomurcuklanması mevcuttu. Kötü diferansiye tümörlerin ise %20'sinde düşük, %80'inde yüksek tümör tomurcuklanması mevcuttu. Yüksek TT skoru kötü histolojik grade ile ilişkiliydi. Çalışmamızda literatürün bir kısmı ile uyumlu olarak histolojik grade ile TT arasında istatistiksel olarak da anlamlı ilişki saptandı. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar, araştırmaya dahil edilen olguların histolojik grade dağılımında ki farklılıktan kaynaklanabilir.

Koike ve ark. yaptığı ÖSHK tanısı alan 136 olgudan oluşan çalışmada tümör çapı 40 mm ve altında olan olguların %49'unda yüksek TT izlenirken, %51'inde düşük TT izlenmiştir. Tümör çapı 40 mm üzerinde olan olguların %75'inde yüksek TT izlenirken, %15'inde düşük TT izlenmiştir. Buna göre yüksek TT daha büyük tümör çapı ile ilişkili olarak bildirilmiştir (123). Teramoto ve ark. yaptığı benzer bir çalışmada ise yine tümör çapı için eşik 40 mm alınmış ancak TT ile anlamlı ilişki izlememişlerdir (135). Nakanishi ve ark. yaptığı çalışmada ise eşik ortalama tümör çapı alınmış TT ile anlamlı ilişki saptanmıştır ve yüksek TT daha büyük tümör çapı ile ilişkilidir (139). Brown ve ark. yaptığı çalışmada ise tümör çapı eşik değeri 35 mm alınmış TT ile anlamlı ilişki saptanmamıştır (138). Bizim çalışmamızda ise tümör çapı için eşik değeri 40 mm kabul edildi ve düşük TT saptanan olgularımızda daha yüksek oranda (%90,4) 40 mm ve altında tümör çapı saptandı. Ancak bilimsel yazının bir kısmı ile uyumlu olarak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Bu durumun 40 mm ve üzerinde tümör çapına sahip olgularımızın sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Roh ve ark. yaptığı 56 olgudan oluşan çalışmada TT yüksek olan olguların %86,4'ünde LVİ izlenirken, düşük olan olguların %3'ünde LVİ tespit etmişlerdir. Düşük ve yüksek TT olan olgularda LVİ varlığı yüzdesinde önemli farklılıklar saptanmıştı (133). Niwa ve ark. yaptığı çalışmada lenfatik invazyon ile TT arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanırken, venöz invazyon ile saptanmamıştır (20). İto ve ark. yaptığı 87 olgudan oluşan çalışmada lenfovasküler invazyon ve TT varlığı arasında anlamlı istatistiksel ilişki izlenmemişlerdir (136). Bizim çalışmamızda ise TT skorları ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmedi. Literatürde çalışmalar düşük-yüksek skor (eşik değer 5) olarak ikili derecelendirme kullanmıştır. Çalışmamızda ise TT skorlaması için üçlü sistemi (düşük-orta-yüksek) kullandık. İkili sisteme göre değerlendirildiğinde ise bizim çalışmamızda da TT orta-yüksek olan grupta lenfovasküler invazyon görülme oranı %68 ile, TT düşük olan gruptan daha yüksek oranda tespit edildi. Buna göre yüksek (orta-yüksek) TT skoru lenfovasküler invazyon ile ilişkiliydi. Bu yüzden LVİ ile ilgili farklı sonuçlar TT değerlendirmedeki ve skorlamadaki farklılıklardan kaynaklanabilir.

Literatürde tespit edilen özefajektomi yapılan ÖSHK tanısı alan olgular ile yapılan 12 çalışmadan birinde PNİ ve TT ilişkisi incelenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ve yüksek TT artmış PNİ ile ilişkilendirilmiştir (133). Bizim çalışmamızda ise TT skorları ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Literatürde PNİ ve TT ilişkisini karşılaştıran ÖSHK tanılı olgulardan oluşan bir başka çalışma tespit edilmediğinden karşılaştırma yapılamadı.

Bilimsel yazında ÖSHK tanılı özefajektomilerle yapılan 12 adet çalışmanın birinde TT ile lenf nodu ilişkisi incelenmemişken, ikisinde anlamlı ilişki tespit edilmemiştir (20, 133, 134). Diğer çalışmalarda ise yüksek TT ya da TT varlığının lenf nodu metastazı varlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Min ve ark. yaptığı neoadjuvan tedavi almamış, yüzeyel (pT1a ve pT1b) ÖSHK tanısı alan 501 olgudan oluşan çalışmada lenf nodu metastaz durumunu incelemişlerdir. Bu çalışmada TT tespit edilmeyen olguların %79'unda lenf nodu metastazı izlenmezken, %21'inde mevcut saptanmıştı. TT tespit edilen vakaların ise %51,2'sinde lenf nodu metastazı izlenmezken, %48,8'inde lenf nodu metastazı mevcut saptanmıştı. Bu sonuçlar TT varlığı lenf nodu metastaz tahmini için sınırdan önem göstermiştir (137). Mitobe ve

ark. ve Nagakawa ve ark. yaptığı benzer çalışmalarda ise TT varlığı ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmiştir. Ancak her iki çalışmada da TT varlığı lenf nodu metastazı için bağımsız risk faktörü olarak gösterilememiştir (103, 141). Bizim çalışmamızda ise 71 olguda lenf nodu diseksiyonu yapılmış olup, oransal olarak incelendiğinde düşük TT'na sahip olguların %76,7'sinde lenf nodu metastazı tespit edilmedi. Ancak bu istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı.

Brown ve ark. yaptığı 356 olgudan (287 olgu ÖAK ve 69 olgu ÖSHK) oluşan çalışmasında invazyon derinliği ile TT arasında anlamlı ilişki bildirmişler ve yüksek TT'nı artmış invazyon derinliği ile ilişkilendirmişlerdir (138). Yine literatürde Li ve ark. yaptığı 265 olgudan oluşan ve Jesinghaus ve ark. yaptığı 135 olgudan oluşan çalışmalarında benzer sonucu elde etmişlerdir (13, 14). Bizim çalışmamızda ise yüksek TT sahip olguların %81,8'i adventisyaya invaze, düşük TT sahip olguların %40,9'u adventisyaya invaze idi. Ancak bu istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Bu durumun vakaların %56'sında adventisya invazyonu görülmesi ve daha yüzeysel invazyon derinliğine sahip olguların sayısının nispeten az olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Daha geniş olgu serilerinde bu durum yeniden değerlendirilebilir.

Niwa ve ark. yaptığı operasyon öncesi neoadjuvan tedavi almamış, ÖSHK tanısı alan özefajektomi materyallerinden oluşan 78 olguya ait çalışmada patolojik tümör evresi pT1, pT2 (erken tümör evresi) ve pT3, pT4 (ileri tümör evresi) olarak iki gruba ayırmıştır. Buna göre düşük TT izlenen 30 olgunun %47'si erken evre grubundayken, %53'ü ileri evre grubunda, yüksek TT izlenen olguların %25'i erken tümör evresi grubundayken, %75'i ileri tümör evresi grubunda saptanmıştır. TT skoru ile patolojik tümör evresi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,048$). Yüksek TT'nın ileri patolojik tümör evresi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (20). Bizim çalışmamızda da patolojik tümör evresi erken ve ileri tümör evresi olarak iki gruba ayrıldığında olguların %44'ü pT1, pT2 iken, %56'sı pT3, pT4 idi. Düşük TT izlenen olguların %40,9'u ileri evredeyken, yüksek TT izlenen olguların %81,8'i ileri evredeydi. Bilimsel yazın ile uyumlu olarak çalışmamızda yüksek TT skorunun ileri evre ile ilişkili olduğu saptandı. TT'nin bu açıdan prognozu tahmin etmede yararlı bir belirteç olabileceği düşünüldü.

Nagakawa ve ark. yaptığı çalışmada evre AJCC kanser evreleme kılavuzu 6. Baskı evrelemesine göre değerlendirilmiştir. İleri evrenin yüksek TT skoruyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (103). Yine patolojik evre değerlendirilmesi yapılan çalışmalarda evreleme sistemi farklı baskılara göre yapılsada yüksek TT ileri evreyle ilişkilendirilmiştir (13, 123). Çalışmamızda ise düşük TT izlenen olguların %30,3'ü 1B, %46,5'i 2A evresindeydi, yüksek TT izlenen olguların %50'si ise 3B evresindeydi. Oransal olarak bakıldığında düşük TT erken evre, yüksek TT daha ileri evre ile ilişkilirdi. Olgularımızın sayısal çoğunluğu (%49,3) 2A evresinde olup, 2A evresi içerisinde %57'si düşük TT, %34'ü orta TT, %9'u yüksek TT skoruna sahipti. Ancak sonuçlarımız literatürden farklı olarak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Bu durumun olguların dağılımıyla ilgili olduğu düşünüldü.

Roh ve ark. yaptığı ÖSHK tanılı neoadjuvan tedavi almamış 56 olgudan oluşan çalışmalarında hastaların %60,7'si sağ iken, %39,3'ü eks olmuştu. En kısa genel sağkalım süresi 1 ay iken en uzun sağ kalım süresi 92 ay, ortalama sağkalım süresi 36 ay olarak saptanmıştır. Düşük TT skoruna sahip hastaların 3 yıllık sağkalım oranı %72,3 iken yüksek TT olan olguların %30,7 olarak saptanmıştı. Yüksek TT olan hastaların, düşük TT olanlara göre önemli ölçüde daha kısa hayatta kalma sürelerine sahip olduğunu belirtmişlerdir (133). Jesinghaus ve ark. yaptığı ÖSHK tanılı neoadjuvan tedavi almamış 135 olgudan oluşan çalışmada hastaların %63,7'si eks olmuş, %36,3'ü sağ olarak saptanmıştı. TT skorları ile hem genel sağkalım hem de hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. TT bağımsız ortalama hastalıksız sağkalım 118,4 ay iken, yüksek TT olan olgularda 32,2 ay ve düşük TT olan olgularda 63,8 ay olarak saptanmıştır (13). Li ve ark. yaptığı ÖSHK tanılı neoadjuvan tedavi almamış 265 olgudan oluşan çalışmada 252 hastanın takibine ulaşabilinmiş ve bu hastaların 3 yıllık genel sağkalımı %67 olarak saptanmıştır. Yüksek TT takibin her aşamasında daha düşük sağkalım ile ilişkili tespit edilmiştir (14). Niwa ve ark. yaptığı çalışmada yüksek TT takibin her aşamasında düşük sağkalım ile ilişkili olarak saptanmıştır. TT sağkalım için bağımsız prognostik faktör olarak belirtilmiştir (20). Miyata ve ark. yaptığı neoadjuvan tedavi almış ÖSHK tanılı 74 hastadan oluşan çalışmalarında ortalama sağkalım süresi 55,7 ay (22,1-105,8 ay) olarak saptanmıştır. Yüksek TT saptanan olgularda 5 yıllık sağ kalım %17 iken,

düşük TT saptanan olgularda 5 yıllık sağkalım %58 olarak izlenmiştir. Sağkalım ve TT skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Yaptıkları çok değişkenli analizlerinde TT skoru ve metastaz mevcut lenf nodu sayısını iki bağımsız prognostik faktör olarak belirtmişlerdir. Hatta TT skorunu lenf nodundan daha önemli prognostik faktör olarak bildirmişlerdir (134). Çalışmamızda ortalama genel sağkalım süresi $57,75 \pm 39,6$ ay olarak saptandı. Genel sağkalım sürelerinin literatürde farklılıklar göstermesinin olgu sayısı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Düşük TT izlenen olguların %55,8'i 60 ay ve üzerinde sağkalım süresine sahip iken %7'si 12 ay altında sağkalım süresine sahipti. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak TT skorları ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Düşük TT sahip olgular yine literatür ile uyumlu olarak orta ve yüksek TT sahip olgular ile kıyaslandığında izlemin her aşamasında daha uzun sağkalıma sahipti. Orta ve yüksek TT ise daha kısa sağkalım ile ilişkiliydi. Bilimsel yazında TT değerlendirme ve skorlamasındaki farklılıklara rağmen TT ve sağkalım ilişkisi sonuçları benzerdi. Bu yüzden TT'nin değerlendirilmesi TNM sınıflandırmasının prognostik etkisini artırabilir ve özellikle adjuvan tedavinin netlik kazanmadığı erken evre olgularda yönlendirici ek prognostik parametre olarak kullanılabilir.

İmmün sistemin temel rolü sürekli immün gözetim yoluyla doku homeostazının korunması ve doğal ve adaptif immün hücrelerin koordineli aktivasyonunu içeren inflamatuvar reaksiyonların başlatılmasıdır. Neoplastik transformasyon ise dokuların düzenli yapısını değiştirir ve yeni başlayan tümörleri ortadan kaldırabilen immün cevabı indükler (142). Bir anti-tümör immün cevap oluşturmak, tümör hedeflerini tanıyabilen ve öldürebilen efektör T hücreleri tarafından yürütülen çok adımlı bir işlemdir (143). Ayrıca immün sistem yalnızca kanser gelişimine karşı korumanın olmadığı, aynı zamanda tümör teşvik edici etkisi olan dinamik üç aşamadan oluşur; eliminasyon, denge ve kaçış (142, 144). Anti-tümör bağışıklığının ve bunun tümörler tarafından nasıl devre dışı bırakıldığının anlaşılması, nihayetinde gelişmiş immünoterapilere ve hastaların hayatta kalma süresinin uzamasına yol açacaktır (143). Bu yüzden son dekadda immün mekanizmaların belirlenmesi, TMC'deki en önemli hücreler olan TIL'lerin ve yeni prognostik biyobelirteçlerin tanımlanması çalışmalara konu olmuştur.

İnsanlarda yapılan çalışmalar çeşitli solid tümörleri olan hastalarda TIL varlığı ve miktarları ile klinik yanıt ve prognoz arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Yüksek TIL varlığı bazı çalışmalarda melanom, baş ve boyun, over, üriner, kolorektal, hepatosellüler, mesane, akciğer, özefagus, meme gibi tümörlerde daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (18, 145). Özellikle meme tümörlerinde yapılan çalışmalar sonucu TIL'in meme kanserinin tüm alt tiplerinde kemoterapiye yanıtı aracılık etmede ve klinik sonuçları ön görmeye önemli bir rol oynadığı kabul edilmiş ve 2014 yılında TIL çalışma grubunun toplantısında meme tümörlerinde TIL'lerin değerlendirilmesinde tutarlılığı ve tekrarlanabilirliği artırmak için bir standardizasyon sunmuşlardır (142). Literatürün genelinde TIL varlığı ve miktarının iyi prognoz ile ilişkili olduğu bildirilsede, böbrek, prostat gibi bazı kanserlerle yapılan çalışmalarda kötü prognostik etkiden de bahsedilmiştir (146).

Birbirinden farklı sonuçlar içeren çalışmalar sonucunda sadece lenfositik infiltrasyonun miktarının değil aynı zamanda TIL'in fenotipinde klinik sonucu etkilediği tespit edilmiştir. Tip 1 T hücreler olumlu prognoz ile ilişkilidir. CD4+ T hücreler olumlu prognoz ile ilişkili olup antijen sunan hücrelerin sitokin salgılaması ve aktivasyonu yoluyla antijen sunumunu kolaylaştırır. CD8+ sitotoksik T hücreleri tümör yıkımı için gereklidir. Diğer yandan FOXP3+ Treg'ler başta olmak üzere tip 2 T lenfositler tümör büyümesini artırabilecek bir anti-inflamatuvar immün yanıtı teşvik eder (147). Dolayısıyla TIL'lerin tümörle ilişkili immün cevaptaki rolü farklı alt belirteçlerin etkileşimi tarafından düzenlenen kapsamlı bir etkidir (19).

Çeşitli tümörlerdeki TIL fenotiplerini inceleyecek olursak Kim ve ark. mide kardiya bölgesi AK tanılı operasyon öncesi neoadjuvan tedavi almamış 80 olgu ile yaptığı çalışmalarında CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+ TIL ve oranlarını değerlendirmiştir. CD8+ TIL ve FOXP3+ TIL'leri tek başına sağkalım ile ilişkisiz tespit etmişlerdir. Düşük CD4+ TIL, düşük CD4+/CD8+ TIL ve yüksek FOXP3+/CD4+ TIL skoru ise kötü sağkalım ile ilişkili bulmuşlardır. CD4+, CD8+, FOXP3+ ve CD4+/CD8+ skorlarını diğer prognostik parametrelerle ilişkisiz bulmuşlardır. FOXP3+/CD4+ skorlarını 60 yaş altı ve üstü, cinsiyet, histolojik grade (diferansiye/ dediferansiye) ile ilişkisiz bulmuşken; invazyon derinliği (muskülaris propria altı (T1/2) ve üstü (T3/4)), pN, erken/geç evre ile ilişkili saptamışlardır. Sonuç

olarak Treg ve T helper lenfositlerin dengesini kanser hastalarının prognozunda kritik bir belirleyici olabileceğini, FOXP3+/CD4+'ın olumsuz bir prognostik belirteç olabileceğini bildirmişlerdir (112).

Jackute ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış küçük hücreli dışı adenokarsinom tanılı 80 olgudan oluşan çalışmalarında CD4+ ve CD8+ TIL'leri sağkalım ile ilişkisiz bulurken, yüksek FOXP3+ TIL, yüksek CD4+/C8+, yüksek CD8+/FOXP3+ skorunun daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. CD4+, CD8+, FOXP3+ skorları ile cinsiyet, pT, pN, histolojik grade arasında istatistiksel olarak bir ilişki saptamamışlardır (132).

Miyashita ve ark. meme kanseri olgularla yaptığı çalışmasında yüksek CD8+ TIL, yüksek CD8+/FOXP3+ skorunu olumlu prognoz ile; yüksek FOXP3+ skorunu kötü sağkalım ile ilişkilendirmişlerdir (148). Liu ve ark. 1270 olgudan oluşan invaziv meme karsinomu tanılı olgular ile yaptıkları çalışmalarında CD8+ ve FOXP3+ TIL incelemişler; yaş, tümör çapı, pN, sağkalım ile ilişki saptamamışlardır. Ancak yüksek CD8+/FOXP3+ skorunun daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (149).

Wang ve ark. preop tedavi almamış hipofarengeal SHK tanılı 132 olgudan oluşan çalışmasında TIL oranları ve TIL alt tiplerini prognostik faktörler ile karşılaştırmışlardır. Yüksek TIL skoru daha iyi sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Ayrıca yine yüksek CD8+, FOXP3+, CD8+/FOXP3+, CD8+/CD4+ skorları daha iyi sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek CD8+ skorunu daha genç yaş ile (<60 yaş) ilişkili, düşük FOXP3+ skorunu daha ileri evre ve ileri pT (1-3/4a) ile ilişkili saptamışlardır. Ayrıca biyobelirteçlerin birbiriyle ilişkisi incelendiğinde CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL ve oranlarının skorlarının birbiriyle sinerjistik ilişkisinin olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak bu bulgular yalnızca TIL alt tiplerinin miktarının değil aynı zamanda oranlarının da, özellikle CD8+/FOXP3+ ve CD8+/CD4+ oranlarının hasta sonuçları üzerinde önemli etkileri olduğunu, hasta prognozu ve tedavi sınıflandırması dikkate alınırken potansiyel olarak incelenebileceğini bildirmişlerdir (16).

Özefagus AK'larda ise Noble ve ark. yaptığı 76'sı preop neoadjuvan tedavi almış, 52'si almamış 128 hastadan oluşan çalışmada TIL ve TIL alt tiplerini incelemişlerdir. Daha düşük CD3+, CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL durumu ileri pT, pN ve LVI, PNI varlığıyla ilişkili saptanmıştır. Kadınlarda erkeklere kıyasla daha yüksek CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL skoru gözlenmiştir. Bu östrojenin T lenfositler üzerindeki uyarıcı etkisi ve T baskılayıcı hücreleri inhibe edici etkisine bağlanmıştır. Yüksek CD4+ ve CD8+ TIL kemoterapiye artmış yanıtı ve daha düşük oranda lenf nodu metastazı ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle yüksek CD8+ TIL skoru olmak üzere artmış TIL alt tipleri daha uzun sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları lokal immün yanıtların, özellikle adaptif immün yanıtın radikal tedavi gören özefagus AK hastalarında sağkalımın önemli bağımsız belirteçleri olduğunu göstermiştir. Ayrıca tüm TIL alt tipleri birbiriyle sinerjistik ilişkili bulunmuştur. TIL alt tipleri arasında hastalığın tüm evrelerinde yüksek korelasyon ile genelleştirilmiş bir immünite tepkisi gözlenmiştir (127).

Zingg ve ark. yaptığı 106'sı preop neoadjuvan tedavi almamış özefagus AK tanılı 130 hastadan oluşan çalışmasında TIL'leri FOXP3+'e özel vurgu yaparak analiz etmiştir. Tümör merkezinde bulunan FOXP3+ TIL skorları yaş (62 kesme değeri), cinsiyet ve CD4+ skorları ile ilişkisiz saptanmıştır. Merkezi düşük FOXP3+ skoru ileri evre ve yüksek FOXP3+ skoru daha uzun sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Çok değişkenli analizde ise FOXP3+ skorlarının sağkalım ile ilişkisi saptanmamıştır. Çevresel yüksek FOXP3+ skoru daha genç (<62 yaş), düşük FOXP3+ skoru ileri yaş (>62 yaş) ile ilişkilendirilmiştir. Hem çevresel hem merkezi yüksek CD8+ TIL skoru yüksek FOXP3+ TIL skoru ile ilişkilendirilmiştir. TIL alt tiplerinin oranları (CD8+/FOXP3+, CD8+/CD4+) ile sağkalım arasında bir ilişki saptanmamıştır (150).

ÖSHK'larda ise TIL'lerin potansiyel prognostik biyobelirteçlerden biri olabileceği doğrulanmıştır. Ancak prognostik rolü diğer solid tümörlerde olduğu gibi tartışmalıdır.

Literatür incelendiğinde ÖSHK'da TIL düzeyleri ve fenotiplerinin değerlendirilmesinde ve skorlanmasında farklı yöntemler uygulanmış, henüz fikir birliği oluşturulmamış ve prognostik belirteç olarak klavuzda yer almamaktadır. Baba

ve ark. yaptığı çalışmada TIL reaksiyonunun 4 bileşeni (peritümöral, nest içi, lenfoid reaksiyon, stromal reaksiyon) tanımlanmış ve bunlardan peritümöral lenfositik yanıt prognoz ile ilişkili olarak bildirilmiştir (151). Wang ve ark. yaptığı çalışmada ÖSHK tanılı olgularda CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL otomatik yazılımla 20x objektif büyütmede 5 rastgele tümöral ve stromal alanda sayılmış, ortalamaları alınarak düşük/yüksek şeklinde skorlanmıştır (152). Xia ve ark. yaptığı çalışmada ÖSHK tanılı olgularda FOXP3+ TIL 10 BBA değerlendirilmiş ve ortalamalarını yüzde olarak almıştır (121). Cho ve ark. yaptığı çalışmada ÖSHK tanılı olgularda CD4+ ve CD8+ TIL 20x objektif büyütme ile 10 alan taranmış, en sıcak beş alan belirlenerek sayılmış ve değerler 4 gruba ayrılmıştır (en çok, çok, orta, yetersiz) (114). Çalışmamızda ise çeşitli ÖSHK ve diğer solid tümörlerle yapılan çalışmalar referans alınarak 10x objektif büyütme ile tümör içeren tüm alanlar tarandı ve en sıcak alanlar belirlenerek 10 BBA'da tümöral alanların stromasında immünreaktif hücreler sayıldı (16, 118). Ortalama lenfosit sayısı, her vakayı yüksek veya düşük bir grup olarak kategorize etmek için kesme noktası olarak kullanıldı (126).

Yoshioka ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 122 hastadan oluşan çalışmasında FOXP3+ skorlarının prognostik faktörlerle ilişkisi ve CD4+, CD8+ üzerindeki etkisi araştırılmıştır. FOXP3+ skorları ile cinsiyet, yaş (kesme değeri 62 yaş), pT (T1/2, T3/4), pN ve patolojik evre arasında anlamlı istatistiksel sonuç saptanmamıştır. Düşük FOXP3+ skoru azalmış sağkalım süresi ile ilişkili bulunmuştur. Diğer TIL alt tipleri ile ilişkisi incelendiğinde CD4+ ve CD8+ ile korele sonuç elde edilmiştir. Yüksek FOXP3+ skoru yüksek CD4+/CD8+ skoru ile, düşük FOXP3+ ise yüksek CD8+/CD4+ skoru ile ilişkili bulunmuştur. Yüksek CD4+/CD8+ skorunun olumlu bir prognoza karşılık geldiği ve immünitinin tepkisini yansıttığı, artmış Treg hücrelerin T lenfositteki artıştan kaynaklandığını ve prognoz ile ilişkili olmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak CD4+/CD8+ ve CD8+/CD4+ oranının anti-tümör bağışıklık için daha kritik olduğunu, FOXP3+'nın bunlarla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (122).

Hatogai ve ark. yaptığı neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 196 hastadan oluşan çalışmada PDL-1 ile TIL alt tipleri (CD4+, CD8+, FOXP3+) arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda TIL alt tiplerinin hiçbirinin tek başına sağkalım

ile ilişkili olmadığı, yüksek CD8+/FOXP3+ oranının düşükten daha iyi genel sağkalım ile ilişkili, yüksek FOXP3+/CD4+ daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (153).

Jiang ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 235 hastadan oluşan çalışmada TIL skorlarını (düşük/yüksek) ve TIL alt tip skorlarını (CD4+, CD8+, FOXP3+) prognostik parametrelerle karşılaştırmıştır. Stromal TIL'in ÖSHK'da güçlü ve bağımsız bir prognostik belirteç olduğunu ve artan TIL'in daha düşük nüks veya metastaz riskini ve genel mortaliteyi öngördüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca artan TIL'in evre ve diferansiyasyon ile ilişkili olduğu saptanmıştır. TIL'in cinsiyet, yaş (kesme değer 60 yaş), LVİ, PNI, lenf nodu metastazı ile ilişkisi gözlenmemiştir. TIL alt tipleri (CD4+, CD8+, FOXP3+) ile prognostik parametreler arasında anlamlı istatistiksel sonuç elde edilmemiştir. Bu nedenle, bu belirteçlerin H&E ile boyanmış slaytlarda genel stromal TIL sayımının ötesinde değer katıp katmadığı belirlenememiştir (118).

Zhu ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı pT3N0M0 evreli 220 hastadan oluşan çalışmada CD4+ ve CD8+ TIL skorlarının (düşük/yüksek) prognostik faktörlerle ilişkisi araştırılmış, aralarında istatistiksel anlamlı sonuç elde edilmemiştir. Manuel sayım yaptıkları çalışmalarında TIL alt tiplerinin sayılarını belirlemek için manuel sayımın otomatik yazılıma göre daha üstün olduğunu savunmuşlardır. Otomatik yazılımların hücreleri yalnızca renk derinliklerine göre ayırdıklarını, hücre şekli, özellikleri veya konumu dikkate almadıklarını; patoloğların ise değerlendirme sırasında hücre morfolojisini ve konumunu dikkate aldıklarını belirtmişlerdir (124).

Nozoe ve ark. yaptığı çalışmada preop tedavi almamış ÖSHK tanılı 134 olgu ile kanda CD4 ve CD8 çalışmıştır. Yüksek CD4 skoru daha genç yaş ile ilişkili, düşük CD4/CD8 skoru erkek cinsiyet ile ilişkili saptanmıştır. Diğer prognostik parametreler (diferansiyasyon, tümör çapı, pT, pN, LVİ, pTNM) ve biyobelirteçlerle anlamlı istatistiksel sonuç gözlenmemiştir. Yüksek CD4, yüksek CD4/CD8 oranı daha iyi sağkalım ile, yüksek CD8 skoru kötü sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Mevcut

çalışmada, azalmış CD4/CD8 oranının yanı sıra periferik kanda artmış CD8 ve azalmış CD4'ün, ÖSHK'lı hastalarda daha kötü prognozu öngörebileceği belirtilmiştir (115).

Cho ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 122 olgudan oluşan çalışmada CD4+, CD8+ T lenfosit ve CD57+ NK hücrelerinin durumu incelenmiştir. Yüksek CD4+/ yüksek CD8+ oranı kadın cinsiyetle ilişkili bulunmuş; yaş (60 kesme değer), tümör çapı (4,5 cm kesme değer), pT, pN, histolojik grade, pTNM ile ilişkisiz olarak saptanmıştır. Yüksek CD4+/ yüksek CD8+ oranının daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Cox orantısız tehlike modeli tarafından bağımsız bir prognostik tahmin edici olduğu belirlenmiştir. Bu durumda yüksek CD4+ ve CD8+ TIL skorunun daha iyi prognoz ile ilişkili olduğu ve CD4+ ile CD8+ arasındaki iş birliğinin prognozu önemli ölçüde iyileştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca hayatta kalma verileri, CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin lokal infiltrasyonunun bile sistemik etkilere sahip olabileceğini, bu bağışıklık hücrelerinin evre ilerlemesini fiilen bastırmak yerine, ameliyat sonrası sistematik mikro metastazı önleyebileceğini belirtmiştir. Bu nedenle hem aktive edilmiş CD4+ hem de CD8+ T hücrelerini içeren kombinasyon immünoterapisinin ÖSHK'lı hastalarda etkili olabileceği savunulmuştur (114).

Chen ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 536 olgudan oluşan çalışmada stromal ve intraepitelyal CD3+, CD4+ ve CD8+ TIL'lerin durumu PDL-1 ve prognostik faktörlerle karşılaştırılmıştır. Yüksek stromal CD4+ ve intraepitelyal CD8+ skoru daha iyi tümör diferansiyasyonu ile ilişkilendirilmiş olup diğer yaş (65 yaş kesme değer), cinsiyet, pTNM gibi prognostik parametrelerle anlamlı istatistiksel sonuç saptanmamıştır. Sağkalım analizlerinde stromal CD4+ ve CD8+ ilişki saptanmazken, yüksek intraepitelyal CD4+ skoru daha iyi sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. Sonuç olarak intraepitelyal CD4+ lenfosit infiltrasyonu, ÖSHK'da prognoz için bağımsız olumlu bir faktör ve ÖSHK dokularında TIL infiltrasyonu, PD-L1'in ekspresyonu ile ters ilişkili olarak belirtilmiştir. Bu nedenle, immün hücrelerinin profillerinin, hasta sonuçları için ek bilgi sağlayabileceği ve immünoterapidenden daha fazla yararlanacak hastaların sınıflandırılmasına yardımcı olabileceği bildirilmiştir (126).

Wang ve ark. yaptığı preop neoadjuvan tedavi almamış ÖSHK tanılı 90 olgudan oluşan çalışmada tümör infiltrate eden nötrofillerin ve nötrofil-CD8+ lenfosit oranının klinik önemini araştırmış ve küratif rezeksiyon ile tedavi edilen ÖSHK'da tümör infiltrate eden nötrofillerin ve CD8+ lenfositlerin dağılımını analiz etmiştir. Ayrıca intratümöral ve peritümöral CD8+ TIL'lerin prognostik parametrelerle ilişkisi incelenmiştir. Yüksek intratümöral CD8+ TIL skoru kesme değeri 60,5 yaş olan gruplarla karşılaştırıldığında ileri yaş ile ilişkilendirilmiştir. Diğer cinsiyet, çap (kesme değeri 4 cm), histolojik grade, pT (pT1/ 2-3-4), pN, pTNM ve sağkalım gibi prognostik parametrelerle istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümöre sıızan CD8+ lenfositleri, küratif rezeksiyon ile tedavi edilen ÖSHK'de progresyonu veya prognozu öngörememiştir. Sonuçları, CD8+ lenfositlerin antitümör etkisinin ÖSHK mikroçevresinde, özellikle tümör içi alanda kısmen bozulabileceğini göstermiştir (117).

Schumacher ve ark. yaptığı ÖSHK (33 hasta) ve ÖAK (37 hasta) tanılı olgulardan oluşan çalışmada CD8+ TIL değerleri prognostik parametrelerle karşılaştırıldı. Yüksek CD8+ daha iyi histolojik grade, daha yüzeysel invazyon derinliği (pT), lenf nodu metastazı yokluğu, daha uzun hastalıklı ve genel sağkalım ile ilişkili saptandı. CD8+ TIL'lerin, adjuvan immünoterapötik stratejiler için uygun hastaların seçilmesi ve izlenmesi için önemli kriterler olarak hizmet edebileceği ve olumlu sonucu tahmin etmek için güvenilir bir prognostik belirteç olabileceği bildirildi (116).

Zhu ve ark. yaptığı preop neoadjuvan almamış ÖSHK tanılı pT3N0M0 evrede 133 olgudan oluşan çalışmada PDL-1, CD8+ TIL ve FOXP3+ TIL değerleri ve prognostik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır. CD8+, FOXP3+ TIL ve CD8+/FOXP3+ skorları ile yaş (kesme değeri 59 yaş), cinsiyet, tümör çapı (kesme değeri 4 cm), histolojik grade arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamıştır. CD8+ ve FOXP3+ TIL tek başlarına sağkalım ile ilişkili değilken, yüksek CD8+/FOXP3+ skoru daha uzun sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle, hem FOXP3+ hem de CD8+ TIL yoğunluklarının değerlendirilmesi, hastanın immün durumu hakkında daha ayrıntılı bilgi sağlayabilir (15).

Xia ve ark. yaptığı preop tedavi almamış ÖSHK tanılı 42 olgudan oluşan çalışmada kanser hücrelerinde FOXP3 protein ekspresyonunun ve tümör dokusuna sıızan FOXP3 + lenfosit sayısının araştırılması yapılmıştır. Yüksek FOXP3+ skoru artmış lenf nodu metastazı ile ilişkili saptanırken yaş (kesme değeri 60 yaş), cinsiyet, histolojik grade, pTNM ile ilişkili saptanmamıştır. Sonuç olarak servikal özefagus kanseri parankimi ve FOXP3+ lenfosit infiltrasyonunda anormal FOXP3 ekspresyonu, tümörün immün kaçışını teşvik ederek bu kanserin metastazıyla yakından ilişkili olabileceği bu yüzden postoperatif metastazın değerlendirilmesi için potansiyel bir belirteç olabileceği belirtildi (121).

Cho ve ark. ile Nozoe ve ark. yaptığı çalışmada yüksek CD4+/CD8+ oranı kadın olmak ile ilişkiydi (114, 115) . Bizim çalışmamızda ise bu çalışmalardan farklı olarak kadın olgularımızın %75'inde düşük CD4+/CD8+ skoru izlenirken, erkek olguların %63'ünde yüksek CD4+/CD8+ oranı tespit edildi. Bu durumun hasta popülasyonundaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünüldü. CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL skorları ve CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile cinsiyet arasında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı (15, 118, 126).

Çalışmamızda düşük FOXP3+ ve yüksek CD8+/FOXP3+ skoru daha genç yaş (<60 yaş) ile ilişkiydi. Bilimsel yazın incelendiğinde FOXP3+ ve CD8+/FOXP3+ skorları ile yaş arasında anlamlı istatistiksel sonuç saptanmamıştır (15, 121, 122). Wang ve ark. yaptığı çalışmada yüksek CD8+ daha ileri yaş ile ilişkiyken, Nozoe ve ark. yaptığı çalışmada yüksek CD4+ skoru daha genç yaş ile ilişkiydi (115, 117). Literatürde incelenen çalışmaların çoğunda ise yaş ile TIL biyobelirteçleri ve oranları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda literatürün çoğunluğu ile uyumlu olarak CD4+, CD8+, CD4+/CD8+ ve FOXP3+/CD4+ skorları arasında anlamlı istatistiksel sonuç saptanmamıştır (118, 122). Literatürdeki bu birbirinden farklı sonuçlar farklı kesme değerlerinin olması ve farklı hasta popülasyonları ile çalışılmasından kaynaklanabilir.

Chen ve ark. yaptığı çalışma ile uyumlu olarak çalışmamızda CD4+ ile histolojik grade istatistiksel olarak ilişkili saptandı (126). Yüksek CD4+ skoru izlenen olgularımızın tamamı iyi-orta diferansiye iken, kötü diferansiye olgularımızın

tamamında düşük CD4+ skoru izlenmişti. Ayrıca kötü diferansiye olgularımızın tamamında düşük CD8+ TIL skoru izlenirken, yüksek CD8+ skoru izlenen olgularımızın tamamı iyi-orta diferansiye idi. Ancak bu istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Kötü diferansiye olgu sayımızın vakaların %6,6 'sını oluşturmasıyla ilişkili olduğu düşünüldü. Schumer ve ark. yaptığı çalışmada ise bizim oranlarımıza benzer olarak yüksek CD8+ TIL skoru iyi diferansiyasyon ile ilişkilendirilmiştir (116). Literatürde çoğu çalışmada CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL skorları ve oranlarıyla histolojik grade arasında anlamlı istatistiksel sonuç elde edilmemiştir (114, 121). Çalışmamızda bilimsel yazın ile uyumlu olarak FOXP3+ TIL, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamıştır.

Bilimsel yazının genelinde ÖSHK tanılı olgularla yapılan çalışmalarda TIL alt tipleri (CD4+, CD8+, FOXP3+) ve oranlarıyla invazyon derinliği ve patolojik tümör evresi (pT) arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (118, 124). Bizim çalışmamızda ise literatürden farklı olarak düşük CD4+ skoru adventisya invazyonu ve ileri tümör evresi (pT3,4) ile ilişkiliydi. Yüksek FOXP3+ skoru ise daha ileri invazyon derinliği ile ilişkiliydi. Schumacher ve ark. yaptığı çalışmada düşük CD8+ skoru artmış invazyon derinliği ve ileri tümör evresi (pT3,4) ile ilişkili saptanmıştır (116). Bizim çalışmamızda da düşük CD8+ skoru olan olgularda artmış invazyon derinliği ve daha yüksek oranda ileri tümör evresi (pT3,4) tespit edilmiştir. Öyle ki adventisya invazyonu içeren olguların %83,3'ü düşük CD8+ TIL skoruna sahiptir. Bilimsel yazında CD4+ ve CD8+ TIL'lerin antitümör etkisi, FOXP3+ TIL'lerin tümör yayılımı etkisi düşünüldüğünde çalışmamızın sonuçları bu etkiyi destekler nitelikte olup, CD4+ ve FOXP3+ TIL değerleri daha invaziv seyredip seyretmeyeceği yönünde güçlü bir belirteç olarak kullanılabilir (113, 114, 115).

Çalışmamızda Xia ve ark. yaptığı çalışmayla uyumlu olarak yüksek FOXP3+ skoru lenf nodu metastazı varlığıyla ilişkili saptanmıştır (121). FOXP3+ TIL'in invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı ile ilişkisi düşünüldüğünde, FOXP3+ lenfosit sayısında artışın tümöre karşı immüniteyi baskılayarak tümör yayılımı ve metastaz ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Literatür ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da CD4+, CD8+, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+

skorları ile lenf nodu metastazı varlığı arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (114, 115, 117, 118, 122).

Literatürde yapılan mevcut ÖSHK ile ilgili çalışmalarda TIL alt tipleri (CD4+, CD8+, FOXP3+) ve oranlarıyla patolojik evre arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır (114, 121). Bizim çalışmamızda ise literatür ile uyumlu olarak CD8+, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile patolojik evre arasında anlamlı istatistiksel sonuç elde edilmemiş, farklı olarak ise yüksek CD4+ skoru ve düşük FOXP3+ skoru erken patolojik evre ile ilişkili saptanmıştır.

ÖSHK tanılı olgular ile yapılan çalışmalarda FOXP3+/CD4+ skorunun sağkalım analizini yapan tek bir çalışma tespit edilmiş olup, Hatogai ve ark. yaptığı bu çalışma ile uyumlu olarak çalışmamızda CD4+ ve FOXP3+ TIL oranı tek başına sağkalım ile ilişkili bulunmazken, düşük FOXP3+/CD4+ skoru daha uzun sağkalım ile ilişkili saptanmıştır (153). Kim ve ark. yaptığı mide kardias AK ile ilgili çalışmasında da benzer şekilde yüksek FOXP3+/CD4+ skoru kötü sağkalım ile ilişkilidir (112). ÖSHK tanılı çalışmalar incelendiğinde birbirinden farklı sonuçlar dikkati çekmiştir. Yoshioka ve ark. yaptığı çalışmada düşük FOXP3+ TIL skoru kötü sağkalım ile ilişkiliyken, bizim çalışmamız da Hatogai ve ark. ile Zhu ve ark. yaptığı çalışmalara uyumlu olarak sağkalım ile ilişkisiz saptanmıştır (15, 122, 153). Düşük CD4+ skoru çeşitli çalışmalarda daha iyi sağkalım ile ilişkiliyken, yüksek CD8+ skoru bazı çalışmalarda daha iyi bazılarında ise daha kötü sağkalım ile ilişkili ya da her iki değerinde ilişkisiz tespit edilmiştir (114, 115, 117, 126). Bizim çalışmamızda da CD4+, CD8+ TIL skorları ile sağkalım arasında anlamlı istatistiksel ilişki izlenmemiş olup, 12 aydan daha kısa süre yaşayan olguların %70'inde düşük CD4+ ve CD8+ skoru; yüksek CD4+ TIL izlenen olguların %45'inin 60 ay ve üzerinde yaşadığı, yüksek CD8+ TIL izlenen olguların %50'sinin 60 ay ve üzerinde yaşadığı tespit edildi. İstatistiksel anlamlılığa ulaşmamasının olgu sayısı ve hasta popülasyonunun dağılımdan kaynaklanabileceği düşünüldü. Benzer bulguyu CD4+/CD8+ ve CD8+/FOXP3+ skorları ile de tespit ettik. Yapılan bazı çalışmalar özellikle tek başına CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL skorlarının sağkalım ile ilişkisini tespit etmezken; bu alt tiplerin birbirleri ile oranının ya da ilişkisinin daha önemli prognostik etkiye sahip olabileceğini belirtmiştir (15, 122, 153).

ÖSHK'da TIL alt tiplerinin birbirleri ile ilişkisini karşılaştıran oldukça sınırlı sayıda çalışma tespit edilmiş olup; Yoshioka ve ark. CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL değerlerini birbiriyle korele tespit etmiştir (122). Bu çalışmaya göre FOXP3+ TIL'lerin antitümör bağışıklığı baskılamadığı, CD4+ ve CD8+ TIL'lerin birbirleri arasındaki ilişkinin daha kritik olduğu belirtilmiştir. Yine bir çalışmada CD4+ ve CD8+ arasındaki işbirliğin prognozu önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (114). Farklı solid tümörlerde yapılan bazı çalışmalar CD8+ TIL ve FOXP3+ TIL arasında sinerjistik etki saptamış, ancak oransal olarak yüksek CD8+/FOXP3+ oranının daha iyi prognozla ilişkili olduğunu belirtmiştir (16, 150). Bazı çalışmalar ise CD8+ ve FOXP3+ arasında ters ilişki bildirmiş, sinerjistik etkinin pozitif feedback ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (150, 154). Bizim çalışmamızda ise literatür ile uyumlu olarak CD4+ ve CD8+ TIL skorları arasında sinerjistik etki, iş birliği saptanmıştır (114, 115). Ayrıca CD8+ ve FOXP3+ arasında zıt etki saptanmıştır. FOXP3+ TIL skorunun yüksek olduğu olgularda CD8+ düşük izlenmiştir. Bu bulgu FOXP3+ Treg'lerin immün kaçışdaki mekanizması ile uyumlu saptanmıştır (119, 120). Ancak FOXP3+ TIL durumunun CD8+ TIL'ler üzerinde etkisi ile ilgili birbirinden farklı çalışmalar mevcut olduğundan daha önce de bahsetmiştik.

CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+ TIL, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorları ile tümör çapı, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon arasında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (118, 122).

Fujiyoshi ve ark. kolorektal kanser olgularıyla yaptığı çalışmada TT ile CD3+, CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL'lerin ilişkisini araştırmıştır. CD3+, CD4+ ve FOXP3+ ile TT arasında anlamlı ilişki saptamazken, CD8+ TIL'leri invaziv cephede TT ile ters ilişkili olduğunu, tümör mikroinvazyonunu baskıladığını bildirmiştir (155). Wartenberg ve ark. yaptığı çalışmada pankreas duktal adenokarsinomunda TT ve CD4+, CD8+, FOXP3+ TIL ve CD163+ makrofajların ilişkisini araştırmış, yüksek FOXP3+ TIL skoru artmış peritümöral TT ile ilişkili saptanmıştır. Ayrıca TT'nın düşük peritümöral CD8+ TIL varlığında daha belirgin olduğunu, aksine konak, yüksek CD8+ TIL dahil güçlü bir anti-tümöral bağışıklık tepkisini sürdürebildiğinde TT izlenmediğini belirtmişlerdir (156). Li ve ark. yaptığı çalışmada pT1b ÖSHK tanılı

olgularda TT ve TIL oranlarının prognozla ilişkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak yüksek TT sahip olguların düşük peritümöral TIL oranıyla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. TT'nı invaziv tümör sınırında saymayı ve TIL değerlendirilmesinin tümöre bitişik alanda yapılmasının prognostik açıdan daha anlamlı olacağını savunmuşlardır (157). Zhao ve ark. pT1 ÖSHK tanılı olgularla yaptığı çalışmada tümör infiltratif büyüme paterni (INF) ve TIL arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. INFc grubu TT ile benzer değerlendirmeye sahip olup, düşük TIL varlığının yüksek TT ya da INFc ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yüksek dereceli TIL'leri olan INFc hastalarının, düşük dereceli TIL'leri olan hastalardan daha iyi bir prognoza sahip olduğunu göstermişlerdir. Burisk sınıflandırma modelini kullanarak, hastaları yalnızca H&E boyama ile mikroskopik değerlendirme bulgularına göre prognoz açısından yorumlanabileceğini bildirmişlerdir (158). Literatürde ÖSHK tanılı olgularda TIL alt tipleri ve TT ilişkisinin değerlendirildiği çalışma dikkati çekmemiş olup, bir eksiklik olarak değerlendirilmiştir. Bu haliyle bizim çalışmamız ÖSHK tanılı olgularda TIL alt tipleri ve TT karşılaştırılması için ilk olma özelliği taşımaktadır. Çalışmamızda CD4+ ve TT arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı. Yüksek CD4+ skoru daha düşük TT skoru ilişkiliydi. CD4+ TIL'in histolojik grade ile ilişkisi düşünüldüğünde beklenen bir sonuç oldu. Ayrıca yüksek TT saptanan olgularda daha yüksek oranda düşük CD8+ skoru izlenmiş olup, yine yüksek CD8+/FOXP3+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda düşük TT skoru tespit edildi. Ancak CD8+, FOXP3+, CD4+/CD8+, CD8+/FOXP3+, FOXP3+/CD4+ skorlarıyla TT arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı. Çalışmamızda TIL alt tiplerini TT gibi invaziv sınırda değil intratümöral stromal alanda değerlendirdik. Diğer solid tümörlerle yapılan çalışmalar ile farklı sonuç elde edilmesinin TIL yoğunluğu ve TT dağılımının birbirinden bağımsız parametreler olarak değerlendirmemizden ya da olgu sayısından kaynaklanabileceği düşünülse de ÖSHK'ları ile ilgili benzer çalışma olmadığı için karşılaştırma yapılması güçtür.

ÖSHK'da TT ve TIL alt tipleri için yapılan çalışmalarda, çalışmaların sayısının oldukça az olması, olgu sayısının kısıtlı olması, hasta popülasyonunun heterojenitesi (ırk, cinsiyet, yaş vb.), değerlendirme ve skorlama kriterlerindeki farklılıklardan dolayı literatürde heterojenite gözlenmektedir. Bu nedenle TT ve TIL alt tiplerinin

değerlendirme kriterlerinin belirlenmesi ve standardizasyonu için ve TIL alt tiplerinin ÖSHK’da rol adığı prognostik öneminin belirlenmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın kısıtlılıkları şu şekilde özetlenebilir. TIL alt tipleri değerlendirilirken çeşitli çalışmalar referans alınarak yalnızca CD4+, CD8+ ve FOXP3+ biyobelirteçleri kullanıldı. TIL genel yoğunluğu ve diğer alt tipleri (CD3+, CD5+, CD57+ vb.) değerlendirilmedi. TT ve TIL alt tiplerini karşılaştıran ÖSHK tanıli olgular ile ilgili çalışma bulunmadığından karşılaştırma yapılamadı. Tüm bu kısıtlılıklar geliştirilerek çalışmalar ile de desteklenmelidir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilimdalı'nda ÖSHK tanısı almış, preop neoadjuvan tedavi almamış 75 adet olguya ait özefajektomi materyallerinde TT, TIL alt tipleri (CD4+ TIL, CD8+ TIL, FOXP3+TIL) ve oranları değerlendirildi. Veriler ile olgulara ait demografik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki yanı sıra TT'nin TIL alt tipleri ile ilişkisi incelendi. Çalışmamızın sonuçları şu şekildedir:

- 1) İnsidansın arttığı bölgelerde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak olgularımızın çoğunluğu (%64) kadınlardan oluşuyordu.
- 2) Çalışmamızda olgular 33-74 yaş arasında olup ortalama tanı yaşı $56 \pm 10,055$ olarak saptandı. Olguların %65,3'ü ≤ 60 yaşındaydı. Literatüre göre olgularımız daha genç yaştaydı.
- 3) TT ile histolojik grade arasında istatistiksel anlamlı ilişki izlenmiş olup, TT skoru arttıkça tümörler histolojik olarak daha kötü diferansiyasyon göstermiştir.
- 4) Oransal olarak TT skoru düştükçe tümör çapıda ≤ 40 mm olma eğiliminde izlenmiş olup istatistiksel anlamlılık elde edilmemiştir.
- 5) TT ile PNİ arasında istatistiksel anlamlı ilişki belirlenememekle birlikte TT düşük olgularda daha düşük oranda PNİ saptanmıştır.
- 6) TT yüksek olgularda yüksek oranda adventisya invazyonu (%81,8) izlenmiş olup TT ile invazyon derinliği arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşılamamıştır.
- 7) TT ile pT grupları arasında (erken/ileri tümör evresi) anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup TT skoru düştükçe erken tümör evresinde görülme oranı arttığı belirlenmiştir.
- 8) TT ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamasına rağmen, düşük TT skorunda lenf nodu metastazı tespiti de azalmaktadır.
- 9) TT ile patolojik evre arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamasına rağmen düşük TT izlenen olguların çoğu daha erken evrelerde tespit edilmiştir.
- 10) TT ile sağkalım arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup TT skoru yükseldikçe daha kısa sağkalım süresi izlenmiştir. Düşük TT skorları ise daha uzun sağkalım ile ilişkili saptanmıştır.
- 11) TT ile yaş, cinsiyet ve LVİ arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamıştır.

- 12) CD4+/CD8+ oranı ile cinsiyet arasında anlamlı istatistiksel ilişki izlenmiş olup, düşük CD4+/CD8+ oranı kadın cinsiyette daha yüksek oranda saptanmıştır.
- 13) CD8+/FOXP3+ oranı ile tanı yaşı arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup yüksek CD8+/FOXP3+ oranı daha genç yaşlarda (≤ 60 yaş) görülmüştür.
- 14) FOXP3+ TIL skoru ile tanı yaşı arasında anlamlı istatistiksel ilişki mevcut olup düşük FOXP3+ skoru daha genç yaşlarda (≤ 60 yaş) görülmüştür.
- 15) CD4+ TIL skoru ile histolojik grade arasında anlamlı istatistiksel ilişki izlenmiş olup yüksek CD4+ TIL skoru izlenen olgularda histolojik grade daha yüksek oranda iyi-orta diferansiye bulunmuştur.
- 16) CD4+ TIL skoru ile invazyon derinliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup düşük CD4+ skoru olan olgularda daha derin invazyon derinliği tespit edilmiştir.
- 17) FOXP3+ TIL skoru ile invazyon derinliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmıştır. Yüksek FOXP3+ skoru olan olgular daha derine invaze izlenmiştir.
- 18) CD8+ TIL skoru ile invazyon derinliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamasına rağmen oransal olarak bakıldığında düşük CD8+ skoruna sahip olgularda daha yüksek oranda adventisya invazyonu tespit edilmiştir.
- 19) CD4+ TIL skoru ile pT grupları (erken/ileri tümör evresi) arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup yüksek CD4+ skoru olan olgularda erken tümör evresi izlenmiştir.
- 20) CD8+ TIL skoru ile pT grupları (erken/ileri tümör evresi) arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamasına rağmen yüksek CD8+ TIL skoru daha yüksek oranda erken tümör evresindeki olgularda görülmüştür.
- 21) FOXP3+ TIL skoru ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı istatistiksel ilişki mevcut olup, düşük FOXP3+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda lenf nodu metastazı izlenmemiştir.
- 22) CD4+ TIL skoru ile patolojik evre arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup yüksek CD4+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda erken patolojik evre izlenmiştir.
- 23) FOXP3+ TIL skoru ile patolojik evre arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup düşük FOXP3+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda erken patolojik evre izlenmiştir.

- 24) FOXP3+/CD4+ skoru ile sağkalım arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup düşük FOXP3+/CD4+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda daha uzun sağkalım (≥ 60 ay) görülmüştür.
- 25) CD4+ TIL skoru ile TT arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmış olup yüksek CD4+ TIL skoru olan olgularda daha düşük TT izlenmiştir.
- 26) Yüksek CD8+ skoru izlenen olgularda daha yüksek oranda düşük TT izlenmiş olup, bu sonuç istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır.
- 27) Yüksek CD8+/ FOXP3+ skoru izlenen olgularda daha yüksek oranda düşük TT izlenmiş olup, bu sonuç istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır.
- 28) CD4+ TIL ve CD8+ TIL skorları birbirleriyle korele tespit edilmiştir. CD4+ TIL skoru düşük olan olgularda CD8+ TIL skorunda daha yüksek oranda düşük olarak tespit edilmiştir.
- 29) FOXP3+ skoru ile CD8+ skoru birbirleriyle zıt ilişki göstermiştir. Yüksek FOXP3+ skoru olan olgularda daha yüksek oranda düşük CD8+ skoru saptanmıştır.

Tüm bu veriler ele alındığında çalışmamızda TT'nın histolojik grade, pT ve özellikle sağkalımı anlamlı düzeyde etkilemesi artan TT'nın yüksek malignite potansiyeli ve azalmış postoperatif sağkalımı gösteren kötü prognoz ile ilişkili iyi bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür. Çeşitli parametrelerle (tümör çapı, PNI, lenf nodu metastazı, patolojik evre) istatistiksel anlamlılığa ulaşamamakta hasta sayısının azlığı ile ilişkilendirilmiş olup oransal olarak TT'nın prognostik ilişkisi de düşüncemizi destekler niteliktedir. Literatürdeki çalışmalarda da farklı değerlendirme yöntemleri kullanılmasına rağmen TT prognostik önemini korumuştur. Bu yüzden TT değerlendirilmesi pTNM sınıflandırmasının prognostik etkisini artırabilir ve özellikle operasyon sonrası daha ileri tedaviden yarar sağlayacak hastaların belirlenmesinde etkili olabilir. Gelecekteki çalışmalar için daha geniş çaplı serilerde farklı değerlendirme yöntemleri karşılaştırarak TT'nın prognostik değeri belirlenmeli ve uluslararası ortak bir değerlendirme ve skorlama sistemi geliştirilerek TT'nın patoloji raporlarında bulunması gerektiğini düşünmekteyiz. TIL alt tipleri ile prognostik parametrelerin ilişkisi değerlendirildiğinde yüksek FOXP3+ skorunun artmış lenf nodu metastazı varlığı, yüksek FOXP3+ skorunun artmış invazyon derinliği, düşük

FOXP3+ skorunun erken patolojik evre ile ilişkisi dikkate alınırsa FOXP3+ lenfosit sayısında artışın tümöre karşı immüniteyi baskılayarak tümör yayılımı ve metastaz ile ilişkili kötü prognostik bir faktör olduğu düşünülmüştür. Artmış CD4+ skorunun daha iyi histolojik grade, düşük CD4+ skorunun artmış invazyon derinliği, düşük CD4+ skorunun ileri tümör evresi, yüksek CD4+ skorunun erken patolojik evre ile ilişkisi dikkate alındığında CD4+ lenfosit sayısında artışın iyi prognostik faktör olabileceği düşünülmüştür. Azalmış FOXP3+/ CD4+ oranının daha uzun sağkalımla ilişkisi de sonucumuzu destekler özelliktedir. CD8+ TIL skorları tek başına değerlendirildiğinde prognostik önemi belirlenememiştir. Ancak CD4+ TIL ve FOXP3+ TIL ile ilişkisi anti-tümör efektör etkisini desteklemektedir. Çalışmamız sonucu TIL alt tiplerini özellikle CD4+ TIL ve FOXP3+ TIL'leri bireyselleştirilmiş risk değerlendirmesi ve uygun ileri tedavi seçimini (immünoterapi, agresif kemoterapi) öngörmek için önem taşıyan agresif klinikopatolojik davranışın genel bir göstergesi olarak düşündürmüştür. Ancak literatürde ÖSHK hastalarıyla ilgili sınırlı sayıda çalışmanın olması ve bu çalışmaların birbirinden farklı sonuçlar içermesi nedeniyle; TIL ve alt tiplerinin değerlendirilmesinde optimum yöntemleri, eşik değerleri belirlemek ve bu biyobelirteçlerin klinik ve tedavide bağımsız öngörü değerini saptamak için daha geniş çaplı çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır. TIL alt tipleri ve TT ilişkisi incelendiğinde çalışmamıza göre immünite gibi konakla ilişkili faktörlerin ve TT gibi tümörle ilişkili faktörlerin bir arada değerlendirilmesi, her iki faktörün tek başına olduğundan daha üstün prognoz değerlendirmesi ve hasta sınıflandırması elde etmemize yardımcı olabilir. Literatürde ÖSHK tanılı olgularda TIL alt tipleri ve TT karşılaştırması yapan mevcut ek çalışma tespit edilemediğinden daha geniş çaplı vaka serileriyle çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49.
2. Abdo J, Agrawal DK, Mittal SK. Basis for molecular diagnostics and immunotherapy for esophageal cancer. *Expert review of anticancer therapy*. 2017;17(1):33-45.
3. Ören MM, KARAŞAHİN EF, Mahmut U, Çelebi Ö, Karahasanoğlu S. Erzurum ili ölüm bildirim sistemi verilerinin zamansal değişimi ve 2017 yılı ölümlerinin değerlendirilmesi. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*. 2020;10(3):246-52.
4. Şencan İ, Keskinlik B. Türkiye kanser istatistikleri. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. 2017:19-44.
5. Morgan E, Soerjomataram I, Rungay H, Coleman HG, Thrift AP, Vignat J, et al. The global landscape of esophageal squamous cell carcinoma and esophageal adenocarcinoma incidence and mortality in 2020 and projections to 2040: new estimates from GLOBOCAN 2020. *Gastroenterology*. 2022;163(3):649-58. e2.
6. Hamilton SR, Aaltonen LA. Pathology and genetics of tumours of the digestive system: IARC press Lyon; 2000.
7. Ünal NG, Demir HB, Sezak M, Özkök S, Karaca B, Karabulut B, et al. Ege Üniversitesi hastanesi veri tabanındaki özofagus kanserlerinin epidemiyolojisi ve sağkalım özellikleri. *Ege Tıp Dergisi*. 2020:17-24.
8. Tustumi F, Kimura CMS, Takeda FR, Uema RH, Salum RAA, Ribeiro-Junior U, et al. Prognostic factors and survival analysis in esophageal carcinoma. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2016;29:138-41.
9. He S, Xu J, Liu X, Zhen Y. Advances and challenges in the treatment of esophageal cancer. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021;11(11):3379-92.
10. Dhanasopon AP. New molecular and immunologic targets of therapy for esophageal cancer and the prospects for ongoing and future clinical trials. *Journal of Surgical Oncology*. 2023;127(2):239-43.
11. Huang T-X, Fu L. The immune landscape of esophageal cancer. *Cancer communications*. 2019;39:1-13.
12. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Modern pathology*. 2017;30(9):1299-311.
13. Jesinghaus M, Boxberg M, Konukiewicz B, Slotta-Huspenina J, Schlitter AM, Steiger K, et al. A novel grading system based on tumor budding and cell nest size is a strong predictor of patient outcome in esophageal squamous cell carcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2017;41(8):1112-20.
14. Li ZW, He L, Zheng Z, Zhang Q, Xu YT, Chen JY, et al. Combined assessment of tumour cell nest size and desmoplastic reaction as an excellent prognostic predictor in oesophageal squamous cell carcinoma. *Histopathology*. 2022;80(7):1112-20.

15. Zhu Y, Li M, Mu D, Kong L, Zhang J, Zhao F, et al. CD8+/FOXP3+ ratio and PD-L1 expression associated with survival in pT3N0M0 stage esophageal squamous cell cancer. *Oncotarget*. 2016;7(44):71455.
16. Wang J, Tian S, Sun J, Zhang J, Lin L, Hu C. The presence of tumour-infiltrating lymphocytes (TILs) and the ratios between different subsets serve as prognostic factors in advanced hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *BMC cancer*. 2020;20:1-12.
17. Baba Y, Nomoto D, Okadome K, Ishimoto T, Iwatsuki M, Miyamoto Y, et al. Tumor immune microenvironment and immune checkpoint inhibitors in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer science*. 2020;111(9):3132-41.
18. Yagi T, Baba Y, Ishimoto T, Iwatsuki M, Miyamoto Y, Yoshida N, et al. PD-L1 expression, tumor-infiltrating lymphocytes, and clinical outcome in patients with surgically resected esophageal cancer. *Annals of surgery*. 2019;269(3):471-8.
19. Zheng X, Song X, Shao Y, Xu B, Hu W, Zhou Q, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in esophagus cancer: a meta-analysis. *S. Karger AG Basel, Switzerland*; 2018. p. 720-32.
20. Niwa Y, Yamada S, Koike M, Kanda M, Fujii T, Nakayama G, et al. Epithelial to mesenchymal transition correlates with tumor budding and predicts prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of surgical oncology*. 2014;110(6):764-9.
21. Almangush A, Karhunen M, Hautaniemi S, Salo T, Leivo I. Prognostic value of tumour budding in oesophageal cancer: a meta-analysis. *Histopathology*. 2016;68(2):173-82.
22. Hao J, Li M, Zhang T, Yu H, Liu Y, Xue Y, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes differs depending on lymphocyte subsets in esophageal squamous cell carcinoma: an updated meta-analysis. *Frontiers in Oncology*. 2020;10:614.
23. Perin S, McCann CJ, Borrelli O, De Coppi P, Thapar N. Update on foregut molecular embryology and role of regenerative medicine therapies. *Frontiers in pediatrics*. 2017;5:91.
24. Zhang Y, Jiang M, Kim E, Lin S, Liu K, Lan X, et al., editors. Development and stem cells of the esophagus. In *Seminars in cell & developmental biology*; Elsevier; 2017; 66:25-35
25. Langman J, Sadler T. *Langman's medical embryology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
26. Katz JM, Malik A, Basit H. Embryology, esophagus. *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing; 2021.
27. Takubo K. *Pathology of the esophagus: an atlas and textbook*: 2th ed, Hong Kong Springer; 2007. p.22-28.
28. Podolsky DK, Camilleri M, Fitz JG, Kalloo AN, Shanahan F, Wang TC. *Yamada's textbook of gastroenterology*: 6th ed, John Wiley & Sons; 2015.p.76.
29. Kuo B, Urma D. Esophagus-anatomy and development. *GI Motility online*. 2006.
30. Ferhatoglu MF, Kivılcım T. Anatomy of esophagus. *Esophageal Abnormalities: IntechOpen*; 2017.
31. Oezcelik A, DeMeester SR. General anatomy of the esophagus. *Thoracic surgery clinics*. 2011;21(2):289-97.
32. Chaudhry SR, Bordoni B. *Anatomy, thorax, esophagus*. 2018.

33. GÜNCELLEMELER EVS. ÖZOFAGUS KANSERİNDE YENİ TNM.
34. Patti MG, Gantert W, Way LW. Surgery of the esophagus: anatomy and physiology. *Surgical Clinics*. 1997;77(5):959-70.
35. Liebermann-Meffert D. Anatomical basis for the approach and extent of surgical treatment of esophageal cancer. *Diseases of the Esophagus*. 2001;14(2):81-4.
36. Goldblum JR, Lamps LW, McKenney J, Myers JL. Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2017.
37. Ross M, Pawlina W. Digestive system II. *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*. 2016:518-74.
38. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease E-book: pathophysiology, diagnosis, management: Elsevier health sciences; 2020.
39. Zhang X, Patil D, Odze RD, Zhao L, Lisovsky M, Guindi M, et al. The microscopic anatomy of the esophagus including the individual layers, specialized tissues, and unique components and their responses to injury. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2018;1434(1):304-18.
40. Organization WH. Turkey Source Globocan (2020). 2021.
41. Thrift AP. The epidemic of oesophageal carcinoma: where are we now? *Cancer epidemiology*. 2016;41:88-95.
42. Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, Luketich JD. Oesophageal carcinoma. *The Lancet*. 2013;381(9864):400-12.
43. Hong Y, Ding Z-Y. PD-1 inhibitors in the advanced esophageal cancer. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:1418.
44. Cook M, Chow W, Devesa S. Oesophageal cancer incidence in the United States by race, sex, and histologic type, 1977–2005. *British journal of cancer*. 2009;101(5):855-9.
45. ŞENGÜL AT. Özofagus kanserinin epidemiyolojisi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012;29(4S):203-8.
46. Casson A, Schrump D. *Biology and epidemiology of malignant esophageal carcinoma*. Elsevier, PA, USA; 2008. p. 439-53.
47. Jessri M, Rashidkhani B, Hajizadeh B, Jessri M, Gotay C. Macronutrients, vitamins and minerals intake and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control study in Iran. *Nutrition journal*. 2011;10:1-15.
48. McCain RS, McManus DT, McQuaid S, James JA, Salto-Tellez M, Reid NB, et al. Alcohol intake, tobacco smoking, and esophageal adenocarcinoma survival: a molecular pathology epidemiology cohort study. *Cancer causes & control*. 2020;31:1-11.
49. TohY O. Alcohol drinking, cigarette smoking, and the development of squamous cell carcinoma of the esophagus: molecular mechanisms of carcinogenesis. *Int J Clin Oncol*. 2010;15(2):135-44.
50. Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2013;19(34):5598.
51. Blot W, Tarone R. Esophageal Cancer In: Thun MJ, Linet MS, Cerhan JR, Haiman C, Schottenfeld D, editors. *Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention*. New York, NY: Oxford University Press; 2018:p.579-84

52. Eusebi LH, Cirolta GG, Zagari RM, Ford AC. Global prevalence of Barrett's oesophagus and oesophageal cancer in individuals with gastro-oesophageal reflux: a systematic review and meta-analysis. *Gut*. 2021;70(3):456-63.
53. LoCicero J. Malignant Lesions of The Esophagus. In: Shields General Thoracic Surgery. Philadelphia: Wolters Kluwer. 2019. p.3667-3773.
54. Turkdogan M, Testereci H, Akman N, Kahraman T, Kara K, Tuncer I, et al. Dietary nitrate and nitrite levels in an endemic upper gastrointestinal (esophageal and gastric) cancer region of Turkey. *Turkish journal of gastroenterology*. 2003;14(1):50-3.
55. Yerlikaya MB. Özofagus kanserinde neo-adjuvan kemoradyoterapinin patolojik evre üzerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Prof. Dr. Dr. Dursun Odabaşı Tıp Merkezi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2016, Van (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Öztekin Çıkman)
56. Rustgi AK, El-Serag HB. Esophageal carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(26):2499-509.
57. Çelik MR. ÖZOFAGUS KANSERİNDE SEMPTOM VE KLİNİK BULGULAR. *cancer*. 1993;329:1302-7.
58. Layke JC, Lopez PP. Esophageal cancer: a review and update. *American family physician*. 2006;73(12):2187-94.
59. Varghese TK, Hofstetter WL, Rizk NP, Low DE, Darling GE, Watson TJ, et al. The society of thoracic surgeons guidelines on the diagnosis and staging of patients with esophageal cancer. *The Annals of thoracic surgery*. 2013;96(1):346-56.
60. Kandiah K, Chedgy FJ, Subramaniam S, Thayalasekaran S, Kurup A, Bhandari P. Early squamous neoplasia of the esophagus: the endoscopic approach to diagnosis and management. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2017;23(2):75.
61. Gruner M, Denis A, Masliah C, Amil M, Metivier-Cesbron E, Luet D, et al. Narrow-band imaging versus Lugol chromoendoscopy for esophageal squamous cell cancer screening in normal endoscopic practice: randomized controlled trial. *Endoscopy*. 2021;53(07):674-82.
62. Gordon IO., Goldblum JR., Esophagus. In: Milss SE Editor. *Steinberg's Diagnostic Surgical Pathology, Volume II*. 6th ed. Wolters Kluwer Health; 2015. p.2692-2759.
63. Society JE. Japanese classification of esophageal cancer: part I. Esophagus. 2017;14(1):1-36.
64. Goldblum JR., Esophagus. In: Rosai J. Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. p. 585-597
65. Odze RD, Lam AK, Ochiai A, Washington MK, Oesophagus, In: *World Health Organization Classification of Tumors of the Digestive System*. 5th ed. Lyon: IARC Press; 2019. p.17-52.
66. Glickman JN, Odze RD, Epithelial Neoplasms of the Esophagus. In: Odze RD, Goldblum JR (ed). *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2015. p. 791-828.
67. Taggart MW, Foo WC, Lee SM, *Gastrointestinal System, Pancreas and Liver*. In: Moran CA, Kalhor N, Weissferdt A (ed). *Oncological surgical pathology*. Switzerland: Springer Nature; 2020. p.705-13
68. Lam AK. *Esophageal Squamous Cell Carcinoma*: Springer; 2020. P.7-18

69. Deere HM. Pathology of esophageal cancer. This page intentionally left blank. 2007;14.
70. Raza MA, Mazzara PF. Sarcomatoid carcinoma of esophagus. Archives of pathology & laboratory medicine. 2011;135(7):945-8.
71. Chen S-B, Weng H-R, Wang G, Yang J-S, Yang W-P, Li H, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus. Journal of cancer research and clinical oncology. 2012;138:1165-71.
72. Tustumi F, Kimura CMS, Takeda FR, Sallum RAA, Ribeiro-Junior U, Ceconello I. Evaluation of lymphatic spread, visceral metastasis and tumoral local invasion in esophageal carcinomas. ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo). 2016;29:215-7.
73. Wang Y, Zhu L, Xia W, Wang F. Anatomy of lymphatic drainage of the esophagus and lymph node metastasis of thoracic esophageal cancer. Cancer Management and Research. 2018;6295-303.
74. Daiko H, Kato K. Updates in the 8th edition of the TNM staging system for esophagus and esophagogastric junction cancer. Japanese Journal of Clinical Oncology. 2020;50(8):847-51.
75. Amin MB, Edge S, Greene F. eds. AJCC cancer staging manual. 8th Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer. 2017:195-204.
76. Miyamoto H, Kunisaki C, Sato S, Tanaka Y, Sato K, Kosaka T, et al. Tumor volume index as a prognostic factor in patients after curative esophageal cancer resection. Annals of surgical oncology. 2019;26:1909-15.
77. Aghcheli K, Marjani H-A, Nasrollahzadeh D, Islami F, Shakeri R, Sotoudeh M, et al. Prognostic factors for esophageal squamous cell carcinoma—a population-based study in Golestan Province, Iran, a high incidence area. PloS one. 2011;6(7):e22152.
78. Wijnhoven BP, Tran KT, Esterman A, Watson DI, Tilanus HW. An evaluation of prognostic factors and tumor staging of resected carcinoma of the esophagus. Annals of surgery. 2007;245(5):717.
79. Zeybek A, Erdoğan A, Gülkesen KH, Ergin M, Sarper A, Dertsiz L, et al. Significance of tumor length as prognostic factor for esophageal cancer. International Surgery. 2013;98(3):234-40.
80. Yuequan J, Shifeng C, Bing Z. Prognostic factors and family history for survival of esophageal squamous cell carcinoma patients after surgery. The Annals of thoracic surgery. 2010;90(3):908-13.
81. Eloubeidi MA, Desmond R, Arguedas MR, Reed CE, Wilcox CM. Prognostic factors for the survival of patients with esophageal carcinoma in the US: the importance of tumor length and lymph node status. Cancer. 2002;95(7):1434-43.
82. Deng W, Zhang W, Yang J, Ni W, Yu S, Li C, et al. Nomogram to predict overall survival for thoracic esophageal squamous cell carcinoma patients after radical esophagectomy. Annals of Surgical Oncology. 2019;26:2890-8.
83. Sarbia M, Bittinger F, Porschen R, Dutkowski P, Willers R, Gabbert HE. Prognostic value of histopathologic parameters of esophageal squamous cell carcinoma. Cancer. 1995;76(6):922-7.
84. Lin J, Beerm DG, editors. Molecular biology of upper gastrointestinal malignancies. Seminars in oncology; 2004: Elsevier.

85. Ohashi S, Miyamoto Si, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent advances from basic and clinical studies of esophageal squamous cell carcinoma. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1700-15.
86. Evans JA, Early DS, Chandraskhara V, Chathadi KV, Fanelli RD, Fisher DA, et al. The role of endoscopy in the assessment and treatment of esophageal cancer. *Gastrointestinal endoscopy*. 2013;77(3):328-34.
87. Kato H, Nakajima M. Treatments for esophageal cancer: a review. *General thoracic and cardiovascular surgery*. 2013;61:330-5.
88. Hase K, Shatney C, Johnson D, Trollope M, Vierra M. Prognostic value of tumor “budding” in patients with colorectal cancer. *Diseases of the colon & rectum*. 1993;36:627-35.
89. Gabbert H. Mechanisms of tumor invasion: evidence from in vivo observations. *Cancer and Metastasis Reviews*. 1985;4:293-309.
90. Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K, Kakegawa K, Irie K, Morimatsu M. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. *Cancer*. 1989;63(3):539-43.
91. Ueno H, Murphy J, Jass J, Mochizuki H, Talbot I. Tumour budding as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology*. 2002;40(2):127-32.
92. Venkatesh D, Smitha T. Cell budding. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*. 2019;23(3):330.
93. Zlobec I, Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: tumor budding as oncotarget. *Oncotarget*. 2010;1(7):651.
94. Li H, Xu F, Li S, Zhong A, Meng X, Lai M. The tumor microenvironment: an irreplaceable element of tumor budding and epithelial-mesenchymal transition-mediated cancer metastasis. *Cell adhesion & migration*. 2016;10(4):1-13.
95. Grigore AD, Jolly MK, Jia D, Farach-Carson MC, Levine H. Tumor budding: the name is EMT. Partial EMT. *Journal of clinical medicine*. 2016;5(5):51.
96. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for diagnostic practice? *Human pathology*. 2016;47(1):4-19.
97. Dawson H, Lugli A. Molecular and pathogenetic aspects of tumor budding in colorectal cancer. *Frontiers in medicine*. 2015;2:11.
98. Xiang Z, He Q, Huang L, Xiong B, Xiang Q. Breast Cancer Classification Based on Tumor Budding and Stem Cell-Related Signatures Facilitate Prognosis Evaluation. *Frontiers in Oncology*. 2022;11:818869.
99. Karamitopoulou E. Tumor budding cells, cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition-type cells in pancreatic cancer. *Frontiers in oncology*. 2013;2:209.
100. Kakar S, Shi C, Berho ME, et al. Protocol for the examinations of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum, June 2017:version : colon rectum 4.0.0.0. Includes pTNM requirements from the 8th Edition AJCC. [http:// www.cap.org](http://www.cap.org)
101. Koelzer VH, Langer R, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in upper gastrointestinal carcinomas. *Frontiers in oncology*. 2014;4:216.

102. Qian L, Zhang J, Lu S, He X, Feng J, Shi J, et al. Potential key roles of tumour budding: a representative malignant pathological feature of non-small cell lung cancer and a sensitive indicator of prognosis. *BMJ open*. 2022;12(3):e054009.
103. Nakagawa Y, Ohira M, Kubo N, Yamashita Y, Sakurai K, Toyokawa T, et al. Tumor budding and E-cadherin expression are useful predictors of nodal involvement in T1 esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer research*. 2013;33(11):5023-9.
104. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *British journal of cancer*. 2012;106(11):1713-7.
105. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature immunology*. 2002;3(11):991-8.
106. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-70.
107. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Current opinion in immunology*. 2014;27:16-25.
108. Hori Y, Kubota A, Yokose T, Furukawa M, Matsushita T, Katsumata N, et al. Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Tumor Budding in Early Oral Tongue Carcinoma. *The Laryngoscope*. 2021;131(11):2512-8.
109. Li X-M, Zhao Z-Y, Yu X, Xia Q-D, Zhou P, Wang S-G, et al. Exploiting E3 ubiquitin ligases to reeducate the tumor microenvironment for cancer therapy. *Experimental Hematology & Oncology*. 2023;12(1):34.
110. Hall JE, Hall ME. Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book: Elsevier Health Sciences; 2020.
111. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic immunology e-book: functions and disorders of the immune system: Elsevier Health Sciences; 2019.
112. Kim HI, Kim H, Cho HW, Kim SY, Song KJ, Hyung WJ, et al. The ratio of intra-tumoral regulatory T cells (Foxp3+)/helper T cells (CD4+) is a prognostic factor and associated with recurrence pattern in gastric cardia cancer. *Journal of surgical oncology*. 2011;104(7):728-33.
113. Zheng X, Song X, Shao Y, Xu B, Hu W, Zhou Q, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in esophagus cancer: a meta-analysis. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;45(2):720-32.
114. Cho Y, Miyamoto M, Kato K, Fukunaga A, Shichinohe T, Kawarada Y, et al. CD4+ and CD8+ T cells cooperate to improve prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer research*. 2003;63(7):1555-9.
115. Nozoe T, Maehara Y, Sugimachi K. Preoperative sorting of circulating T lymphocytes in patients with esophageal squamous cell carcinoma: its prognostic significance. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2005;11(42):6689.
116. Schumacher K, Haensch W, Röefzaad C, Schlag PM. Prognostic significance of activated CD8+ T cell infiltrations within esophageal carcinomas. *Cancer research*. 2001;61(10):3932-6.
117. Wang J, Jia Y, Wang N, Zhang X, Tan B, Zhang G, et al. The clinical significance of tumor-infiltrating neutrophils and neutrophil-to-CD8+

- lymphocyte ratio in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of translational medicine*. 2014;12:1-10.
118. Jiang D, Liu Y, Wang H, Wang H, Song Q, Sujie A, et al. Tumour infiltrating lymphocytes correlate with improved survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Scientific reports*. 2017;7(1):44823.
 119. Deng G, Song X, Fujimoto S, Piccirillo CA, Nagai Y, Greene MI. Foxp3 post-translational modifications and Treg suppressive activity. *Frontiers in immunology*. 2019;10:2486.
 120. Lu L, Barbi J, Pan F. The regulation of immune tolerance by FOXP3. *Nature Reviews Immunology*. 2017;17(11):703-17.
 121. Xia M, Zhao M-q, Wu K, Lin X-y, Liu Y, Qin Y-j. Investigations on the clinical significance of FOXP3 protein expression in cervical oesophageal cancer and the number of FOXP3+ tumour-infiltrating lymphocytes. *Journal of international medical research*. 2013;41(4):1002-8.
 122. Yoshioka T, Miyamoto M, Cho Y, Ishikawa K, Tsuchikawa T, Kadoya M, et al. Infiltrating regulatory T cell numbers is not a factor to predict patient's survival in oesophageal squamous cell carcinoma. *British journal of cancer*. 2008;98(7):1258-63.
 123. Koike M, Kodera Y, Itoh Y, Nakayama G, Fujiwara M, Hamajima N, et al. Multivariate analysis of the pathologic features of esophageal squamous cell cancer: tumor budding is a significant independent prognostic factor. *Annals of Surgical Oncology*. 2008;15:1977-82.
 124. Zhu Y, Li M, Bo C, Liu X, Zhang J, Li Z, et al. Prognostic significance of the lymphocyte-to-monocyte ratio and the tumor-infiltrating lymphocyte to tumor-associated macrophage ratio in patients with stage T3N0M0 esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2017;66:343-54.
 125. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al. *AJCC cancer staging manual*: Springer; 2017.
 126. Chen K, Zhu Z, Zhang N, Cheng G, Zhang F, Jin J, et al. Tumor-infiltrating CD4+ lymphocytes predict a favorable survival in patients with operable esophageal squamous cell carcinoma. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2017;23:4619.
 127. Noble F, Mellows T, McCormick Matthews LH, Bateman AC, Harris S, Underwood TJ, et al. Tumour infiltrating lymphocytes correlate with improved survival in patients with oesophageal adenocarcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2016;65:651-62.
 128. Wang LD, Shi ST, Zhou Q, Goldstein S, Hong JY, Shao P, et al. Changes in p53 and cyclin D1 protein levels and cell proliferation in different stages of human esophageal and gastric-cardia carcinogenesis. *International journal of cancer*. 1994;59(4):514-9.
 129. Nearchou IP, Lillard K, Gavriel CG, Ueno H, Harrison DJ, Caie PD. Automated analysis of lymphocytic infiltration, tumor budding, and their spatial relationship improves prognostic accuracy in colorectal cancer. *Cancer immunology research*. 2019;7(4):609-20.
 130. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R, Nagtegaal ID. Tumour budding in solid cancers. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2021;18(2):101-15.

131. Mäkitie AA, Almangush A, Rodrigo JP, Ferlito A, Leivo I. Hallmarks of cancer: Tumor budding as a sign of invasion and metastasis in head and neck cancer. *Head & neck*. 2019;41(10):3712-8.
132. Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, Sitkauskiene B, Miliauskas S, Bajoriunas V, et al. The prognostic influence of tumor infiltrating Foxp3⁺ CD4⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T cells in resected non-small cell lung cancer. *Journal of inflammation*. 2015;12:1-9.
133. Roh M, Lee J, Choi P. Tumor budding as a useful prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Diseases of the Esophagus*. 2004;17(4):333-7.
134. Miyata H, Yoshioka A, Yamasaki M, Nushijima Y, Takiguchi S, Fujiwara Y, et al. Tumor budding in tumor invasive front predicts prognosis and survival of patients with esophageal squamous cell carcinomas receiving neoadjuvant chemotherapy. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2009;115(14):3324-34.
135. Teramoto H, Koike M, Tanaka C, Yamada S, Nakayama G, Fujii T, et al. Tumor budding as a useful prognostic marker in T1-stage squamous cell carcinoma of the esophagus. *Journal of surgical oncology*. 2013;108(1):42-6.
136. Ito E, Ozawa S, Kijima H, Kazuno A, Nishi T, Chino O, et al. New invasive patterns as a prognostic factor for superficial esophageal cancer. *Journal of gastroenterology*. 2012;47:1279-89.
137. Min BH, Yang JW, Min YW, Baek SY, Kim S, Kim HK, et al. Nomogram for prediction of lymph node metastasis in patients with superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020;35(6):1009-15.
138. Brown M, Sillah K, Griffiths EA, Swindell R, West CM, Page RD, et al. Tumour budding and a low host inflammatory response are associated with a poor prognosis in oesophageal and gastro-oesophageal junction cancers. *Histopathology*. 2010;56(7):893-9.
139. Nakanishi Y, Ohara M, Doumen H, Kimura N, Ishidate T, Kondo S. Correlation between tumor budding and post-resection prognosis in patients with invasive squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus. *World journal of surgery*. 2011;35:349-56.
140. Şenol S. Özofagus yassı epitel hücreli karsinomlarında CD44s ekspresyonunun klinikopatolojik faktörlerle ilişkisi ve prognostik önemi Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2006, Van (Danışman: Yrd. Doç. Dr. İrfan BAYRAM)
141. Mitobe J, Ikegami M, Urashima M, Takahashi H, Goda K, Tajiri H. Clinicopathological investigation of lymph node metastasis predictors in superficial esophageal squamous cell carcinoma with a focus on evaluation of lympho-vascular invasion. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2013;48(10):1173-82.
142. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of oncology*. 2015;26(2):259-71.
143. Motz GT, Coukos G. Deciphering and Reversing Tumor Immune Suppression. *Immunity*. 2013;39(1):61-73.

144. Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The Continuum of Cancer Immunosurveillance: Prognostic, Predictive, and Mechanistic Signatures. *Immunity*. 2013;39(1):11-26.
145. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(4):298-306.
146. McArdle P, Canna K, McMillan D, McNicol A, Campbell R, Underwood M. The relationship between T-lymphocyte subset infiltration and survival in patients with prostate cancer. *British journal of cancer*. 2004;91(3):541-3.
147. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2016;4:1-7.
148. Miyashita M, Sasano H, Tamaki K, Chan M, Hirakawa H, Suzuki A, et al. Tumor-infiltrating CD8⁺ and FOXP3⁺ lymphocytes in triple-negative breast cancer: its correlation with pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast cancer research and treatment*. 2014;148:525-34.
149. Liu F, Lang R, Zhao J, Zhang X, Pringle GA, Fan Y, et al. CD8⁺ cytotoxic T cell and FOXP3⁺ regulatory T cell infiltration in relation to breast cancer survival and molecular subtypes. *Breast cancer research and treatment*. 2011;130:645-55.
150. Zingg U, Montani M, Frey D, Dirnhofer S, Esterman A, Went P, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and survival in patients with adenocarcinoma of the oesophagus. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2010;36(7):670-7.
151. Baba Y, Yagi T, Kosumi K, Okadome K, Nomoto D, Eto K, et al. Morphological lymphocytic reaction, patient prognosis and PD-1 expression after surgical resection for oesophageal cancer. *Journal of British Surgery*. 2019;106(10):1352-61.
152. Wang H, Su C, Li Z, Ma C, Hong L, Li Z, et al. Evaluation of multiple immune cells and patient outcomes in esophageal squamous cell carcinoma. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1091098.
153. Hatogai K, Kitano S, Fujii S, Kojima T, Daiko H, Nomura S, et al. Comprehensive immunohistochemical analysis of tumor microenvironment immune status in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(30):47252.
154. Gao Q, Qiu S-J, Fan J, Zhou J, Wang X-Y, Xiao Y-S, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *Journal of clinical oncology*. 2007;25(18):2586-93.
155. Fujiyoshi K, Väyrynen JP, Borowsky J, Papke DJ, Arima K, Haruki K, et al. Tumour budding, poorly differentiated clusters, and T-cell response in colorectal cancer. *EBioMedicine*. 2020;57.
156. Wartenberg M, Zlobec I, Perren A, Koelzer VH, Gloor B, Lugli A, et al. Accumulation of FOXP3⁺ T-cells in the tumor microenvironment is associated with an epithelial-mesenchymal-transition-type tumor budding phenotype and is an independent prognostic factor in surgically resected pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2015;6(6):4190.
157. Li Z, Liu L, Wang B, Ying J, He J, Xue L. Tumor budding and tumor-infiltrating lymphocytes can predict prognosis in pT1b esophageal squamous cell carcinoma. *Thoracic cancer*.

158. Zhao Y, Xu E, Yang X, Zhang Y, Chen H, Wang Y, et al. Tumor infiltrative growth pattern correlates with the immune microenvironment and is an independent factor for lymph node metastasis and prognosis in stage T1 esophageal squamous cell carcinoma. *Virchows Archiv*. 2020;477:401-8.

