T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

İNTESTİNAL TİP MİDE ADENOKARSİNOMLARININ İNVAZYON SÜRECİNDE TÜMÖR STROMASI VE TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN ÖZELLİKLERİ, L-CALDESMON VE PERİOSTİN İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Elif AYDIN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Semin AYHAN

Manisa, 2025

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

İNTESTİNAL TİP MİDE ADENOKARSİNOMLARININ İNVAZYON SÜRECİNDE TÜMÖR STROMASI VE TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİN ÖZELLİKLERİ, L-CALDESMON VE PERİOSTİN İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif AYDIN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Semin AYHAN

Manisa, 2025

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi, birikim ve tecrübesiyle bana yol gösterici ve destek olan, enerjisi ve titizliğine hayran olduğum tez danışanım Prof. Dr Semin Ayhan'a; sonsuz hoşgörüsü ve sabrıyla her konuda desteğini ve emeğini esirgemeyen Prof. Dr. Aydın İşisağ'a; deneyimleri ve bilimsel bakış açısıyla eğitimime yön veren, pratiklik ve hızlı düşünmenin patolojideki önemini bize öğreten Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu'na; zorlu asistanlık süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, şefkati ve hoşgörüsü ile eğitimime büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Peyker Temiz'e; bilgisi, azmi ve çalışkanlığına hayran olduğum, gerektiğinde bizimle arkadaş gibi olma tevazusunu gösterebilen Prof. Dr. Nalan Neşe'ye; yoğun iş temposuna rağmen bize yardımcı olmaya çalışan, neşesi ve çalışkanlığı ile örnek tablo oluşturan Doç. Dr. Ayça Tan'a; bana her zaman yardımcı olan, desteğini esirgemeyen, titizliği ve patolojiye sevgisiyle örnek olan Dr. Öğr. Üyesi Seda Mavili, Dr. Öğr. Üyesi Ömer Atmış ve Dr. Öğr. Üyesi Fatma Seher Pehlivan'a, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde emeği geçen Dr. Naci Murat'a; birlikte çok güzel hatıralar biriktirdiğim ve biriktireceğim beraber çalışmaktan büyük zevk duyduğum asistan arkadaşlarıma; asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve tez süresince bana yardımcı olan, laboratuvar ekibi, personel ve sekreter arkadaşlarıma; tüm hayatım boyunca bana destek veren, sevgilerini eksik etmeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Elif Aydın

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ 1

II. GENEL BİLGİLER 4

1. Mide Kanserlerinde İnsidans ve Epidemiyoloji 4
2. Mide Karsinomlarının Etiyolojik Faktörleri 5
   2.1. Çevresel Faktörler 5
   2.2. Kişisel Faktörler 6
   2.3. Aile Öyküsü ve Genetik Faktörler 6
3. Mide Karsinomlarının Prekürsör Lezyonları 7
4. Mide Karsinomlarının Klinik Özellikleri 8
5. Mide Karsinomlarının Lokalizasyonu 8
6. Mide Karsinomlarının Sınıflandırılması 9
   6.1. Mide Karsinomlarının Histolojik Sınıflandırması 11
7. Mide Karsinomlarının Derecelendirilmesi 13
8. Mide Karsinomlarının Yayılımı ve Evrelemesi 14
9. Mide Karsinomlarında Tedavi 15
10. Mide Karsinomlarında Prognoza Etki Eden Faktörler 16
11. Tümör Mikroçevresi 19
   11.1. Tümör Tomurcuklanması 19
   11.2. Tümör Stroması 21
   11.3. Tümörle İlişkili Makrofajlar 23
   11.4. TMÇ'ye Yönelik İmmunohistokimyasal Belirteçler 24

III. GEREÇ VE YÖNTEM 27

IV. BULGULAR 33

1. Olgularda Demografik ve Klinik Bulgular 33
2. Olgularda Histopatolojik Bulgular 33
3. Tümör Mikroçevresinin Değerlendirilmesi 38
   3.1. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi 39
   3.2. Tümör Stromasının Değerlendirilmesi 43
   3.3. Tümörle İlişkili Makrofajların Değerlendirilmesi 45
4. L-Caldesmon ve Periostin'in Değerlendirilmesi 48
5. Olguların Klinik İzlemleri İle Histopatolojik ve İHK Bulguların İlişkisi 53
6. Hastalıksız Sağkalım Süreleri ile Histopatolojik Bulguların İlişkisi 55
7. Nüks Gelişimi ile Histopatolojik Bulguların İlişkisi 57

V. TARTIŞMA 67
VI. SONUÇLAR..... 80
VII. ÖZET 84
VIII. ABSTRACT 86
IX. KAYNAKLAR 88

KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC : American Joint Committee on Cancer
CaD : Kaldesmon
CAF : Kanser İlişkili Fibroblastlar
CAL-D1 : Kaldesmon Geni
CAP : Collage of American Pathologist
CDH1 : E-kaderin
CSF-1 : Koloni Stimülize Edici Faktör
DC : Dentritik Hücre
DFS : Hastalıksız Sağkalım
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EBV : Epstein-Barr Virüsü
ECM : Ekstrasellüler Matriks
EGF : Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR : İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EMT : Epitelyal Mezenkimal Transizyon
H&E : Hematoksilen & Eosin
HGF : Hepatosit Büyüme Faktörü
FAP : Ailesel Adenomatozis Polipozis
FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü
GSK : Genel Sağkalım
HP : Helikobakter Pilori
HR : Hazard Ratio
H-CaD : Yüksek Molekül Ağırlıklı Kaldesmon

ITBCC : Uluslararası Tümör Tomurcuklanması Konsensus Konferansı (International Tumor Budding Consensus Conference)

İHK : İmmunhistokimya

İLY : İntratümöral Lenfositik Yanıt

IM : İntestinal Metaplazi

KRK : Kolorektal Kanser

KT : Kemoterapi

L-CaD : Düşük Molekül Ağırlıklı Kaldesmon

LN : Lenf Nodu

LNM : Lenf Nodu Metastazı

LVİ : Lenfovasküler İnvazyon

MSI : Mikrosatellit İnstabilite

OS : Ortalama Sağkalım

PDGF : Platelet İlişkili Büyüme Faktörü

PLY : Peritümöral Lenfositik Yanıt

PNİ : Perinöral İnvazyon

RT : Radyoterapi

SMA : Düz Kas Aktin

TAM : Tümörle İlişkili Makrofaj

TIL : Tümörü İnfiltre Eden Lenfositler

TGF : Transforme Edici Büyüme Faktörü

TGF-ß : Transforme Edici Büyüme Faktörü- Beta

TMÇ : Tümör Mikroçevresi

TNF-α : Tümör Nekroz Faktör Alfa

TNM : Tümör-Nod-Metastaz

TT : Tümör Tomurcuklanması

TSO : Tümör-Stroma Oranı

UICC : International Union Aganist Cancer

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

I. GİRİŞ

Mide kanseri, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre en sık görülen 5. kanser türü olup, mortalite açısından en yüksek 3. kanser türüdür. Mide kanserleri morfolojileri ve histopatolojik özellikleri dikkate alınarak yıllar içerisinde farklı şekillerde sınıflandırılmışlardır. Birçok sınıflama önerilmiş olmakla beraber en sık kullanılanlar; intestinal, diffüz ve mikst (indeterminant) tip olmak üzere üç histolojik tip tanımlayan Lauren sınıflaması ve daha fazla histolojik alt grup tanımlayan DSÖ sınıflamalarıdır. Ancak mide kanseri, histolojik tipi ne olursa olsun, özellikle ileri evrede olduğunda kötü prognozludur ve histolojik tipe özgü tedavi seçenekleri geliştirilememiştir. Mide kanserinin küratif tedavisi cerrahi rezeksiyon olmasına rağmen çoğu hastada sadece cerrahi tedavi yetersiz kalmakta ve neoadjuvan ya da adjuvan tedavilere gereksinim olmaktadır. Yeni tedavi modaliteleri denenmekle birlikte sağkalım oranlarının yine de düşük seviyelerde olması, bilim insanlarını mide kanserinin patogenezi konusunda araştırmaya ve daha etkili yeni tedavi seçenekleri geliştirmeye yöneltmektedir. Bu nedenle yeni prognostik belirteçlerin araştırılması ve terapötik amaçlı kullanılabilecek yeni hedef moleküllerin saptanması, mide kanserinin tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

Mide kanserinin prognozunu belirlemede, TNM (Tümör-Nod-Metastaz) evrelemesi, histolojik DSÖ ve Lauren sınıflamaları, lenfatik/vasküler invazyon ve perinöral invazyon gibi kriterler önem taşımaktadır. Ancak bu prognostik faktörlerle ilişkili sağkalım sonuçları değişik çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle mide kanserinde alt gruplardaki prognozun daha kesin olarak değerlendirilmesi için yeni histolojik ve moleküler belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Son zamanlarda tartışılan histopatolojik parametrelerden birisi de peritümöral stromadaki tümör tomurcuklanmasıdır. Tümör tomurcuklanması (TT), tümör hücreleri ya da kümelerinin invazyon sınırından tümörü çevreleyen stromanın içine göç etmesi olarak tanımlanan, epitelyal- mezenkimal değişimin (EMT) histolojik yansımasıdır. Tümör tomurcuklanması ve peritümöral stromadaki desmoplastik reaksiyonun, başta kolorektal karsinom olmak üzere çeşitli tümörlerde prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tümör tomurcuklanması üzerine yapılan araştırmalarda, tomurcuklanma derecesinin tümördeki epitelyal-mezenkimal geçişle bağlantılı olduğu öne sürülmektedir. Bu nedenle, çeşitli tümör gruplarında yürütülen araştırmalar, tümör tomurcuklanmasının bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Tümör stromasındaki desmoplastik reaksiyonun özelliklerinin de kolorektal karsinomda prognozla ilişkili olduğu gösterilmiş olmasına rağmen şimdilik patoloji raporlarında rutin bir prognostik faktör olarak değerlendirilmemektedir.

Mide kanserlerinde diğer kanserlerde olduğu gibi tümör mikroçevresi (TMÇ); lenfositleri, mast hücrelerini, makrofajları, doğal öldürücü hücreleri (NK hücreler), dendritik hücreleri (DC) ve monositik/myeloid-kökenli supresör hücreleri (M-MDSC) içerir. İmmun hücreler arasında, M1 ve M2 makrofajlar dahil olmak üzere tümörle ilişkili makrofajların ve miyeloid türevli baskılayıcı hücrelerin (MDSC'ler) sitokinler salgılayarak veya immun yanıtları modüle ederek doğrudan ya da dolaylı olarak mide karsinogenezini desteklediği bildirilmektedir. Tümörle ilişkili makrofajların (TAM) varlığı ve yoğunluğu prognoz ve tedaviye direnç ile ilişkilendirilmiştir. İmmunolojik mekanizmalar mide kanseri gelişimini ve prognozu etkileyen önemli faktörlerdir. Çeşitli immunoterapiler mide kanserini daha etkili şekilde tedavi etmek için bir yol olarak kullanılmaktadır.

Mide kanserinde, tümör mikroçevresinin immunolojik ve stromal bileşenleri ile tümör progresyonu arasındaki ilişki giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Özellikle, tümör tomurcuklanması ve desmoplastik reaksiyonun invazyon ve metastaz süreçlerindeki rolü halen tam olarak aydınlatılamamış olup, bu parametrelerin prognostik değerine dair çelişkili

veriler bulunmaktadır. Ekstrasellüler matriks proteinlerinden L-Caldesmon (L-CaD) ve Periostin, tümör mikroçevresi ile etkileşime girerek kanser hücrelerinin invazyon ve metastaz yeteneğini artırabilen moleküller arasında gösterilmekte olup, bu proteinlerin mide kanserindeki prognostik ve terapötik potansiyelleri halen netlik kazanmamıştır.

Bu çalışma, intestinal tip mide adenokarsinomu tanısı almış olgularda, tümör mikroçevresi ve stromal özellikler açısından detaylı bir histopatolojik değerlendirme yapmayı ve prognoz ile ilişkili verileri incelemeyi amaçlamaktadır. Tümör tomurcuklanması ve desmoplastik yanıt histopatolojik yöntemlerle analiz edilirken, tümör mikroçevresinde yer alan immun sistem hücreleri ile L-CaD ve Periostin ekspresyonları immunohistokimyasal (İHK) yöntemle incelenecektir. Bu kapsamda elde edilecek veriler, L-CaD ve Periostin'in mide kanseri progresyonundaki rollerini, tümör mikroçevresi ile etkileşimlerini ve prognostik potansiyellerini belirleyerek, bu moleküllerin yeni terapötik hedefler olarak değerlendirilebilme olasılığını ortaya çıkaracaktır.

Kanser biyolojisi alanındaki güncel çalışmalar, tümör hücrelerindeki onkojenik süreçler yanı sıra, tümör-stroma etkileşiminin hastalığın seyri üzerindeki belirleyici rolüne odaklanmaktadır. Ancak, mide kanserinde stromal mikroçevrenin tümör progresyonu ile ilişkisini tam anlamıyla açıklayan prognostik belirteçler henüz tanımlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın sonuçları, mide kanserinde tümör-stroma dinamiklerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayarak, immunoterapiler ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için yeni perspektifler sunabilir.

II. GENEL BİLGİLER

1. Mide Kanserlerinde İnsidans ve Epidemiyoloji

Mide kanserlerinin %90'dan fazlasını oluşturan mide adenokarsinomu, mide mukozasının epitelinden gelişen malign epitelyal neoplazmdır. Mide kanseri dünyada tüm kanserler arasında 5. sırada, kansere bağlı ölüm nedenlerinde 3. sırada yer almaktadır (1).

2022 yılı GLOBOCAN verilerine göre Türkiye'de mide kanseri, tüm kanserler arasında 7. sırada görülmekle birlikte kansere bağlı ölüm nedenlerinde yine üçüncü sırada yer almaktadır (2). Türkiye'de Kanser Daire Başkanlığı 2018 yılı istatistiki verilerine göre, tüm kanserler arasında mide kanseri, 50-69 yaş arası erkeklerde %6 ile 5. sırada, kadınlarda %3 ile 7. sırada izlenmektedir (3).

Mide kanseri insidansı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Dünya genelinde olguların %70'ten fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülmekte ve olguların yarısı Doğu Asya, özellikle de Çin'de görülmektedir. Coğrafi değişkenliğin sebebi belirsiz olmakla birlikte, çevresel etkenlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (4).

Mide kanseri hemen hemen tüm ülkelerde, erkeklerde kadınlara oranla 1,2-2,5 kat daha fazla görülmektedir. İntestinal tip adenokarsinomlarda bu oran 2/1 olup diffüz tip adenokarsinomlarda erkek kadın oranı eşittir (5). Histolojik tipi ne olursa olsun mide kanseri genellikle 5. dekatta ortaya çıkmakla birlikte sıklığı yaşla artar (6). Mide kanseri 30 yaşından daha genç olanlarda daha düşük oranda görülür.

2. Mide Karsinomlarının Etiyolojik Faktörleri

2.1. Çevresel Faktörler

a. Helikobakter Pilori (HP) Enfeksiyonu: HP'nin, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından 1994'te, intestinal tip mide kanseri gelişiminde grup 1 karsinojen olduğu kabul edilmiştir (7). Hijyenik olmayan ortamlarda yaşamak ve düşük sosyoekonomik durum HP prevelansını arttıran faktörler arasındadır (8). Uzun süreli HP enfeksiyonu; kronik gastrit, multifokal mukozal atrofi, intestinal metaplazi (İM) ve intraepitelyal neoplazi basamaklarının izlendiği prekanseröz sürece neden olmaktadır (3).

b. Beslenme Alışkanlıkları: Yapılan çalışmalarda, özellikle intestinal tip adenokarsinomların gelişiminde beslenme alışkanlıklarının önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Yüksek miktarda tuz, tütsülenmiş et ve sebze, soya sosu, salamura yiyecekler mide kanseri riskini arttırmaktadır (9).

c. Alkol: Alkol tüketimi ile mide kanseri gelişme riski arasındaki ilişki açısından yapılmış olan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir (10).

d. **İyonizan Radyasyon:** Mide kanseri dışında başka primer maligniteler sebebiyle kemoterapi (KT) veya radyoterapi (RT) alan genç hastaların takibinde mide adenokarsinomu gelişebildiği bazı çalışmalarda raporlanmıştır (11).

e. Sosyoekonomik Durum: Mide kanseri gelişim riski, sosyoekonomik düzeyi düşük olan ülkelerde, gelişmiş olanlara göre daha yüksektir (12).

f. Epstein-Barr Virüs (EBV) Enfeksiyonu: Bazı mide kanseri olguları EBV ile ilişkilidir, bu nedenle sıklığı ülkelere göre değişiklik gösterir (13). Lenfoid stromadan zengin mide kanserlerinin büyük bir kısmında EBV genomu saptanmıştır (14). EBV ilişkili mide kanseleri, sıklıkla midenin proksimal bölgesini tutar ve daha düşük evrededir. Bu nedenle hastalık ilişkili sağkalımları diğer mide kanserlerinde göre daha uzundur (15).

g. Sigara: Sigara, tüm mide kanserlerinin %10'u ile ilişkili bulunan çevresel faktörlerden biridir. Yapılan çalışmalarda, sigaranın prekürsör mide lezyonların gelişimini indüklediği gösterilmiştir.

2.2. Kişisel Faktörler

a. Parsiyel Gastrektomi: Daha önceden geçirilmiş parsiyel gastrektomiler mide kanseri gelişimindeki majör risk faktörlerinden biridir. Bazı cerrahi operasyonlardan sonra gelişen safra reflüsünün, mide PH'sının artmasına bağlı olarak İM oranını arttırdığı ve bunun da mide kanseri için risk oluşturduğu bildirilmiştir (16).

b. A Kan Grubu: A kan grubuna sahip olan kişilerde diğer kan gruplarına sahip olanlara göre mide kanser riski daha yüksektir. Bu riskin, HP'nin Lewis B antijenine bağlanarak kronik inflamasyonu arttırması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (17).

c. Pernisyöz Anemi: Otoimmun gastrit ve HP gastriti sonucu gelişen pernisyöz anemili hastalarda kronik atrofik gastrit ve aklorhidriye bağlı olarak mide kanseri riski artmıştır (18).

2.3. Aile Öyküsü ve Genetik Faktörler

Çoğu mide kanseri sporadiktir, ancak mide kanserlerinin %3-5 kadarı herediterdir. Herediter mide kanseri olgularının önemli bir kısmını E-cadherin (CDH1) gen mutasyonu ile karakterize ve otozomal dominant geçiş gösteren herediter diffüz mide kanseri (HDGC) oluşturmaktadır. APC gen mutasyonunun neden olduğu mide adenokarsinomu ve proksimal polipozis sendromu ile ailesel intestinal mide kanseri (FIGC) de diğer herediter nedenleri oluşturmaktadırlar. Ayrıca familyal adenomatöz polipozis (FAP), Lynch, Peutz-Jeghers, Juvenil polipozis ve Li-Fraumeni sendromu gibi gastrointestinal kanser sendromlarında da mide kanseri riski artmıştır (19).

3. Mide Karsinomlarının Prekürsör Lezyonları

a. Kronik Atrofik Gastrit ve İntestinal Metaplazi: Mide mukozasının kronik inflamasyona maruz kalması bazı fenotipik değişikliklere neden olur. Kronik gastritte, mide mukozasında inflamasyon ile başlayan süreç, etkenin sürekliliği halinde İM ve atrofiye sebep olur. Normal mide bezlerinin kaybı, mide kanseri gelişimindeki ilk prekanseröz basamaktır (3, 20, 21). Mide karsinogenezinde "Correa kaskadı" olarak adlandırılan, çok basamaklı bu süreçte atrofi ve İM displaziye doğru ilerleyen fenotipik ve genotipik değişiklikleri tetikler (21).

b. Mide Displazisi: Stromal invazyon olmaksızın epitelde izlenen neoplastik değişikler olarak tanımlanan displaziler, midede en sık antrumda gözlenir. Midede gelişen displaziler, hem normal mide mukozasından hem de intestinal metaplazi gösteren mukozadan gelişebilir. Mide karsinogenezi boyunca izlenen displastik histolojik fenotipler için günümüzde çok sayıda sınıflama olsa da DSÖ tarafından "düşük ve yüksek dereceli displazi" olarak tanımlanan ikili sistemin kullanılması önerilmektedir (1).

-Düşük dereceli (*low grade*) displazi: Genellikle foveolar bölgede ve yüzey epitelinde gelişir. Normal basit tübüler yapı korunmuştur, derin foveolar bölge ve bezler normaldir. Epitelde psödostratifikasyon, artmış nükleus/sitoplazma oranına sahip hücreler, müsin kaybı, uzun-oval, hiperkromatik nükleuslar ve az sayıda mitotik figürlerle karakterizedir. Nükleer polarite korunmuştur. Çok sayıda çalışmada, olguların %60-70'inin geri dönüşlü, %20-30'unun kalıcı bir lezyon olduğu belirtilmiştir. Yüksek dereceli displazi ve mide kanserine ilerleme riski düşüktür (22).

-Yüksek dereceli (*high grade*) displazi: Yüksek dereceli displazide nükleol belirginliği, nükleomegali, nükleus/sitoplazma oranında artış, sık mitoz, polarite kaybı gibi hücresel ve yapısal atipi görülür. Sık dallanmalar ve kıvrımlanmalar nedeni ile tübüllerin şekilleri bozuktur ancak lamina propria invazyonu yoktur. Yüksek dereceli displazilerin invaziv kansere ilerleme oranı %10-100'dür (23). Bu lezyonlarda endoskopi, gastrektomi veya mukozal rezeksiyon şeklinde tedaviler önerilir (24).

c. Mide Adenomu: İyi sınırlı, displazi içeren tübüler ve/veya villöz yapılardan oluşan bu benign lezyonlarda malign transformasyon sıklığı, lezyonun boyut ve histolojik derecesine bağlıdır. Bu sıklık, 2 cm'den küçük çaptaki lezyonlarda %2 iken, 2 cm'den büyük lezyonlarda oran %40-50'dir. Flat adenomlardan karsinom gelişimi daha sık görülmektedir (20, 25).

d. Hiperplastik Polip: Mide polipleri arasında en sık görülenlerden biri olup HP gastriti zemininde ve antrumda ortaya çıkan, 2 cm'den küçük çapta, saplı veya sapsız lezyonlardır. Nadiren İM ve displazi odakları içeren poliplerden karsinom gelişebilir (26).

e. Fundik Bez Polibi: Sporodik olan poliplerde malignite potansiyeli yok iken FAP'lı hastalarda görülen sendromik formlarında displazi ve karsinom gelişebilir (26).

f. Barret Özofagusu: Barrett özofagusu gastro-özofageal reflü hastalığı ve gastro-özofageal bileşke adenokarsinomuyla ilişkilidir (27, 28).

4. Mide Karsinomlarının Klinik Özellikleri

Mide kanseri erken dönemde asemptomatik seyrederken ilerleyen dönemlerde iştahsızlık, disfaji, erken doyma hissi, kilo kaybı, bulantı, kusma gibi dispeptik yakınmalarla kendini gösterebilir. Tümördeki kanamaya bağlı olarak kanlı kusma ve demir eksikliği anemisi gelişebilir. Semptomlar spesifik olmadığı için hastalar geç tanı alabilirler (6).

5. Mide Karsinomlarının Lokalizasyonu

Tümör lokalizasyonu, etiyolojik faktörlere paralel olarak sıklık gösterdiği coğrafik bölgelere göre değişkenlik gösterir. Asya, Güney Amerika ve Doğu Avrupa gibi insidansın yüksek olduğu bölgelerde olguların %80'i distal midede (antrum-pilor) gelişirken; Kuzey Avrupa, İngiltere ve Amerika Birleşik Devletleri'nde %50-60'ı proksimal midede (kardiya-fundus) gözlenir. Ülkemizde 345 hasta üzerinden yapılan tek merkezli bir çalışmada %49'unun antrum-pilor, %29'unun korpus, %25'inin fundus-kardiya, %3'ünün gastro-özofageal bileşkeden geliştiği belirtilmiştir (6).

6. Mide Karsinomlarının Sınıflandırılması

Mide kanserleri morfolojileri ve histopatolojik özellikleri açısından çok heterojen oldukları için şimdiye kadar birçok farklı sınıflama önerilmiştir (29). Günümüzde en yaygın olarak Lauren ve DSÖ sınıflamaları kullanılmaktadır (6). Geçmişten günümüze kadar gelen bu sınıflandırmalar şöyledir:

Bormann Sınıflaması, 1926 (Makroskopik Görünümüne Göre):

Tip I (Polipoid), Tip II (Fungiform), Tip III (Ülsere), Tip IV (İnfiltratif)

Stout Sınıflaması, 1953 (Tümör Patolojisi Atlası):

Ülsero-vejetan, Penetran, Yüzeyel yayılan, Linitis Plastika, Özgün olmayan

Ming Sınıflandırması, 1977 (Büyüme Paternine Göre):

Ekspansif ve İnfiltratif

Mide Kanser Japon Topluluğu, 1981:

Papiller, Tübüler, Az diferansiye, Müsinöz, Taşlı Yüzük Hücreli

Goseki Sınıflaması, 1992 (Histolojik Özelliklerine Göre):

Grup I: Tübüler diferansiyasyonu iyi, sitoplazmik müsinden fakir

Grup II: Tübüler diferansiyasyonu iyi, sitoplazmik müsinden zengin

Grup III: Tübüler diferansiyasyonu az, sitoplazmik müsinden fakir

Grup IV: Tübüler diferansiyasyonu az, sitoplazmik müsinden zengin

Nakamura Sınıflaması:

Diferansiye ve andiferansiye

Tümör Lokalizasyonuna Göre:

Proksimal ve distal

İnvazyon Derinliğine Göre:

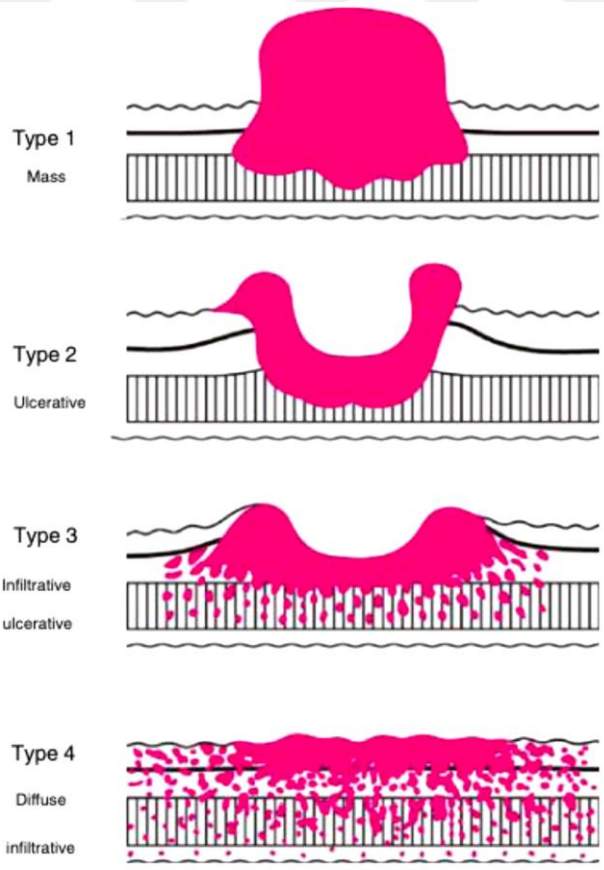
Erken ve ilerlemiş mide kanseri

Erken mide kanseri, lenf nodu metastazına bakılmaksızın, mukozaya ya da mukoza ve submukozaya sınırlı mide karsinomu olarak tanımlanır (6). Erken

mide kanseri, prognozunun iyi olması ve 5 yıllık sağkalımının %90'ın üzerinde olması sebebiyle ayrıcalık gösterir (30). Erken mide kanserlerinin %80'i yüzeyel tiptedir (1).

İlerlemiş mide kanseri ise, submukozayı aşan, muskularis propriayı infiltre eden ve bu tabakayı aşmış olan karsinomlardır. İleri evre mide kanserinde 5 yıllık sağkalım oranı %20'lerdedir (11).

İleri mide kanserlerinde yapılmış birkaç çalışmada makroskopik büyüme paterninin prognostik anlamlılık taşıdığı görüldüğü için mide kanserlerinin raporlamasında bazı merkezlerde Borrmann sınıflaması da kullanılmaktadır (31) (Resim 1).



Resim 1. İleri evre mide kanserlerinin Borrmann sınıflamasına göre makroskopik büyüme şekilleri.

Tümör, Tip 1'de çevre mukozadan keskin sınırlarla ayrılmış polipoid kitle şeklinde, Tip 2'de çevreden temiz sınırla ayrılan ve hafif kabarık kenarlı sonlanan ülsere lezyon şeklinde, Tip 3'te çevreden net sınırla ayrılmayan ve kenarları kabarık ülsere lezyon şeklinde, Tip 4'te ise mide duvarında diffüz kalınlaşmaya neden olan sınırları belirsiz kitle (Linitis plastica) şeklinde görülür (31).

6.1. Mide Karsinomlarının Histolojik Sınıflandırması

Lauren Sınıflaması, 1965 (Histolojik Özelliklerine Göre): Bu sınıflama intestinal tip ve diffüz tip karsinomun oluşturduğu iki ana histolojik alt tip, bu iki tip karsinomun eşit oranda görüldüğü mikst tip ve nadir görülen indetermine alt tipten meydana gelir (32). İntestinal ve diffüz tip karsinom aynı zamanda cinsiyet dağılımı, tanı yaşı ve diğer epidemiyolojik özellikler açısından da farklılıklar göstermektedir (33).

-İntestinal tip mide karsinomu: Erkeklerde, yaşlılarda ve mide kanserinin epidemik olduğu bölgelerde daha sık rastlanır. Ortalama görülme yaşı 55 olup prognozu diffüz tipe göre daha iyidir. İntestinal tip mide kanserinin etiyolojisinde prekanseröz lezyonlar (atrofik gastrit, intestinal metaplazi) ve çevresel faktörlerin (obezite, beslenme tarzı vb.) rol aldığı belirlenmiştir (11). DSÖ sınıflamasında yer alan papiller ve tübüler karsinomlar ile eşdeğer tümörler bu grupta yer almaktadır (34).

-Diffüz tip mide karsinomu: En sık görülen tip olan diffüz tip mide kanserinde prekanseröz lezyonlarla birliktelik nadirdir. Ailesel eğilimi olan tip, daha çok kadınlarda ve genç yaşlarda görülmektedir. Bazen diffüz tip mide kanseri, mukozayı düzleştirerek mide duvarının endüratif olarak kalınlaşmasına neden olur ve Linitis plastika şeklinde görülür (Resim 2).



Resim 2. Linitis Plastika örneği. Mide duvarında diffüz kalınlaşmaya neden olarak büyüme gösteren tümör

Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması, 2019: DSÖ mide kanserlerini histolojik özelliklerine göre gruplandırılmıştır: Adenokarsinom ve varyantları; papiller, tübüler, müsinöz, zayıf koheziv, mikst, mikropapiller, hepatoid, medüller (Lenfoid stromalı adenokarsinom), fundik bez tipi, mukoepidermoid ve paneth hücreli adenokarsinomdur. Daha az olan tipler de adenoskuamöz hücreli karsinom, skuamöz hücreli karsinom, midenin andiferansiye karsinomu, gastroblastom, nöroendokrin karsinom (küçük hücreli/büyük hücreli), mikst nöroendokrin-nöroendokrin dışı neoplazi (MiNEN)'dir (1).

Mide tümörleri farklı histolojik paternleri sıklıkla birarada içeren heterojen doğaya sahip tümörlerdir. DSÖ sınıflandırması bu farklı histolojik paternlerden baskın olan tipe göre yapılmaktadır. Bu histolojik paternlerden en sık görülenleri aşağıda açıklanmıştır:

-Tübüler adenokarsinom: En fazla görülen alt tip olup, %45-64 oranında görülür. Bu tümör tipi genişlemiş ya da yarıklar yapan çeşitli boyutlarda tübüllerle karakterizedir. Atipi ve desmoplazi değişken oranlarda görülebilir.

-Papiller adenokarsinom: Mide kanserlerinin %2,7-9,9'unu oluşturan daha nadir bir alt tiptir. Egzofitik büyüme paterni izlenen, fibrovasküler korlar

çevresinde parmaksı çıkıntılar yapan, küboidal ve silindirik hücrelerin oluşturduğu iyi diferansiye tümör tipidir. Değişken derecelerde atipi bulunabilir.

-Müsinöz adenokarsinom: Mide kanserlerinin %2,1-8,1'ini oluşturduğu bildirilmiştir. Bu tümör alt tipini ekstrasellüler müsin gölcükleri tarafından çevrelenmiş kordonlar, adalar veya tek tek hücreler halinde malign epitelyal hücreler oluşturur. Tümörün en az %50'si ekstrasellüler müsinden oluşmalıdır.

-Az koheziv karsinom, taşlı yüzük hücreli ve diğer subtipler: Mide kanserleri içinde %20-54 arasında değişen yüksek bir sıklığa sahip olduğu bildirilmiştir. Tümör hücreleri tek tek ya da küçük gruplar halinde dizilmiş olup bez yapısı oluşturmazlar. Taşlı yüzük hücreli tip, berrak görünümlü intrasitoplazmik müsin nedeniyle perifere itilmiş, eksantrik yerleşimli nükleuslardan oluşmaktadır. Taşlı yüzük hücresi içermeyen tipinde ise eozinofilik sitoplazmalı, histiyosit veya lenfosit benzeri, pleomorfik ve bizaar nükleuslu hücreler görülebilir. Taşlı yüzük hücreleri, tümörün %50'sinden fazlasını oluşturduğunda taşlı yüzük hücreli karsinom olarak isimlendirilir (29).

-Mikst karsinom: %6-22 arasında değişen sıklıkta bildirilmiştir. Bu grup tümörlerde hem bezler hem de zayıf koheziv yapılar bulunur. Taşlı yüzük komponentinin prognoza olumsuz etkisi bilindiğinden raporlama yapılırken her komponentin oranı belirtilmelidir.

7. Mide Karsinomlarının Derecelendirilmesi

Histolojik derecelendirme iyi, orta ve az diferansiye şeklinde, tümör hücrelerinin bez formasyonu oluşturabilme yeteneğine dayanarak yapılır (12). CAP'e (Collage of American Pathologist) göre tümörün %95 ve fazlası bez yapısı oluşturuyorsa *grade* 1/iyi diferansiye, %50-95 oranında içeriyorsa *grade* 2/orta derece diferansiye, %49 ve daha az içeriyorsa *grade* 3/az diferansiye olarak sınıflandırılır. Taşlı yüzük hücreli karsinomlar az diferansiye *grade* 3 olarak kabul edilir. Histolojik derecelendirme tübüler ve papiller mide kanserlerinde kullanılır, diğer subtiplerde kullanılmaz (1).

8. Mide Karsinomlarının Yayılımı ve Evrelemesi

Mide kanserlerinde yayılım direkt invazyonla, lenfatik ya da hematojen yolla ve/veya serozal yolla olabilir. Mide kanserinde hematojen yolla metastaz ilk olarak sıklık sırasıyla karaciğer (%49), akciğer (%33), over (%14), kemik (%11) ile servikal ve supraklavikuler (Virchow nodülü) (%8) lenf nodlarına (LN) olur (35). Lenfovasküler invazyon (LVİ) biyolojik saldırganlığın bir göstergesidir ve lenf nodu negatif tümörlerde önemli bir prognostik faktördür, bu sebeple sistematik olarak değerlendirilmelidir. Tübüler ve papiller karsinomların hematojen yolu tercih ederek karaciğere metastaz yapma olasılığı daha yüksekken, az diferansiye karsinomlar daha çok serozayı tutmaya eğilimlidir. Mikst tümörlerde her iki yolla yayılım görülebilir. Seroza infiltrasyonu olursa peritoneal implantlar gelişebilir. Bilateral masif over tutulumu (Krukenberg tümörü) transperitoneal ya da hematojen yayılımdan kaynaklanabilir.

Mide karsinomlarının evrelenmesinde günümüzde kullanılan AJCC (American Joint Committee on Cancer) ve UICC (International Union Aganist Cancer) birlikteliği ile hazırlanmış (TNM) sınıflaması ile Japon Mide Kanseri Topluluğu (Japanese Gastric Cancer Association) tarafından hazırlanan iki sistem vardır (36-38).

TNM evreleme sisteminde tümör invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve uzak metastaz durumu göz önüne alınır. N evrelemesinde sadece bölgesel lenf nodları ele alınır. Retropankreatik, para-aortik, portal, retroperitoneal, mezenterik lenf nodlarının tutulumu ise uzak metastaz olarak değerlendirilir (Tablo 1).

Tablo 1. AJCC /UICC tarafından 2017 yılında hazırlanan mide kanserine ait 8. TNM evreleme sistemi (36, 37)

PATOLOJİK EVRELEME (UICC, TNM 8. baskı)

TNM Tanımlamalar:
m - multipl primer tümör
r - rekürrens
y - tedavi sonrası

Primer tümör (pT)
- ☐ **TX** Primer tümör değerlendirilemedi
- ☐ **T0** Primer tümör saptanmadı
- ☐ **Tis** in-situ karsinom: lamina propria invazyonu olmaksızın intraepitelyal tümör, yüksek dereceli displazi
- ☐ **T1** Lamina propria, muskularis mukoza ya da submukoza invazyonu

T1a Lamina propria veya muskularis mukoza invazyonu
T1b Submukoza invazyonu
- ☐ **T2** Muskularis propria invazyonu
- ☐ **T3** Subseroza invazyonu (Viseral periton ya da komşu yapıların invazyonu olmaksızın)
- ☐ **T4** Diğer organ veya yapılara direkt invazyon ve/veya viseral periton invazyonu

T4a Viseral periton invazyonu
T4b Diğer organ veya yapılara direkt invazyon

Bölgesel Lenf Nodları (pN)
- ☐ **NX** Bölgesel lenf nodu (LN) değerlendirilemedi
- ☐ **N0** Bölgesel LN metastazı saptanmadı
- ☐ **N1** 1-2 bölgesel LN metastazı
- ☐ **N2** 3-6 bölgesel LN metastazı
- ☐ **N3** 7 ve daha fazla bölgesel LN metastazı
  - ○ ***N3a*** 7-15 bölgesel LN metastazı
  - ○ ***N3b*** 16 veya daha fazla bölgesel LN metastazı

Uzak Metastaz (pM)
- ☐ **M0**[e] Uzak metastaz yok
- ☐ **M1** Uzak metastaz

[e] Yalnız gönderilen spesmenlerde değerlendirme yapıldığı için, patoloji raporlarında pM0 veya pMX kullanılmamalıdır.
Radyolojik/klinik veri doğrultusunda, önerilmemekle birlikte raporda cM1, cM0 belirtilebilir.

9. Mide Karsinomlarında Tedavi

Mide kanserinde standart tedavi yaklaşımı cerrahidir. Cerrahi tedavi seçenekleri subtotal, distal ve total gastrektomi; ek olarak lenf nodu disseksiyonudur (39). En az 16 adet lenf nodu disseke edilmesi ve incelenmesi, optimal patolojik evreleme için gereklidir. Tümör yerleşiminin belirlenmesinden sonra proksimal kanserler için sıklıkla total, distal kanserler için ise distal gastrektomi tercih edilir. Linitis plastika gibi mide duvarını yaygın tutan tümörlerde yine total gastrektomi tercih edilir (40). Ancak tanı anında hastaların %50'den fazlası lokal ileri hastalık veya metastaz sebebiyle cerrahiye uygun değildir. Bu hastalarda palyatif tedaviler kullanılmaktadır. Günümüzde neoadjuvan KT tümör küçültme için kullanılırken, cerrahinin yetersiz kaldığı yüksek riskli hastalarda adjuvan KT uygulanır.

Erken mide kanserlerinin tedavisinde endoskopik mukozal rezeksiyon, endoskopik submukozal diseksiyon ve adjuvan tedaviler yer almaktadır (41). Endoskopik mukozal rezeksiyon ile 5 yıllık sağkalım %95'in üzerinde bulunmuştur (42).

Anti Cerb-B2 tedavisi, rezeke edilemeyen veya metastatik ve tekrarlayan Cerb-B2 pozitif mide karsinomlarında hedefe yönelik bir tedavi seçeneğidir (1).

Mide kanserinin tedavisinde son dönemde immunoterapinin standart tedavi ile kombinasyonu konusunda çalışmalar devam etmektedir. PD-L1 ve PDL-2 gibi immunmodülatör proteinlerin ekspresyonu, mide kanserinin prognozu ve tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle pembrolizumab ve nivolumab gibi PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin, mide ve gastro-özofageal bileşke kanserlerinde etkinliği araştırılmaktadır. İmmunohistokimyasal analizlerle tespit edilen PD-L1 ekspresyonu, hastaların genel sağkalımıyla ilişkilidir ve bazı çalışmalarda yüksek PD-L1 ekspresyonu daha kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Ancak, mikrosatellit instabilitesi (MSI) olan veya EBV-ilişkili hastalarda, PD-L1 yüksekliği immunoterapilere daha iyi yanıtla da ilişkilendirilmektedir (43).

10. Mide Karsinomlarında Prognoza Etki Eden Faktörler

Hastanın yaşı: Genç hastalarda mide kanseri genellikle daha kötü gidişlidir. Bunun nedeni bu yaş grubunda sıklıkla görülen tümör tipinin, diffüz tipte karsinom olmasıdır (44).

Tümör evresi: Diğer pek çok malign tümörde olduğu gibi, mide kanserlerinde en önemli prognostik parametre evredir. İnvazyon derinliği arttıkça, lenf nodu metastazı (LNM) ve uzak metastaz olasılığı da yükselmektedir. Yani tümör evresi, diğer prognostik parametreleri de dolaylı olarak etkilemektedir (44).

Tümörün yerleşim yeri: Proksimal yerleşimli mide karsinomları, distal yerleşimli olanlara göre daha kötü prognozludur (17). Proksimal yerleşimli tümörlerde, invazyon derinliği daha fazladır ve LNM daha sıktır.

Tümörün sınırları: Tümörün diffüz infiltrasyon göstermesi sağkalımı azaltmakta iken itici ve ekspansif büyüme paternine sahip olması iyi prognostik faktörlerden biridir.

Tümörün boyutu: Tümör boyutunun küçük olması iyi prognoz ile birliktelik gösterir ancak prognoz tümörün penetrasyon derinliğiyle de sıkı ilişkilidir (45).

Mikroskopik tip ve derece: Lauren sınıflamasındaki intestinal tip mide karsinomu diffüz tipe göre daha iyi prognozludur. Mide karsinomlarının özel tipleri hariç tutulduğunda, histolojik derece ile prognoz arasında çok zayıf bir ilişki vardır.

Perinöral ve lenfovasküler invazyon (PNİ ve LVİ): Yapılan çalışmalarda PNİ ve LVİ'nin kötü prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir (46). Muskularis propria ve daha derin invazyon gösteren mide karsinomlarıyla yapılan bir çalışmada PNİ gösteren olguların göstermeyenlere göre daha kötü prognoz gösterdiği izlenmiştir (47).

Cerrahi sınırlar: Eksizyon materyalinin cerrahi sınırında karsinom varsa erken dönemde rekürrens beklenir ve kötü prognozla ilişkilidir (44).

Bölgesel LN tutulumu: Eksiksiz yapılmış bir patolojik inceleme sonucunda tüm lenf nodları negatif bulunursa, hastaların %50'sinden fazlasının 5 yıl hayatta kalması beklenebilir. Lenf nodu tutulumu olduğunda bu oran %10'dan aza düşer. Bu nedenle mide kanserinde olduğunca çok sayıda lenf nodu disseke edilerek mikroskopik olarak incelenmelidir (48). Ayrıca immunohistokimyasal olarak tespit edilebilen mikrometastazların da prognostik önemi olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (49).

Cerrahinin tipi: Literatürdeki büyük olgu sayısına sahip çalışmalardan birisinde, en sık yapılan cerrahi rezeksiyon tipinin subtotal gastrektomi olduğu görülmüştür. Ancak bu çalışmada radikal subtotal gastrektomi yapıldığında prognozun daha iyi olduğu (%22.1) bulunmuştur (50).

DNA diploidisi ve hücre proliferasyonu: Birkaç seride akım sitometri ile DNA diploidisinin saptanması ve çeşitli belirteçler (p105, PC10) ile hücre

proliferasyon hızının belirlenmesi, mide karsinomunda prognozun güvenilir bir göstergesi olabileceği izlenimini uyandırmıştır (44).

Tümör tomurcuklanması: Tümör tomurcuklanması, kolorektal kanser ile birlikte farklı organ kanserlerinde prognostik anlamda ele alınmış ve birçok kanser türünde kötü prognozla ilişkili olduğu kabul edilmiştir (51-53). Ancak, mide kanseri ile ilgili yeterli yayın mevcut değildir.

İnflamatuar yanıt: Tümör ile normal dokunun arasında bulunan hücresel infiltrasyonun prognoz ile ilişkili olduğu ve iyi bir prognostik işaret olduğu görülmüştür. Tümöre karşı gelişen lenfositik yanıt baskın olarak T lenfositlerden oluşmaktadır (54).

Genetik ve biyolojik prognostik faktörler: Mide kanserinin gelişimi onkogen, tümör supresör gen, DNA onarım genleri, hücre siklus düzenleyicileri ve sinyal moleküllerinin genetik ve epigenetik değişikliklerini içeren karmaşık ve çok basamaklı bir süreçtir (11). HER2, c-MET, c-myc ve Siklin-E onkogenlerinde izlenen amplifikasyonlar, K-ras onkogeni ve CDH1, APC, p53, PTEN gibi tümör baskılayıcı genlerde görülen mutasyonlar mide kanseri ile sıklıkla ilişkilendirilmiş bu değişikliklerdendir. Bu değişikliklerin büyük kısmının aynı zamanda prognostik değer taşıdığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (6).

-Mide adenokarsinom olgularının %10-44'üne mikrosatellit instabilite (MSI) eşlik etmektedir, daha sık olarak antrum yerleşimli intestinal tip karsinomlarda MSI görülmektedir ve MSI kanserler daha düşük evre, daha nadir LNM ve daha iyi klinik prognoz ile karakterizedir (17).

-Mide kanserinde olguların %2-35'inde EGFR aşırı ekspresyonu ve/veya gen amplifikasyonu, %9-38'inde HER2 aşırı ekspresyonu olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, EGFR ve HER2'nin aşırı ekspresyonunun, ilerlemiş mide kanseri olgularında prognozu, sağkalımı ve hedeflenen tedavi seçimini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. İnopere veya metastatik HER2 pozitif olgularda standart KT'ye ek anti-ERBB2 ilaç (transtuzumab) kullanan hastalarda sağkalımın sadece standart KT alan hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (55). Hedefe yönelik moleküler tedavi, sağkalım

oranlarını arttırmak ve tümör proliferasyonunu azaltmak amacıyla ileri evre mide kanseri olgularında tedavinin temel dayanağını oluşturmaktadır.

11. Tümör Mikroçevresi

Son yıllarda, yalnızca tümör hücrelerinin biyolojik davranışlarının değil, aynı zamanda bu hücrelerin içinde bulunduğu tümör mikroçevresinin (TMÇ) de kanserin gelişimi ve ilerleyişi üzerinde kritik bir rol oynadığı vurgulanmaktadır. Tümör stromasının özellikleri, bu stromadaki hücresel yanıtlar, tümör tomurcuklanması ve anjiogenez gibi unsurlar, tümör ile mikroçevresi arasındaki karmaşık etkileşimlerin sonucunda tümör prognozunu önemli ölçüde etkileyebilir. Literatürde yapılan birçok çalışma, çeşitli organ tümörlerinde bu etkileşimlerin tümörün klinik gidişi ve prognozu üzerindeki belirleyici etkisini ortaya koymuştur. Bu bulgular, kanserin yalnızca hücresel düzeyde değil, mikroçevresel dinamiklerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

11.1. Tümör Tomurcuklanması

Tümör invazyonunun ilk adımı, tümör hücrelerinin invazyon sınırında kohezyonunu ve diferansiyasyonunu kaybederek stroma içerisinde serbest olarak hareket etmesidir (56). Epitelyal tümör hücreleri, epitelyal-mezenkimal değişim (EMT) mekanizması ile malign karakter kazanarak bu göçü sağlamaktadır (57). EMT, epitel hücrelerinin hücreler arası adezyon yeteneğini kaybedip, mezenkimal hücreler için tipik olan migratuar ve invaziv özellikler kazanmasına verilen addır. Yani bu mekanizma epitel hücrelerinde hücreler arası adezyonun kaybı ile tetiklenir. Adezyonda önemli rol oynayan E-kaderin'in, sitoplazma membranındaki lokalizasyonunu kaybetmesiyle, hücreler arası bağlantı zayıflar ve Beta-katenin translokasyonu oluşur. N-kaderin, vimentin, α-SMA ve fibronektin gibi mezenkimal belirteçlerin ekspresyonu artar (58) Beta kateninin nükleer translokasyonu sonucunda TWIST, ZEB, SNAIL gibi EMT ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinde *up-regülasyon* gerçekleşir (59). Matriks metalloproteinazları, ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörü ve ürokinaz plazminojen aktivatörü gibi

ekstrasellüler proteinazlar, hücre çevresinde proteolizi sağlayarak hücrelerin invazyonu ve göçüne katkıda bulunur. Hücreler arası bağlantının kaybolmasıyla hücreler, tek tek ya da küçük gruplar halinde bulundukları yerden göç etmeye başlar. Böylece hücreler invaziv özellik kazanmış olur. Bu mekanizma aynı zamanda tümör tomurcuklanmasının (TT) temelidir (60).

Tümörün ana kitlesinin invaziv hattı boyunca, bez yapılanması olmaksızın, gruplar halinde ya da tek tek 5'ten az hücre izlenmesi tümör tomurcuklanması olarak tanımlanmaktadır (61). Bu terim peritümöral ve intratümöral olarak iki ayrı sınıfta tanımlansa da baskın olarak peritümöral tomurcuklanma kastedilmektedir. İntratümöral tomurcuklanma son yıllarda bahsedilen ve biyopsi materyallerinde tümörün merkezinde değerlendirilen bir antitedir (62).

İlk kez 1954 yılında Imai tarafından mide kanserinde bahsedilen tümör tomurcuklanması, günümüzde en bilinen hali ile Ueno ve arkadaşları tarafından kolorektal kanserlerde tanımlanmıştır (58, 63, 64). Yapılan çalışmalarda özofagus, akciğer, ampulla, pankreas, larinks ve meme başta olmak üzere birçok kanserde prognoz ve TT arasında korelasyonlar gösterilmiştir. TT'nin KRK'ların prognozuna olumsuz etkisinin gösterilmesiyle 2016 yılında TT'nin histopatolojik olarak standardizasyonu amaçlanarak *International Tumor Budding Consensus Conference* (Uluslararası Tümör Tomurcuklanması Konsensus Konferansı (ITBCC)) düzenlenmiştir (58). Bu konsensusa göre; tümör tomurcukları Hematoksilen Eozin (H&E) kesitlerde sayılmalı, 20 mm oküler çapa sahip bir mikroskopun 20x büyütme alanına karşılık gelen farklı mikroskoplardaki dönüşüm tablosundaki normalizasyon faktörüne bölünmek suretiyle 0,785 mm^2'lik bir alanda standardize edilmeli, 10 farklı alan değerlendirilmeli ve en yoğun alan belirlenerek sayım yapılmalıdır. Bu değerlendirmeyle tümör tomurcukları üç dereceli bir puanlama sistemiyle değerlendirilmelidir (Tablo 2).

Tablo 2. Tümör tomurcuklanmasının derecelendirilmesi

Tomurcuklanma Derecesi	Tomurcuk Sayısı
Düşük (TT 1)	0-4
Orta (TT 2)	5-9
Yüksek (TT 3)	>10

ITBCC'nin önerisi ve yapılan birçok çalışma sonucunda CAP, 2017 Haziran ayında yapılan düzenlemeyle ve AJCC 8. baskısında, TT'yi evre I ve evre II KRK'da raporlanması gereken bir parametre olarak kabul etmiştir (65).

Yapılmış olan birçok çalışmayla TT'nin baş-boyun, meme, özofagus, akciğer, ürogenital sistem ve mide kanserlerinde prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiş olsa da henüz standardize edilmiş bir puanlama yöntemi olmadığından kılavuzlarda yer almamaktadır (61). Mide kanserinde TT'nin prognostik değeriyle ilgili çalışmalar literatürde sınırlıdır. Bu çalışmalarda TT'nin invazyonla, LN tutulumuyla ve kötü prognozla ilişkili olabileceğini öne sürülmüştür (61, 66, 67).

11.2. Tümör Stroması

Tümör hücreleri, malign olmayan hücrelerle birlikte ve bu hücrelerin oluşturduğu bir mikroçevre içerisinde yer alır. Bu mikroçevre tümör stroması olarak da adlandırılır. Tümör stroması; fibroblastlar, immun hücreler, endotelyal hücreler ve ekstrasellüler matriksten (ECM) oluşmaktadır. Stromanın en baskın hücreleri aktive fibroblastlar yani kanser-ilişkili fibroblast (*cancer associated fibroblast* (CAF))'lardır. Stromal hücreler; sitokinler ve büyüme faktörleri ile damar oluşumunu stimüle eder, tümörogenez ve EMT'de önemli rol oynar. Sandberg ve arkadaşları, kolorektal kanserlerde yaptıkları bir çalışmada tümörün invaziv kenarında yer alan CAF'ların salgıladığı bazı sitokinlerin, yüksek stroma içeren tümörlerde düşük stroma içeren tümörlere göre daha yüksek düzeyde eksprese edildiğini göstermişlerdir (68). Bu durum, yüksek stromal orana sahip tümörlerin neden daha metastatik seyrettiğini ve tümör-stroma ilişkisinin tedavi sonucunu nasıl etkilediğini açıklamaktadır (69).

Fibroblastlar iğsi şekilde, kolayca tanınabilen mezenkimal hücrelerdir. CAF'lar ise tümör stroması içindeki büyüme faktörleriyle uyarılmış olan, aktif durumdaki fibroblastlardır. CAF'ları uyaran büyüme faktörlerinin en önemlilerinden biri *transforming growth factor'*dür (TGF). TGF, CAF'ları uyararak yüksek miktarda alfa-düz kas aktin (SMA) üretilmesini sağlar. Böylece fibroblastlar, myofibroblastik bir fenotip kazanır (70, 71). Ek olarak, fibroblastik ve myofibroblastik hücrelerden oluşan heterojen yapıdaki hücre popülasyonu, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) üreterek anjiogenezi destekler, metabolik programlanmayı düzenler ve hipoksik strese karşı direnç geliştirir (72).

Yüksek stromal içerik, tümör hücreleri ile stromal hücreler arasında güçlü bir ilişkiye sebep olmaktadır. Tümör hücreleri tarafından salgılanan başlıca iki büyüme faktörü; TGF-ß ve platelet-ilişkili büyüme faktörü (PDGF), stromadaki normal fibroblastların CAF'lara dönüşmesinde önemli rol oynar (69). TGF-ß sinyal yolağı tümör progresyonunda yer alan en önemli yolaklardan biridir. Bu yolağın iki işlevi vardır; erken dönemde apopitozisi indükleyerek tümör supresör olarak işlev görmesi ve geç dönemde ise tümörogenezi indüklemesi (73). Bu nedenle yüksek oranda stroma içeren tümörlerde TGF-ß sinyal yolağı aktivasyonu da yüksek olacağı için tümör progresyonu hızlanacaktır.

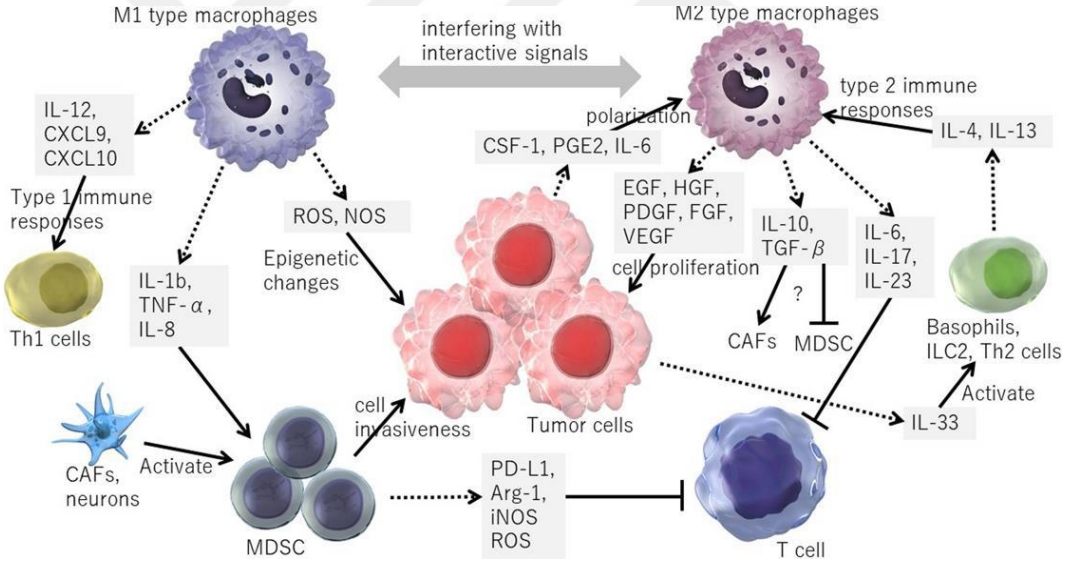
Tümör stroması ile ilgili son zamanlarda artarak devam eden çalışmalar, tümör ve çevresi arasındaki etkileşimin, tek hücre düzeyindeki genetik faktörler kadar önemli olduğu görüşünü desteklemektedir (74, 75). Mide kanseri gelişiminde HP ve EBV gibi enfeksiyöz etkenlerin çok önemli etkisi olduğundan, bu tümörlerde immunoterapi yanıtını önceden tahmin edecek biyobelirteçler araştırılmaktadır. Tümör stromasındaki hücrelerin yoğunluğu ve dağılımı moleküler hesaplama yöntemleri (ESTIMATE, CIOBSORT gibi) kullanılarak tahmin edilebilmektedir (76, 77). Bazı çalışmalar bu metodolojileri kullanarak tümör stromasının klinik kullanım açısından yararları ve immunoterapi yanıtındaki rolünü araştırsa da tümör stromasını meydana getiren bileşenler ve bunların etkilerini tam olarak anlayabilmek için destekleyici bulgulara ihtiyaç duyulmaktadır (78, 79).

11.3. Tümörle İlişkili Makrofajlar

TMÇ'de yer alan makrofaj ya da monositler, immun sistem hücreleri arasında en sık gözlenen hücrelerdir ve tümör ilişkili makrofajlar (TAM) olarak isimlendirilmektedirler. Önceleri makrofajların kanser hücrelerini tanıyarak fagosite ettiği ve antitümöral etkiye sahip olduğu kabul edilse de yapılan çalışmalar aksini de kanıtlamıştır (80). Tümörün progresyonu ve tedavi direnci geliştirmesine olanak sağlayan bu infiltrasyon yoğunluğunun kötü prognoz ile doğru orantılı olarak değiştiği saptanmıştır. Bazı TAM'ların inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, proteolitik enzimler üreterek ve diğer stromal komponentler ile etkileşime girip neoplastik hücreleri konağın immun yanıtından koruyarak kanser progresyonuna katkı sağladığı anlaşılmıştır.

TAM'lar, M1 (antitümöral) ve M2 (tümörojenik) olmak üzere iki ayrı tip olarak tanımlanmaktadır (81). M1 makrofajların, ürettikleri sitokinler ve IL-12, CXCL9, CXCL10 gibi kemokinler ile Th1 aracılı yanıtı ve IL-1β, TNF-α, IL-8 üreterek myeloid kaynaklı supresör hücreleri uyardıkları tahmin edilmektedir (82). Ayrıca aktive makrofajlardan sentezlenen nitrik oksit türevleri ve/veya reaktif oksijen radikallerinin mide epitelinde epigenetik değişikliğe yol açtığı saptanmıştır (83). Buna karşın M2 makrofajlar Th2 lenfositler ve bazofiller tarafından üretilen IL-4, IL-13 veya IL-33 aracılığıyla aktifleşen JAK2/STAT3 sinyal yolağı ile ortaya çıkmaktadır. M2 makrofajlar Th2 immunolojik yanıtına aracılık ederken, klasik M1 hücreleri Th1 aracılığıyla kanser regresyonunu sağlar. Tümör dokusunda makrofajların çoğu M2 yönüne polarize olurken, M1'den M2'ye geçiş TGF-β, IL-4, CSF-1, GM-CSF gibi sitokin ve büyüme faktörleri tarafından sağlanmaktadır (84). M2 makrofajların, M1 makrofajların anti-tümöral etkilerini nötralize edebileceği öne sürülmüştür. Mide kanserinde tümör hücrelerinin invazyon ve migrasyonundan sorumlu tutulan IL-10 sitokininin asıl kaynağının TAM'lar olduğu, TAM'ların PD-L1 reseptörünün aktivasyonunu tetikleyerek tümöre özgü T hücre aracılı bağışıklığı engelleyerek antitümöral aktivitelerin baskılanmasına neden olabileceği belirtilmiştir (82).

Tümör hücreleri ve TAM arasında karşılıklı ve direkt bir ilişki mevcuttur. Tümör hücreleri CSF-1 (koloni stimülize edici faktör), PGE2 ve IL-6 gibi TAM'larda M2 polarizasyonunu indükleyen birkaç sitokin ve büyüme faktörü salgılamakta; TAM'lar da EGF, HGF, PDGF, FGF ve VEGF salgılayarak tümör hücrelerinin proliferasyonunu doğrudan etkilemektedir. M2 makrofajlar, bu sinyallerin etkisiyle M1 makrofajlara dönüşerek tümörün bağışıklık ortamında değişime yol açabilir. Makrofajlar doğrudan epitelyal büyümeyi uyarmanın yanı sıra muhtemelen diğer stromal bileşenlerle etkileşime girerek anjiogenez ve tümör bağışıklığına da katkı sağlamaktadır (85, 86). TAM infiltrasyonunun yoğunluğu ile hayatta kalma süreleri ters orantılı olduğu için mide kanserinde bağımsız prognostik faktör olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür (Resim 3) (87, 88).



Resim 3. TAM'lar ve mide kanseri arasındaki etkileşim. TAM ve tümör hücreleri, çeşitli sitokinler ve büyüme faktörü salgılayarak birbirlerini uyarırlar (85).

11.4. TMÇ'ye Yönelik İmmunohistokimyasal Belirteçler

L- Caldesmon: Hücre iskeletinde bulunan aktin bağlayıcı protein olan Kaldesmon (CaD), apopitozis, hücre motilitesi, adezyon, reseptör fonksiyonu ve ikinci haberci gibi birçok hücresel fonksiyonda rol oynar. Kaldesmon geni

(CAL-D1), CaD'u iki farklı moleküler izoformda sentezler; Düz kas hücrelerinde eksprese edilen yüksek (*High*) molekül ağırlıklı izoform (H-CaD) ve beyin, dalak, LN gibi düz kas dışı hücrelerde eksprese edilen düşük (*Low*) molekül ağırlıklı izoform (L-CaD).

Liu ve arkadaşlarının meta-analizine göre, CAL-D1'in yüksek ekspresyonu çeşitli tümörlerde kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, bu yüksek ekspresyonun, tümör çevresindeki CD8+ ve CD4+ T hücreleri, makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücrelerin artan immun infiltrasyon seviyeleriyle bağlantılı olduğu bulunmuştur. Özellikle mide kanserinde CAL-D1 ekspresyonunun, TAM'ların, DC'lerin, T ve regulatör T hücrelerinin (Treg) yeniden düzenlenmesine katkıda bulunduğu ve immun infiltrasyonla ilişkili önemli bir prognostik faktör olabileceği düşünülmüştür (89).

CAL-D1, özellikle TMÇ'deki pro-tümörojenik makrofaj infiltrasyonu ile ilişkilendirilmiştir (89). KRK olgularıyla yapılan bir çalışmada ise CAL-D1 ekspresyonu yüksek olan olguların, düşük ekspresyonlu olgulara göre kötü sağkalım gösterdiği bildirilmiştir (90-92). Ayrıca artmış L-CaD ekspresyonu olan hastalar KT'ye de kötü yanıt vermektedir (89). Daha sonraki çalışmalarda, L-CaD'ın TMÇ'de aşırı eksprese edildiği saptanmış ve bu da L-CaD'ın TMÇ'nin modüle edilmesinde rol oynadığını düşündürmüştür (93).

H-CaD, düz kas veya miyofibroblast kökenli tümörler için spesifik bir tanı belirteci olarak kullanılsa da, L-CaD'ın, meme kanseri ve kolorektal kanser gibi birçok kanser türünde onkojenik bir rol oynadığı çalışmalarda gösterilmiştir ancak L-CaD ve mide kanseri ilişkisine yönelik araştırmalar yetersizdir (93).

Periostin: İlk defa osteoblastic spesific factor-2 adı ile osteoblast hücrelerinde keşfedilen bir ECM proteini olan Periostin, 90 kDa ağırlığında ve 896 aminoasitten oluşmaktadır (38). Adını kemik periostiumundan alsa da kemik yanı sıra aort, mide, alt gastrointestineal sistem, plasenta, uterus, tiroid ve meme gibi organlarda da yüksek oranda üretilmektedir (89-91).

Fizyolojik olarak özellikle ontogenez sırasında ve erişkinde mekanik stimülasyon varlığında (kalp kapakçıklarında, deride, periodontal ligamentlerde, kemiklerde) eksprese edilmektedir. Osteosit ve periostiumda

yüksek miktarda üretilen Periostin, kemik homeostazında yer alan hormonlar, büyüme faktörleri (TGF-β, BMP2) ve sitokinler (TNF-α, IL-4, IL-13, PDGF) tarafından kontrol edilmektedir (94). Periostin'in iki önemli görevi matrikste fibrilogenezis ve hücre hareketidir. Fibrogenezisi direkt olarak tip I kollagen, fibronektin, Nocth 1, tenascin-C ve BMP-1 etkileşimi ile yapar. İntegrinler aracılığıyla da aktin/miyozin kasılmasını aktive ederek hücre adezyon ve hareketini sağlar (94, 95).

Periostin, meme, akciğer, baş-boyun ve KRK gibi birçok tümörde CAF'lar tarafından salgılanmaktır. Periostin, salgılandığı TMÇ'de tümöral hücre proliferasyonu, anjiogenez, invazyon ve metastazda rol almaktadır (96-100). Tümör hücrelerindeki etkisini integrin reseptörleri (αVβ3 ve αVβ5 reseptörleri) aracılığı ile yapmaktadır (38). Uyarılan hücrelerde apopitozis, diferansiyasyon, migrasyon ve yaşam siklusunu kontrol etmektedir (97,100).

Periostin düzeyindeki artışın, tümörlerin daha agresif seyretmesi ve daha yüksek mortalite oranları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (98-102). KRK olgularıyla yapılan çalışmalarda Periostin ekspresyonu TNM evrelemesi ile korele bulunmuştur. Bu sonuçlar, Periostin'in tümör invazyonunda, nodal ve uzak metastazların oluşumunda rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, uzak metastatik lezyonlardaki Periostin ekspresyonunun, primer kolorektal lezyonlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (100,103). Ancak literatürde mide kanserleri ile Periostin ilişkisini gösteren çok az çalışma bulunmaktadır.

Bu gelişmeler ışığında çalışmamızda intestinal tip mide kanserlerinde TMÇ, TT, stromal reaksiyonlar ve tümör ilişkili makrofajların prognoza etkisini, invazyon ve metastaz sürecinde tümör hücreleri ile TMÇ arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık. Ayrıca tümör stromasını değerlendirmede L-CaD ve Periostin'in yardımı olabileceğini düşünüp prognozla ilişkisini araştırmayı hedefledik.

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik Kurul İzni

2024-035 numaralı projemiz, 28.02.2024 tarihli toplantıda 20.478.486 karar no ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Olgu Seçimi

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden elde edilen 2010-2020 yılları arasındaki, total ve subtotal gastrektomi materyallerinde mide adenokarsinom tanısı alan olguların tıbbi kayıtlarına ulaşıldı. Çalışmaya dahil edilme ve ret edilme kriterleri belirlendi. Çalışmaya dahil edilme kriteri olarak; neoadjuvan tedavi almamış ve tümör hücreleri ile TMÇ'de değişiklik oluşmamış intestinal tipte adenokarsinom histolojisine sahip mide adenokarsinomları belirlendi. Çalışmaya ret edilme kriterleri ise mide müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli/taşlı yüzük hücre komponentli karsinom, andiferansiye karsinom ve nadir histolojik varyantları içeren olgular, tespit ve takip kalitesi kötü olan olgular, rezeksiyon öncesi neoadjuvan tedavi alan olgular olarak belirlendi. Değerlendirmeler sonucunda lamlarına ve bloklarına ulaşılabilen 100 olgudan oluşan retrospektif çalışma grubu seçildi.

Olgular Hastane Bilgi Sistemi (Probel) ve Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı'nın verileri üzerinden tarandı. Hastane kayıtlarından hastalığın klinik evresi (AJCC'ye göre), klinik özellikleri (cinsiyet, yaş), operasyon türü (total ve subtotal gastrektomi), klinik gidişi (tanı aldığı andan itibaren yaşam süresi, LN ve uzak metastaz gelişimi, son durumu vb.), tedavisi (hangi KT'yi kaç kür, ne

süreyle aldığı, RT alıp almadığı), yapılan cerrahi ve niteliği (R0, R1, R2 rezeksiyon), nüks olup olmadığı öğrenildi.

Histopatolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen olguların tümör içeren H&E kesitlerinin tamamı Olympus BX53 ışık mikroskopu kullanılarak histolojik tümör tipi, diferansiyasyon derecesi, cerrahi sınırlar, lenfovasküler invazyon (LVİ), perinöral invazyon (PNİ), tümörün invazyon derinliği, bölgesel lenf nodu tutulumu ve patolojik tümör evresi parametreleri, tümör tomurcuklanması (TT), desmoplastik stromanın niteliği, tümör stroma oranı ile stroma yüzdesi, peritümöral lenfositik yanıt (PLY), intratümöral lenfositik yanıt (İLY) açısından tekrar değerlendirildi.

Histopatolojik tanı ve histolojik derece DSÖ 2019, tümör invazyon derinliği, lenf nodu durumu ve klinik evre AJCC kanser evreleme kılavuzu 8. baskısı TNM evreleme sistemi ve 2023 CAP kılavuzuna göre değerlendirildi. İnvazyon derinliği değerlendirilirken 4 grup oluşturuldu. Lamina propria veya muskularis mukoza invazyonu gösteren tümörler (pT1a), submukoza invazyonu gösteren tümörler (pT1b) şeklinde pT1 olarak birlikte değerlendirildi. Muskularis propria invazyonu gösterenler pT2, subseroza invazyonu gösteren tümörler pT3 ve viseral periton invazyonu gösteren tümörler pT4 şeklinde gruplandırıldı. Histolojik derecelendirme, CAP'in 2023 kılavuzuna göre yapılmış olup, %95 ve fazlası bezlerden oluşuyorsa *grade* 1 iyi diferansiye, %50-95 oranında bez içeriyorsa *grade* 2 orta derece diferansiye, %49 ve daha az bez içeriyorsa *grade* 3 az diferansiye olarak sınıflandırıldı.

Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı histomorfolojik olarak değerlendirilip 'var' ve 'yok' olarak gruplandırıldı.

Mide kanserinde, TT için standart bir parametre olmadığından CAP'in Kolorektal Karsinom Raporlama Protokolü ve ITBCC'nin verilerine göre değerlendirildi. Buna göre; tümörün invaziv sınırında ana tümör kitlesinden ayrılan izole tümör hücreleri veya beş hücreyi geçmeyen tümöral hücre kümeleri tanımı kabul edilip buna göre değerlendirildi. Olgunun tümör içeren tüm lamları x10'luk büyütme ile incelenip TT yüksek olan 10 alan sayıldı.

X20'lik objektifte TT'nin en yoğun (hot spot) olduğu alanlarda tomurcuk sayımı yapıldı. Tomurcuk sayısı, mikroskop alan çapına göre 1.210 normalleştirme faktörüne bölünerek, 0.785 mm²'deki tomurcuk sayısı hesaplandı. CAP ve ITBCC'nin KRK'deki önerilerine dayanarak 0-4 tümör tomurcuğu bulunanlar düşük derece (TT 1), 5-9 tomurcuğu olanlar orta derece (TT 2), ≥10 tümör tomurcuğu olanlar yüksek derece (TT 3) olarak gruplandı (63).

Desmoplastik stromal yanıtın tipi tümörün invaziv sınırında değerlendirilerek yapıldı. Her tümör preparatı için invaziv sınırdaki bir alan x40'lık objektif ile taranarak, matür (DR1; ince, yoğun paketlenmiş kollagen lifler), orta derecede (DR2; keloid benzeri kolagen) veya immatür (DR3; miksoid stroma) olarak sınıflandırıldı.

Tümör stroma oranı ile stroma yüzdesi belirlenirken ve skorlama yapılırken tüm olgular, aynı mikroskobik inceleme koşulları altında değerlendirildi. Olgunun invazyon derinliğine karar verilen lamlar (tümör ve tümör-seroza ilişkisini gösteren kesitler) x4'lük büyütmede tekrar tarandı. Bu lamlar içerisinde tümörün en invaziv sınırı değerlendirildi ve stroma yüzdesi en yüksek olan alan seçildi. x4'lük büyütmede en yüksek stroma yüzdesine sahip alan belirlendikten sonra skorlama x10'luk büyütme kullanılarak yapıldı. Skorlama yapılırken seçilen görüş alanının dört köşesinde tümör izlenmesine dikkat edildi. Müsin gölcüğü, lenfoid follikül/agregat, nekroz, büyük kan damarı ve mide duvarına ait kas tabakası izlenen alanlar değerlendirmeye alınmadı. Stroma oranı arttıkça %10'luk artışlarla (%10, 20, 30 gibi) stroma yüzdesi belirlendi**.**

İntratümöral ve peritümöral alanlarda lenfositik infiltrasyon değerlendirildi. Değerlendirmeye sadece mononükleer hücreler (lenfositler) dahil edildi. Polimorfonükleer lökositler, nekroz ve hyalinizasyon alanları değerlendirme dışı bırakıldı. Tümör içeren tüm preparatlar incelenerek ortalama değer elde edildi. Buna göre olgular yok, düşük, orta ve yüksek olacak şekilde dört gruba ayrıldı.

TMÇ'de bulunan makrofajları değerlendirmek amacıyla, hemen hemen tüm monosit ve makrofajlarda eksprese edilen ve M1 (antitümöral) makrofajları

belirlemede yaygın olarak kullanılan CD68 (PG-M1 klonu) antikoru ile CD68'e kıyasla daha spesifik bir belirteç olan ve M2 (tümörojenik) makrofajlar için daha spesifik olan CD163 antikoru kullanıldı. CD68 (PG-M1 klonu) ve CD163 immunhistokimyasal boyaları ile membranöz ve sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Bu belirteçler değerlendirilirken her olgunun invaziv sınırları x40 büyütmede taranarak en yüksek boyanma gösteren alanlar belirlendi ve zemindeki non-neoplastik hücreler arasında boyanan makrofajların oranı %10'luk artışlarla (%10, 20, 30 gibi) kantitatif yöntemle hesaplandı.

TMÇ'de yer alan ekstraselüler matriks proteinleri olan L-CaD ve Periostin'in immunohistokimyasal boyamalarında, membranöz ve sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Pozitif kontrol olarak L-CaD için intrensek ekspresyon gösteren muskularis propria düz kas tabakası, Periostin için ise desmoplastik stroma ve tümör ile ilişkili fibroblastlar kullanıldı ve her iki kontrol grubunda da beklenen spesifik boyanma paternleri doğrulandı. L-CaD'u değerlendirirken boyanma oranı çok düşük olduğu için her olguda x40'lık büyütmede en yüksek boyanma gösteren alanlar belirlendi. Bu alanlardaki boyanmalar üç grupta değerlendirildi ve 0: boyanma yok, 1: zayıf-fokal boyanma, 2: orta ve güçlü boyanma şeklinde skorlandı.

Periostin immunhistokimyasal boyasını değerlendirirken her olguda invaziv sınırda ve tümör santralinde x40 büyütmede taranarak en yüksek boyanma gösteren alanlar belirlendi. Boyanmalar üç grupta sınıflandırılarak 0-1-2 şeklinde skorlandı (0: boyanma yok, 1: zayıf-fokal boyanma, 2: orta ve güçlü boyanma).

Daha sonra, CD68 ve CD163 pozitif makrofaj oranları, L-CaD ve Periostin boyanma paternleri gibi immun ve stromal değişkenlerin dağılımı analiz edilerek, TMÇ'nin prognostik önemi istatistiksel olarak incelendi.

İmmunohistokimyasal İnceleme Yöntemi

Çalışma grubundaki 100 olgunun tümör preparatları yeniden incelenerek tümörün en invaziv alanını içeren bloklar seçildi. Formalin ile tespitli ve parafine gömülü bloklardan elde edilen 3,5 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü elektrostatik lamlara (Isotherm Technical Laboratory Glass Materials)

alındı ve 58 °C lik etüvde 4 saat tutuldu ve ardından barkodları basılarak çalışmaya hazır hale getirildi. Elde edilen tüm kesitler tam otomatik immunohistokimyasal boyama cihazına (Ventana, Benchmark, XT İHC/İSH) yerleştirildi. İHK boyamalar için cihaz ile uyumlu Ultraview Universal DAB Detection Kit ve EZ prep, LCS, SSC, Cell Condition 1 (CC1), Reaction Buffer Concentrate solüsyonları ile Rabbit Anti-DNP Antibody, Amplifikasyon, ISH proteaz 3, Endogenous Biotin Blocking Kit, Hematoksilen ve Blue Reagent kullanıldı.

İHK çalışmalarda CD68 için predilüe mouse monoklonal antikoru (PG-M1 klonu, Dako, Code: IS613), CD163 için predilüe mouse monoklonal antikoru (MRQ-26 klonu, Ventana, Katalog numarası 760-4437), L-CaD için predilüe mouse monoklonal antikoru (F-10 klonu Dako, Code: sc-25339), Periostin için ise predilüe (F-10 klonu, Dako, Code: sc-398631) kullanıldı. Tüm antikorların boyamasında amplifier solüsyonu ile amplifikasyon uygulandı. Cihazda boyama işlemi tamamlandıktan sonra lamlar ılık deterjanlı su ile yıkanıp alkol serilerinden geçirildi. Şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan R (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov Testi ile incelendi. Sürekli değişkenler çalışmada medyan (minimum:maksimum) ve ortalama ± standart sapma değerleriyle ifade edilmiş olup kategorik değişkenler ise sayı ve ilgili yüzde değerleri ile ifade edilmişlerdir. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Monte Carlo Düzeltmeli Fisher’s Excat Testi kullanıldı ve ikili karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Z Testi ile yapıldı. İkili gruplarda normal dağılıma uymayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testi kullanıldı. Üç ve üzeri gruplarda normal dağılıma uymayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Testi kullanıldı ve ikili karşılaştırmalar Dunn Testi ile yapıldı. Üç ve üzeri gruplarda normal dağılıma uyan değişikenlerin karşılaştırılmasında ise Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Spearman’s rho

Korelasyon Katsayısı kullanıldı. Nüks ve ex durumuna etki eden bağımsız değişkenlerin belirlenmesinde Cox Regresyon Analizi kullanıldı. Genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım analizleri için öncelikle tek değişkenli Cox regresyon analizi uygulanmış, anlamlı bulunan değişkenler çok değişkenli Cox regresyon modeline dahil edilerek sağkalım üzerine bağımsız etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmanın analizleri SPSS (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programında yapılmış olup, istatistiksel $p<0,050$ anlamlı olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

1. Olgularda Demografik ve Klinik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 100 olgunun 31'i (%31) kadın, 69'u (%69) erkektir. Olguların yaşı 37-86 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 62,65 ± 11,89'dur. Olguların 52'sine (%52) total gastrektomi, 48'sine (%48) subtotal gastrektomi uygulanmıştır.

Olguların ortalama takip süresi 45,21 ay olup, takip süresi minimum 1 ay, maksimum 162 ay arasında değişmektedir. Bu süre içerisinde 36 (%36) olgu sağ kalırken, 64 (%64) olgu hayatını kaybetmiştir. Hayatını kaybeden hastaların ortalama takip süresi 23,33 ay olarak bulunmuştur. Takip süresi boyunca 31 olguda (%43,7) hastalığın nüks ettiği belirlenmiştir. Tanı sonrası nüks gelişimine kadar geçen sürenin ortalaması 20,1 ± 14,9 ay olarak belirlenmiştir. Olguların ortalama hastalıksız sağkalım (DFS) süresi 47,91 ± 45,18 ay, ortalama sağkalım (OS) süresi ise 53,17 ± 42,92 aydır.

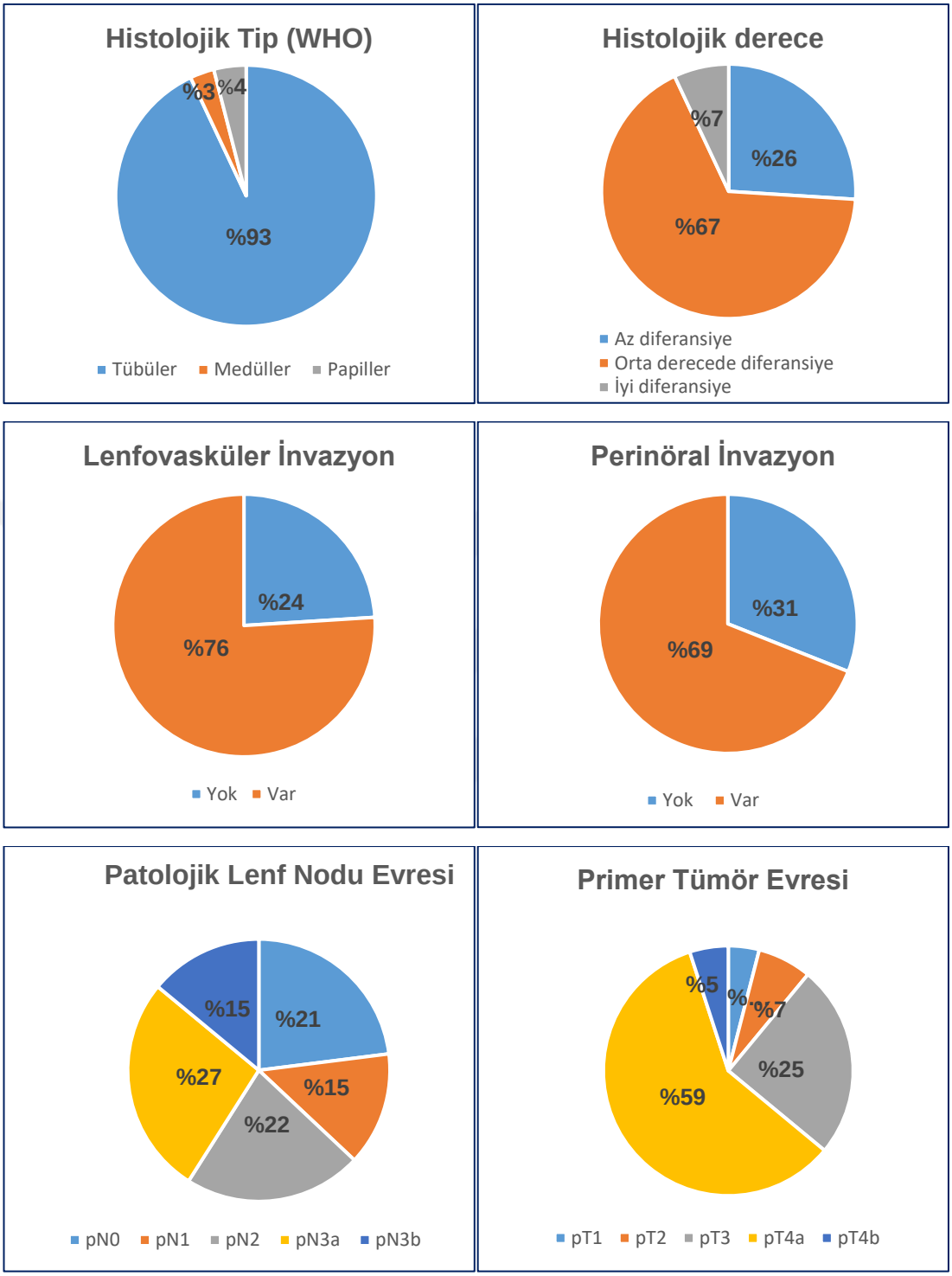
2. Olgularda Histopatolojik Bulgular

Olgu grubundaki tümörlerin lokalizasyonu değerlendirildiğinde proksimal yerleşimli olanların oranı %65 (65 olgu) iken distal yerleşimli olanlarda bu değer %35'tir (35 olgu). Tümör çapı 0,8-15 cm arasında değişmekte olup, ortalama çap 5,84 ± 2,58 cm olarak hesaplanmıştır.

Lauren histolojik sınıflamasına göre olguların 95'i (%95) intestinal tip, 5'i (%5) mikst tip olarak değerlendirilmiştir. Olguların histolojik tiplerine bakıldığında büyük kısmının tübüler adenokarsinom subtipinde olduğu görülmektedir. Bu oranlar, yalnızca intestinal tip mide adenokarsinomlarının çalışmaya dahil edilmesinden kaynaklanmakta olup, histolojik dağılımdaki bu

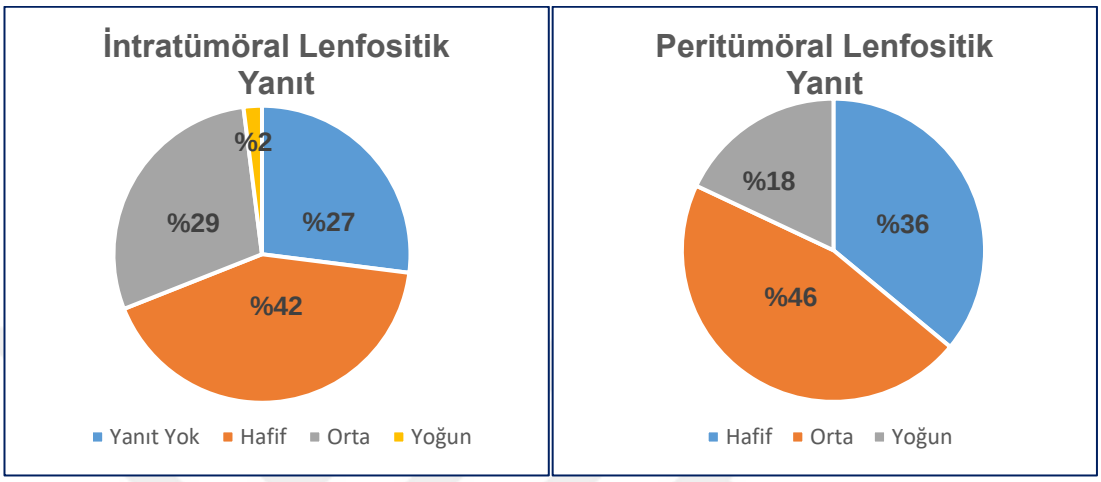
eğilim beklenen bir bulgudur. Tümörlerin az bir kısmı (%7) iyi diferansiye iken çoğunluğunu orta-kötü diferansiye tümörler oluşturmaktadır. Olguların 4'ü (%4) erken evre (pT1a, pT1b), 96'sı (%96) ileri evre (pT2, pT3, pT4a ve pT4b) olarak saptanmıştır. Lenf nodu metastazı (LNM) 77 (%77) olguda izlenmiştir. Olgulara lenf nodu evresi (pN) açısından bakıldığında, 21 olgu (%21) pN0, 15 olgu (%14) pN1, 22 olgu (%22) pN2, 27 olgu (%27) pN3a, 15 olgu (%15) N3b'dir.

Olgu grubundaki tümörlerin histopatolojik özellikleri Grafik 1'de görülmektedir. Toplam olgu sayısı 100 olduğu için verilerin daha net anlaşılmasını sağlamak amacıyla gruplar sadece yüzdelik dilimler şeklinde gösterilmiştir.



Grafik 1. Olguların histolojik tipi, histolojik derecesi, lenfovasküler ve perinöral invazyonu, patolojik lenf nodu evresi ve primer tümör evresine göre dağılımı

Peritümöral lenfositik yanıt olarak en sık %46 oranında “orta düzeyde” yanıt izlenirken, intratümöral lenfositik yanıtlarda ise en sık %42 oranı ile “hafif yanıt” saptanmıştır (Grafik-2).



Grafik 2. Olguların peritümöral ve intratümöral lenfositik yanıta göre dağılımı

Primer tümör evresi ile lenfovasküler invazyon (LVİ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır **(p=0.0341).** Daha ileri evredeki tümörlerde LVİ’nin daha sık gözlendiği görülmektedir. LVİ, metastatik yayılım açısından önemli bir belirteç olduğundan, bu ilişkinin klinik önemi büyüktür (Tablo 3).

Tablo 3. Lenfovasküler invazyonun primer tümör evresi ile ilişkisi

Evre	**Lenfovasküler İnvazyon**		
	Var (%)	**Yok (%)**	**p**
pT1	2	2	**0,0341**
pT2	5	2	
pT3	15	10	
pT4a	50	9	
pT4b	0	5	

Primer tümör evresi ile perinöral invazyon (PNİ) arasında istatistiksel olarak güçlü bir ilişki bulunmaktadır **(p=0.0004).** Daha yüksek evrelerde PNİ'nin daha sık gözlendiği dikkati çekmiştir. Bu bulgu, tümör evresi ilerledikçe PNİ'nin de arttığını göstermektedir, dolayısıyla tümör progresyonunun perinöral yayılım ile paralel ilerleyebileceği düşünülebilir (Tablo 4).

Tablo 4. Perinöral invazyonun primer tümör evresi ile ilişkisi

Primer Tümör Evresi	**Perinöral İnvazyon**		
	Var (%)	**Yok (%)**	**p**
pT1	0	4	**0,0004**
pT2	2	5	
pT3	15	10	
pT4a	47	12	
pT4b	5	0	

Primer tümör evresi ile patolojik lenf nodu evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır **(p=0.0395)**. Daha ileri evredeki tümörlerin LNM ile daha güçlü bir bağlantıya sahip olduğu görülmektedir (Tablo 5). Ayrıca LVİ ile patolojik lenf nodu evresi arasındaki ilişki de istatiksel olarak anlamlıdır **(p=0,006).**

Tablo 5. Patolojik lenf nodu evresinin primer tümör evresi ile ilişkisi

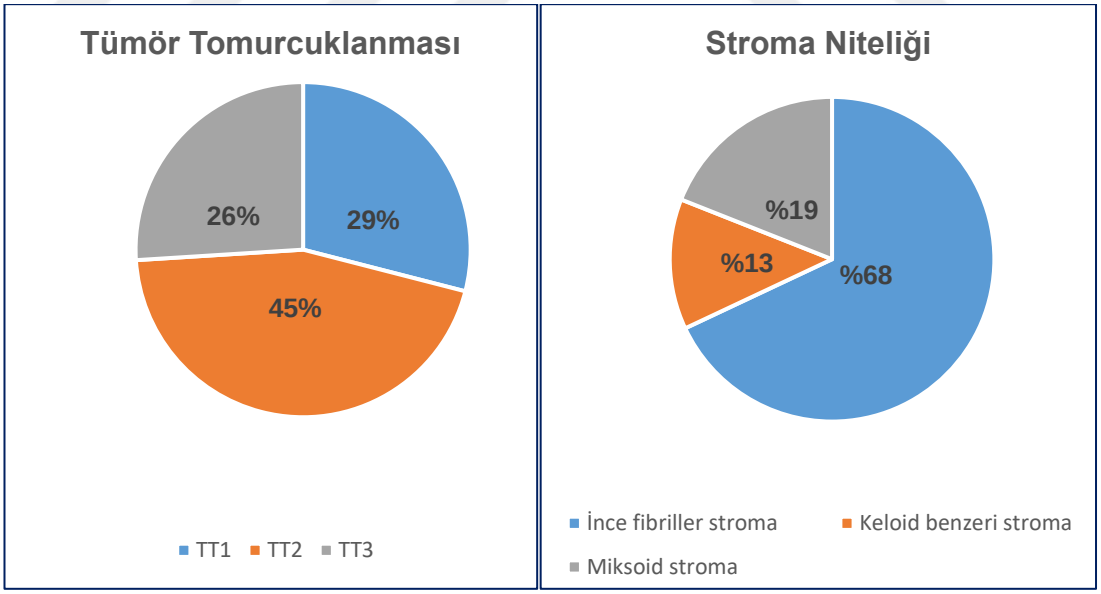
Primer Tümör Evresi	**Patolojik Lenf Nodu Evresi**					
	N0	**N1**	**N2**	**N3a**	**N3b**	**p**
pT1	3	0	0	1	0	**0,0395**
pT2	4	0	0	3	0	
pT3	7	4	6	6	2	
pT4a	6	11	16	15	11	
pT4b	1	0	0	2	2	

Histolojik derece, peritümöral lenfositik yanıt (PLY) ve intratümöral lenfositik yanıt (İLY) ile primer tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır (p=0,40, p=0.5074, p=0,7724).

3. Tümör Mikroçevresinin Değerlendirilmesi

Tümör mikroçevresi (TMÇ), mide kanserleri için prognostik olduğu ifade edilen tümör tomurcuklanması, stroma niteliği, tümör-stroma oranı, tümörle ilişkili makrofajlar gibi histopatolojik parametrelerin yanı sıra, çalışma konusu olarak belirlenen diğer mikroçevre komponentleri ile birlikte değerlendirilmiş ve bu faktörlerin birbirleri ile ilişkileri kıyaslanarak ele alınmıştır.

Olgularda TMÇ'yi değerlendirmek amacıyla seçilen preparatlarda, tümörün invaziv sınırında 92 olguda tümör tomurcuklanması (TT) gözlenirken, 8 olguda TT saptanmamıştır. Ayrıca, invaziv sınırda tümör-stroma oranının ortalaması %46,4 ± 28,6 olarak hesaplanmış ve stroma niteliği açısından en yüksek oran %68 ile 'ince fibriler stroma' formunda bulunmuştur (Grafik 3).



Grafik 3. Olguların TT ve stroma niteliğine göre dağılımı

3.1. Tümör Tomurcuklanmasının Değerlendirilmesi

TT ile tümör yerleşim yeri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p = 0.792). Bu sonuç, TT'nin proksimal veya distal yerleşimli tümörlerle doğrudan ilişkili olmadığını göstermektedir.

Tümör çapı ile TT arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Ortalama tümör çapı TT gözlenen hastalarda 4,8 cm, TT gözlenmeyenlerde ise 3,2 cm olarak saptanmıştır. TT gözlenen grupta tümör çapının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha büyük olduğu tespit edilmiştir (**p=0,032**). Bu bulgu, TT'nin daha büyük tümör çapı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir**.**

TT grupları ile histolojik derece arasında anlamlı bir fark saptanmıştır **(p=0,037)**. Az diferansiye tümörlerde TT 3 oranının yüksek olması beklenen bir bulgudur. Bu**,** az diferansiye tümörlerin daha invaziv bir fenotipe sahip olduğunu ve EMT sürecinin daha belirgin olduğunu düşündürmektedir. Ancak iyi diferansiye tümörlerde TT 3 oranının beklenenden yüksek olması dikkat çekicidir. Diferansiyasyonu iyi olmasına rağmen bazı tümörlerin agresif invazyon paternleri geliştirebileceği veya tümörün invaziv sınırında biyolojik heterojenlik gösterebileceği düşünülmelidir (Tablo 6).

Tablo 6. Tümörün histolojik derecesi ve TT arasındaki ilişki

Histolojik Derece	**Tümör Tomurcuklanması**						
	TT 1		**TT 2**		**TT 3**		**p**
	n	**(%)**	**n**	**(%)**	**n**	**(%)**	
İyi diferansiye	3	(42,9)	1	(14,2)	3	(42,9)	**0,037**
Orta derecede diferansiye	24	(35,8)	29	(43,3)	14	(20.9)	
Az diferansiye	2	(7,7)	15	(57,7)	9	(34.6)	

LVİ varlığında TT 3 oranı belirgin şekilde artmaktadır (%31,6). TT 1 oranı ise LVİ olmayan grupta daha yüksek olup (%41,7), LVİ olan grupta %25,0'a düşmektedir. Bu bulgular, LVİ'nin TT ile ilişkili olabileceğini ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir (p=0,057) (Tablo 7).

Tablo 7. Lenfovasküler invazyon ile TT arasındaki ilişki

Lenfovasküler İnvazyon	Tümör Tomurcuklanması						
	TT 1		TT 2		TT 3		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Yok	10	(41.7)	12	(50.0)	2	(8.3)	0,057
Var	19	(25.0)	33	(43.4)	24	(31.6)	

PNİ ile TT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,294). TT arttıkça PNİ oranında hafif bir artış gözlense de, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık taşımamaktadır.

Tümör invazyon derinliğine göre TT gözlenen ve gözlenmeyen hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (**p=0,0006).** İnvazyon derinliği arttıkça TT 3 oranı belirgin şekilde yükselmektedir. Mukoza ve submukoza seviyesinde TT 3 hiç izlenmezken, seroza invazyonunda TT 3 oranı %35,5'e ulaşmıştır. Bu bulgular, invazyon derinliği arttıkça TT'nin belirgin şekilde yükseldiğini ve tümör biyolojisi açısından daha agresif bir patern ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Tablo 8).

Tablo 8. İnvazyon derinliği ile TT arasındaki ilişki

İnvazyon Derinliği	Tümör Tomurcuklanması						
	TT 1		TT 2		TT 3		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Mukoza	3	(60)	2	(40)	0	(0)	**0,0006**
Submukoza	3	(75)	1	(25)	0	(0)	
M.propria	10	(71.4)	3	(21.4)	1	(7.2)	
Subseroza	2	(13.3)	10	(66.7)	3	(20)	
Seroza	11	(17.7)	29	(46.8)	22	(35,5)	

Primer tümör evresi ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (**p=0.001**). pT1 ve pT2 evrelerinde TT 3 hiç izlenmezken, evre ilerledikçe TT 3 oranında belirgin bir artış gözlenmiştir. pT3 evresinde TT 3 oranı %8,0 iken, pT4a evresinde %37,3'e ve pT4b evresinde %40,0'a yükselmiştir. Bu bulgular, tümör evresi ilerledikçe TT'nin artış gösterdiğini ve daha agresif bir tümör davranışı ile ilişkilendirilebileceğini düşündürmektedir (Tablo 9).

Tablo 9. Primer tümör evresi ile TT arasındaki ilişki

Primer Tümör Evresi	**Tümör Tomurcuklanması**						
	TT 1		**TT 2**		**TT 3**		**p**
	n	**(%)**	**n**	**(%)**	**n**	**(%)**	
pT1	4	(100)	0	(0)	0	(0)	
pT2	5	(71.4)	2	(28.6)	0	(0)	
pT3	10	(40)	13	(52)	2	(8)	**0,001**
pT4a	10	(16.9)	27	(45.8)	22	(37.3)	
pT4b	0	(0)	3	(60)	2	(40)	

LN evresi ile TT arasında yapılan analizde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p = 0.07). TT 1 oranı evre ilerledikçe belirgin şekilde azalırken, TT 2 ve TT 3 oranlarının ileri evrelerde yükseldiği gözlenmiştir. Bu bulgular, LN evresi ile TT arasında anlamlı bir fark saptanmamış olsa da, ileri evrelerde TT oranlarının değişim göstermesi nedeniyle daha geniş ölçekli çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

TT'nin mikroçevrenin diğer bileşenlerinden olan stroma ile ilişkisine bakıldığında, tümörün invaziv sınırında tümör-stroma oranı (TSO) ile TT grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,811). TT arttıkça TSO'nun azaldığı gözlenmekle birlikte, bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 10).

Tablo 10. Tümör-stroma oranı ile TT ve arasındaki ilişki

İnvaziv Sınırda Tümör-Stroma Oranı (%)	Tümör Tomurcuklanması			
	TT 1 Ortanca (Min-Max)	TT 2 Ortanca (Min-Max)	TT 3 Ortanca (Min-Max)	p
	60 (5 - 95)	50 (5 - 90)	45 (5 - 90)	0,811

Stroma niteliği açısından bakıldığında da TT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,355). Üç ayrı stromal özellik arasında TT dağılımında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, stroma niteliğinin tek başına TT oluşumunda belirleyici bir faktör olmayabileceğini göstermektedir (Tablo 11).

Tablo 11. Tümör stromasının niteliği ile TT ile arasındaki ilişki

Stroma Niteliği	Tümör Tomurcuklanması						
	TT 1		TT 2		TT 3		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
İnce Fibriler Stroma (DR1)	23	(33.8)	31	(45.6)	14	(20.6)	p=0,355
Keloid Benzeri Stroma (DR2)	3	(23)	5	(38,5)	5	(38.5)	
Miksoid Stroma (DR3)	3	(15.8)	9	(47.4)	7	(36.8)	

Mikroçevrenin önemli bileşenlerinden biri olan PLY ile TT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,658). Hafif düzeyde ve yoğun lenfositik yanıtın TT arttıkça azaldığı gözlenmiştir. Orta düzeyde lenfositik yanıt TT 3 grubunda en yüksek seviyeye ulaşsa da, bu durum TT arttıkça sürekli bir artış olduğunu göstermemektedir.

İLY ile TT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,118). TT 3 grubunda İLY göstermeyen hasta oranının artış eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, hafif ve orta düzeyde lenfositik yanıt veren hastaların oranı TT grupları arasında belirgin bir fark göstermemiştir. Yoğun lenfositik yanıt ise yalnızca TT 2 ve TT 3 gruplarında

az sayıda hastada saptanmış olup, TT 1 grubunda hiç gözlenmemiştir. Bu bulgular, TT arttıkça İLY'nin belirli bir patern göstermediğini ve İLY'nin TT ile doğrudan ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

İnvaziv sınırda CD68 oranı ve CD163 İHK boyanma oranları ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (CD68 için p=0,740, CD163 için p=0,837). CD68 oranları TT grupları arasında belirgin bir değişiklik göstermemektedir. Bu durum, TT'nin CD68+ makrofaj infiltrasyonu ile doğrudan ilişkili olmadığını düşündürmektedir. CD163 oranları ise TT arttıkça hafif bir artış eğilimi göstermektedir. TT 1 grubunda CD163 oranı ortancası %10 iken, TT 2 ve TT 3 gruplarında %30'a çıkmıştır (Tablo 12).

Tablo 12. İnvaziv sınırda CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile TT ile arasındaki ilişki

	Tümör Tomurcuklanması			
	TT 1 Ortanca (Min-Max)	**TT 2 Ortanca (Min-Max)**	**TT 3 Ortanca (Min-Max)**	**p**
CD68 Oranı	10 (5 - 70)	10 (5 - 80)	10 (5 - 70)	0,740
CD163 Oranı	20 (5 - 80)	30 (5 - 90)	20 (5 - 80)	0,837

3.2. Tümör Stromasının Değerlendirilmesi

Tümör stromasının özellikleri invaziv sınırda değerlendirilmiş ve tümör stromasının niteliği ile histolojik derece, PNİ, invazyon derinliği, tümör evresi, LN evresi ve tümör-stroma oranı karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05).

Tümör stroması niteliği ve LVİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.282) (Tablo 13).

Tablo 13. LVİ ile tümör stroma niteliği arasındaki ilişki

	Stroma Niteliği						
LVİ	**İnce Fibriler Stroma**		**Keloid Benzeri Stroma**		**Miksoid Stroma**		**p**
	n	**(%)**	**n**	**(%)**	**n**	**(%)**	
Var	51	(67,1)	12	(15,8)	13	(17,1)	0,282
Yok	17	(70,8)	1	(4,2)	6	(25,0)	

Tümör ilişkili makrofajlar ile tümör stroması arasındaki ilişki incelendiğinde; tümörün invaziv sınırında CD68 ve CD163 ekspresyonu yapan makrofajların oranı ile stroma niteliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler saptanmıştır **(p=0,01)**. İnce fibriler stromaya sahip tümörlerde ve keloid benzeri stroması olan tümörlerde CD68 medyan oranı %30 iken, miksoid stroma içeren olgularda CD68 oranı daha düşük (%10) bulunmuştur. Bu bulgu, miksoid stromaya sahip tümörlerin CD68+ makrofajlar ile daha az oranda infiltre olduğunu düşündürmektedir.

Aynı şekilde tümörün invaziv sınırında CD163 oranı ile stroma niteliği arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (**p<0,001).** İnce fibriler stroma içeren olgularda CD163 oranı (medyan %40) diğer stroma tiplerine göre yüksek bulunurken, keloid benzeri ve miksoid stroma içeren olgularda CD163 oranları %20 olarak saptanmıştır. Bu sonuç, ince fibriler stromaya sahip tümörlerin daha fazla CD163+ makrofaj infiltrasyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 14). Ayrıca miksoid stroma tipinin hem CD163+ hem de CD68+ makrofajlar ile en az infiltre olan stroma tipi olduğu görülmektedir.

Tablo 14. CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile tümör stroma niteliğinin ilişkisi

	Stroma Niteliği			
	İnce Fibriler Stroma	**Keloid Benzeri Stroma**	**Miksoid Stroma**	**p**
CD68 Oranı	30 (5 - 90)[a]	20 (5 - 70)[ab]	10 (5 - 60)[b]	**0,01**
CD163 Oranı	40 (5 - 90)[a]	30 (5 - 80)[ab]	20 (5 - 70)[b]	**<0,001**

Kruskal Wallis Testi; Ortanca (minimum – maksimum); a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur

Tümörün invaziv sınırında, TSO arttıkça CD68+ makrofaj oranının azalma eğiliminde olduğu gözlenmiş, ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,255).

Aynı şekilde tümörün invaziv sınırında, TSO arttıkça CD163+ makrofaj oranının azaldığı tespit edilmiştir, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır **(p=0,023)** (Tablo 15).

Tablo 15. Tümör stroma oranının CD68 ve CD163 ekspresyonları ile ilişkisi

	Tümör- Stroma Oranı	
	r*	**p**
CD68 Oranı	-0,115	0,255
CD163 Oranı	-0,228	**0,023**

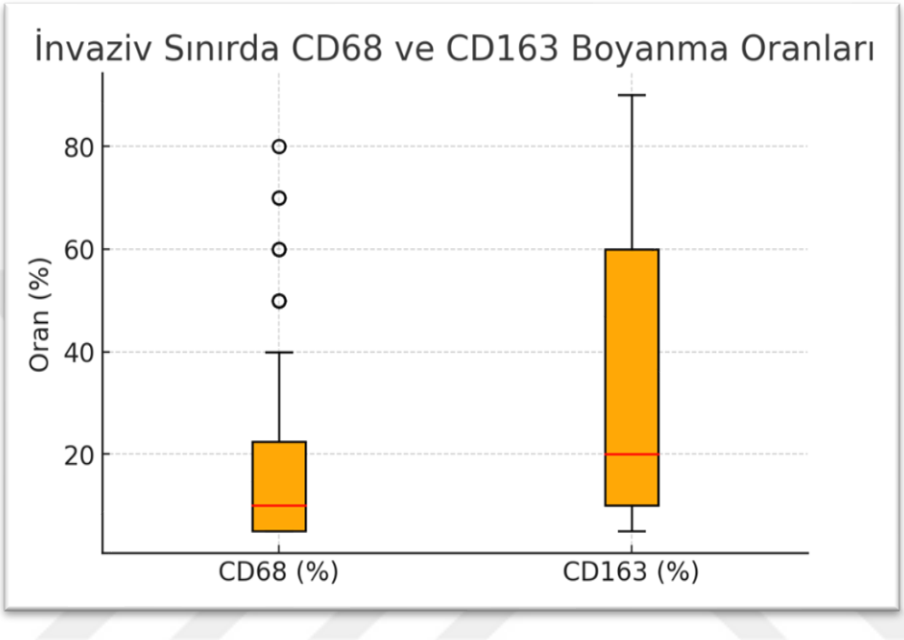
***r*:** *Spearman's rho Korelasyon Katsayısı*

Ancak TSO'nun, PNİ, LVİ, invazyon derinliği, primer tümör evresi ve TT ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır (p>0,05).

3.3. Tümörle İlişkili Makrofajların Değerlendirilmesi

Tümörlerin invaziv sınırlarında değerlendirilen CD68 pozitif hücre oranının ortalama değeri %19,75 ± 19,61, CD163 pozitif hücre oranının ortalama değeri ise %32,15 ± 25,23 olarak belirlenmiştir. CD163 oranının CD68'e kıyasla daha

yüksek olması, TMÇ'de immunsüpresif (M2) makrofaj infiltrasyonunun daha baskın olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, tümörün bağışıklık sisteminden kaçış mekanizmalarının etkinliğini ve bu durumun tümör progresyonuna olan etkisini anlamak açısından önemli bir bulgudur (Grafik 4).



Grafik 4. Olguların CD68 ve CD163 İHK boyanma oranına göre dağılımı

Çalışmamızda, tümör ilişkili makrofajlardan CD68 İHK boyanma oranı ile histolojik derece, LVİ, PNİ, LN evresi ve invazyon derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak, CD163 boyanma oranı ile histolojik derece **($p=0.019$)** ve PNİ **($p=0.030$)** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

CD68 oranı ile tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,692$). pT1 evresindeki tümörlerde CD68 oranı en düşük seviyede (%7,5) iken, pT4b evresindeki tümörlerde en yüksek seviyeye ulaşmıştır (%26). CD163 oranı da evre ile anlamlı bir ilişki göstermemiştir ($p=0,769$). CD163 oranı da evre ilerledikçe artış göstermiş, pT1 evresinde %15 iken, pT4b evresinde %37 olarak hesaplanmıştır.

CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile PLY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır **(p=0,001 ve p<0,001)**. Hafif lenfositik yanıt gösteren olgularda CD68 (%14,44) ve CD163 (%18,47) İHK boyanma oranları en düşük seviyede gözlenmiştir. Yoğun lenfositik yanıt gösteren olgularda da doğru orantılı olarak CD68 (%33,61) ve CD163 (%52,22) İHK boyanma oranları en yüksek seviyeye ulaşmıştır (Tablo 16).

Tablo 16. Peritümöral lenfositik yanıtın CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile ilişkisi

PLY	CD68 Oranı		p	CD163 Oranı		p
	a*	b*		a*	b*	
Hafif	14,44 ± 16,72	5 (5 - 70)[b]		18,47 ± 18,55	10 (5 - 70)[b]	
Orta	18,48 ± 15,84	10 (5 - 70)[a]	**0,001**	35 ± 24,36	30 (5 - 80)[a]	**<0,001**
Yoğun	33,61 ± 27,05	25 (5 - 80)[a]		52,22 ± 24,15	55 (10 - 90)[a]	

Kruskal Wallis Testi; ***a*:*** *Ortalama ± Standart sapma;* ***b*:*** *Ortanca (minimum – maksimum); a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur.*

İLY açısından da CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir **(p=0,036 ve p<0,001)** (Tablo 17).

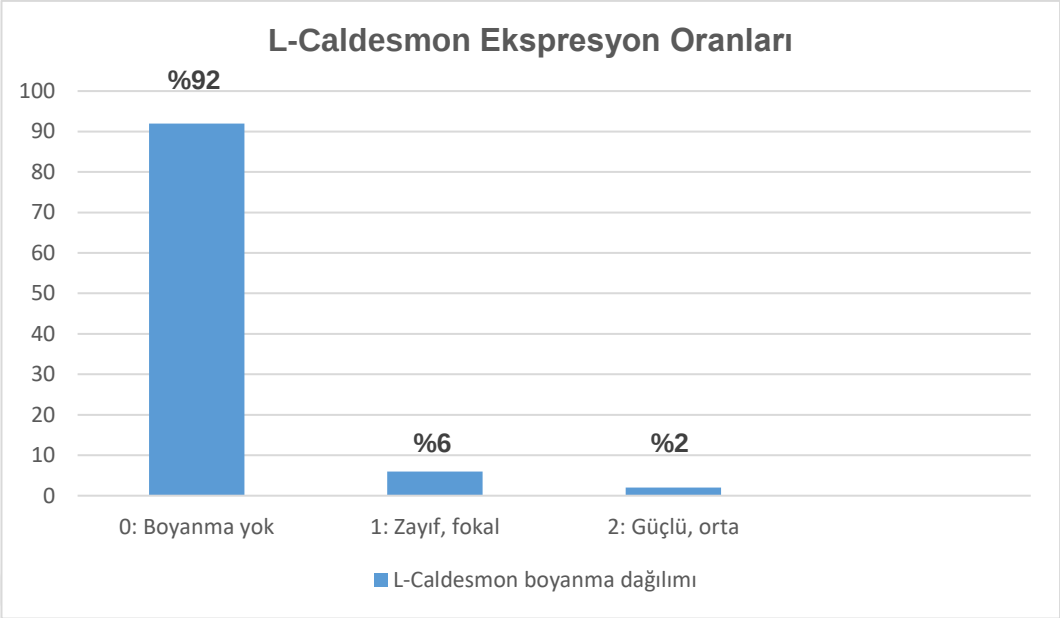
Tablo 17. İntratümöral lenfositik yanıtın CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile ilişkisi

İLY	C68 Oranı		p	CD163 Oranı		p
	a*	b*		a*	b*	
Yanıt yok	14,81 ± 16,61	10 (5 - 70)	0,036	19,81 ± 19,59	10 (5 - 80)	<0,001
Hafif	17,14 ± 17,67	10 (5 - 70)[ab]		26,9 ± 22,25	20 (5 - 80)[b]	
Orta	28,45 ± 23,03	20 (5 - 80)[a]		50 ± 24,93	60 (10 - 90)[a]	
Yoğun	15 ± 7,07	15 (10 - 20)[ab]		50 ± 14,14	50 (40 - 60)[ab]	

*Kruskal Wallis Testi; **a***: Ortalama ± Standart sapma; **b***: Ortanca (minimum – maksimum); a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur.*

4. L-Caldesmon ve Periostin'in Değerlendirilmesi

İHK olarak ilk kez kullandığımız L-CaD 92 olguda gözlenmemiş, sadece 6 olguda zayıf/fokal ve 2 olguda güçlü/orta düzeyde boyanma saptanmıştır (Grafik 5). Ancak, L-CaD'nin yalnızca 8 olguda boyanma göstermesi ve %92 oranında ekspresyon olmaması, bu belirtecin tümör progresyonu ve diğer histopatolojik verilerle ilişkisini değerlendirmek için yetersiz veri sağlamaktadır. Bu nedenle, öncelikle L-CaD'nin biyolojik anlamını belirleyebilmek için daha geniş olgu gruplarıyla çalışılması gerektiğini belirtmek isteriz.



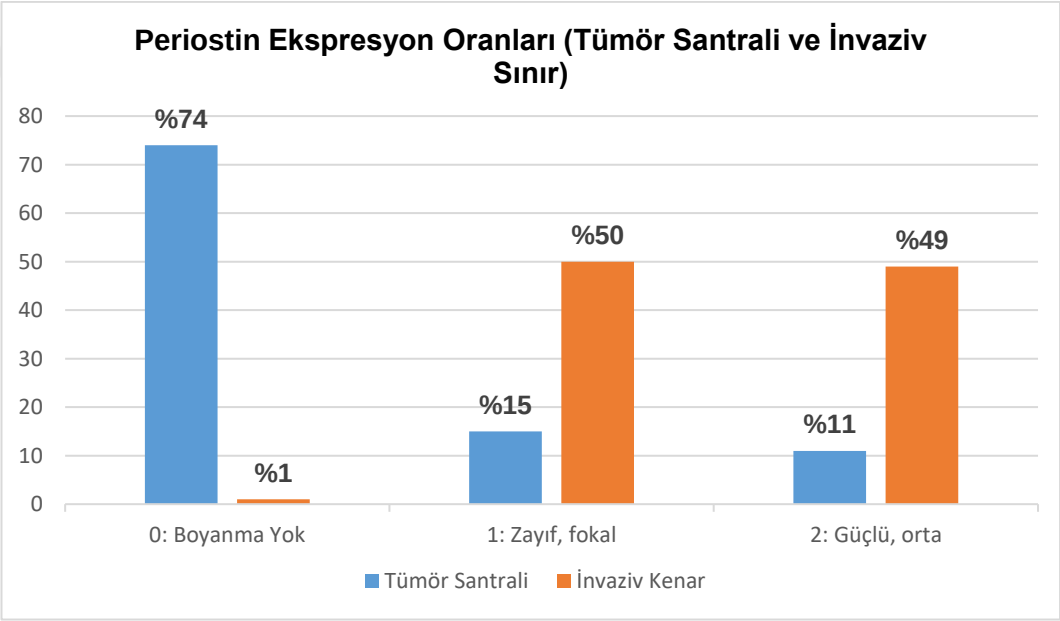
Grafik 5. Olguların L-Caldesmon İHK boyanmasına göre dağılımı

L-Caldesmon (L-CaD) ekspresyon düzeyleri; histolojik derece (p=0,78), LVİ (p=0,609), PNİ (p=0,690), invazyon derinliği (p=0,904), tümör evresi (p=0,542), TT (p=0,548), stroma niteliği (p=0,831), PLY (p=0,768), İLY (p=0,085), CD68 (p=0,562) ve CD163 (p=0,199) ekspresyonları ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermemiştir (Tablo 18).

Tablo 18. LVİ ve PNİ ile L-CaD ekspresyonu arasındaki ilişki

	L-Caldesmon Boyanması						
LVİ	**0**		**1**		**2**		**p**
	n	**(%)**	**n**	**(%)**	**n**	**(%)**	
Yok	22	(23,9)	1	(16,7)	1	(50)	0,609
Var	70	(76,1)	5	(83,3)	1	(50)	
PNİ							
Yok	30	(32,6)	1	(16,7)	0	(0)	0,690
Var	62	(67,4)	5	(83,3)	2	(100)	

Periostin ekspresyonu tümör santralinde 74 olguda görülmezken, 15 olguda zayıf/fokal, 11 olguda güçlü/orta boyanma saptanmıştır. Tümörün invaziv sınırında ise 50 olguda zayıf/fokal, 49 olguda güçlü/orta boyanma gözlenirken yalnızca 1 olguda negatiflik bulunmaktadır. Periostin'in özellikle invaziv sınırda, santrale kıyasla belirgin şekilde daha fazla ekspresyon gösterdiği dikkati çekmektedir. Bu durum, Periostin'in invazyon ve tümör mikroçevresi etkileşiminde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Grafik 6).



Grafik 6. Olguların Periostin İHK boyanmasına göre dağılımı

Tümör santrali ve invaziv sınırdaki Periostin ekspresyonu açısından LVİ (p=0,14, p=0,866), PNİ (p=0,13 p=0,937) ve invazyon derinliği (p=0,782, p=0,176) arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tümör santrali ve invaziv sınırdaki Periostin ekspresyonu ve evre arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,356, p=0,452). İleri evre tümörlerden pT4a ve pT4b'de tümör santralindeki Periostin ekspresyonunun daha yüksek olduğu gözlenmiş olsa da, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,356).

Tümör santralindeki ve invaziv sınırdaki Periostin ekspresyon düzeyleri açısından TT grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,718, p=0,583). Tümör santralinde Periostin boyanma oranları tüm tomurcuklanma gruplarında benzer seviyelerde seyretmiş, güçlü-orta düzey boyanma en yüksek TT 1 grubunda gözlenmiş, ancak ileri tomurcuklanma gruplarında azalmıştır (Tablo 19).

Tablo 19. Tümör santralindeki ve invaziv sınırdaki Periostin boyanması ile TT grupları arasındaki ilişki

	Tümör Tomurcuklanması						
Periostin-Santral	**TT 1**		**TT 2**		**TT 3**		**p**
	n	**(%)**	**n**	**(%)**	**n**	**(%)**	
0	24	(83,8)	33	(73,3)	17	(65,4)	
1	3	(10,3)	6	(13,3)	6	(23,1)	0,718
2	2	(6,9)	6	(13,3)	3	(11,5)	
Periostin-Sınır							
0	0	(0)	1	(2,2)	0	(0)	
1	16	(55,2)	19	(42,2)	15	(57,7)	0,583
2	13	(44,8)	25	(55,6)	11	(42,3)	

Tümör santrali ve invaziv sınırdaki Periostin ekspresyonu açısından stroma tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,589, p=0,752).

İnvaziv sınırdaki Periostin ekspresyon düzeyleri ile CD68 ve CD163 boyanma oranları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (CD68 için **p=0.0068**, CD163 için **p<0.001**). Periostin ekspresyonu olmayan olgularda, CD68 boyanma oranı en düşük seviyededir. Periostin boyanması arttıkça hem CD68 hem de CD163 boyanma oranında belirgin bir artış gözlenmiştir. Periostin ile orta ve güçlü boyanma olan grupta ortalama CD68 ve CD163 İHK boyanma oranı da Periostin seviyesine göre anlamlı değişiklik göstermektedir (Tablo 20).

Tablo 20. Periostin boyanmasının invaziv sınırda CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile ilişkisi

Periostin-Sınır	CD68 Oranı a*	CD68 Oranı b*	p	CD163 Oranı a*	CD163 Oranı b*	p
0	0,05 ± 0,04	0.05 (0.05 - 0.05)		0.05 ± NaN*	0.05 (0.05 - 0.05)	
1	0.14 ± 0.15	0.1 (0.05 - 0.7)	**0.00668**	0.23 ± 0.2	0.125 (0.05 - 0.8)	**0.00021**
2	0.26 ± 0.22	0.2 (0.05 - 0.8)		0.42 ± 0.26	0.4 (0.05 - 0.9)	

Kruskal Wallis Testi; ***a*:** *Ortalama ± Standart sapma;* ***b*:** *Ortanca (minimum – maksimum). NaN*; Standart sapma hesaplanamadı.*

Periostin boyanma düzeyleri ile PLY değerlendirildiğinde tümör santralindeki Periostin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark (**p=0,034)** saptanırken invaziv sınırdaki Periostin ekspresyonu ile anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,09) (Tablo 21).

Tablo 21. Peritümöral lenfositik yanıtın Periostin (Tümör Santrali) boyanması ile ilişkisi

Peritümöral Lenfositik Yanıt	Periostin boyanması (Tümör santrali) 0 n	0 (%)	1 n	1 (%)	2 n	2 (%)	p
Hafif	29	(39,2)	6	(40)	1	(9,1)	
Orta	36	(48,6)	4	(26,7)	6	(54,5)	**0,034**
Yoğun	9	(12,2)	5	(33,3)	4	(36,4)	

Periostin boyanma düzeyleri ile İLY açısından ise hem tümör santralinde hem de invaziv sınırda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,306, p=0,056).

5. Olguların Klinik İzlemleri İle Histopatolojik ve İHK Bulguların İlişkisi

Çalışmamızda elde edilen histopatolojik ve İHK verilerin prognoza ve klinik tabloya etkisini inceleyebilmek için hasta izlemlerinden elde edilen verilerle karşılaştırılması yapılıp, sonuçlar genel ve hastalıksız sağkalım analizleri ile değerlendirilmiştir.

Klinik izlem verilerine göre sağ kalan hastaların yaş ortalaması 58.78 ± 11.77 yıl iken, hayatını kaybeden hastaların yaş ortalaması 64.83 ± 11.48 yıl olarak bulunmuştur. Yapılan analizlerde yaşın sağkalımı anlamlı düzeyde etkilediği görülmüş **(p=0.003)**, ileri yaş grubundaki hastalarda mortalite riskinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çok değişkenli analizler sonucunda da yaşın, sağkalımı bağımsız olarak etkileyen önemli prognostik faktörlerden biri olduğu saptanmıştır **(p<0.001).**

LVİ'nin sağkalım üzerindeki bağımsız prognostik etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.199). Bu durum, LVİ'nin sağkalımı etkileyen diğer faktörlerle (lenf nodu metastazı, evre vb.) güçlü bir ilişki içinde olabileceğini düşündürmektedir. PNİ olmayan hastalar referans alınarak yapılan Cox regresyon analizinde, PNİ olan hastalarda sağkalımın sınırda anlamlı şekilde azaldığı gözlenmiştir (p=0.050). Bu durum, PNİ'nin sağkalımı olumsuz yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Mukoza seviyesinde invazyonu olan hastalar referans alınarak yapılan analizde, muskularis propria tutulumu olan hastalarda sağkalımın anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür **(p=0.002)**. Benzer şekilde, seroza tutulumu olan hastalarda da sağkalım açısından olumsuz etki gözlenmiştir **(p=0.009)**. Ancak, subseroza tutulumu olan hastalarda bu ilişki istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunmuştur (p=0.058). Bu sonuçlar, derin invazyonun sağkalımı olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermektedir.

N0 (lenf nodu tutulumu olmayan) hastalar referans alınarak yapılan analizde, N3a evresinde sağkalım süresinin anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür **(p<0.001).** Benzer şekilde, N3b evresinde de sağkalım açısından belirgin bir azalma saptanmıştır **(p<0.001).** Bu bulgu, LNM'nin sağkalımı etkileyen önemli bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir.

TT 0 olan hastalar referans alındığında, TT 2 olan hastalarda sağkalım süresinin azaldığı gözlenmiş (p=0.175), TT 3 olan hastalarda ise bu etki belirgin olmamıştır (p=0.620). Ancak, her iki grup için de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular, TT'nin sağkalımı olumsuz yönde etkileyebileceğini düşündürse de, kesin bir prognostik faktör olarak değerlendirilebilmesi için daha fazla çalışma gerekmektedir.

İnce fibriler stroma referans alındığında, miksoid stroma varlığında sağkalım açısından anlamlı bir ilişki saptanmıştır **(p=0.036).** Bu sonuç, stroma niteliğinin tümör biyolojisi ve prognoz üzerindeki etkisini vurgulamaktadır.

CD68'in invaziv sınırdaki boyanma oranı, sağ kalan hastalarda 19.03 ± 17.11, eksitus olan hastalarda ise 20.16 ± 21.01 olarak ölçülmüştür. Tek değişkenli analizde sağkalım ile anlamlı bir ilişki saptanmamış (p=0.511), ancak çok değişkenli analizde p=0.069 bulunarak istatistiksel anlamlılık sınırında olduğu görülmüştür.

CD163'ün invaziv sınırdaki boyanma oranı ise sağ kalan hastalarda 33.61 ± 24.1, eksitus olan hastalarda 31.33 ± 25.99 olarak ölçülmüştür. Tek değişkenli analizde anlamlı bir ilişki bulunmazken (p=0.817), çok değişkenli analizde CD163'ün yüksek boyanma oranı daha iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur **(p=0.029).** Bu bulgular, CD163 pozitif makrofajların tümör mikroçevresindeki immün yanıt ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

İLY ve PLY yoğunluğu, genel sağkalım süresi ile belirgin bir ilişki de göstermemiştir (İLY için p=0.246, PLY için p=0.347).

L-CaD ekspresyonu olmayan hastalar referans alındığında, güçlü/orta boyanma gösteren hastalarda sağkalım ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızda, L-CaD ekspresyonu olmayan 92 olgu bulunurken, boyanma gösteren sadece 8 olgu mevcuttu. Bu dengesiz dağılım, istatistiksel analizin gücünü azaltmış olabilir. Daha önce vurgulandığı gibi, yeterli ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için örneklem sayısının mutlaka arttırılması gereklidir. Büyük ölçekli çalışmalarda, L-CaD'un sağkalım üzerindeki olası etkisini daha iyi değerlendirmek mümkün olabilir.

Periostin boyanma düzeylerinin sağkalım ile anlamlı bir ilişkisi saptanmamıştır (p > 0,05). Ancak, farklı tümör alt gruplarında detaylı analizler yapılarak bu ilişkiler daha iyi anlaşılabilir (Tablo 22).

Tablo 22. Genel sağkalım süreleri ile histopatolojik bulguların ilişkisi

	Risk Oranı	**(95%CI)**	**Univariate p**	**Multiple p**
Yaş	1.073	(1.04 - 1.106)	**0.003**	**<0.001**
PNI (Referans: Yok)				
Var	1.947	(0.999 - 3.794)	0.162	**0.050**
İnvazyon Derinliği (Referans: Mukoza)				
Muskularis Propria	0.12	(0.031 - 0.467)	0.045	**0.002**
Subseroza	0.277	(0.074 - 1.042)	0.085	**0.058**
Seroza	0.224	(0.073 - 0.691)	0.403	**0.009**
LN Metastazı (Referans: N0 evresi)				
N2	3.026	(1.045 - 8.761)	0.035	0.041
N3a	7.639	(2.74 - 21.293)	**<0.001**	**<0.001**
N3b	7.205	(2.38 - 21.808)	**0.001**	**<0.001**
Stroma Niteliği (Referans: İnce Fibriler Stroma)				
Miksoid Stroma	0.436	(0.201 - 0.947)	0.186	**0.036**
CD163 Oranı	0.982	(0.965 - 0.998)	0.817	**0.029**

6. Hastalıksız Sağkalım Süreleri ile Histopatolojik Bulguların İlişkisi

Çalışmamızda hastalıksız sağkalım (DFS) süresini etkileyen prognostik faktörler incelenmiştir.

Sağ kalan hastaların yaş ortalaması 58,78 ± 11,77, hayatını kaybeden hastaların yaş ortalaması 64,55 ± 11,49 olarak hesaplanmıştır. Bu bulgular, ileri yaşın hastalıksız sağkalım süresini anlamlı olarak kısalttığını

göstermektedir. Yaş arttıkça nüks ve mortalite riski artmakta olup, yaş faktörü bağımsız bir prognostik belirteç olarak değerlendirilebilir.

LNM varlığı, DFS açısından en güçlü prognostik faktörlerden biri olarak belirlenmiştir. Tek değişkenli analizde N1 **(p=0.043)**, N2 **(p=0.012)**, N3a **(p<0.001)** ve N3b **(p<0.001)** gruplarında hastalıksız sağkalım süresinin belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Çok değişkenli analizde ise N3a **(p<0.001)** ve N3b **(p<0.001)** evresindeki hastalarda DFS'nin en düşük olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, LNM'nin DFS'yi önemli ölçüde etkileyen bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir.

TT ile DFS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Ancak, daha yüksek tomurcuklanma gösteren hastalarda sağkalımın daha kötü seyredebileceği eğilimi gözlenmiştir. Tomurcuklanmanın agresif tümör biyolojisini yansıttığı ve LNM ile ilişkili olabileceği düşünüldüğünde, daha kapsamlı ve çok değişkenli analizlerin yapılması gerekmektedir.

Stroma niteliğinin DFS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır. Ancak, miksoid stroma varlığı daha iyi bir sağkalım eğilimi ile ilişkilendirilmiştir (Keloid benzeri stroma: $p = 0,344$; Miksoid stroma: $p = 0,167$). Tümör stroması, TMÇ'nin önemli bir belirleyicisi olup, fibrotik veya miksoid yapıların tümörün biyolojik davranışını nasıl etkilediğini anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

L-CaD ve Periostin için, boyanma olmayan hastalar referans alındığında, zayıf fokal ve güçlü/orta boyanma grupları için risk oranı (HR) hesaplanamamıştır. Bu durum, veri eksikliği veya düşük hasta sayısı nedeniyle L-CaD ve Periostin'in DFS üzerindeki etkisinin net olarak değerlendirilemediğini göstermektedir.

Cinsiyet, LVI, invazyon derinliği, TSO, CD68 ve CD163 İHK boyanma oranları ile DFS arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 23).

Tablo 23. Hatalıksız sağkalım süreleri ile histopatolojik bulguların ilişkisi

	Risk Oranı	**(95%CI)**	**Univariate p**	**Multiple p**
Yaş	1.043	(1.018 - 1.07)	**0.024**	**0.001**
LN Metastazı (Referans: N0 evresi)				
N1	3.436	(1.117 - 10.571)	**0.043**	**0.031**
N2	4.077	(1.461 - 11.378)	**0.012**	**0.007**
N3a	7.998	(2.975 - 21.508)	**<0.001**	**<0.001**
N3b	7.347	(2.539 - 21.261)	**<0.001**	**<0.001**

7. Nüks Gelişimi ile Histopatolojik Bulguların İlişkisi

Çalışmamızda mide adenokarsinomlarında nüks gelişimi ile histopatolojik değişkenler arasındaki ilişki incelenmiştir.

Tek değişkenli analizde LVİ'nin nüks gelişimi ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır (p=0.112). Ancak, çok değişkenli analizde LVİ, nüks gelişimini bağımsız olarak artıran bir faktör olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir **(p=0.041).** Bu bulgu, LVİ'nin tümör hücrelerinin dolaşıma katılımını ve uzak metastaz potansiyelini artırabileceği düşüncesiyle uyumludur.

PNİ ile nüks gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.285). Bu bulgu, PNİ'nin hastalık progresyonu üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığını, ancak diğer histopatolojik faktörlerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Mukoza ve submukoza invazyonu olan hastalarda nüks riski düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05).

LNM, nüks gelişimi açısından en güçlü prognostik faktörlerden biri olarak belirlenmiştir. Tek değişkenli analizde N1 **(p=0.014)**, N2 **(p=0.014)**, N3a **(p=0.002)** ve N3b **(p=0.006)** gruplarında nüks riski belirgin şekilde artmıştır. Çok değişkenli analizde ise N3a **(p<0.001)** ve N3b **(p<0.001)** gruplarında nüks riski en yüksek olarak bulunmuştur.

TT yüksek olan hastalarda nüks gelişme oranı daha fazla bulunmuştur. TT 1 hastalar ile TT 3 hastalar kıyaslandığında, TT 3 grubunda nüks gelişme riskinin belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir (p=0.386). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05).

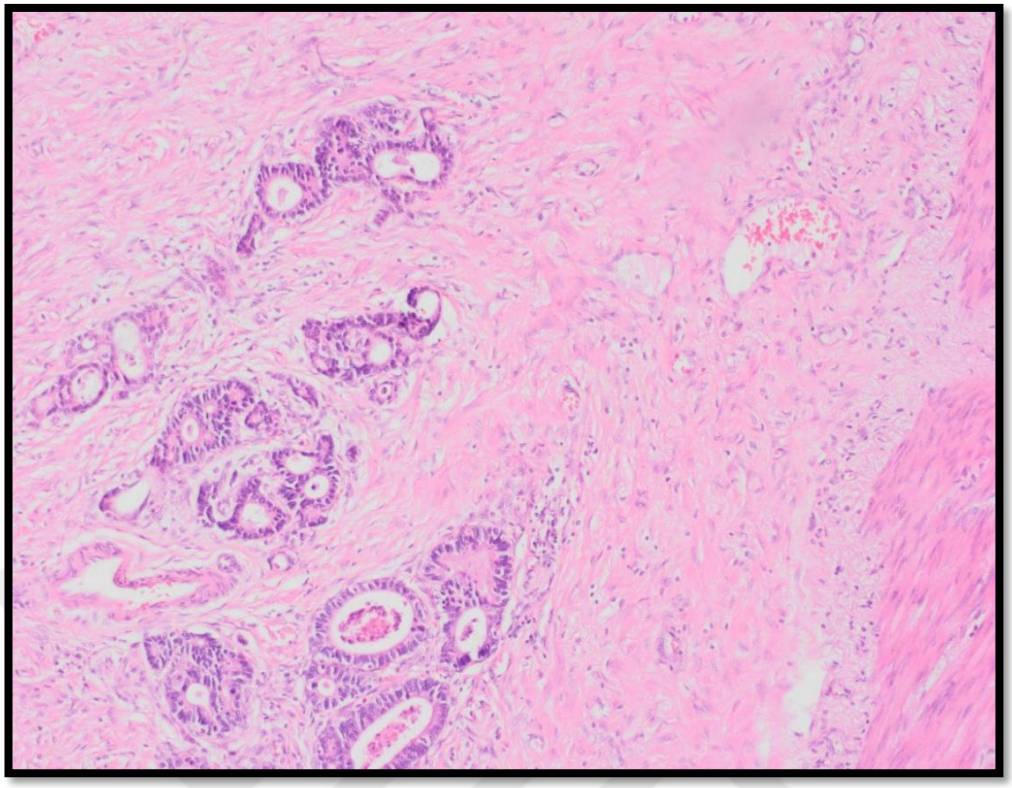
Miksoid stroma, çok değişkenli analizde nüks riskini anlamlı şekilde azaltan bir faktör olarak belirlenmiştir (p=0.005). Bu bulgu, miksoid stromaya sahip tümörlerin daha düşük invazyon potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir. Keloid benzeri stroma ise nüks açısından anlamlı bir risk artışı ile ilişkilendirilmemiştir (p>0.05).

CD68 ve CD163 makrofaj infiltrasyonu ile nüks gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.564 ve p=0.848). TMÇ'deki makrofaj aktivitesinin nüks riski üzerindeki etkisinin daha büyük hasta gruplarında incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

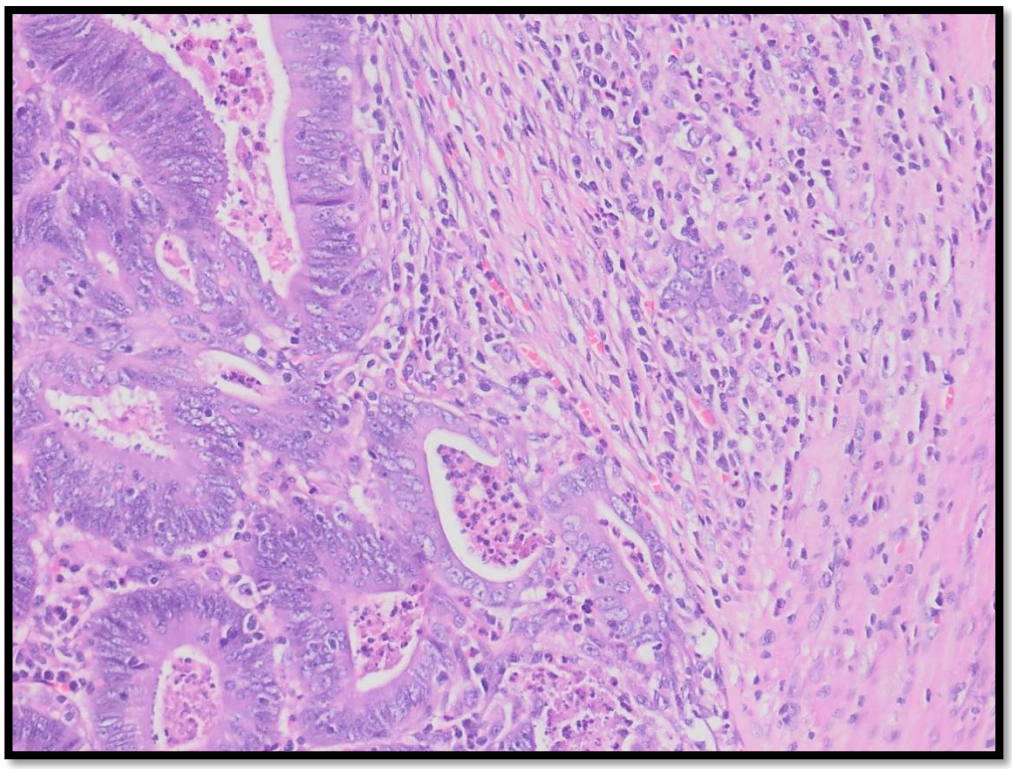
Tek değişkenli analizde yaş, cinsiyet, invazyon derinliği, TSO, CD68/CD163, L-CaD ve Periostin ekspresyonları ile nüks arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 24).

Tablo 24. Nüks ile histopatolojik bulguların ilişkisi

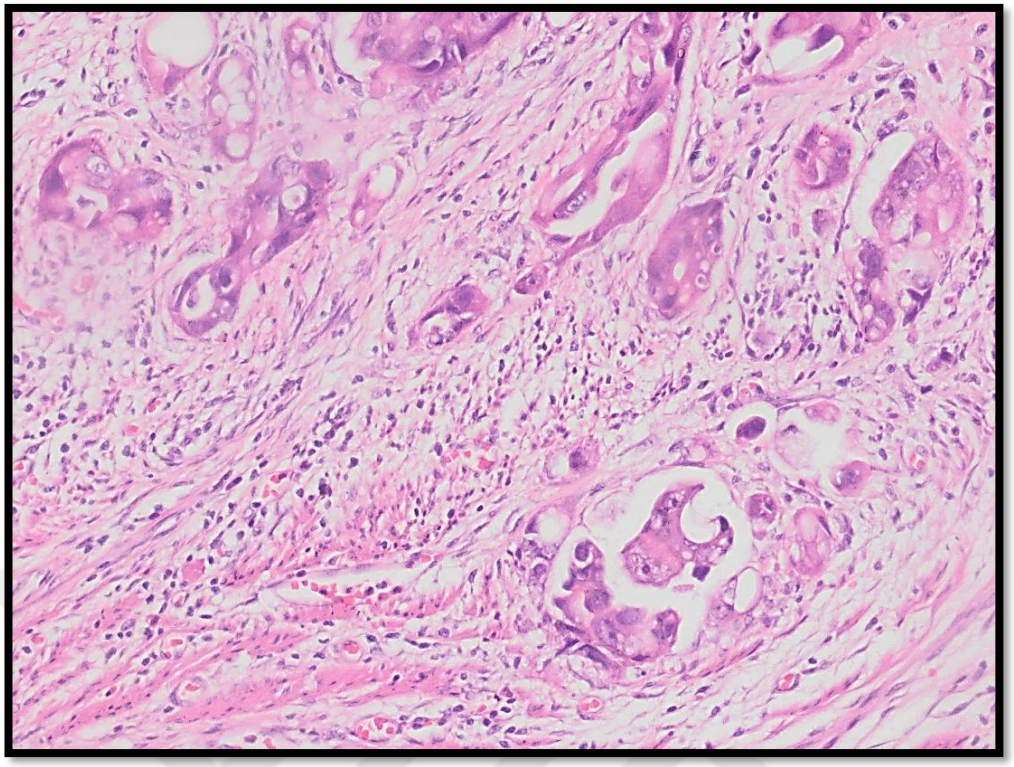
	Risk Oranı	**(95%CI)**	**Univariate p**	**Multiple p**
Lenfovasküler İnvazyon (Referans: Yok)				
Var	2.582	(1.038 - 6.421)	0.543	**0.041**
LN Metastazı (Referans: N0 evresi)				
N1	7.47	(1.503 - 37.12)	**0.014**	**0.001**
N2	6.801	(1.466 - 31.547)	**0.014**	**0.001**
N3a	11.831	(2.536 - 55.19)	**0.002**	**<0.001**
N3b	9.878	(1.914 - 50.968)	0.006	**<0.001**
Stroma Niteliği (Referans: İnce Fibriler Stroma)				
Miksoid Stroma	0.201	(0.068 - 0.592)	0.347	**0.005**



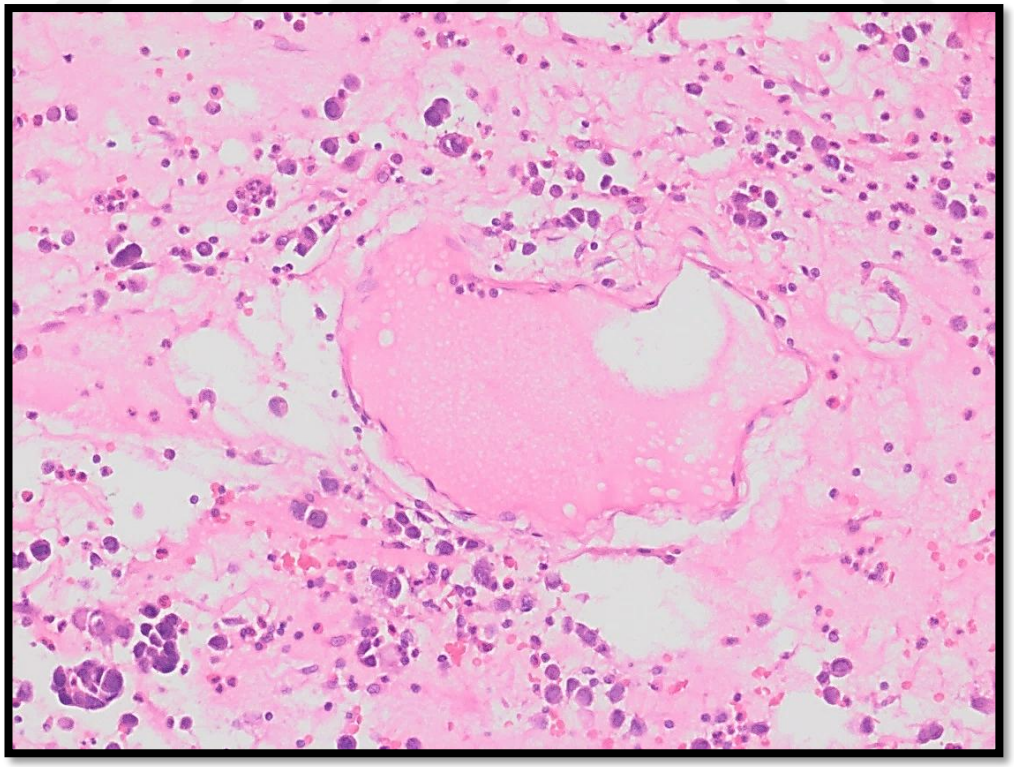
Resim 4. Tümör tomurcuklanması izlenmeyen invaziv kenar (TT 0) (HEx40)



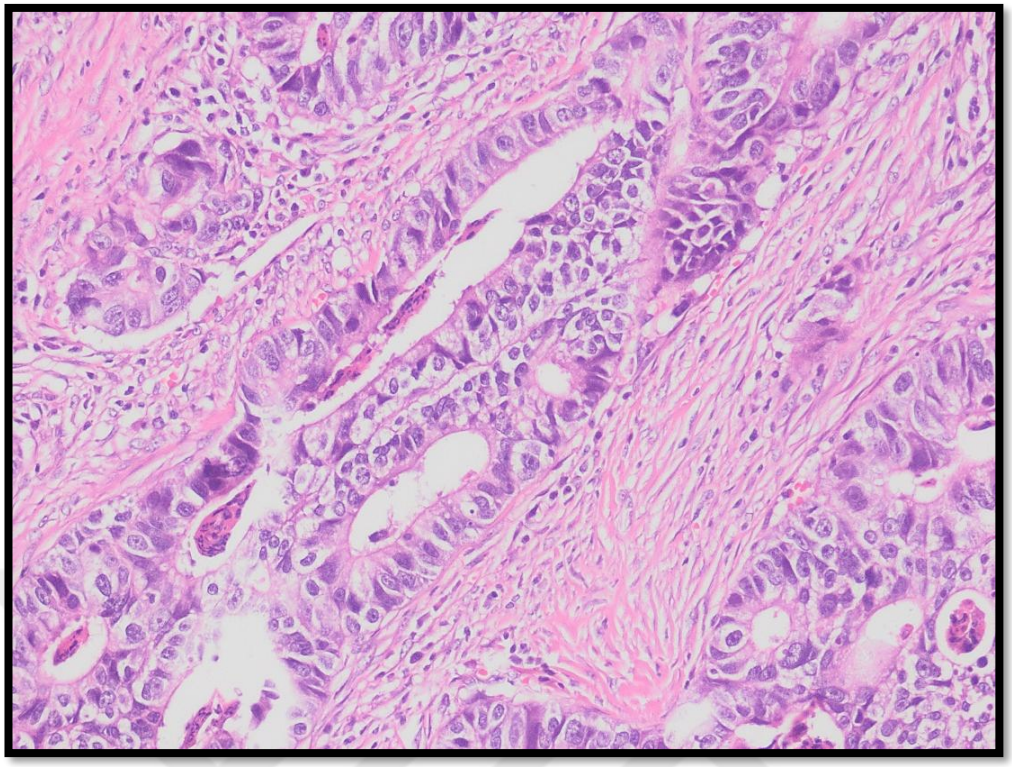
Resim 5. Düşük tümör tomurcuklanması (TT 1) (HEx200)



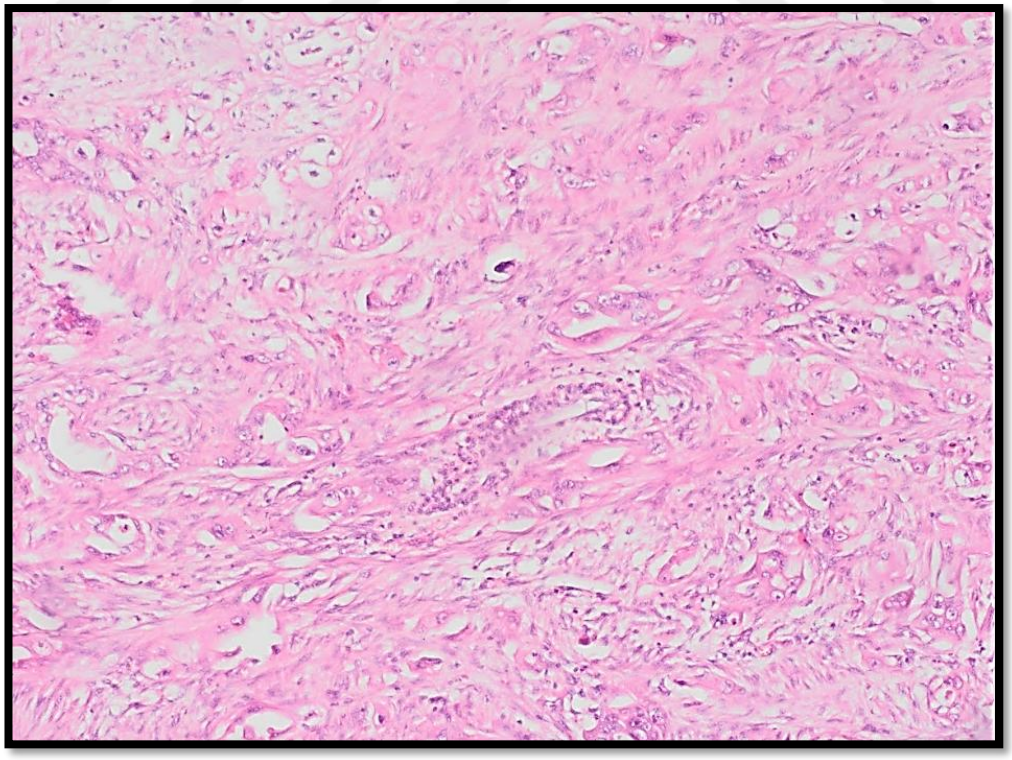
Resim 6. Orta tümör tomurcuklanması (TT 2) (HEx200)



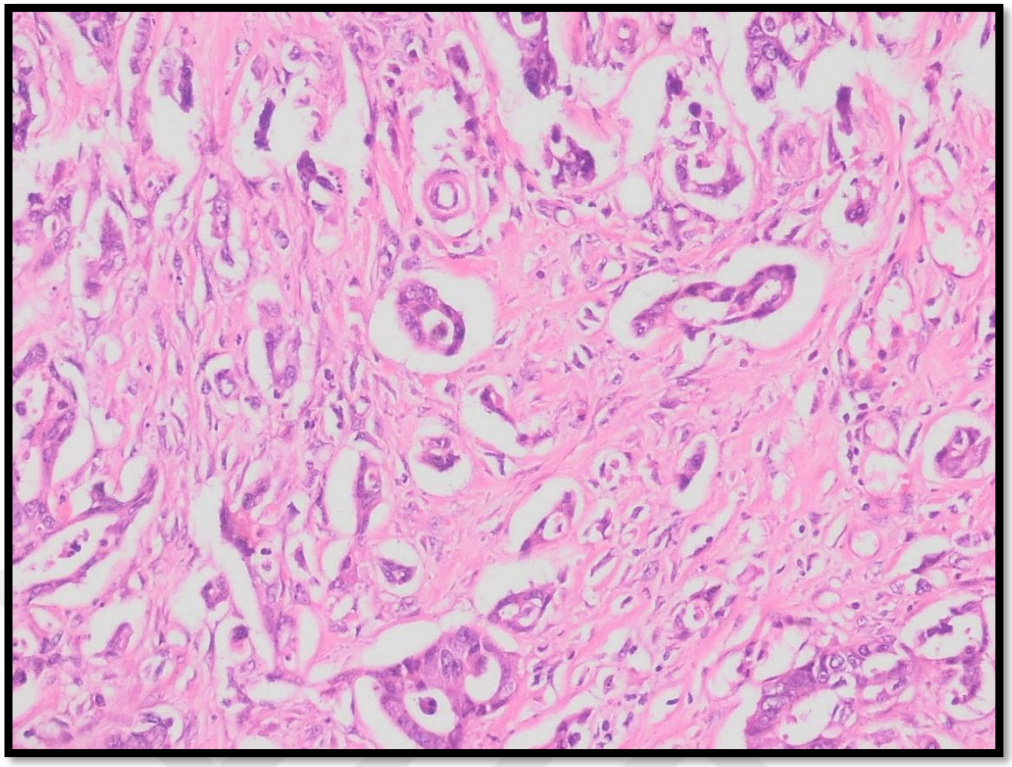
Resim 7. Yüksek tümör tomurcuklanması (TT 3) (HEx200)



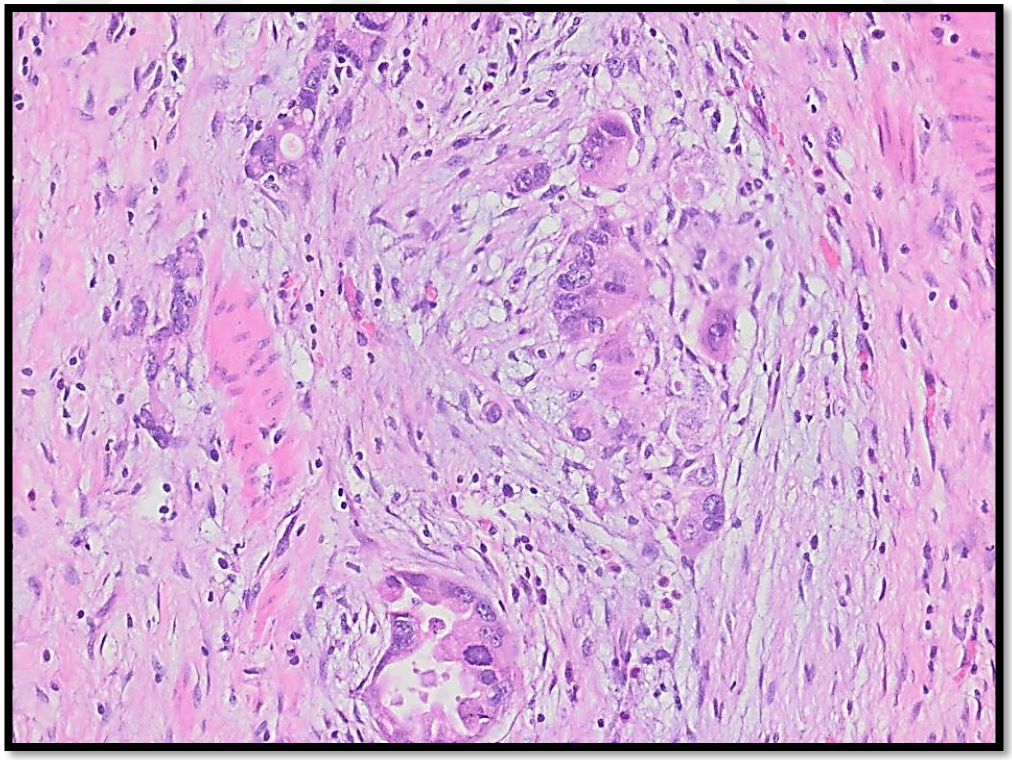
Resim 8. İnce Fibriler Stroma (DR1) (HEx200)



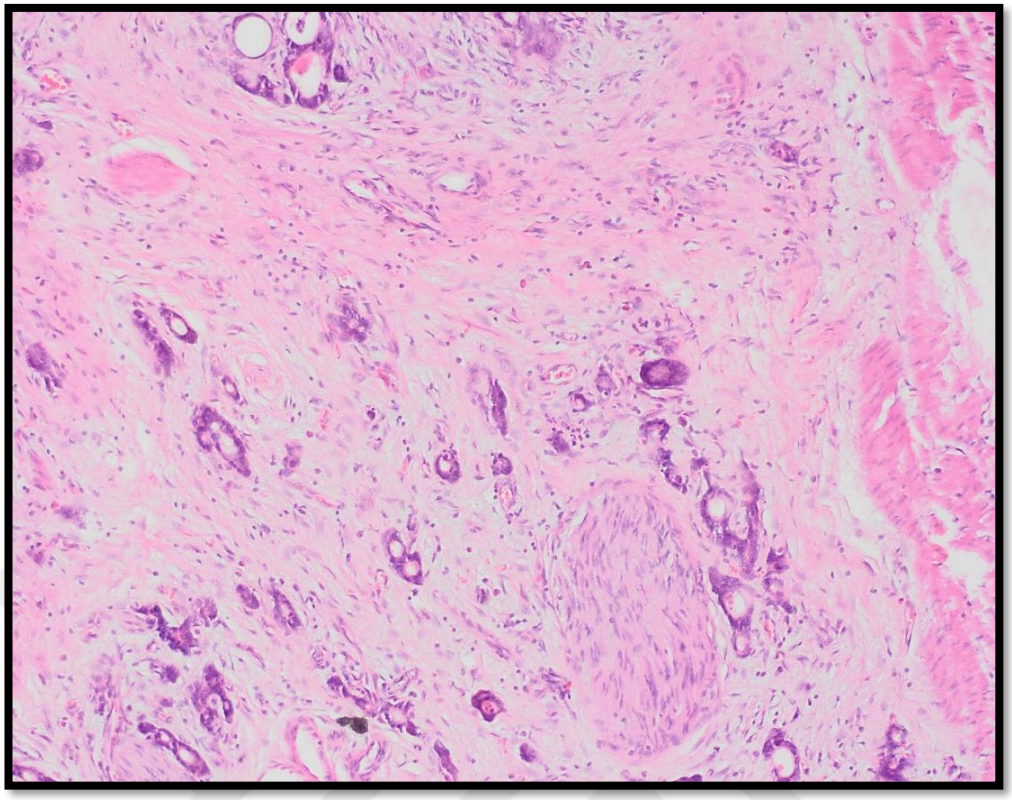
Resim 9. Keloid Benzeri Stroma (DR2) (Hex100)



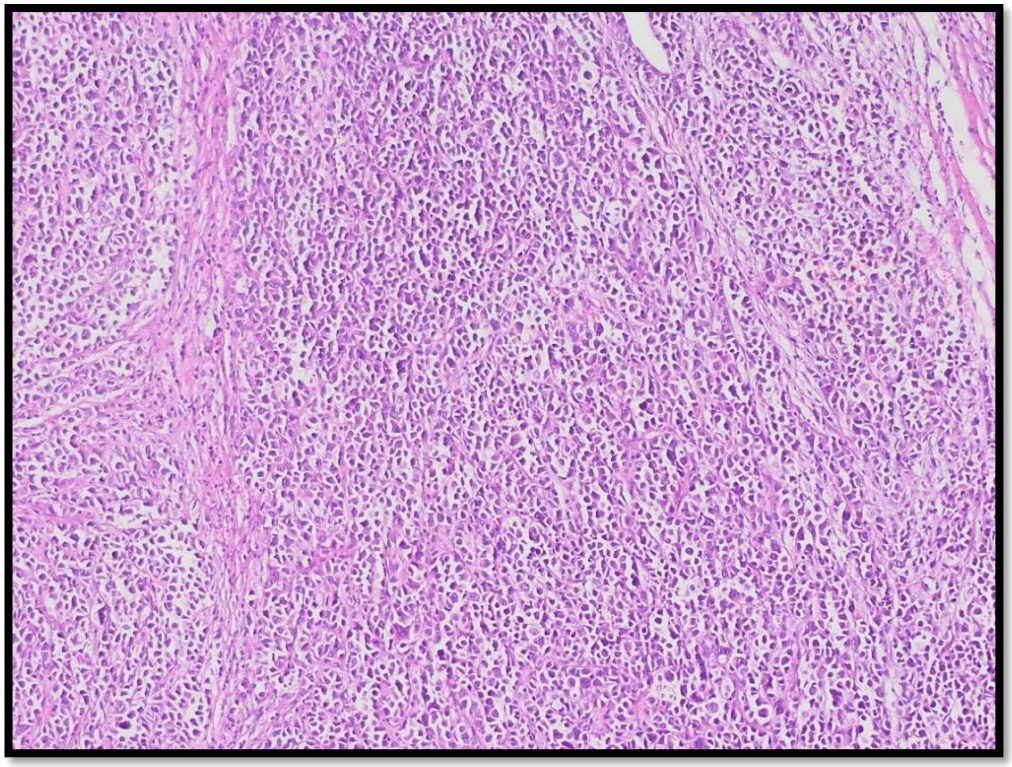
Resim 10. Keloid Benzeri Stroma (DR2) (HEx200)



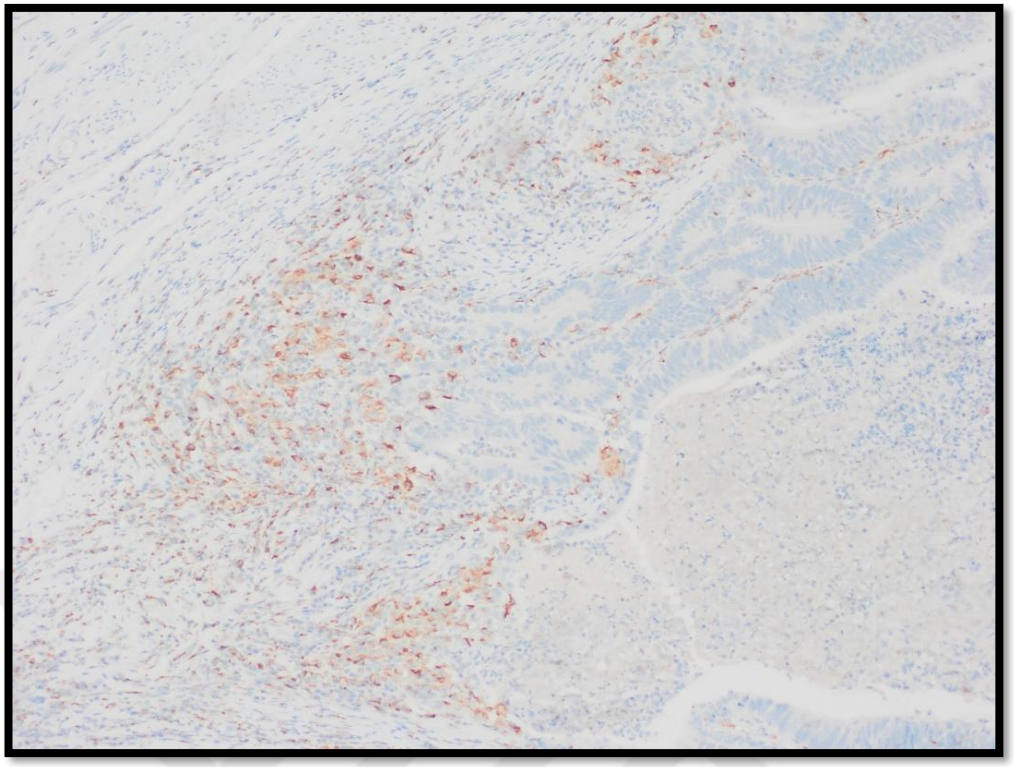
Resim 11. Miksoid Stroma (DR3) (HEx200)



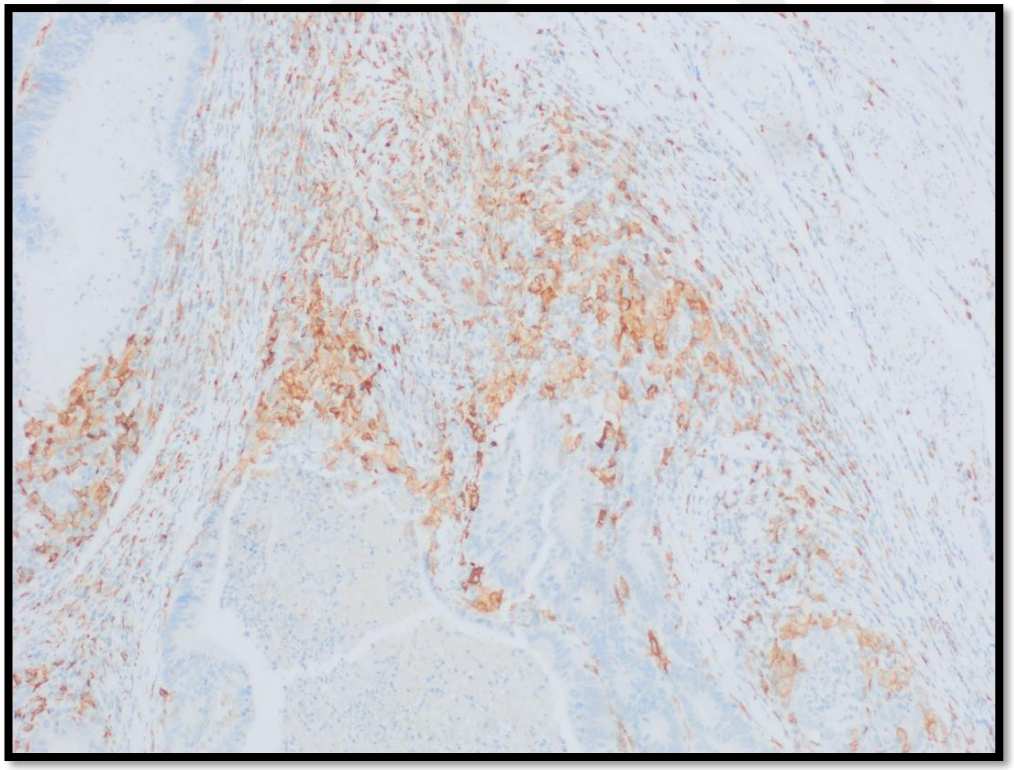
Resim 12. Düşük Tümör-Stroma Oranı (%10) (HEx100)



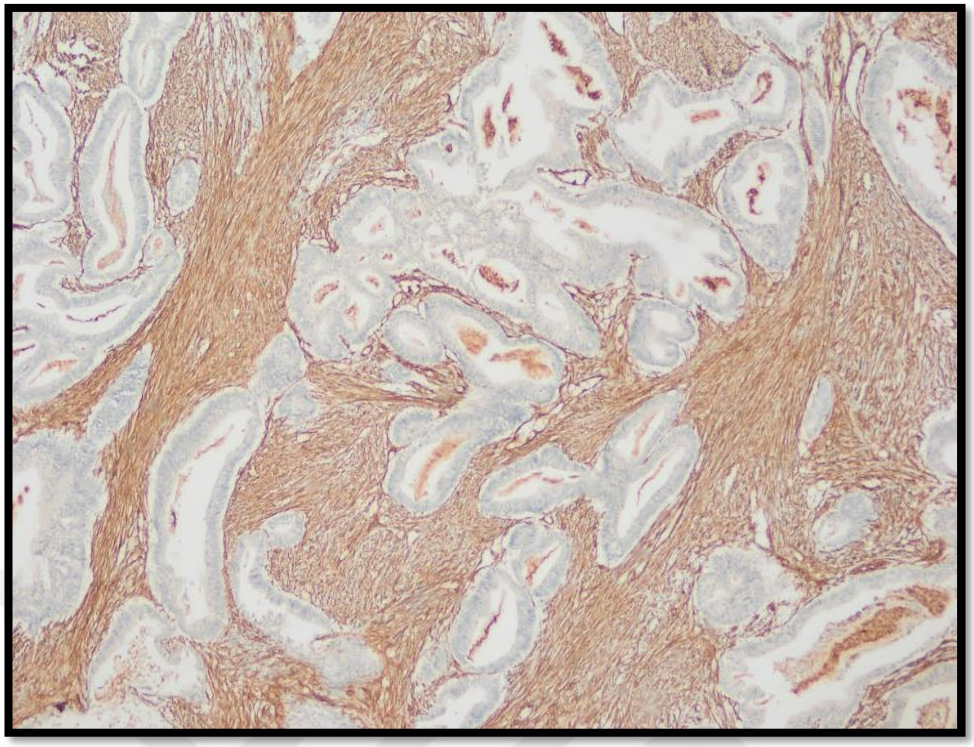
Resim 13. Yüksek Tümör-Stroma Oranı (%90) (HEx100)



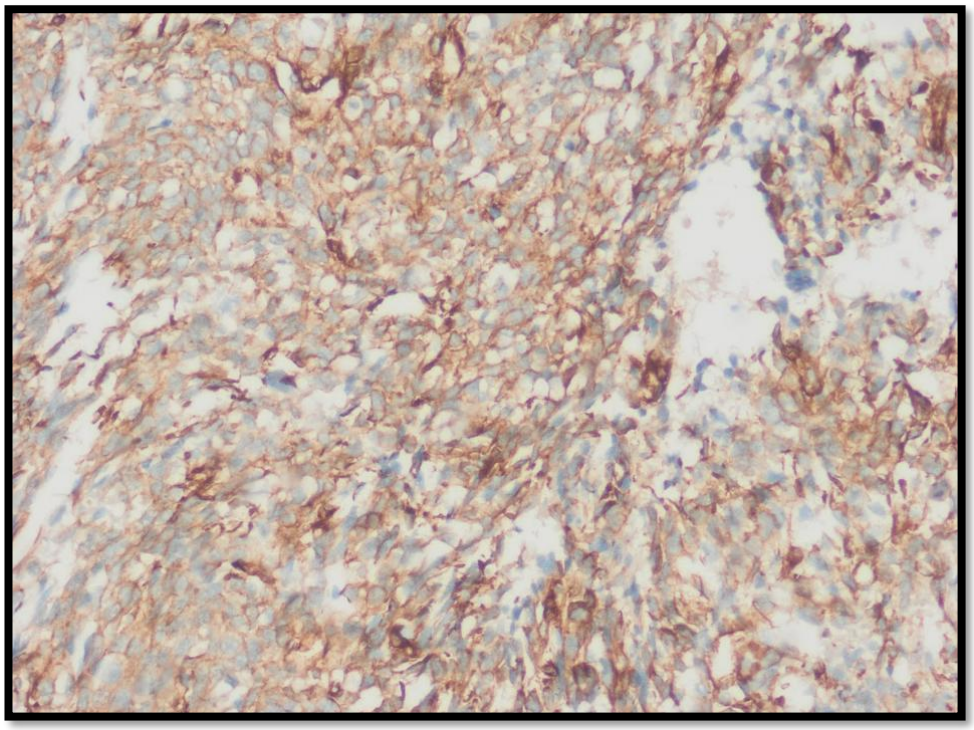
Resim 14. İnvaziv Sınırda CD68 İHK Boyanması (x100)



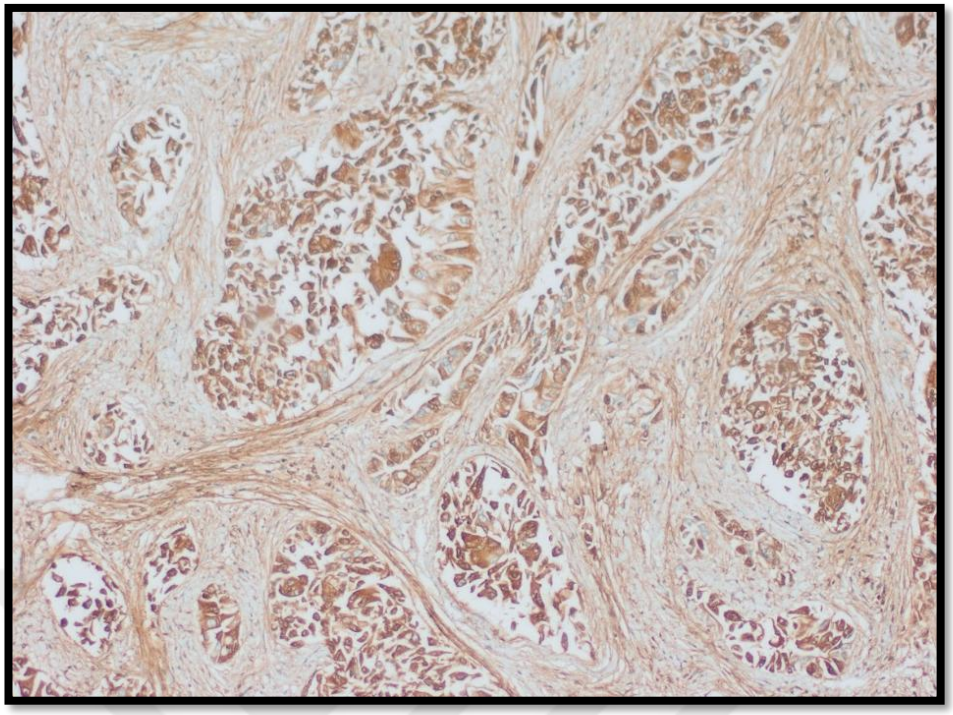
Resim 15. İnvaziv Sınırda CD163 İHK Boyanması (x100)



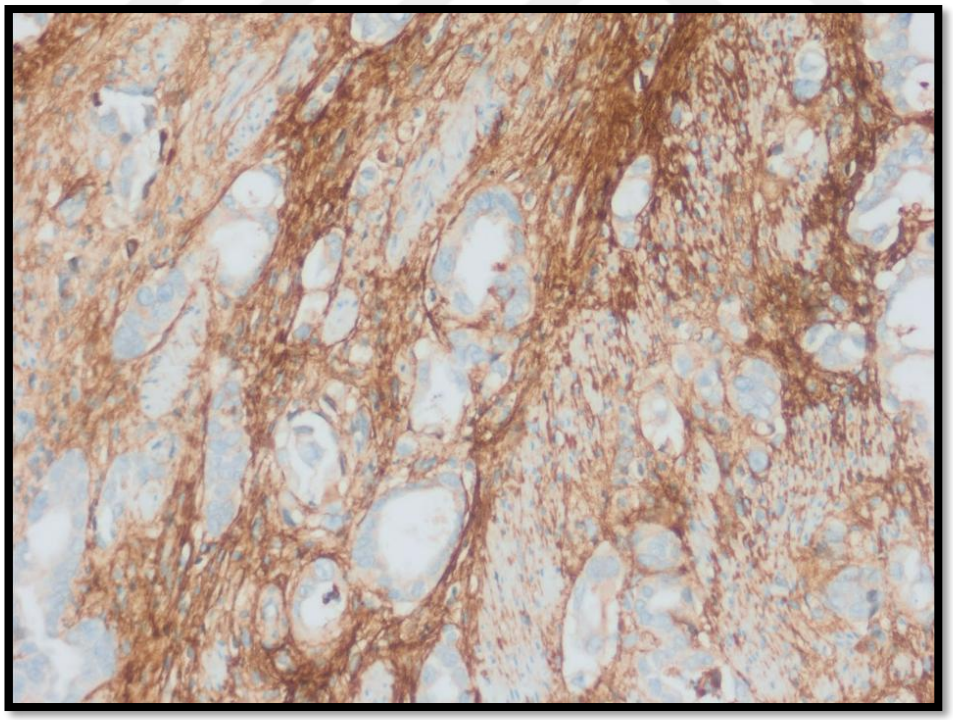
Resim 16. İç kontrol olarak muskularis propriada belirgin boyanma izlenirken tümör negatiftir (L-CaD x100)



Resim 17. Tümör santralinde zayıf, fokal (+1) boyanma (L-CaDx200)



Resim 18. Tümör santralinde güçlü (+2) boyanma (Periostin x200)



Resim 19. İnvaziv sınırda güçlü (+2) boyanma (Periostin x200)

V. TARTIŞMA

Mide kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında erkeklerde 4., kadınlarda 5. sırada yer almakta olup erkeklerde kadınlara göre iki kat daha sık görülmektedir (94). Çalışmamıza dahil edilen 100 olgunun %31'i kadın, %69'u erkek olup E/K oranı literatür ile uyumlu olarak 2,22 bulunmuştur (95).

Çalışma grubumuzdaki olgularda prognostik değeri olan histopatolojik parametreler değerlendirildiğinde özellikle LVİ ve PNİ'nin pT evresi ve sağkalım ile anlamlı ilişkisi dikkati çekmektedir. LVİ, mide kanserinde genellikle erken evre olgularda lenf nodu metastazı riskini belirlemek için kullanılan bağımsız kötü prognostik bir belirteçtir. Du ve ark. pT1 evre olgularda lenf nodu metastazını (LNM) öngören parametreleri araştırdıkları çok merkezli çalışmalarında, LVİ gözlenen olgularda LNM oranını %59, gözlenmeyen olgularda ise %20 olarak bildirmiştir (105). Benzer şekilde, Fujikawa ve ark., mide kanserinde LVİ'nin prognostik önemini araştırdıkları daha geniş olgu grubunu içeren retrospektif çalışmalarında, LVİ ile büyük tümör çapı, ileri pT evresi ve LNM varlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (106). Çalışmamızda, olguların %76'sında LVİ tespit edilmiş olup, LVİ ile ileri pT evresi **(p=0.034**) ve LNM **(p=0.006**) arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca, LVİ pozitif hastalarda ortalama sağkalım süresi 39,6 ay iken, LVİ negatif hastalarda 62,96 ay olarak hesaplanmıştır**.**

Perinöral invazyon, tümör hücrelerinin perinöriyum veya nöral fasiküller boyunca infiltrasyonu ile karakterize edilen, agresif biyolojik davranışı temsil eden bir lokal yayılım mekanizmasıdır. Mide kanserinde PNİ gözlenme oranı yayınlarda %31,7 ile %65 arasında değişmektedir (96). Çalışmamızda olguların %69'unda PNİ saptanmış olup, bu oran literatürde bildirilen

oranlardan biraz daha yüksektir. Jiang ve ark., mide kanseri olgularında PNİ varlığının büyük tümör çapı, ileri pT evresi ve LNM varlığı ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ve PNİ izlenen olgularda 5 yıllık OS'nin %56, izlenmeyenlerde ise %22 olduğunu bildirmiştir (107). Benzer şekilde, 7004 olguluk bir meta-analizde, mide kanserinde PNİ varlığının ileri pT evresi, LNM varlığı ve daha kısa OS süresi ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda da PNİ ile ileri pT evresi arasında anlamlı bir ilişki saptanmış (**p=0.0004**) olmasına karşın LNM ile anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (p=0.592). PNİ olmayan hastalar referans alınarak yapılan Cox regresyon analizinde, PNİ olan hastalarda sağkalımın sınırda anlamlı şekilde azaldığı gözlenmiştir (p=0.050). Bu durum, perinöral invazyonun sağkalımı olumsuz yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Mide kanserinde iyi bilinen histopatolojik prognostik faktörlerden biri olan tümör diferansiyasyonu için Adachi ve ark., iyi diferansiye tümörlü hastalarda 5 yıllık GSK oranını %42, kötü diferansiye olanlarda ise %14 olarak bildirmiştir (104). Çalışmamızda da kötü diferansiyasyon ile ortalama DFS ve GSK süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Mide kanserinde gelişen multidisipliner tedavi yaklaşımlarına rağmen 5 yıllık sağkalım oranı %20-40 arasında olup en önemli prognostik faktör TNM evresidir (1). Çalışmamızda olguların %96'sı ileri evredir (pT2, pT3, pT4a, pT4b). LNM %77 oranında saptanmış olup, lenf nodu evresi arttıkça sağkalım süresinin anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir (**p<0.001**).

Ancak, genel olarak aynı evredeki mide kanseri hastaları arasında klinik farklılıkların bulunması ve bireyselleştirilmiş tedavi ihtiyacı, mevcut prognostik parametrelerin yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Tümör hücrelerinin biyolojisini değerlendiren moleküler yöntemlerin yaygınlaşması yanı sıra TT ve TMÇ üzerine yapılan çalışmalar, tümör davranışının öngörülmesinde umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır (97-100).

Bu çalışmada da mide kanseri olgularında TMÇ ve hücresel bileşenlerin prognostik önemini değerlendirmek amacıyla, tümör tomurcuklanması, tümör stromasının niteliği, tümör-stroma oranı, peritümöral lenfositik yanıt,

intratümöral lenfositik yanıt, tümörle ilişkili makrofaj infiltrasyonu (CD68 ve CD163), L-kaldesmon ve periostin ekspresyon düzeyleri incelenmiştir.

Tümör hücrelerinin invaziv sınır boyunca tek tek veya en fazla dört hücrelik gruplar halinde izlenmesi olarak tanımlanan TT, ilk olarak 1950'lerde Imai tarafından incelenmiştir. Zamanla biriken kanıtlar, TT'nin başta KRK olmak üzere mide, pankreas, baş-boyun, akciğer ve meme gibi birçok solid organ tümöründe progresyonu ve sağkalım süresini öngören önemli bir prognostik belirteç olduğunu ortaya koymuştur. TT, KRK'de ek prognostik faktör olarak UICC tarafından tanınmış olup, DSÖ'nün 5. baskısında da yer almıştır (1). Ayrıca yakın zamanda Avrupa'da ve Japonya'da KRK kılavuzlarına dahil edilmiştir. Ancak, mide kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır (100).

Mide tümörlerinde TT'nin histolojik değerlendirmesi ve derecelendirmesi için rutin pratikte standart bir yaklaşım bulunmamaktadır. Bazı araştırmacılar ITBCC önerilerine uygun şekilde, invaziv sınır boyunca en yoğun TT içeren 20'lik büyütme alanında sayım yaparak değerlendirmişlerdir. Ulase ve ark. çalışmalarında tümör tomurcuklanması olmayan olguları TT 0 kabul edip, 1-4 tomurcuk içeren olguları TT 1, 5-9 arası TT izlenen olguları TT 2, 10 ve üzeri TT izlenen olguları TT 3 olarak sınıflandırmıştır (101). Çalışmamızda ise TT 0 kategorisi kullanılmamış, ITBCC'ye uygun olarak 0-4 tomurcuk içeren olgular TT 1 olarak tanımlanmıştır. Kemi ve ark. 10'dan az TT izlenen olguları düşük, 10 ve üzeri TT izlenen olguları yüksek olarak gruplandırmışlardır (102). Bazı araştırmacılar 40'lık büyütme alanında, bazıları ise 20'lik büyütme alanında tomurcuklanma durumunu 'var' ve 'yok' olarak kategorize ederek değerlendirmişlerdir (103, 104). Kimi araştırmacılar ise 'hotspot' yöntemi yerine birden fazla alanda TT sayarak bu alanlardaki TT ortalamasını kullanmışlardır (105-109). Bizim çalışmamızda, tümör tomurcukları H&E kesitlerde değerlendirilmiş, 10 farklı alan incelenerek en yoğun tümör tomurcuklanması gösteren bölge (hotspot) belirlenmiş ve sayım bu alanda yapılmıştır. Elde edilen verilere göre, 0-4 tomurcuk TT 1, 5-9 tomurcuk TT 2, 10 ve üzeri tomurcuk TT 3 olarak sınıflandırılmıştır.

Çoğu çalışmada Lauren sınıflamasına göre hem intestinal, hem de diffüz mide kanseri olguları dahil edilmişse de TT'nin gelişim mekanizmasının doğası gereği diffüz mide kanseri olgularında anlamlı sonuç elde edilememiştir (101, 102, 105, 110). Bu bulgular ışığında çalışmamıza yalnızca intestinal tip mide kanserleri dahil edilmiştir.

Çalışmamıza hem erken hem de ileri evre olgular dahil edilmiş olup, TT gözlenme oranı %92 olarak saptanmıştır. Literatürde bildirilen TT gözlenme oranları farklılık göstermekte olup, Güllüoğlu ve ark. sadece erken evre (pT1) olgularda %31, Cao ve ark. ise %58 oranında TT tespit etmiştir (103, 104). Hem erken hem de ileri evre olguları içeren çalışmalar incelendiğinde, TT görülme oranının %46 ile 63 arasında değiştiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda TT görülme oranı %92 olup, bu oran literatürde bildirilenlerden daha yüksektir. Bu farklılığın, çalışmamıza hem erken hem ileri evre olgular dahil edilmesine rağmen ileri evre olguların çok daha yüksek oranda (%96) bulunması ve ileri evre olgularda TT'nin anlamlı şekilde yüksek olması, TT'nin değerlendirme kriterlerindeki farklılıklar ve tümör histolojik alt tiplerinin TT oranı üzerindeki etkisi gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bazı çalışmalar, tümör çapının TT oranı ile uyumlu olarak arttığını bildirmektedir (104-106, 108). Çalışmamızda da bu yayınlardaki gibi, TT gözlenen hastalarda ortalama tümör çapı 4,8 cm, TT gözlenmeyenlerde ise 3,2 cm olarak saptanmıştır. TT bulunan grupta tümör çapının anlamlı derecede daha büyük olması (**p=0,032**), TT'nin tümörün progresyon ve invazyon kapasitesini yansıtan önemli bir prognostik gösterge olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde yüksek histolojik derece ile TT varlığı arasında anlamlı bir ilişki bildirilmektedir (107, 110). 2178 hastayı kapsayan bir meta-analizde, TT yüksek histolojik derece ile ilişkilendirilmiştir (111). Ancak, yüksek ve düşük oranlarda TT izlenen olgular arasında histolojik derece açısından anlamlı fark bulamayan yayınlar da vardır (108). Bizim analizimizde de TT ile yüksek histolojik derece arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (**p=0.037**). Az diferansiye tümörlerde TT 3 oranının daha yüksek olması, diferansiyasyon

kaybı ile tümör agresifliği arasındaki bağlantıyı desteklemektedir. Bunun yanı sıra, iyi diferansiye olgularımızda TT 3 oranının beklenenden yüksek olması da dikkat çekicidir. Bu durum, tümörlerin invaziv sınırlarında biyolojik heterojenlik olabileceğini veya mikroçevreyle ilişkili başka faktörlerin agresif invazyon paternlerini tetikleyebileceğini düşündürmektedir.

Literatürde, TT varlığı ve oranı ile LVİ arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar, hem TT bulunan ve bulunmayan olgular (67, 119) hem de yüksek ve düşük TT gözlenen olgular (101, 105) arasında anlamlı farklılıklar bildirmiştir. Özellikle yüksek TT görülen olgularda LVİ ile anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmiştir (111). Ancak, çalışmamızda TT ve LVİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.057). Yine de LVİ bulunan olgularda TT 1 oranı %25 iken TT 3 oranı %31,6'ya çıkmaktadır. TT 3 oranının LVİ pozitif grupta daha yüksek olması, TT'nin metastatik yayılım sürecine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu ilişkinin daha net ortaya konulabilmesi için daha geniş hasta gruplarında yeni çalışmalar yapılması gereklidir.

Çalışmalarda, yüksek TT oranları ile PNİ arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (101, 106). Ancak, çalışmamızda TT varlığı ile PNİ arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.294). TT artıkça PNİ oranında hafif bir artış gözlense de, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, TT ile PNİ arasındaki ilişkinin doğrudan değil, tümör biyolojisindeki diğer faktörlerle birlikte ele alınabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmalarda, ileri pT evresi ile TT arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (107, 110). Guo ve ark.'nın 2019'da yaptığı meta-analizde, TT varlığı pT evresi ile ilişkilendirilmiştir (111). Çalışmamızda TT, ileri evre tümörlerde (pT3-pT4) daha sık gözlenmiştir. TT 3 oranı, pT3-pT4 tümörlerde %85,3 iken, erken evre (pT1-pT2) tümörlerde TT 3 izlenmemiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur **(p=0,001).** Bu bulgular, tümör invazyon derinliği artıkça TT'nin belirgin şekilde yükseldiğini ve agresif tümör fenotipi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Özellikle ileri evre tümörlerde TT'nin sıklıkla görülmesi, TT'nin tümör progresyonu ve yayılım sürecinde önemli bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

TT'nin erken evre mide kanseri olgularında LNM'yi öngörmedeki önemini araştıran çalışmalar, TT gözlenen olgularda LNM oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (66, 112). Ayrıca, TT derecesi ile LNM arasındaki ilişki literatürde incelenmiş olup yüksek TT derecelerinin daha yüksek LNM oranlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (90, 105, 106, 108, 110). Ancak, bizim çalışmamızda TT ile LNM arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.070). Bu sonucun çalışma grubumuzdaki erken evre tümörlerimizin sayısal azlığından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür.

TT, EMT sürecinde TMÇ ile etkileşime giren, invazyon ve metastaz potansiyeli yüksek hücre toplulukları olarak kabul edilmektedir (58). Bu nedenle TT'nin yalnızca stromal bileşenlerle değil, aynı zamanda immun yanıt ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (108, 110). Çalışmamızda immun yanıtı değerlendirdiğimizde, TT varlığı ile İLY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.118). İLY'nin düşük olduğu olgularda TT oranının daha yüksek olduğu gözlenmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Buna karşılık, TT ile PLY nispeten daha ilişkisiz gözükmektedir (p=0.658). Bu bulgular, tümör tomurcuklanmasının (TT) bağışıklık sisteminin kontrolünden kaçış süreçleriyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (117). Literatürde, TT'nin bağışık yanıtın baskılandığı mikroçevrede daha agresif bir fenotipe sahip olduğu ve sitotoksik T hücre infiltrasyonunun düşük olduğu ortamlarda TT'nin daha belirgin hale geldiği bildirilmiştir (105, 109). Bu bağlamda, immun baskılanmanın tümör hücrelerinin invazyon kapasitesini artırabileceği, buna bağlı olarak TT oranlarının yüksek ve tümör progresyonunun hızlı olabileceği düşünülmektedir. TT ve immun yanıt arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için geniş hasta gruplarında, geniş lenfositik immunohistokimyasal panelleri de ekleyerek çalışmalar yapmak gereklidir. Özellikle, TT ile immun hücre infiltrasyonu arasındaki dinamiğin detaylı incelenmesi, TT'nin immun sistemden kaçış mekanizmaları ile etkileşimini ortaya koyabilir ve potansiyel immunoterapötik hedeflerin belirlenmesine katkı sağlayabilir.

TT'nin prognostik önemi üzerine yapılan çalışmalar, TT gözlenen olgularda GSK ve DFS sürelerinin daha kısa olduğunu ve yüksek TT derecelerinin bu

süreleri belirgin şekilde azalttığını bildirmiştir (101, 102, 105, 108-110). Ancak çalışmamızda, TT'nin kötü prognostik bir parametre olduğuna ilişkin veriler elde edilmekle birlikte, GSK ve DFS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (GSK, DFS için $p>0.05$). Eksik hasta kayıtları ve yetersiz takip süresi nedeniyle sağkalım analizleri kısıtlanmıştır. Bu nedenle, TT ve sağkalım arasındaki ilişkinin daha geniş hasta serileri ve eksiksiz takip verileriyle araştırılması gerektiği kanısındayız.

TT ve nüks gelişimi arasındaki ilişki sınırlı sayıda çalışmada araştırılmış olup, TT'nin nüks gelişimiyle ilişkili olduğu sonucuna ulaşan çalışmalar bildirilmiştir (106, 110). Bu çalışmalardan birisinde düşük TT oranı bulunan hiçbir hastada nüks gözlenmezken, yüksek TT bulunan hastalarda %27 oranında nüks geliştiği saptanmıştır (106). Diğer çalışmada ise TT izlenmeyen hastalarda %5, TT izlenen hastalarda ise %56 oranında nüks geliştiği bildirilmiştir (110). Çalışmamızda ise TT ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0.386$). TT 3 grubunda nüks oranının diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlenmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Olgularımızdaki nüks değerlendirmesinde de yetersiz takip verilerinin etkisi olduğu kanısına varılmıştır. Gözlemlerimiz, TT'nin nüks gelişiminde etkili olabileceğini ancak tek başına yeterli bir belirteç olmayabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, tümör stromasının pasif bir destek yapısı olmaktan öte, tümör hücreleri ile dinamik etkileşim içinde olduğunu ve kanserin ilerleyişinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir. TMÇ, fibroblastlar, immun hücreler, endotelyal hücreler ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinden oluşur ve özellikle CAF'lar, büyüme faktörleri ve sitokinler salgılayarak tümör invazyonu ve metastazını destekler.

Tümör stromasının niteliği, desmoplastik stromal yanıt ile ilişkili olup, matür (ince fibriller stroma – DR1), orta derecede (keloid benzeri stroma – DR2) ve immatür (miksoid stroma – DR3) olarak sınıflandırılmaktadır. Sandberg ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, CAF'ın stromal oranı yüksek tümörlerde daha fazla eksprese edildiği ve bunun daha metastatik bir seyirle ilişkili olduğu

gösterilmiştir (113). Mide kanserinde belirgin desmoplazinin agresif davranış ve peritoneal yayılımın göstergesi olduğu bildirilmiştir (1). Kalın ve geniş kollagen bantlar içeren mide kanseri olgularının, ince kollagen bantlar içerenlere kıyasla daha kötü diferansiye olduğunu, daha derin mural invazyon gösterdiğini, artmış LNM ve rekürrensle ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (114). Bizim çalışmamızda ise stromal nitelik ile TT (p=0.355), histolojik derece (p=0.298) ve lenf nodu metastazı (p=0.322) arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu bulgular, stromal nitelik ve tümör progresyonu arasındaki ilişkinin daha karmaşık olduğunu ve geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda tümör stromasının niteliği ile LVİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.282). İnce fibriler stromaya sahip hastalarda LVİ oranı %67,1, keloid benzeri stromada %15,8, miksoid stromada ise %17,1 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, LVİ ile en yüksek oranda ince fibriler stromanın ilişkili olduğunu, ancak keloid benzeri ve miksoid stromalarda ayırt edici bir ilişki gözlenmediğini ortaya koymaktadır. Miksoid stromaya sahip olgular literatürde daha agresif fenotiple ilişkilendirilmesine rağmen, çalışmamızda bu stroma tipinin LVİ ile belirgin bir korelasyon göstermemesi dikkat çekicidir(115). Sonuçlar, stromal mikroçevrenin TT oluşumu ve tümör invazyonuna etkisinin kompleks olduğunu, ancak tek başına belirleyici olmayabileceğini göstermektedir. LVİ gelişiminde stromanın yanı sıra tümör hücreleri ve mikroçevresel faktörlerin de etkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Tümör-stroma oranı (TSO), tümör dokusundaki stromal bileşenin tümör parankimine oranını ifade eder ve özellikle kolorektal, meme ve mide kanseri gibi solid tümörlerde prognostik bir belirteç olarak araştırılmaktadır. Yüksek stromal bileşen oranı, agresif tümör davranışı ile ilişkilendirilmiş ve kötü prognozla bağlantılı bulunmuştur (114). KRK'larda yapılan çalışmalarda, yüksek TSO'nun daha kötü sağkalım oranları ile ilişkili olduğu bildirilmiş olup, TMÇ'de stromanın biyolojik özelliklerinin tümör progresyonunda belirleyici bir faktör olabileceği vurgulanmıştır (69). Çalışmamızda, TSO ile TT, histolojik derece ve LNM arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0.05). Literatürde

yüksek TSO'nun kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilse de, çalışmamızda TSO'nun tümör biyolojisi ve progresyon üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu nedenle, TSO'nun TMÇ'deki diğer faktörlerle (bağışıklık hücreleri, fibroblastlar, anjiyogenez) birlikte değerlendirilmesi gerektiği ve daha geniş hasta serileri ile ileri çalışmaların gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Mide kanserinde TMÇ'nin hücresel elemanlarından olan tümörü infiltre eden lenfositlerin LNM ve sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (116). Lenfosit yoğunluğu artıkça sağkalımın uzadığı ve LNM'nin azaldığı belirtilmiştir. Çalışmamızda, intratümöral (İLY) ve peritümöral lenfositik yanıtın (PLY) LNM ve sağkalımla ilişkisini değerlendirdik. PLY artışı gözlenen olgularda LNM'de azalma eğilimi görülse de, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.243). İLY ve PLY yoğunluğu, GSK ile belirgin bir ilişki de göstermemiştir (İLY için p=0.246, PLY için p=0.347). TMÇ'nin heterojenliği ve tümör hücrelerinin kullandığı farklı immun kaçış mekanizmaları, bu konulara açıklık getirecek yeni çalışma alanları olarak gözükmektedir.

İmmun sistemin TMÇ'ye etkisini inceleyen çalışmalarda, $CD68^+$ ve $CD163^+$ hücrelerin tümör progresyonunu hızlandıran önemli hücreler olduğu belirtilmiştir (117). $CD68^+$, tüm TAM'ları gösteren bir pan-makrofaj belirtecidir ve mide kanserlerinde artan TAM infiltrasyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. $CD163^+$, M2 makrofajların belirtecidir ve özellikle immunosupresif ve pro-anjiyogenik özellikler sergileyerek tümör büyümesi, metastaz ve KT direnci ile ilişkili bulunmuştur (80). Özellikle, $CD163^+$ M2 makrofajların immunsupresif özellikleri nedeniyle tümör invazyonunu ve metastatik yayılımı destekleyebileceği öne sürülmüştür. Bir meta-analiz çalışmasında, yüksek $CD68^+$ TAM yoğunluğunun GSK'yı belirgin şekilde olumsuz etkilediği görülmüştür (118). Ancak çalışmamızda, $CD68^+$ makrofajların tümör stromasında belirgin bir yoğunluk göstermesine rağmen, bu hücrelerin LVİ veya GSK ile anlamlı bir ilişki göstermediği belirlenmiştir (CD68 için p=0.511). Bununla birlikte, çok değişkenli analizde $CD68^+$ makrofaj infiltrasyonu ile sağkalım arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılık sınırında bulunmuştur (p=0.069). Benzer şekilde, $CD163^+$ M2 makrofajların tümör

invaziv kenarında yoğunluk göstermesine karşın, tek değişkenli analizde prognoz ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır (p=0.817). Ancak çok değişkenli analizde $CD163^+$ M2 makrofaj ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (**p=0.029**). Bu durum, $CD163^+$ makrofajların TMÇ'deki immun yanıtı modüle edebileceğini ve daha iyi prognoz ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca CD68 ve CD163 oranları ile hem PLY (CD68 için **p=0.001**, CD163 için **p<0.001**), hem de İLY (CD68 için **p=0.036**, CD163 için **p<0.001**) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu bulgular, $CD68^+$ ve $CD163^+$ makrofajların tek başına prognostik belirteçler olarak değerlendirilmesinin yetersiz olabileceğini ve TMÇ'deki diğer immun hücrelerle olan etkileşimlerinin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Makrofajların tümör içerisindeki fonksiyonel profillerinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi, M1/M2 fenotip dağılımının belirlenmesi ve tümör immun yanıtına olan etkilerinin fonksiyonel analizlerle desteklenmesi gerekmektedir.

L-Caldesmon, aktin filamentleriyle etkileşime giren bir protein olup hücre iskeleti organizasyonu, adezyon ve hücre hareketliliği gibi önemli fonksiyonları düzenler. Özellikle, tümör invazyonu ve metastazında etkili olabilecek hücresel mekanizmalarla ilişkilidir. Literatürde, çeşitli kanser türlerinde yüksek ekspresyonunun tümör agresifliği ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (93). Özellikle KRK olgularının %71,4'ünde tümör hücrelerinde yüksek L-CaD ekspresyonu saptanmış ve bu ekspresyonun metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, primer kolon kanseri ve karaciğer metastatik dokularında L-CaD seviyelerinin normal dokulara göre belirgin şekilde yüksek olduğu belirtilmiştir. Ancak, mide kanserinde L-CaD ekspresyon oranlarına dair literatürde sınırlı veri bulunmaktadır.

Çalışmamızda, mide kanserinde L-CaD ekspresyonu incelenmiş ve olguların %92'sinde boyanma saptanmamış, yalnızca 8 olguda pozitiflik elde edilmiştir. Bu oran, KRK ve diğer kanser türlerinde bildirilen oranlara kıyasla oldukça düşüktür. Bu düşük ekspresyonun, tümörün histolojik tipi, mikroçevresel faktörlere bağlı değişkenlik, stromal bileşenlerle etkileşim düzeyi ve İHK yöntemlerin farklılıkları gibi çeşitli nedenlerden

kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu düşük L-CaD ekspresyonu nedeniyle PNİ, LVİ, tümör evresi, sağkalım gibi parametrelerin hiçbirisi ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

L-CaD'un TMÇ'deki rolü, yalnızca invazyon ve metastaz süreçleriyle değil, stromal bileşenlerle olan etkileşimi açısından da önemlidir. Literatürde, L-CaD'un TGF-β sinyal yolaklarını aktive ederek tümör hücrelerinin EMT sürecini hızlandırdığı gösterilmiştir (119). Özellikle makrofaj infiltrasyonu ile olan ilişkisi, tümör immun kaçış mekanizmalarına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Liu ve ark.nın çalışmasında, L-CaD'un $CD8^+$ T hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücre infiltrasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiş, bu durum bağışıklık sistemi ile doğrudan etkileşim gösterebileceğini ortaya koymuştur (89). Ancak çalışmamızda L-CaD ekspresyonundaki yetersizlik TMÇ'deki stromal ve hücresel komponentler ile L-CaD'un ilişkisini sağlıklı bir şekilde değerlendirmemizi sınırlamıştır. Öte yandan yaptığımız İHK çalışması kontrol dokuları kullanılarak ve preparatlarda bulunan iç kontroller ile kıyaslanarak değerlendirildiği için L-CaD'un ekspresyon sorunları taşıyan bir antikor olabileceği yönünde kuşku da yaratmıştır. Çalışmamızda kısıtlı L-CaD ekspresyonuna rağmen istatistiksel analizler yapılmış olsa da söz konusu sınırlılıklar nedeniyle elde edilen sonuçların sağlıklı bir değerlendirme için yeterli olmadığı kabul edilmiş ve bu konu daha fazla tartışılmamıştır.

Periostin, ECM proteini olup, doku onarımı, fibroblast aktivasyonu ve EMT gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır. TMÇ'de, özellikle CAF'lar başta olmak üzere çeşitli stromal hücreler tarafından salgılanarak tümör invazyonu, anjiyogenez ve metastazı destekleyebilir. Yapılan çalışmalarda, nikotine maruz kalan mide kanser hücrelerinde Periostin ekspresyonunun COX-2 aracılığıyla yükseldiği ve bunun EMT ile invazyonu artırdığı gösterilmiştir (120). Yine hipoksi koşullarında Periostin ekspresyonunun VEGF artışı ve anjiyogenezi tetiklediği, CAF'lardan salgılanan Periostin'in AKT/YAP yolağını aktive ederek kanser kök hücreleri aracılığıyla metastazı artırdığı bildirilmiştir (121). Tüm bu mekanizmalarla Periostin'in mide kanserinde metastaz ve invazyon üzerinde etkili olduğu ve tümör stromasında biriktiği ortaya konmuştur (15). KRK hastalarında yapılan bir çalışmada, Periostin'in

CAF'lerde yüksek ekspresyonunun artmış invazyon derinliği, LNM, venöz invazyon ve ileri evre hastalık ile ilişkili olduğu ve bu hastalarda nüks oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır (122). Benzer şekilde, epitelyal over kanserlerinde, serviks skuamöz hücreli karsinomlarında, tümör stromasında yüksek Periostin ekspresyonu, LNM, daha düşük OS ve DFS ile ilişkilendirilmiştir (123). Çalışmamızda, Periostin'in tümör stromasında ve tümör invaziv sınırındaki ekspresyonları incelenmiştir. Periostin'in tümörün invaziv kenarında daha yoğun eksprese olduğu gözlenmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Literatürde, Periostin'in invaziv sınırda artmış ekspresyonunun metastaz ve invazyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması, örneklenen doku büyüklüğünün sınırlılığı veya TMÇ'nin heterojenliği gibi faktörlerden kaynaklanabilir. Tümör santralindeki ve invaziv sınırındaki Periostin ekspresyon düzeyleri ile histopatolojik parametreler ve TMÇ bileşenleri arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte, çalışmamızda Periostin ekspresyon düzeyleri ile CD68 ve CD163 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Literatürde, Periostin'in özellikle M2 makrofaj farklılaşmasını uyarabileceği ve tümör mikroçevresini immunsupresif bir yapıya dönüştürebileceği belirtilmektedir. Bu durum, Periostin'in tümör progresyonu üzerindeki etkilerinin, yalnızca tümör hücreleri ile değil, immun hücrelerle olan etkileşimine de bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, Periostin'in tümör mikroçevresi, immun yanıt ve metastatik süreçlerle etkileşimi üzerinde yoğunlaşan ve daha geniş hasta gruplarını içeren, fonksiyonel deneylerle desteklenen ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle, Periostin'in hipoksik mikroçevrede makrofajları nasıl etkilediğini ve tümör immun yanıtı üzerindeki rolünü inceleyen çalışmalar, bu proteinin prognostik ve terapötik potansiyelini netleştirmek için kritik önem taşımaktadır.

Çalışmamızda, GSK süresine etkili faktörler olarak yaş, PNİ varlığı, invazyon derinliği (muskularis propria ve seroza tutulumu), lenf nodu metastazı (N2, N3a ve N3b evreleri), miksoid stroma belirlenmiştir. Buna karşın, cinsiyet,

tümör tomurcuklanması (TT) varlığı ve yoğunluğu, TSO, TİL yoğunluğu, Periostin ve CD68 ekspresyonu GSK süresi ile anlamlı bir ilişki göstermemiştir. Ayrıca, mortalite riski LNM gözlenen hastalarda 5,14 kat, nüks gözlenen hastalarda ise 11,27 kat daha yüksek bulunmuştur.

VI. SONUÇLAR

Bu çalışmada, 100 mide adenokarsinom olgusunda klinikopatolojik özellikler, tümör mikroçevresi ve stromal bileşenlerin prognostik önemi değerlendirilmiştir.

Hastaların %69'u erkek, %31'i kadın olup, yaşları 37 ile 86 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 62,65 ± 11,89 olarak hesaplanmıştır.

Olguların ortalama takip süresi 45,21 ± 40,44 ay olup, bu süre içerisinde 36 (%36) olgu sağ kalırken, 64 (%64) olgu hayatını kaybetmiştir.

Çalışmamızda, mide adenokarsinomlarının %65'inin proksimal (kardia, fundus, korpus, küçük/büyük kurvatur), %35'inin ise distal (antrum, pilor) yerleşimli olduğu belirlenmiştir. En sık tümör lokalizasyonu antrum olarak saptanmıştır.

Tümör çapı 0,8 cm ile 15 cm arasında değişmekte olup, ortalama tümör çapı 5,84 ± 2,58 cm olarak hesaplanmıştır.

Lauren histolojik sınıflamasına göre, olguların 95'i (%95) intestinal tip, 5'i (%5) mikst tip olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamıza sadece intestinal tip mide kanserleri dahil edilmiştir, çünkü TT'nin doğası gereği diffüz mide kanserinde anlamlı sonuçlar elde edilememektedir.

DSÖ sınıflamasına göre, olguların %93'ü tübüler, %3'ü medüller ve %4'ü papiller tip olarak değerlendirilmiştir.

Olguların %7'si iyi diferansiye, %67'si orta diferansiye ve %26'sı az diferansiye olarak değerlendirilmiştir.

69 olguda (%69,0) PNİ, 76 olguda (%76,0) ise LVİ saptanmıştır.

Olguların 4'ü (%4) erken evre (pT1a, pT1b), 96'sı (%96) ileri evre (pT2, pT3, pT4a ve pT4b)'dir.

Olgulara LN evresi (pN) açısından bakıldığında, 21 olgu (%21) pN0, 15 olgu (%14) pN1, 22 olgu (%22) pN2, 27 olgu (%27) pN3a, 15 olgu (%15) N3b'dir.

Çalışmamızda LVİ ve PNİ, primer tümör evresi ile anlamlı ilişki göstermiştir (sırasıyla **p=0,0341** ve **p=0,0004**).

Kötü prognostik parametre olarak izlenen tümör tomurcuklanması (TT), çalışmamızda farklı gruplarda değerlendirildi. TT 1 (0-4 tomurcuk) 29 olguda (%29,0), TT 2 (5-9 tomurcuk) 45 olguda (%45,0) ve TT 3 (≥10 tomurcuk) 26 olguda (%26,0) saptandı.

Çalışmamızda, mide kanserlerinde TT varlığı ile büyük tümör çapı, invazyon derinliği, ileri pT evresi ve yüksek histolojik derece arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla **p=0,032, p=0,0006, p=0,001, p=0,037**). LVİ ile TT arasında sınırda anlamlı bir ilişki bulunmuş (p=0,057), ancak PNİ ve bölgesel LNM ile TT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Çalışmamızda, stroma niteliği ile GSK arasında anlamlı bir ilişki saptanmış olup, özellikle miksoid stromanın daha iyi prognoz ile ilişkili olduğu gözlenmiştir **(p=0,036).** Ancak, stroma niteliği ile TT, LVİ, PNİ ve LNM arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05).

Çalışmamızda, TSO ile yalnızca CD163 makrofaj oranı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır; TSO artıkça CD163 makrofaj oranı azalmaktadır (**p=0,023**). Ancak, TSO'nun PNİ ve LVİ, invazyon derinliği, primer tümör evresi ve TT ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır (p>0,05).

Çalışmamızda, CD163 ekspresyonunun sağkalım süresi ile anlamlı bir ilişkisi bulunmuş olup (**p=0,029**), CD163 yüksekliği daha iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, literatürde CD163'ün genellikle immun supresif M2 makrofajları temsil ettiği ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum, TMÇ'deki diğer immun hücrelerin etkileri ve stromal faktörlerle

ilişkilendirilebilir. CD163'ün prognostik rolünü daha iyi anlamak için geniş hasta gruplarında ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda L-CaD ekspresyon oranı düşük (%8) olup, herhangi bir prognostik parametre ile anlamlı ilişki göstermemiştir (p>0,05).

Çalışmamızda Periostin ekspresyonu invaziv sınırda tümör merkezine göre daha belirgin olmakla birlikte, prognostik parametreler, TT, LVİ, PNİ ve sağkalım süreleri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermemiştir (p>0,05). Bu sonuçlar, mide adenokarsinomlarında Periostin'in prognostik değerini netleştirmek için daha geniş hasta serileri ile desteklenen ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular ışığında, intestinal tip mide adenokarsinomlarının rutin patolojik değerlendirmesinde geleneksel prognostik parametreler olan histolojik derece, LVİ, PNİ ve invazyon derinliği (pT) gibi iyi bilinen faktörlere ek olarak, TMÇ'nin prognostik önemi bir kez daha ortaya konmuştur. Özellikle TT'nin varlığı ve yoğunluğu ile tümör-stroma oranının prognostik değer taşıdığı ve tümör biyolojisinin değerlendirilmesinde anlamlı katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu parametrelerin ek prognostik faktörler olarak rutin değerlendirmeye dâhil edilmesi, hastaların risk sınıflandırmasını daha iyi hale getirerek, klinik izlem ve tedavi karar süreçlerine değerli bilgiler sunabilir. Ancak sonuçlarımızın klinik pratikte rutin kullanımını önermeden önce, daha geniş hasta serilerinde ve çok merkezli çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Çalışmamızın tek merkezli ve retrospektif olarak yürütülmesi nedeniyle bulguların genellenebilirliği sınırlı olup, hasta seçimi ve veri eksikliği gibi yanlılıklar içerebilir. Ayrıca immunolojik mikroçevrenin analizi sadece CD68 ve CD163 makrofaj alt gruplarıyla sınırlı tutulmuş, T-hücre alt tipleri ve diğer immun parametreler değerlendirilmemiştir. TT'nin değerlendirilmesinde standart bir yöntemin olmaması, sonuçların karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Ek olarak, uzun dönem sağkalım verilerinin kısıtlılığı nedeniyle prognostik belirteçlerin uzun vadeli etkileri tam olarak belirlenememiştir. Bu nedenle bulgularımızın daha geniş, çok merkezli,

prospektif ve uzun dönem takip içeren çalışmalarla doğrulanması gereklidir. Hasta sayısının azlığı ve tek merkezli olmasıdır. Hastaların takip süresinin yetersiz olması ve az sayıda olay gelişmiş olması nedeniyle verilerin olgunlaşması için daha uzun takip süresine ihtiyaç vardır. İleride yapılacak daha kapsamlı çalışmaların sonuçlanması halinde tedavi kararı ve prognozu öngörmede yol gösterici olabilir.

VII. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, intestinal tip mide adenokarsinomlarında tümör mikroçevresi (TMÇ), tümör tomurcuklanması (TT), stromal reaksiyonlar ve tümör ilişkili makrofajların prognoza etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, tümör stromasının değerlendirilmesinde L-Caldesmon (L-CaD) ve Periostin'in rolü incelenmiş ve bu belirteçlerin prognoz ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan, 2010-2020 yılları arasında mide adenokarsinomu tanısı almış ve total veya subtotal gastrektomi uygulanmış 100 olgu retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Histopatolojik özellikler, TT, desmoplastik stromanın niteliği, TMÇ ile ilişkili immünolojik belirteçler (CD68, CD163) ve stromal belirteçler (L-CaD, Periostin) immünohistokimyasal (İHK) yöntemler ile analiz edilmiştir. Çalışmada istatistiksel analizler SPSS 23.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiş, sağkalım analizleri Cox regresyon testleri ile yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 100 olgunun yaş ortalaması 62,65 ± 11,89 olup, %69'u erkekti. Tümörlerin %65'i proksimal, %35'i distal yerleşimliydi. Tümör tomurcuklanması yüksek olan gruplarda (TT 3), lenfovasküler invazyon (LVİ), perinöral invazyon (PNİ) ve lenf nodu metastazı (LNM) oranlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). CD163 pozitif makrofaj oranı, tümör evresi ile pozitif korelasyon gösterirken, yoğun lenfositik yanıt gösteren olgularda CD68 ve CD163 ekspresyon seviyelerinin yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Periostin ekspresyonu tümör progresyonu ile ilişkili bulunmuş, invaziv sınırdaki Periostin seviyesinin CD68 ve CD163 ile anlamlı ilişki gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,01$).

Sonuç: Mide adenokarsinomlarında tümör tomurcuklanması, lenfovasküler ve perinöral invazyon ile ilişkili olup, prognozda önemli bir belirteç olarak değerlendirilebilir. CD163 pozitif makrofajlar, tümör ilerlemesiyle ilişkili immünosupresif mikroçevreyi desteklemektedir. Periostin'in, TMÇ'de stromal etkileşimlerde ve tümör progresyonunda etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar, mide adenokarsinomlarında prognoz değerlendirmesinde TMÇ bileşenlerinin dikkate alınmasının önemini ortaya koymaktadır.

VIII. ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate the impact of the tumor microenvironment (TME), tumor budding (TB), stromal reactions, and tumor-associated macrophages on the prognosis of intestinal-type gastric adenocarcinomas. Additionally, the role of stromal markers L-Caldesmon (L-CaD) and Periostin in tumor assessment and their relationship with prognosis were evaluated.

Materials and Methods: A retrospective analysis was conducted on 100 cases of gastric adenocarcinoma diagnosed between 2010 and 2020 at the Department of Pathology, Manisa Celal Bayar University Medical Faculty. Histopathological features, TB, the nature of desmoplastic stroma, immune markers related to TME (CD68, CD163), and stromal markers (L-CaD, Periostin) were analyzed using immunohistochemical (IHC) methods. Statistical analyses were performed using SPSS 23.0, and survival analyses were conducted using Cox regression tests.

Results: The mean age of the 100 patients included in the study was 62.65 ± 11.89 years, with 69% being male. Among the tumors, 65% were proximally and 35% were distally located. Higher TB grades (TB 3) were significantly associated with increased rates of lymphovascular invasion (LVI), perineural invasion (PNI), and lymph node metastasis (LNM) ($p<0.05$). The CD163-positive macrophage ratio showed a positive correlation with tumor stage, while cases with intense lymphocytic response exhibited higher CD68 and CD163 expression levels ($p<0.001$). Periostin expression was found to be associated with tumor progression, with significant correlations observed between its invasive margin levels and CD68/CD163 expression ($p<0.01$).

Conclusion: Tumor budding in gastric adenocarcinomas is associated with lymphovascular and perineural invasion, making it a significant prognostic marker. CD163-positive macrophages support an immunosuppressive microenvironment associated with tumor progression. Periostin appears to play a role in stromal interactions within the TME and tumor progression. These findings highlight the importance of considering TME components in the prognostic evaluation of gastric adenocarcinomas.

IX. KAYNAKLAR

1. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. 2020;76(2):182-8.
2. Siegel RL, Miller KD. Cancer statistics, 2022. 2022;72(1):7-33.
3. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer research. 1992;52(24):6735-40.
4. Montgomery EA, L. V. Biopsy Interpretation of the Gastrointestinal Tract Mucosa:2011.
5. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. World Health Organization. 2012.
6. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. World Health Organization classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC. 2010:122-6.
7. Neubauer A, Thiede C, Alpen B, Ritter M, Neubauer B, Ehninger G, et al. Cure of Helicobacter pylori infection and duration of remission of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Journal of the National Cancer Institute. 1997;89(18):1350-5.
8. Brown LM. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. Epidemiologic reviews. 2000;22(2):283-97.
9. Richa, Sharma N, Sageena G. Dietary factors associated with gastric cancer-a review. Translational Medicine Communications. 2022;7(1):7.

10. Tramacere I, Negri E, Pelucchi C, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, et al. A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. Annals of oncology. 2012;23(1):28-36.

11. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. World journal of gastrointestinal oncology. 2012;4(7):156.

12. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. Journal of clinical epidemiology. 2003;56(1):1-9.

13. Tokunaga M, Land C, Uemura Y, Tokudome T, Tanaka S, Sato E. Epstein-Barr virus in gastric carcinoma. The American journal of pathology. 1993;143(5):1250.

14. Matsunou H, Konishi F, Hori H, Ikeda T, Sasaki K, Hirose Y, et al. Characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma with lymphoid stroma in Japan. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 1996;77(10):1998-2004.

15. van Beek J, Zur Hausen A, Klein Kranenbarg E, van de Velde CJ, Middeldorp JM, van den Brule AJ, et al. EBV-positive gastric adenocarcinomas: a distinct clinicopathologic entity with a low frequency of lymph node involvement. Journal of Clinical Oncology. 2004;22(4):664-70.

16. Odze RD, Goldblum JR. Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas E-Book: Elsevier Health Sciences; 2022.

17. Sternberg SS, Mills SE, Carter D. Sternberg's diagnostic surgical pathology: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

18. Hundahl SA, Phillips JL, Menck HR. The National Cancer Data Base Report on poor survival of US gastric carcinoma patients treated with gastrectomy: American Joint Committee on Cancer staging, proximal disease, and the “different disease” hypothesis. Cancer. 2000;88(4):921-32.

19. Gullo I, van der Post RS, Carneiro F. Recent advances in the pathology of heritable gastric cancer syndromes. Histopathology. 2021;78(1):125-47.

20. Cecilia M. Fenoglio-Preiser: Gastrointestinal Pathology. Wolters Kluwer/Lippinkott Wiliams&Wilkins, Philadelphia; 2008.

21. Kapadia CR. Gastric atrophy, metaplasia, and dysplasia: a clinical perspective. Journal of clinical gastroenterology. 2003;36(5):S29-S36.

22. Schlemper RJ, Itabashi M, Kato Y, Lewin KJ, Riddell RH, Shimoda T, et al. Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and Western pathologists. The Lancet. 1997;349(9067):1725-9.

23. Rugge M, Cassaro M, Di Mario F, Leo G, Leandro G, Russo V, et al. The long term outcome of gastric non-invasive neoplasia. Gut. 2003;52(8):1111-6.

24. Rubio CA, Jaramillo E, Suzuki G, Lagergren P, Nesi G. Antralization of the gastric mucosa of the incisura angularis and its gastrin expression. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2009;2(1):65.

25. Goldstein NS, Lewin KJ. Gastric epithelial dysplasia and adenoma: historical review and histological criteria for grading. Human pathology. 1997;28(2):127-33.

26. Park DY, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. Archives of pathology & laboratory medicine. 2008;132(4):633-40.

27. Lord RV, Brabender J, Wickramasinghe K, DeMeester SR, Holscher A, Schneider PM, et al. Increased CDX2 and decreased PITX1 homeobox gene expression in Barrett's esophagus and Barrett's-associated adenocarcinoma. Surgery. 2005;138(5):924-31.

28. Vallböhmer D, DeMeester S, Peters J, Oh D, Kuramochi H, Shimizu D, et al. Cdx-2 expression in squamous and metaplastic columnar epithelia of the esophagus. Diseases of the Esophagus. 2006;19(4):260-6.

29. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. Journal of gastrointestinal oncology. 2012;3(3):251.

30. Yamaguchi Y, Ishii G, Kojima M, Yoh K, Otsuka H, Otaki Y, et al. Histopathologic features of the tumor budding in adenocarcinoma of the lung: tumor budding as an index to predict the potential aggressiveness. Journal of thoracic oncology. 2010;5(9):1361-8.

31. Orditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, et al. Treatment of gastric cancer. World journal of gastroenterology: WJG. 2014;20(7):1635.

32. Lauren P. Diffuse and so-called intestinal type carcinoma: an attempt at histological classification. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965;64:31-49.

33. Henson DE, Dittus C, Younes M, Nguyen H, Albores-Saavedra J. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973–2000: increase in the signet ring cell type. Archives of pathology & laboratory medicine. 2004;128(7):765-70.

34. Berlth F, Bollschweiler E, Drebber U, Hoelscher AH, Moenig S. Pathohistological classification systems in gastric cancer: diagnostic relevance and prognostic value. World journal of gastroenterology: WJG. 2014;20(19):5679.

35. Kapan M. Mide kanseri: Tanı ve cerrahi tedavi. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu Proceeding Book. 2001:11-2.

36. Washington K. of the AJCC cancer staging manual: stomach. Annals of surgical oncology. 2010;17:3077-9.

37. SB E. American Joint committee on cancer. AJCC cancer staging manual. 2010.

38. Takeshita S, Kikuno R, Tezuka K-i, Amann E. Osteoblast-specific factor 2: cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin I. Biochemical Journal. 1993;294(1):271-8.

39. Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer. CA: a cancer journal for clinicians. 2021;71(3):264-79.

40. Sexton RE, Al Hallak MN, Diab M, Azmi AS. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies. Cancer and Metastasis Reviews. 2020;39(4):1179-203.

41. Gotoda T. Endoscopic resection of early gastric cancer: the Japanese perspective. Current opinion in gastroenterology. 2006;22(5):561-9.

42. Horiki N, Omata F, Uemura M, Suzuki S, Ishii N, Fukuda K, et al. Risk for local recurrence of early gastric cancer treated with piecemeal endoscopic mucosal resection during a 10-year follow-up period. Surgical endoscopy. 2012;26(1):72-8.

43. Peixoto RDA, Mathias-Machado MC, Jácome A, Gil M, Fogacci J, Sodré B, et al. PD-L1 testing in advanced gastric cancer—what physicians who treat this disease must know—a literature review. Journal of Gastrointestinal Oncology. 2023;14(3):1560-75.

44. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book: Elsevier Health Sciences; 2011.

45. Nakamura K, Kamei T, Ohtomo N, Kinukawa N, Tanaka M. Gastric carcinoma confined to the muscularis propria: how can we detect, evaluate, and cure intermediate-stage carcinoma of the stomach? The American journal of gastroenterology. 1999;94(8):2251-5.

46. Hyung WJ, Lee JH, Choi SH, Min JS, Noh SH. Prognostic impact of lymphatic and/or blood vessel invasion in patients with node-negative advanced gastric cancer. Annals of surgical oncology. 2002;9:562-7.

47. Tanaka A, Watanabe T, Okuno K, Yasutomi M. Perineural invasion as a predictor of recurrence of gastric cancer. Cancer. 1994;73(3):550-5.

48. Doekhie FS, Mesker WE, van Krieken JHJ, Kok NF, Hartgrink HH, Kranenbarg EK, et al. Clinical relevance of occult tumor cells in lymph nodes from gastric cancer patients. The American journal of surgical pathology. 2005;29(9):1135-44.

49. Lee E, Chae Y, Kim I, Choi J, Yeom B, Leong ASY. Prognostic relevance of immunohistochemically detected lymph node micrometastasis in patients with gastric carcinoma. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2002;94(11):2867-73.

50. Dupont Jr JB, Lee JR, Burton GR, Cohn Jr I. Adenocarcinoma of the stomach: review of 1,497 cases. Cancer. 1978;41(3):941-7.

51. Liang F, Cao W, Wang Y, Li L, Zhang G, Wang Z. The prognostic value of tumor budding in invasive breast cancer. Pathology-Research and Practice. 2013;209(5):269-75.

52. Koyuncuoglu M, Okyay E, Saatli B, Olgan S, Akin M, Saygili U. Tumor budding and E-Cadherin expression in endometrial carcinoma: are they prognostic factors in endometrial cancer? Gynecologic oncology. 2012;125(1):208-13.

53. O'Connor K, Li-Chang HH, Kalloger SE, Peixoto RD, Webber DL, Owen DA, et al. Tumor budding is an independent adverse prognostic factor in pancreatic ductal adenocarcinoma. The American journal of surgical pathology. 2015;39(4):472-8.

54. Mizukami Y, Kono K, Kawaguchi Y, Akaike H, Kamimura K, Sugai H, et al. Localisation pattern of Foxp3+ regulatory T cells is associated with clinical behaviour in gastric cancer. British journal of cancer. 2008;98(1):148-53.

55. Boku N. HER2-positive gastric cancer. Gastric cancer. 2014;17:1-12.

56. Gabbert H. Mechanisms of tumor invasion: evidence from in vivo observations. Cancer and Metastasis Reviews. 1985;4:293-309.

57. Dawson H, Lugli A. Molecular and pathogenetic aspects of tumor budding in colorectal cancer. Frontiers in medicine. 2015;2:11.

58. 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.

59. De Smedt L, Palmans S, Andel D, Govaere O, Boeckx B, Smeets D, et al. Expression profiling of budding cells in colorectal cancer reveals an EMT-like phenotype and molecular subtype switching. British journal of cancer. 2017;116(1):58-65.

60. 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.

61. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R, Nagtegaal ID. Tumour budding in solid cancers. Nature Reviews Clinical Oncology. 2021;18(2):101-15.

62. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. British journal of cancer. 2012;106(11):1713-7.

63. Ueno H, Murphy J, Jass J, Mochizuki H, Talbot I. Tumourbudding'as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. Histopathology. 2002;40(2):127-32.

64. Berg KB, Schaeffer DF. Tumor budding as a standardized parameter in gastrointestinal carcinomas: more than just the colon. Modern Pathology. 2018;31(6):862-72.

65. Edition S, Edge S, Byrd D. AJCC cancer staging manual. AJCC cancer staging manual. 2017.

66. Gulluoglu M, Yegen G, Ozluk Y, Keskin M, Dogan S, Gundogdu G, et al. Tumor budding is independently predictive for lymph node involvement in early gastric cancer. International journal of surgical pathology. 2015;23(5):349-58.

67. Olsen S, Jin L, Fields RC, Yan Y, Nalbantoglu I. Tumor budding in intestinal-type gastric adenocarcinoma is associated with nodal metastasis and recurrence. Human pathology. 2017;68:26-33.

68. Sandberg TP, Stuart MP, Oosting J, Tollenaar RA, Sier CF, Mesker WE. Increased expression of cancer-associated fibroblast markers at the invasive front and its association with tumor-stroma ratio in colorectal cancer. BMC cancer. 2019;19:1-9.

69. van Pelt GW, Sandberg TP, Morreau H, Gelderblom H, van Krieken JHJ, Tollenaar RA, et al. The tumour–stroma ratio in colon cancer: the biological role and its prognostic impact. Histopathology. 2018;73(2):197-206.

70. Chen Y, Zhang L, Liu W, Liu X. Prognostic significance of the tumor-Stroma ratio in epithelial ovarian cancer. BioMed research international. 2015;2015(1):589301.

71. Liu J, Liu J, Li J, Chen Y, Guan X, Wu X, et al. Tumor–stroma ratio is an independent predictor for survival in early cervical carcinoma. Gynecologic Oncology. 2014;132(1):81-6.

72. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park E-C, Lu N, et al. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. Cell. 1998;94(6):715-25.

73. Calon A, Espinet E, Palomo-Ponce S, Tauriello DV, Iglesias M, Céspedes MV, et al. Dependency of colorectal cancer on a TGF-β-driven program in stromal cells for metastasis initiation. Cancer cell. 2012;22(5):571-84.

74. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. Nature reviews Clinical oncology. 2017;14(7):399-416.

75. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. Nature Reviews Cancer. 2016;16(9):582-98.

76. Newman AM, Liu CL, Green MR, Gentles AJ, Feng W, Xu Y, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles. Nature methods. 2015;12(5):453-7.

77. Yoshihara K, Shahmoradgoli M, Martínez E, Vegesna R, Kim H, Torres-Garcia W, et al. Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data. Nature communications. 2013;4(1):2612.

78. Zeng D, Li M, Zhou R, Zhang J, Sun H, Shi M, et al. Tumor microenvironment characterization in gastric cancer identifies prognostic and immunotherapeutically relevant gene signatures. Cancer immunology research. 2019;7(5):737-50.

79. Wei S, Lu J, Lou J, Shi C, Mo S, Shao Y, et al. Gastric cancer tumor microenvironment characterization reveals stromal-related gene signatures associated with macrophage infiltration. Frontiers in genetics. 2020;11:663.

80. Gambardella V, Castillo J, Tarazona N, Gimeno-Valiente F, Martínez-Ciarpaglini C, Cabeza-Segura M, et al. The role of tumor-associated macrophages in gastric cancer development and their potential as a therapeutic target. Cancer treatment reviews. 2020;86:102015.

81. Kim K-J, Wen X-Y, Yang HK, Kim WH, Kang GH. Prognostic implication of M2 macrophages are determined by the proportional balance of tumor associated macrophages and tumor infiltrating lymphocytes in microsatellite-unstable gastric carcinoma. PloS one. 2015;10(12):e0144192.

82. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. Nature immunology. 2010;11(10):889-96.

83. Lee K, Hwang H, Nam KT. Immune response and the tumor microenvironment: how they communicate to regulate gastric cancer. Gut and liver. 2014;8(2):131.

84. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. Current opinion in immunology. 2010;22(2):231-7.

85. Oya Y, Hayakawa Y, Koike K. Tumor microenvironment in gastric cancers. Cancer science. 2020;111(8):2696-707.

86. Baj J, Brzozowska K, Forma A, Maani A, Sitarz E, Portincasa P. Immunological aspects of the tumor microenvironment and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinogenesis. International journal of molecular sciences. 2020;21(7):2544.

87. Rihawi K, Ricci AD, Rizzo A, Brocchi S, Marasco G, Pastore LV, et al. Tumor-associated macrophages and inflammatory microenvironment in gastric cancer: novel translational implications. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(8):3805.

88. Lin C-N, Wang C-J, Chao Y-J, Lai M-D, Shan Y-S. The significance of the co-existence of osteopontin and tumor-associated macrophages in gastric cancer progression. BMC cancer. 2015;15:1-10.

89. Liu Y, Xie S, Zhu K, Guan X, Guo L, Lu R. CALD1 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancers. Heliyon. 2021;7(6).

90. Kemi N, Eskuri M, Ikäläinen J, Karttunen TJ, Kauppila JH. Tumor budding and prognosis in gastric adenocarcinoma. The American journal of surgical pathology. 2019;43(2):229-34.

91. Pun C, Luu S, Swallow C, Kirsch R, Conner JR. Prognostic significance of tumour budding and desmoplastic reaction in intestinal-type gastric adenocarcinoma. International journal of surgical pathology. 2023;31(6):957-66.

92. Che K, Zhao Y, Qu X, Pang Z, Ni Y, Zhang T, et al. Prognostic significance of tumor budding and single cell invasion in gastric adenocarcinoma. OncoTargets and therapy. 2017:1039-47.

93. Alnuaimi AR, Bottner J, Nair VA, Ali N, Alnakhli R, Dreyer E, et al. Immunohistochemical Expression Analysis of Caldesmon Isoforms in Colorectal Carcinoma Reveals Interesting Correlations with Tumor Characteristics. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(3):2275.

94. Sung H, Ferlay J, Siegel RL. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. 2021;71(3):209-49.

95. Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, van Grieken NC, Lordick F. Gastric cancer. Lancet (London, England). 2020;396(10251):635-48.

96. Inoue K, Nakane Y, Iiyama H, Sato M, Kanbara T, Nakai K, et al. The superiority of ratio-based lymph node staging in gastric carcinoma. Ann Surg Oncol. 2002;9(1):27-34.

97. Zeng D, Li M, Zhou R, Zhang J, Sun H, Shi M, et al. Tumor Microenvironment Characterization in Gastric Cancer Identifies Prognostic and Immunotherapeutically Relevant Gene Signatures. Cancer Immunol Res. 2019;7(5):737-50.

98. Wei S, Lu J, Lou J, Shi C, Mo S, Shao Y, et al. Gastric Cancer Tumor Microenvironment Characterization Reveals Stromal-Related Gene Signatures Associated With Macrophage Infiltration. Front Genet. 2020;11:663.

99. Díaz Del Arco C, Ortega Medina L, Estrada Muñoz L, García Gómez de Las Heras S, Fernández Aceñero MJ. Is there still a place for conventional histopathology in the age of molecular medicine? Laurén classification, inflammatory infiltration and other current topics in gastric cancer diagnosis and prognosis. Histol Histopathol. 2021;36(6):587-613.

100. Zlobec I, Berger MD, Lugli A. Tumour budding and its clinical implications in gastrointestinal cancers. Br J Cancer. 2020;123(5):700-8.

101. Ulase D, Heckl S, Behrens HM, Krüger S, Röcken C. Prognostic significance of tumour budding assessed in gastric carcinoma according to the criteria of the International Tumour Budding Consensus Conference. 2020;76(3):433-46.

102. Kemi N, Eskuri M, Ikäläinen J, Karttunen TJ, Kauppila JH. Tumor Budding and Prognosis in Gastric Adenocarcinoma. Am J Surg Pathol. 2019;43(2):229-34.

103. Gulluoglu M, Yegen G, Ozluk Y, Keskin M, Dogan S, Gundogdu G, et al. Tumor Budding Is Independently Predictive for Lymph Node Involvement in Early Gastric Cancer. Int J Surg Pathol. 2015;23(5):349-58.

104. Cao L, Wang Z, Duan L, Wei L. Analysis of Endoscopy Findings to Identify Early Gastric Cancers with Tumor Budding: A Retrospective Study. Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract. 2021;25(7):1706-15.

105. Tanaka A, Watanabe T, Okuno K, Yasutomi M. Perineural invasion as a predictor of recurrence of gastric cancer. Cancer. 1994;73(3):550-5.

106. Olsen S, Jin L, Fields RC, Yan Y, Nalbantoglu I. Tumor budding in intestinal-type gastric adenocarcinoma is associated with nodal metastasis and recurrence. Hum Pathol. 2017;68:26-33.

107. Che K, Zhao Y, Qu X, Pang Z, Ni Y, Zhang T, et al. Prognostic significance of tumor budding and single cell invasion in gastric adenocarcinoma. Onco Targets Ther. 2017;10:1039-47.

108. Zhang N, Wang D, Duan Y, Ayarick VA, Cao M, Wang Y, et al. The special immune microenvironment of tumor budding and its impact on prognosis in gastric adenocarcinoma. Pathology, research and practice. 2020;216(6):152926.

109. Qi B, Liu L, Pan Y, Xu S, Li J. Prognostic significance of peritumoural and intratumoural budding in intestinal-type gastric adenocarcinoma. Arab journal of gastroenterology : the official publication of the Pan-Arab Association of Gastroenterology. 2020;21(2):111-6.

110. Dao TV, Nguyen CV. Evaluation of Tumor Budding in Predicting Survival for Gastric Carcinoma Patients in Vietnam. 2020;27(1):1073274820968883.

111. Guo YX, Zhang ZZ, Zhao G, Zhao EH. Prognostic and pathological impact of tumor budding in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. World J Gastrointest Oncol. 2019;11(10):898-908.

112. Du M, Chen L, Cheng Y, Wang Y, Fan X, Zhang Y, et al. Tumor Budding and Other Risk Factors of Lymph Node Metastasis in Submucosal Early Gastric Carcinoma: A Multicenter Clinicopathologic Study in 621 Radical Gastrectomies of Chinese Patients. Am J Surg Pathol. 2019;43(8):1074-82.

113. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. Current biology : CB. 2020;30(16):R921-r5.

114. Zhou ZH, Ji CD, Xiao HL, Zhao HB, Cui YH, Bian XW. Reorganized Collagen in the Tumor Microenvironment of Gastric Cancer and Its Association with Prognosis. Journal of Cancer. 2017;8(8):1466-76.

115. van Wyk HC, Roseweir A, Alexander P, Park JH, Horgan PG, McMillan DC, et al. The Relationship Between Tumor Budding, Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. Ann Surg Oncol. 2019;26(13):4397-404.

116. Lee HE, Chae SW, Lee YJ, Kim MA, Lee HS, Lee BL, et al. Prognostic implications of type and density of tumour-infiltrating lymphocytes in gastric cancer. Br J Cancer. 2008;99(10):1704-11.

117. Rihawi K, Ricci AD, Rizzo A, Brocchi S, Marasco G. Tumor-Associated Macrophages and Inflammatory Microenvironment in Gastric Cancer: Novel Translational Implications. 2021;22(8).

118. Yin S, Huang J, Li Z, Zhang J, Luo J, Lu C, et al. The Prognostic and Clinicopathological Significance of Tumor-Associated Macrophages in Patients with Gastric Cancer: A Meta-Analysis. PLoS One. 2017;12(1):e0170042.

119. Lee MS, Lee J, Kim JH, Kim WT, Kim WJ, Ahn H, et al. Overexpression of caldesmon is associated with tumor progression in patients with primary non-muscle-invasive bladder cancer. Oncotarget. 2015;6(37):40370-84.

120. Liu Y, Huang Z, Cui D, Ouyang G. The multiaspect functions of periostin in tumor progression. Periostin. 2019:125-36.

121. Zhao Z, Zhang Y, Guo E, Zhang Y, Wang Y. Periostin secreted from podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts promotes metastasis of gastric cancer by regulating cancer stem cells via AKT and YAP signaling pathway. Molecular carcinogenesis. 2023;62(5):685-99.

122. Fan C, Wang Q, Kanei S, Kawabata K, Nishikubo H, Aoyama R, et al. Periostin from Tumor Stromal Cells Might Be Associated with Malignant Progression of Colorectal Cancer via Smad2/3. 2025;17(3).

123. Sung PL, Jan YH, Lin SC, Huang CC, Lin H, Wen KC, et al. Periostin in tumor microenvironment is associated with poor prognosis and platinum resistance in epithelial ovarian carcinoma. Oncotarget. 2016;7(4):4036-47.