



1993

T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİDE KANSERLERİNDE PD-L1/PD-L2 EXPRESYONU VE
MİKROSATELLİTE İNSTABİLİTESİNİN TÜMÖR DEĞİŞKENLERİ
VE PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Merve Nur ÇELİK

ANKARA, 2021



1993

T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİDE KANSERLERİNDE PD-L1/PD-L2 EXPRESYONU VE
MİKROSATELLİTE İNSTABİLİTESİNİN TÜMÖR DEĞİŞKENLERİ
VE PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Merve Nur ÇELİK

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Gonca ÖZGÜN

12/11/2019 tarih ve KA19-362nolu sayı

**Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
desteklenmiştir.**

ANKARA, 2021

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tamamlamış olduğum uzmanlık eğitim sürecimde; mesleki tecrübesi ve engin bilgisi ile yolumu aydınlatan, ilgisi, sevgisi ve sonsuz hoşgörüsü ile büyük bir aile olmamızı sağlayan değerli Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. B. Handan ÖZDEMİR'e minnet ve şükranlarımı sunarım. Eşsiz feraseti, derin bilgisi ve özgün tavırları ile ilham kaynağım olan Sn. Prof. Dr. Özlem ÖZEN'e, samimi yaklaşımı, yüksek neşesi ve enerjisi ile çevresine ışık saçan, desteğini daima yanımda hissettiğim meslek büyüğüm Sn. Prof. Dr. Nihan HABERAL REYHAN'a teşekkür ederim.

Yardımseverliği ve özverisi yalnızca çalışma alanı ile sınırlı olmayan, ilgi ve alakasını her durumda hissettiren, öğrettikleri ile sonsuza dek büyük bir saygı ve sevgi ile anacağım, kıymetli tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Gonca ÖZGÜN'e minnetlerimi sunarım.

Patoloji biliminde derinleşmeme vesile olmakla birlikte, hayat görüşüme rehberlik eden, özlemle hatırlayacağım o güzel hatıraları biriktirdiğim saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Ebru Şebnem AYVA, Doç. Dr. Ayşen Terzi, Doç. Dr. Merih TEPEOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Dr. Pelin BÖRCEK, Dr. Öğr. Üyesi Dr. Eda YILMAZ AKÇAY, Dr. Öğr. Üyesi Dr. Alev OK ATILGAN'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Her zorlukta yanımda olup desteklerini esirgemeyen, kendilerini tanıtmaktan büyük mutluluk duyduğum, sevgili yol arkadaşlarım kıdemlilerim Uzm. Dr. Çiğdem SERCAN ve Uzm. Dr. Duygu TÜRKBEY ŞİMŞEK'e, düşünceli ve fedâkar asistan arkadaşım Dr. İstem ŞANAL ile çok değerli diğer asistan arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Birlikte vakit geçirmekten büyük keyif aldığım, "ön oda ekibi"nin değerli sakinleri olan biyolog arkadaşlarım Ayşegül YÜCEL POLAT, Melis DENİZ GÖÇER, Ceren GÜLGÖR ve Pınar ARIBAL'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Güler yüzlü, sabırlı ve yardımsever bölüm sekreterlerimiz Ayten ŞAHİN, Neşe GÜNEŞ ve Ümit YILMAZ'a, patoloji mutfağında birlikte çalıştığımız teknisyen arkadaşlarıma, her sabah gösterdiği güler yüzü ve her akşamüstü ikram ettiği kahvesi ile

mesaimizi güzelleştiren Huriye AKSU'ya ve tüm emekleri için Ali GÜLTEKİN'e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Koşulsuz sevgileri, sınırsız destekleri ile daimi sığınağım, her dileğimde hep var olmalarını sayıkladığım en kıymetlilerim, sevgili annem Esra Özdemir, sevgili babam Mehmet Özdemir, canım abim Çağrı Özdemir ve biricik kardeşim Burak Özdemir'e, yaşam yolculuğumuzda yolumu yıldızlarla aydınlatan eşsiz kahramanım kıymetli eşim Enes'e ayrı ayrı minnetlerimi sunarım.



ÖZET

Mide Kanserlerinde PD-L1/PD-L2 Ekspresyonu ve Mikrosatellite İstabilitesinin Tümör Değişkenleri ve Prognoz ile İlişkisi

Mide kanseri, günümüzde en yaygın görülen kanserler arasında 5. sırada, kansere bağlı ölümlerde ise 3. sırada yer almaktadır. Mide kanseri genellikle ileri evrede tanı alır ve oldukça limitli olan sitotoksik kemoterapotik tedavi ile 5 yıllık sağ kalım %20'den azdır. Hedefe yönelik ilaçların tedavide kemoterapotik ajanlara eklenmesi, genel sağkalımda mütevazı bir iyileşme sağlamıştır ancak ne yazık ki hastalık prognozu hala kötüdür. Ortaya çıkan veriler, hastaların prognozlarının yalnızca hastalık evresine değil, aynı zamanda spesifik moleküler ve histopatolojik tümör özelliklerine de bağlı olduğunu göstermektedir. Mide kanserinin iki ayrıntılı genomik karakterizasyonu yakın zamanda Kanser Genom Atlas (TCGA) ve Asya Kanser Araştırma Grubu (ACRG) tarafından geliştirilerek mide kanserinin karmaşık ve heterojen bir hastalık olduğu kanıtlanmıştır. İlginç bir şekilde, MSI-H alt grubu, bu sınıflandırmaların her ikisinde de tanımlanmıştır. Ayrıca son yıllarda, immünoterapi dünya genelinde kanser tedavisi alanında oldukça popüler hale gelmiştir. PD-L1 ve PD-L2 gibi immünmodülatör proteinlerin neoplastik hücrelerde ekspresyonu birçok malignitede tanımlanmış olup agresif klinikopatolojik seyir ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalında, Şubat 2011-Mayıs 2019 tarihleri arasında tanı alan, total ve subtotal gastrektomi yapılmış 104 mide adenokarsinom olgusu retrospektif olarak incelenmiştir. Olgular klinikopatolojik parametreler yanı sıra immünohistokimyasal olarak uygulanan PD-L1, PD-L2, MSH2, MSH6, PMS2, PMS6 ile birlikte değerlendirilmiştir..

Olgu grubumuzda tümördeki PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. peritümöral immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım verileri arasında da istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma artışı ile sağkalım arasında negatif korele bir ilişki bulunmuştur. PD-L2 eksprese eden vakaların daha uzun sağkalım sürelerine sahip oldukları görülmüş ve ekspresyon ile tümör çapı, tümör evresi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Araştırmamızda MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 dimerleri ayrı ayrı değerlendirilmiş ve MSH2-MSH6 instabilitesi ile genel sağkalım arasında ilişki görülmüştür. MSH2-MSH6 stabil vakaların daha uzun sağkalım sürelerine sahip oldukları gözlenmiştir. PMS2-MLH1 instabil vakaların ise daha büyük tümör çapına sahip oldukları dikkati çekmiştir. Ayrıca mikrosatellit instabil tümörlerde, peritümöral immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdiğimizde, PD-L1 ekspresyonu olan olgularda sağkalımın anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür.

Mide kanserlerinde henüz çok yeni bir belirteç olan PD-L2 ve peritümöral immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun iyi prognostik, MSH2-MSH6 instabilitesinin ise kötü prognostik belirteçler olduğu sonucuna ulaştığımız çalışmamızda bu belirteçlerin patoloji rutininde kullanımının sağkalım ile ilgili öngörüde bulunmaya yardımcı olabileceğini düşündük.

Anahtar Kelimeler: Mide adenokarsinomu, PD-L1, PD-L2, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1, MSI

ABSTRACT

The Relationship of PD-L1/PD-L2 Expression and Microsatellite Instability with Tumor Variables and Prognosis in Gastric Carcinomas.

Gastric cancers are 5th among the most common cancers and 3rd in cancer-related deaths. Gastric cancer is usually diagnosed at an advanced stage, and 5-year survival is less than 20% with very limited cytotoxic chemotherapy. The addition of targeted drugs to chemotherapeutic agents in therapy has provided modest improvement in overall survival, but unfortunately the disease prognosis remains poor. Emerging data suggest that patients' prognosis depends not only on disease stage, but also on specific molecular and histopathological tumor characteristics. Two detailed genomic characterizations of gastric cancer have been recently developed by the Cancer Genome Atlas (TCGA) and the Asian Cancer Research Group (ACRG), proving that gastric cancer is a complex and heterogeneous disease. Interestingly, the MSI-H subgroup was defined in both of these classifications. Also, in recent years, immunotherapy has become very popular in the field of cancer treatment around the world. Expression of immunomodulatory proteins such as PD-L1 and PD-L2 in neoplastic cells has been described in many malignancies and has been associated with an aggressive clinicopathological course and poor prognosis.

In our study, 104 gastric adenocarcinoma cases diagnosed between February 2011 and May 2019 in Baskent University Faculty of Medicine Ankara Hospital Pathology Department, who underwent total and subtotal gastrectomy, were analyzed retrospectively. In addition to clinicopathological parameters, the cases were evaluated together with PD-L1, PD-L2, MSH2, MSH6, PMS2, PMS6 applied immunohistochemically.

In our case group, a positive correlation was found between PD-L1 expression in the tumor and survival. A statistically significant relationship was also found between PD-L1 expression in peripheral tumor immune cells and overall survival data. A negative correlation was found between increased PD-L1 staining in peri-tumor inflammatory cells and survival. Cases expressing PD-L2 were found to have longer survival times, and a significant correlation was found between expression and tumor diameter and tumor stage.

In our study, MSH2-MSH6 and PMS2-MLH1 dimers were evaluated separately and a relationship was found between MSH2-MSH6 instability and overall survival. MSH2-MSH6 stable cases have been observed to have longer survival times. It was noted that PMS2-MLH1 unstable cases had larger tumor diameters. In addition, when we evaluated the expression of PD-L1 in microsatellite unstable tumors and immune cells around the tumor, survival was found to be significantly higher in cases with PD-L1 expression.

In our study, where we concluded that PD-L2, which is a very new marker in gastric cancers, and PD-L1 expression in peripheral tumor immune cells are good prognostic markers, and MSH2-MSH6 instability is bad prognostic markers, we thought that the use of these markers in the pathology routine could help predict survival.

Keywords: Gastric adenocarcinoma, PD-L1, PD-L2, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1, MSI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
RESİMLER LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Mide Embriyolojisi	4
2.2. Mide Anatomisi	5
2.3. Midenin Kanlanması	5
2.4. Midenin İnervasyonu.....	6
2.5. Midenin Lenfatik Drenajı	6
2.6. Mide Histolojisi	6
2.7. Mide Kanserlerinin Genel Özellikleri.....	9
2.7.1. İnsidans ve epidemiyoloji.....	9
2.7.2. Etiyoloji	10
2.7.3. Patogenez.....	13
2.7.4. Histopatolojik sınıflama:	15
2.7.5. Moleküler sınıflama	20
2.7.6. Histolojik derece	22
2.7.7. Evreleme.....	23
2.7.8. Tedavi	24
2.7.9. Prognostik ve prediktif faktörler	24
2.8. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Markerlar ve Mekanizmaları ...	26
2.8.1. PD-L1.....	26
2.8.2. PD-L2.....	30
2.8.3. Mikrosatellit instabilite-MMR	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36

3.1. Olguların Genel Özellikleri.....	36
3.2. Doku Microarray Yöntemi İçin Blokların Hazırlanması	36
3.3. Hemotoksilen-Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi	37
3.4. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri.....	38
3.5. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	39
3.5.1. PD-L1 antikoru ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi	39
3.5.2. PD-L2 antikoru ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi	40
3.5.3. MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi .	41
3.6. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	45
4.1. Klinik Parametrelerin Sonuçları.....	45
4.2. Histolojik Parametrelerin Sonuçları.....	45
4.3. Histolojik Parametrelerin Birbiri ile İlişkisi	49
4.3.1. Histolojik tip	49
4.3.2. Patolojik T evresi.....	51
4.3.3. Patolojik N evresi	52
4.3.4. M evresi	54
4.3.5. Diferensiasyon derecesi.....	54
4.3.6. Lenfovasküler invazyon	55
4.3.7. Perinöral invazyon	56
4.3.8. Bormann sınıflaması	57
4.3.9. Tümör tomurcuklanması.....	57
4.4. İmmünohistokimyasal Bulguların Prognostik ve Diğer Histopatolojik Parametreler ile İlişkisi.....	58
4.4.1. Tümör hücrelerinde PD-L1 değerlendirilme sonuçları.....	58
4.4.2. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi.....	60
4.4.3. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 değerlendirme sonuçları ...	63
4.4.4. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi	64
4.4.5. Tümör hücrelerinde PD-L2 değerlendirilme sonuçları.....	67
4.4.6. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi.....	67

4.4.7. Tumor hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 değerlendirme sonuçları	69
4.4.8. Tumor hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi	70
4.4.9. Hastaların genel sağkalım ve hastalıksız sağkalımının, klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi	71
4.4.10. Histomorfolojik bulguların sağkalım düzeyi ile ilişkisi	71
4.4.11. Tumor hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 boyanma skorlamasının sağkalım düzeyi ile ilişkisi.....	77
4.4.12. Tumor hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumunun sağkalım düzeyi ile ilişkisi.....	78
5. TARTIŞMA.....	83
6. SONUÇLAR.....	96
KAYNAKÇA.....	101

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Mide kanseri etiyolojisinde kanıt düzeyi yeterli ve sınırlı olan ajanlar.....	11
Tablo 2.2. Midenin malign epitelyal tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2019 mide tümörleri sınıflamasına göre histolojik alt tipleri 1	17
Tablo 2.3. AJCC 8. Edisyona göre mide kanserlerinde TNM sınıflamaı79	23
Tablo 4.1. Vakaların tümör tomurcuklanması sayısı	47
Tablo 4.2. Olguların klinik ve histopatolojik özellikleri.....	48
Tablo 4.3. Olguların TNM sınıflaması.....	49
Tablo 4.4. Olguların takiplerinde nüks ve ölüm verileri.....	49
Tablo 4.5. Tümör histolojik alt tipleri ile klinik parametrelerin karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.6. Tümör hücrelerinde PD-L1, PD-L2 boyanma skoru ve MSH2-MSH6, PMS2-MLH1 durumu ile pT, pN ve M evre ilişkisi	59
Tablo 4.7. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skorunun perinöral invazyon ile ilişkisi.....	60
Tablo 4.8. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile peritümöral lenfositik yanıtın ilişkisi	61
Tablo 4.9. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile MSH2-MSH6 durumunun ilişkisi.....	61
Tablo 4.10. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile PMS2 durumunun ilişkisi.....	62
Tablo 4.11. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skorlaması ile peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ilişkisi.....	63
Tablo 4.12. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile pN evre ilişkisi.....	64
Tablo 4.13. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile perinöral invazyon ilişkisi	65
Tablo 4.14. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skorlaması ile MSH2-MSH6 durumu arasındaki ilişki.....	66
Tablo 4.15. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skorlaması ile erken ve ileri evre mide kanserleri arasındaki ilişki	68

Tablo 4.16. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skorlaması ile MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu arasındaki ilişki	69
Tablo 4.17. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 durumu ile PMS2-MLH1 durumu arasındaki ilişki	70
Tablo 4.18. Klinik ve histopatolojik verilerin sağkalım verileri ve ortalama sağkalım süreleri ile ilişkisi	76
Tablo 4.19. Mide adenokarsinom hastalarına ait tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 skorlaması ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım i ile sağkalım istatistikleri	78
Tablo 4.20. Mide adenokarsinom hastalarına ait MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumları ile sağkalım istatistikleri	80
Tablo 4.21. Mide kanseri vakalarında mikrosatellit durumu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun genel sağkalım ile ilişkisi	82

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Mide adenokarsinomlarında Correa tarafından tanımlanan prekanseröz basamaklar66.	14
Şekil 2.2. PD-1 reseptörü ve PD-L1 / PD-L2 antikorları ile kanser immünoterapisi101	32
Şekil 4.1. a) pT evre ile genel sağkalım ilişkisi, b) pN evre ile genel sağkalım ilişkisi, c) M evre ile genel sağkalım ilişkisi	72
Şekil 4.2. Tümör çapı ile genel sağkalım ilişkisi	73
Şekil 4.3. Diferansiasyon derecesi ile genel sağkalım ilişkisi	73
Şekil 4.4. Tümör histolojik tipi ile genel sağkalım ilişkisi.....	74
Şekil 4.5. Bormann klasifikasyonu ile genel sağkalım ilişkisi.....	74
Şekil 4.6. a) Lenfovasküler invazyon ile genel sağkalım ilişkisi, b) Perinöral invazyon ile genel sağkalım ilişkisi	75
Şekil 4.7. a) Tümör hücrelerinde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi, b)PD-L2 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi, c) Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi.....	78
Şekil 4.8. Tümör hücrelerinde a) MSH2-MSH6 durumu ile genel sağkalım ilişkisi b) PMS2-MLH1 durumu ile genel sağkalım ilişkisi	79
Şekil 4.9. Mikrosatellit instabil vakalarda tümör hücrelerinde a) PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi, b) PD-L2 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi, c) Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi	81
Şekil 5.1. a) PD-L1 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde PD-L1 ekspresyonu ve sağkalım ilişkisi b) PD-L2 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde PD-L2 ekspresyonu ve sağkalım ilişkisi.....	89

RESİMLER LİSTESİ

Sayfa

Resim 3.1. a) Tübüler karsinom, b) “Poorly” koheziv karsinom, c) Müsinöz karsinom (H&E $\times 40$ büyütme).....	37
Resim 3.2. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu a) Skor 0, b) Skor 1, c) Skor 2, d) Skor 3 (İHK $\times 100$ büyütme)	39
Resim 3.3. İnflamatuar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu a) Skor 0 (negatif), b) Skor 1 (hafif), c) Skor 2 (şiddetli), (İHK $\times 100$ büyütme).....	40
Resim 3.4. Tümör hücrelerinde PD-L2 ekspresyonu a) Skor 0, b) Skor 1, c) Skor 2, d) Skor 3 (İHK $\times 100$ büyütme).	41
Resim 3.5. a) MSH2 stabil, b) MSH2 instabil, c) MSH6 stabil, d) MSH6 instabil (İHK $\times 40$ büyütme)	42
Resim 3.6. a) PMS2 stabil, b) PMS2 instabil, c) MLH1 stabil, d) MLH1 instabil (İHK $\times 40$ büyütme)	43

KISALTMALAR

ACRG	: Asian Cancer Research Group-Asya Kanser Araştırma Grubu
AFP	: Alfa fetoprotein
CAP:	: Amerikan Patoloji Derneği
CDH1	: Kadherin 1 gen
CIN:	: Kromozomal İnstabil
CTLA4	: Sitotoksik T lenfosit antijeni 4
d-MMR	: DNA yanlış eşleşme onarım eksikliği
EBV	: Epstein-Barr virüsü
EC	: Enterokromafin
ECM	: Ekstraselüler matriks
FIGC	: Familyal intestinal gastrik kanseri
GAPPS	: Gastrik adenokarsinomu ve midenin proksimal polipozu
GS	: Genomik stabil
HDGC	: Herediter diffüz mide kanseri
HER-2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
IDL	: İnseriyon-delesyon loopları
IGCA	: Uluslararası Mide Kanseri Birliği
JGCA	: Japon Mide Kanseri Topluluğu
MDSC	: Miyeloid türevi baskılayıcı hücreler
MS	: Mikrosatellit
MSS	: Mikrosatellit stabil
MSI	: Mikrosatellit instabil
MLH1	: MutL homolog 1
MLH3	: MutL homolog 3
MSH2	: MutS homolog 2
MSH3	: MutS homolog 3
MSH6	: MutS homolog 6
NGS	: Yeni nesil sekanslama
PD-1	: Programlanmış hücre ölümü 1
PD-L1	: Programlanmış hücre ölümü 1'in ligandı
PD-L2	: Programlanmış hücre ölümü 2'nin ligandı

PMS1	: Post mayotik ayrışma 1
PMS2	: Post mayotik ayrışma 2
RGMB	: Makrofaj (MΦ) proteinlerinin itici kılavuz molekülü B
RNA	: Ribozomal ribonükleik asit
SEER	: Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar
STAT	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon faktörü
TAM	: Tümörle ilişkili makrofajlar
TCGA	: The Cancer Genome Atlas-Kanser Genom Atlası
TIL	: Tümörü infiltre eden lenfositler
TLR	: Toll benzeri reseptör
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
WHO	: The World Health Organization- Dünya Sağlık Örgütü

GİRİŞ ve AMAÇ

Mide kanserleri, dünya genelinde kansere bağlı ölümler arasında 3. sırada, görülme sıklığı açısından ise 5. sırada yer almaktadır¹. Son yıllarda insidansında düşme meydana gelmesine rağmen 2018 yılında dünya çapında 1 milyonun üzerinde yeni vaka ve 783.000 kansere bağlı ölüm bildirilmiştir¹. Tüm kanser ölümlerinin %8,3'ü mide kanseri nedeniyledir. Doğumdan 74 yaşına kadar mide kanserinden kümülatif ölüm riski erkeklerde %1,36 ve kadınlarda %0,57'dir². İleri evre hastalıkta ortalama sağkalım süresi yaklaşık 11 ay, 5 yıllık sürvi %25-30 düzeyindedir^{3,4}. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Daire Başkanlığı 2016 verilerine göre ülkemizde mide kanseri en sık görülen kanserler arasında erkeklerde beşinci, kadınlarda altıncı sırada yer almaktadır⁵.

Mide kanserleri multifaktöriyel olup vakaların %90'ı sporadik, %10'u ise ailesel-herediter gelişim gösterir. Aile öyküsü, diyet, alkol tüketimi, sigara, atrofik gastrit, Menetrier hastalığı, Helicobacter pylori ve Epstein-Barr virüsü (EBV) enfeksiyonları mide kanserleri için önde gelen risk faktörleridir¹. Mide kanserleri bir dizi epigenetik ve genetik değişikliklerin spektrumu ile ilişkilidir. Mide kanseri vakalarının yaklaşık %10'u kalıtsaldır ve bunların %3'ü spesifik germ line mutasyonları ile ilişkilidir (örneğin, E-cadherin, CDH1)⁶.

Mide kanserleri histolojik düzeyde farklı alt tiplere ayrılabilir; bunlardan iki popüler sınıflandırma sistemi Lauren veya WHO tarafından önerilenlerdir⁷. İlk olarak 1965'te tanımlanan Lauren sınıflandırması, mide tümörlerini intestinal, diffüz veya mikst tip olarak sınıflandırır⁸. 2019 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kabul edilen diğer sınıflama sistemi ise mide adenokarsinomlarını, tübüler, papiller, müsinöz, “poorly” koheziv karsinom ve diğer nadir alt tiplere ayırmıştır¹.

WHO sınıflaması ve Lauren sınıflaması dahil olmak üzere geleneksel morfoloji tabanlı sınıflandırma sistemleri, mide kanserlerinin moleküler heterojenitesi nedeniyle klinik tedaviye rehberlik etmede sınırlı bir kullanıma sahiptir. Bununla birlikte, onkogenlerin ve tümör supresör genlerin düzensizliğine yol açabilen çoklu genetik ve epigenetik değişikliklerin birikmesi, tümör oluşumunun itici gücü olarak kabul edilir⁹. Geleneksel morfoloji tabanlı sınıflandırma, mide kanserinin moleküler heterojenliğini aktaramaz ve prognozu belirlemek veya tedaviye yanıt verebilirliği tahmin etmek için

klirik uygulamaya rehberlik edemez ¹⁰. Bu nedenle son yıllarda, DNA dizileme, RNA dizileme, tam ekzon dizileme, kopya sayısı varyasyon analizi ve DNA metilasyon dizileri dahil olmak üzere yeni nesil dizileme (NGS) gibi moleküler yöntemler ile tümör hakkında histopatolojik özelliklerden daha detaylı bilgi verebilen moleküler alt tipler, mide kanserini sınıflandırmak için kullanılmıştır.

Mide adenokarsinomunun en kapsamlı moleküler karakterizasyonu TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) Araştırma Ağı tarafından 2014 yılında ve ACRG (*Asian Cancer Research Group*) tarafından 2015'te bildirilmiştir. TCGA mide kanserlerini EBV pozitif mide kanseri, mikrosatellit instabil mide kanseri, genomik stabil mide kanseri ve kromozomal instabil mide kanseri olarak dört moleküler subtip ayırmayı önermektedir ¹¹. Her bir moleküler alt grubu klinik sonuçlar ve farklı nüks paternleri ile ilişkilendiren ACRG sınıflamasında ise; Mikrosatellit instabil (MSI) mide kanseri, mikrosatellit stabil (MSS)/EMT (*epithelial mesenchymal transition*) mide kanseri, intakt p53 aktivitesine sahip MSS mide kanseri ve p53 aktivite kaybı gösteren MSS mide kanseri olarak 4 moleküler subtip tanımlanmıştır¹².

Analiz edilen farklı mide kanseri kohortlarına ve uygulanan moleküler yaklaşımların çeşitliliğine rağmen, her iki sınıflama sistemi de MSI alt grubunu spesifik ve iyi tanımlanmış bir mide karsinom subtipi olarak belirtmiştir¹³.

İmmünohistokimya boyaması, mismatch repair (MMR) proteinlerinin ekspresyonunun veya kaybının saptanmasına izin verir ve göreceli puanlama mümkündür. Bu yöntem, PCR ile MSI tespiti ile karşılaştırıldığında %90'ın üzerinde uyum görülmüştür¹⁴. Tek bir proteinin veya MMR kompleksinin heterodimerik bir çiftinin ekspresyonunun kaybı, d-MMR'nin varlığını düşündürür; dolayısıyla MSI'nin dolaylı bir kanıtıdır. Bu nedenle bizim çalışmamızda, MS durumunu belirlemek için ulaşılabilirliği, yaygınlığı ve uygulanabilirliği daha kolay, maliyeti daha düşük olan immünohistokimya kullanılmıştır.

PD-L1 (B7-H1), kromozom 9 üzerinde bulunan CD274 geni tarafından kodlanan ve bağışıklık sisteminin lenfositler ve dendritik hücreler gibi çeşitli hücre tipleri tarafından eksprese edilen 290aa tip I bir transmembran yüzey glikoproteinidir, aynı zamanda çok çeşitli solid tümörlerin epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunur¹⁵. PD-L1, immünooglobulin

süper ailesi B7'nin bir üyesi olan ve immünomodülasyonda yer alan programlanmış hücre ölümü 1'in (PD-1) ligandıdır¹⁶. PD-1'in, lenf foliküllerinin germinal merkezindeki aktive edilmiş T-hücreleri tarafından ve ayrıca tümör infiltre edici lenfositler (TIL'ler) ve diğer bağışıklık hücrelerinde eksprese edildiği bilinmektedir¹⁷. PD-1'in ligandı PD-L1 ile etkileşimi, T-hücresi reseptör sinyalinin baskılanmasını indükler ve kanser hücrelerinin immün yıkımdan kaçmasını sağlayan immün yanıtın down-regülasyonu ile sonuçlanır¹⁸. Terapötik PD-1/PD-L1 kontrol noktası inhibitörleri, kanser hücresine yönelik bağışıklık tepkisini eski haline getirmek için PD-1/PD-L1 bağışıklık kontrol noktasını hedefler¹⁹. Son zamanlarda yapılan çok sayıda çalışma, PD-1/PD-L1 hedefli tedavinin etkinliğini göstererek, kanser immünoterapisinde yeni bir çağa girildiğini ortaya koymaktadır.

PD-L2, CD274'e bitişik Pcd1lg2 geni tarafından kodlanan tip I transmembran proteinidir. PD-L2 ifadesi, PD-L1 ifadesinden çok daha kısıtlıdır. PD-L2, dendritik hücreler, makrofajlar ve mast hücrelerinde eksprese edilir¹⁷. PD-L2, Th2 yanıtlarının modülasyonunda önemli bir rol oynar. Fakat anti-tümör bağışıklığında Th1 yanıtlarının daha güçlü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda, tümör mikro çevresinin genellikle etkisiz bir Th2 tipi bağışıklık ortamına saptığını ve bunun da kanser hücresinin bağışıklık denetiminden kaçmasıyla sonuçlandığını gösteren kanıtlar ortaya çıkmıştır²⁰. Bu nedenle, kanserlerde PD-L2'nin ilişkisini daha fazla araştırmak için açık bir gerekçe ortaya çıkmıştır.

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, MSI ve PD-L1 ekspresyonu arasındaki pozitif korelasyon nedeniyle, MMR sistemindeki değişikliklerin, immün kontrol noktası inhibitörleri ile tedavi için klinik faydayı öngörebileceğini varsaymıştır²¹⁻²⁴. Ayrıca PD-L2'nin tek başına veya PD-L1 ile kombinasyon halinde ekspresyonunun, PD-1 eksenini hedefleyen tedavilerin etkinliğini etkileyebileceği göz önüne alındığında, bu çalışmada, patolojik özelliklere, prediktif ve prognostik değerlere odaklanılarak, mide adenokarsinomlarında PD-L1, PD-L2 ekspresyonu, mikrosatellit durumu ve bunların birbirleriyle ve sağkalım ile ilişkisi incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Mide Embriyolojisi

Mide, 7 mm uzunluğundaki embriyonun gelişiminin dördüncü haftasında, endoderm kaynaklı ön bağırsağın fuziform bir genişlemesi olarak belirir^{25,26}. Sonraki haftalarda, midenin şekli ve pozisyonu, mide duvarının değişik bölgelerinin farklı büyüme hızında olması ve etrafındaki organların pozisyonlarında meydana gelen değişiklikler sonucunda önemli ölçüde değişim gösterir²⁵. Primordiyal mide kısa sürede ventrodorsal olarak genişler ve sonraki 2 hafta boyunca midenin dorsal sınırı, ventral sınırından daha kısa bir sürede büyür; bu, midede büyük kurvatur ve küçük kurvatur oluşumu ile sonuçlanır^{25,27}. Mide genişleyip son şeklini alırken, uzunlamasına eksen etrafında saat yönünde 90 derece yavaşça döner²⁷.

Midenin sefalik ve kaudal uçları başlangıçta orta hatta yer alsa da gelişimin daha ileriki evrelerinde midenin ön-arka eksen etrafında dönmesiyle kaudal veya pilorik kısım sağa ve yukarıya doğru, sefalik veya kardiyak kısım ise sola ve hafifçe aşağıya doğru yer değiştirir. Mide böylece son şeklini alır ve uzun eksen yukarıdan aşağıya doğru devam eder²⁵.

Başlangıçta mide, karın arka duvarına dorsal mezogastrium ile karın ön duvarına ventral mezogastrium ile bağlanır. Midenin dönüşü esnasında dorsal mezogastrium sola doğru çekilir ve mide arkasında bursa omentalis (küçük periton kesesi) olarak adlandırılan peritoneal boşluk oluşur. Mide büyüdükçe, dorsal mezogastrium omentum majusu ve ventral mezogastrium omentum minusu oluşturur²⁶.

Mide, endodermden gelişir ve mukozal tabakanın erken glandüler farklılaşması ilk olarak fetal gelişimin 80 mm olduğu aşamada gerçekleşir. Enzim ve asit üretimi ilk olarak fetal yaşamın dördüncü ayında gerçekleşir ve doğuma kadar iyice olgunlaşır. Yenidoğan midesi tamamen gelişmiştir ve yetişkin midesi ile benzer görünümündedir²⁶.

2.2. Mide Anatomisi

Mide, abdomenin sol üst kadranda yer alan J şeklinde bir organdır. Proksimalinde diyafram seviyesinin birkaç santimetre altında özofagusa, distalde orta hattın hemen sağında duodenum birleşir. Mide gerilebilir bir organdır ve boyutu, mevcut yiyeceğin hacmine bağılı olarak değişir²⁶.

Mide dört bölgeye ayrılır: kardial, fundus, korpus ve antrum. Süperomedial kenar boşluğu küçük kurvatur, inferolateral kenar boşluğu ise büyük kurvatur olarak adlandırılır. Gastroözofageal bileşke, anatomik olarak tübüler özofagusun sakküler mideye dönüştüğü nokta olarak tanımlanır. Kişinin boyuna göre bu mesafe değişmekle birlikte kesici dişlerin yaklaşık 40 cm distalinde, özofagusun skuamöz mukozasının yerini mide mukozal kıvrımlarının (ruga) aldığı seviyedir. Kardial, özofagus alt ucunun hemen distalinde bulunan, gastroözofageal bileşkeden itibaren 1-3 cm distale doğru uzanan küçük ve sınırları belirsiz alandır. Fundus, sol hemidiyaframın altında ve gastroözofageal bileşkenin üzerinde yer alan kubbe şeklindeki kısımdır. Antrum, pilor sfinkterinin proksimalinde yer alan midenin distal üçte birini oluşturan bölümdür. Midenin geri kalan kısmı ise korpus olarak isimlendirilir. Korpustan antruma geçiş keskin ve iyi sınırlı değildir ve *incisura angularis* olarak adlandırılan, anatomik olarak küçük kurvaturun katlantı noktasından başladığı kabul edilir²⁶.

Midenin iç yüzü özellikle korpus ve fundusta daha belirgin olan ruga olarak isimlendirilen katlantılarla kaplıdır. Mide boşken daha belirgin olan bu katlantılar, mide hacminin artıp yüzeyinin gerginleşmesiyle düzleşir²⁶.

Mide duvarı dört tabakadan oluşur: **1) Mukoza, 2) Submukoza, 3) Muscularis propria ve 4) Subseroza.** Mukoza dışında diğer tüm tabakalar gastrointestinal kanal boyunca benzer özelliklere sahiptir²⁶.

2.3. Midenin Kanlanması

Midenin kanlanmasını sağlayan beş arter vardır. Sol gastrik arter kardiya bölgesini, sağ gastrik arter küçük kurvaturu ve sağ ve sol gastroepiploik arterler ile kısa gastrik arterler büyük kurvaturu besler. Tüm bu damarlar hem midenin subserozal tabakasında

hem de muskularis propriada serbest bir şekilde anastomoz yapar. Mukozal arterler, submukozal damar pleksusundan köken alır ve her bir mukozal arter uç arter özelliği göstererek mukozanın kendine ait olan kısımlarını besler^{26,28}.

2.4. Midenin İnervasyonu

Midenin sempatik inervasyonu gastrik ve gastroepiploik arterleri takip eden sinirler yoluyla çölyak pleksustan, parasempatik inervasyonu ise gastroözofageal bileşke hizasında nervus vagustan ayrılan ön ve arka sinir dalları ile sağlanır. Mide duvarında sempatik ve parasempatik sinir lifleri submukozada Meissner pleksusunu ve muskularis propria'da longitudinal ve sirküler kas lifleri arasında Auerbach pleksusunu oluşturur²⁶.

2.5. Midenin Lenfatik Drenajı

Elektron mikroskopisi kullanılarak yapılan son çalışmalar ışığında²⁹, lamina proprianın tüm seviyelerinde lenfatik kanalların mevcut olduğu görüşü, lenfatik kanalların sadece muskularis mukozanın üst sınırındaki lamina propriada bulunduğu görüşüne dönüşmüştür. Buradan çıkan lenfatik kanallar, muskularis mukozayı aşarak, submukozadaki daha büyük lenfatik kanallara açılır. Lenfatiklerin bu yerleşimi henüz muskularis mukozaya ulaşmamış erken evre mide kanserlerinde lenfatik metastazların görülmesini açıklamaktadır²⁶.

Midenin lenfatik drenajı genellikle ana arterleri ve venleri takip eder. Her biri kendi lenf nodu grubuna sahip dört drenaj alanı vardır. Özofagusun alt ucundan başlayarak küçük kurvaturun çoğunluğunu kapsayan en büyük alanı, sol gastrik lenf nodları; küçük kurvaturun distalinden pilora doğru uzanan alanı ise sağ gastrik ve hepatik lenf nodları drene eder. Büyük kurvaturun proksimal kısmının lenfatik drenajı pankreatikosplenik lenf nodlarına, distal kısmının lenfatik drenajı ise sağ gastroepiploik lenf nodları ile pilorik lenf nodlarına doğrudur. Bahsedilen lenf nodlarının tümünün drenajı çölyak lenf nodlarıdır^{26,29}.

2.6. Mide Histolojisi

Histolojik olarak mukoza, midenin tüm anatomik bölgeleri boyunca benzer bir yapıya sahiptir. Mukoza, yüzey epitelinin içe doğru katlanması ile ortaya çıkan

foveolaların (çukurlar, pit) oluşturduğu yüzeyel tabaka ve foveolanın tabanına açılan kıvrımlı glandlardan oluşan derin tabaka olmak üzere 2 katmandan oluşur. Glandüler tabaka, midenin farklı bölgelerinde yapı ve işlev bakımından farklılık gösterir²⁶.

Korpus ve fundusta oksintik mukoza, asit ve pepsin salgılamak üzere özelleşmiştir. Oksintik mukoza ve antral mukoza arasındaki geçiş aşamalıdır, arada 1-2 cm genişliğinde her iki hücre tipini de içeren geçiş bölgesi bulunur. Gastrik ve duodenal mukozanın iç içe geçtiği pilorda da benzer şekilde mukozal geçiş zonu yer alır. Bu iki mikst karakterdeki geçiş bölgesinden farklı olarak, mikroskopik ve makroskopik olarak, özofagusun non-keratinize skuamöz epitelinin, kardiyanın kolumnar epiteline geçişi keskindir. Histolojik olarak, skuamokolumnar bileşke olarak adlandırılan bu bölgenin pozisyonu değişken olup anatomik olarak ifade edilen gastroözofageal bileşke ile her zaman örtüşmeyebilir. Bazı kişilerde gastroözofageal bileşke, skuamokolumnar bileşkenin 0,5-2,5 cm distalinde yer alır ve testere dişi (serrated) görünümündedir (Z çizgisi)²⁶.

Yüzey epiteli ve foveolayı döşeyen kolumnar hücreler, bazalde yerleşmiş nükleus ve mukusla dolu sitoplazmaya sahiptir. Nükleuslar, göze çarpmayan tek nükleol içerirler. Histokimyasal olarak, foveolar mukusun tamamı nötral müsin olup periyodik asit-Schiff (PAS) pozitifdir, ancak Alcian blue negatiftir²⁶.

Kardiak ve antral mukozada, foveola mukozal kalınlığın yaklaşık yarısını oluşturur. Kardiak ve antral mukozada, daha çok oksintik mukozaya geçiş bölgelerinde olmak üzere, tek tek veya küçük gruplar halinde pariyetal hücreler görülebilir. Ancak zimojenik (esas) hücrelere, oksintik mukoza ve geçiş bölgeleri dışında rastlanmaz. Pilorik bezler yalnızca nötral müsin salgılar. Kardiak bezler ise, ağırlıklı olarak nötral müsin salgılamakla birlikte az miktarda sialomüsin de sekrete ederler.

Fundus (oksintik gland) mukozası, mukozal kalınlığın dörtte birinden daha azını kaplayan foveolaya sahiptir. Kardiak ve pilorik mukozanın aksine, glandlar sıkıca paketlenmiştir ve düzdür. Glandlar üç kısma ayrılabilirler: bazal, boyun ve isthmus. Bazal kısım esas olarak pepsinojen salgılayan, esas hücre (chief cell) olarak da adlandırılan zimojenik hücrelerden oluşur. Esas hücreler küboidal, bir veya daha fazla küçük nükleolus içeren bazalde yerleşmiş nükleusa sahip, soluk mavi-gri (bazofilik) sitoplazma içeren hücrelerdir. Glandların isthmik kısmı hidroklorik asit ve intrinsik faktör salgılayan

pariyetal hücreler içerir. Bunlar, tabanları bazal membrana oturmuş olan üçgen şekilli, santral yerleşimli nükleus içeren, koyu pembe (asidofilik) sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Boyun bölgesinde ise, esas hücreler ve pariyetal hücrelerin yanısıra müköz boyun hücreleri bulunur. Bu hücreler nötral ve asidik müsin, özellikle pH 2.5'te Alcian mavisi ile pozitif boyanan sialomüsin üretirler. Mukus boyun hücreleri, bezlerin istmik kısmında daha az sayıda bulunur ve bezlerin bazal kısmında ara sıra pariyetal hücrelere rastlanabilir. Müköz boyun hücreleri pilorik mukozada da bulunabilir^{26,29}.

İmmünohistokimya ile normal midede MUC5AC, MUC1 ve MUC6 müsinleri tespit edilir³⁰. Tipik olarak MUC5AC, foveolar epitel ve müköz boyun hücrelerinde bulunur. MUC1 foveolar epitelde, esas ve pariyetal hücrelerde bulunur. MUC6, antral glandlarda ve müköz boyun hücrelerinde bulunur. Müsin, değişen MUC5AC ve MUC6 müsin proteinleri katmanlarıyla bir yüzey kaplaması oluşturur³¹.

Çalışmalar, midenin tüm bölgelerinde bulunan müköz boyun hücrelerinin, çoğalma ve mukozal yenilenmeye sahip farklılaşmamış kök hücreler olduğunu göstermektedir. Bu hücreler, foveola ve yüzey epitelini yenilemek için yukarı doğru veya zimojenik, pariyetal veya nöroendokrin hücreleri yenilemek için aşağı doğru hareket edebilirler³².

Mide, çok çeşitli hormonlar üreten hücreler içerir. Pilorik mukozada, tüm endokrin hücre popülasyonunun yaklaşık %50'si gastrin üreten G hücreleri, %30'u serotonin üreten enterokromaffin (EC) hücreler ve %15'i somatostatin üreten D hücreleridir. Bununla birlikte, oksintik mukozada, endokrin hücrelerin büyük bir kısmı histamin üreten enterokromaffin benzeri (ECL) hücrelerdir. Oksintik mukozada az sayıda salgısı henüz bilinmeyen X hücreleri ve enterokromaffin hücreler de mevcuttur^{26,29}.

Oksintik mukozada, bu endokrin hücreler genellikle glandların bazalinde yerleşimlidir. Hemotoksilen kesitlerde göze çarpmazlar, immünohistokimyasal teknikler ile gösterilebilirler. Sayıları değişkendir ancak genellikle gland başına 20'den az endokrin hücre vardır ve çoğu glandda ise 10'dan az endokrin hücre bulunur. Pilorik mukozada, endokrin hücreler en çok foveolanın hemen altındaki boyun bölgesinde görülür. Pilorik mukozada, kript başına 20 ila 50 endokrin hücre görülür. Bu geniş aralık, mukozal biyopsilerde G hücre hiperplazisi varlığını değerlendirmeyi zorlaştırır²⁶.

Yüzey epitel hücreleri, foveola ve glandlar, gastrointestinal sistemin diğer kısımları ile benzer şekilde bazal membran üzerinde yer alır. Bazal membranın altında ise, yapısal destek sağlayan, kollajen, retikülin ve elastik liflerden oluşan lamina propria bulunur. Lamina propria, özellikle pilorik mukozada, pitler arasındaki mukozanın yüzeyel kısmında daha fazladır. Lamina propria fibroblastlar, histiyositler, plazma hücreleri ve lenfositler dahil olmak üzere çok sayıda hücre tipi içermesine karşın mast hücreleri ve nötrofiller nadiren izlenir. Lamina propria ayrıca kapillerler, arterioller ve miyelinsiz sinir lifleri içerir^{26,29}.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, normal mide mukozasında az sayıda primer lenfoid folikülün bulunabileceği gösterilmiştir. Ancak sekonder lenfoid foliküller yalnızca gastrit durumunda görülür ve genellikle *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna ikincil olarak ortaya çıkar³³.

Submukoza, muskularis mukoza ve muskularis propria arasında yer alır ve çok sayıda elastik liften oluşan gevşek bağ dokusudur. Meissner pleksusu ile arterler, venler ve lenfatiklerin oluşturduğu pleksuslar bulunur²⁶.

Muskularis propria üç tabakadan oluşur; dış longitudinal, iç sirküler ve en içte oblik kas tabakası yer alır. En dışta yer alan longitudinal tabaka, özofagus longitudinal kas tabakası ile devamlılık gösterir. İç sirküler tabaka, gastroduodenal bileşkede pilorik sfinkteri oluşturur. Oblik kas lifleri, sirküler liflerin içinde bulunan inkomplet bir tabakadır ve en çok kardial bölgede belirgindir. Auerbach (miyenterik) pleksusu, muskularis proprianın sirküler ve longitudinal katmanları arasında yer alır²⁹.

Muskularis mukoza ise iç sirküler ve dış longitudinal olmak üzere iki tabakadan oluşur. Antrumda daha belirgin olmak üzere muskularis mukozadan lamina propriaya penetre olan düz kas lifleri, yüzey epitelinin bazal membranına kadar uzanım gösterir²⁶.

2.7. Mide Kanserlerinin Genel Özellikleri

2.7.1. İnsidans ve epidemiyoloji

Mide kanserleri, dünya genelinde kansere bağlı ölümler arasında 3. sırada, görülme sıklığı açısından ise 5. sırada yer almaktadır.¹ Son yıllarda insidansında düşme meydana

gelmesine rağmen 2018 yılında dünya çapında 1 milyon üzerinde yeni vaka ve 783.000 kansere bağlı ölüm bildirilmiştir. Tüm kanser ölümlerinin%8,3'ü mide kanseri nedeniyledir. Doğumdan 74 yaşına kadar mide kanserinden kümülatif ölüm riski erkeklerde % 1,36 ve kadınlarda% 0,57'dir.²

Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Daire Başkanlığı 2016 verilerine göre ülkemizde mide kanseri en sık görülen kanserler arasında erkeklerde beşinci, kadınlarda altıncı sırada yer almaktadır.⁵

Doğu Asya, Doğu Avrupa ve Latin Amerika' da mide kanseri insidansı yüksek iken Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa, Afrika ve Güneydoğu Asya'da insidans düşüktür. Beş yıllık sağkalım oranı sadece Japonya'da biraz daha iyi olmasına karşın Avrupa'da oran %10-30 arasında değişmektedir.¹ Artan beş yıllık sağkalım oranı, kanserin endoskopik yöntemlerin gelişmesi ile daha erken aşamada tanınması, sigara ve diyetle alınan tuz miktarının azalması, taze meyve ve sebze tüketiminin artması, H. pylori eradikasyonunun artması ile ilişkili olabilir³⁴.

Çeşitli göç çalışmalarında, Japonya gibi daha yüksek insidansa sahip bölgelerden daha düşük insidanslı bölgelere göç eden kişilerde mide kanseri görülme sıklığının azalması, çevresel faktörlerin mide kanseri gelişiminde önemli rol oynadığını düşündürmektedir^{35,36}.

2.7.2. Etiyoloji

Mide kanserleri multifaktöriyel olup vakaların %90'ı sporadik, %10'u ise ailesel-herediter gelişim gösterir. Aile öyküsü, diyet, alkol tüketimi, sigara, Helicobacter pylori ve Epstein-Barr virüsü (EBV) enfeksiyonları, geçirilmiş mide operasyonu, obezite, gastroözafagial reflü (GÖR), pernisiyöz anemi mide kanserleri için önde gelen risk faktörleridir¹.

Helicobacter pylori (H. pylori), 1994'ten beri Dünya Sağlık Örgütü tarafından mide kanseri gelişiminde sınıf I kanserojen olarak tanımlanan Gram negatif bir bakteridir³⁷. H. pylori'nin onkogenezi süreci üzerindeki etkisi, mide mukozasında enfeksiyona bağlı inflamatuvar reaksiyon oluşturarak dolaylı ve mide epitel hücreleri üzerinde epigenetik

değişikliğe neden olarak direkt olmak üzere iki ana mekanizma ile tanımlanmıştır³⁸. CagA veya VacA olarak tanımlanan H. pylori'nin virülans faktörlerinin mide kanseri gelişimi riskini artırdığı belirtilmiştir³⁹. CagA ve vacA virulans faktörleri, hem distal midede yoğun doku yanıtı oluşmasından hem de premalign ve malign lezyonlar geliştirme riskinin artmasından sorumludur⁴⁰. Çoklu epidemiyolojik çalışmalar, H. pylori enfeksiyonunun mide kanseri gelişiminin risk faktörlerinden biri olduğunu göstermiştir. Ayrıca, H. pylori enfeksiyonun mide mukozasında mikroçevreyi bozarak epitelyal-mezenkimal geçişi hasarladığı ve böylece mide kanseri ilerlemesini arttırdığı gösterilmiştir⁴¹.

Çeşitli çalışmalar gastroözofagial reflü hastalığı ve kardiya yerleşimli mide kanseri arasında önemli ilişkiler olduğunu bildirmiştir⁴². Kardiyak mide kanseri, hem şiddetli gastrik atrofi hem de gastroözofagial reflü hastalığı semptomları ile pozitif olarak ilişkili bulunmuştur⁴³.

WHO Digestive System 2019'a göre mide kanseri gelişiminde etkili olan faktörler kanıta dayalı olarak sınıflandırılmıştır;¹ (Tablo 2.1):

Tablo 2.1. Mide kanseri etiyolojisinde kanıt düzeyi yeterli ve sınırlı olan ajanlar

Kanıt Düzeyi Yeterli Olan Ajanlar	Kanıt Düzeyi Sınırlı Olan Ajanlar
Helicobacter Pylori enfeksiyonu	Asbest maruziyeti
Lastik imalatçılığı endüstrisinde çalışmak	EBV enfeksiyonu
Sigara kullanımı	İnorganik kurşun bileşikleri
Radyasyon maruziyeti	Nitrat veya nitrit içeren besinler
	Salamura sebzeler
	İşlenmiş et tüketimi
	Tuzlu balık tüketimi

Hereditör diffüz mide kanseri (HDGC)

HDGC'den etkilenen ailelerin yalnızca yaklaşık %40'ında genetik bir temel bulunmuştur. Aile öyküsü mide kanseri olan bireyler arasında kalıtsal faktörlerin belirlenmesi, bu nedenle erken teşhis ve hastalık yönetimi için çok önemli bir adımdır. Aile öyküsü, histolojik sınıflandırma ve hastalığın başlangıç yaşı (<45 yaş), belirli bir mide

kanseri kalıtsal sendromunda genetik test ve klinik gözetime rehberlik etmek için kullanılır⁴⁴.

Hereditör diffüz mide kanseri (HDGC), kadherin 1 gen (CDH1) değişikliklerinin neden olduğu en tanınmış ailesel mide kanseridir. Aile öyküsü olan hastalarda mide kanseri riski, böyle bir öyküsü olmayan bireylere göre yaklaşık üç kat daha yüksektir⁴⁵.

Aile öyküsü olan mide kanserli vakaların oranı, Asya bölgelerinde Avrupa ve Kuzey Amerika'dakinden daha fazladır, ancak HDGC sıklığı, Asya'daki ailesel gastrik karsinogenez insidansı ile karşılaştırıldığında oldukça düşüktür⁴⁶. Bu nedenle, hastalık insidansının arttığı ülkelerde, çevresel ajanlar, genetik değişikliklerden daha çok oranda ailesel mide kanseri gelişimine neden olabilir.

HDGC'da, E-kaderin genindeki (CDH1) mutasyona ek olarak Alfa-E-katenin genindeki (CTNNA1) mutasyon da tanımlanmıştır⁴⁷. Erken başlangıçlı diffüz tip mide kanseri olan ve aile öyküsü olmayan birkaç hastanın CDH1 germ hattı mutasyonlarının taşıyıcıları olduğu bulunmuştur, bu da CDH1 germ hattı eksikliğinin hastalığın başlamasındaki rolünü destekler ve de-novo HDGC ailelerinin tanımlanmasına yardımcı olur⁴⁸. HDGC ailelerinde lobüler meme kanseri ikinci en sık görülen neoplazi türüdür⁴⁹. Yayımlanan verilere göre, CDH1 mutasyonu taşıyıcılarında diffüz mide kanserinin penetransı 80 yaşına kadar hem erkeklerde hem de kadınlarda % 80'in üzerine ulaşır ve kadınların lobüler meme kanserine yakalanma olasılığı % 90'dır. Kadınlarda 80 yaşına kadar senkron diffüz mide ve lobüler meme kanseri ortaya çıkma olasılığı %60 olarak bildirilmiştir⁵⁰.

Mide adenokarsinomu ve midenin proksimal polipozu (GAPPS)

Mide adenokarsinomu ve midenin proksimal polipozu (GAPPS), 2012 yılında tanımlanmıştır ve proksimal mideyle sınırlı olan fundik bez polipozunun (displastik lezyonlar veya bağırsak tipi mide adenokarsinomu veya her ikisi dahil), kolorektal veya duodenal polipozis veya diğer kalıtsal belirtiler olmaksızın otozomal dominant geçişi ile karakterizedir⁵¹. Fundik gland poliplerinde WT allelinin kaybına neden olan 5q22 geniyle eşleştirilmiştir⁵².

Ailesel intestinal mide kanseri (FIGC)

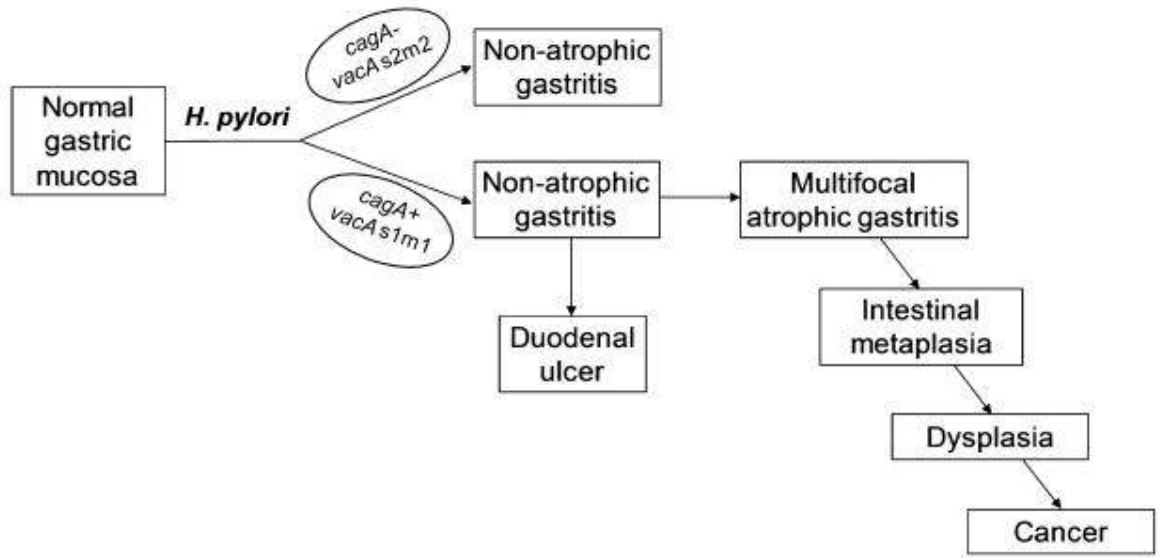
Ailesel mide bağırsak kanserinin en yaygın biçimi olan ailesel adenomatöz polipozis (FAP), adenomatöz poliplere APC genindeki germ hattı mutasyonlarının neden olduğu otozomal dominant kalıtsal bir yatkınlıktır. Bununla birlikte, FAP hastaları arasında yaşam boyu mide kanseri gelişme riski %1'den azdır, bu da polipleri adenokarsinomlara dönüştürmek için çevresel bir bileşen gerektirdiğini göstermektedir⁵³.

Mide kanseri, diğer bazı kalıtsal kanser sendromlarında tümör spektrumunun bir parçası olarak tanımlanmıştır ve bu nedenle bu sendromları olan hastalarda mide kanseri riski dikkate alınmalıdır. Mide kanserlerinin %1,6'sından sorumlu olan Lynch sendromu, hatalı eşleşme tamir genleri olan MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2 veya EPCAM'deki mutasyonların neden olduğu mikrosatellit instabilitesinin moleküler fenotipini taşıyan kalıtsal bir kolorektal kanser sendromudur⁵⁴. Li-Fraumeni sendromu erken başlangıçlı mide kanseri de dahil genellikle 45 yaşından önce kalıtsal TP53 mutasyonları nedeniyle gelişen birkaç tümör tipini kapsar⁵⁵. TP53 mutasyonu taşıyan ailelerde mide kanseri sıklığı %1-8 ile %4-9 arasında değişmektedir⁵⁶. Ailesel adenomatöz polipozis, APC germ hattı mutasyonlarından kaynaklanan, 100'den fazla kolorektal adenomun gelişimi ve kolorektal kanserin erken gelişimi ile karakterize⁵⁷ midede, fundik gland polipleri ve antrumda adenomlar meydana getiren sendromdur. 57 STK11 (serine/threonine kinase 11) genindeki mutasyonlardan kaynaklanan ve hamartomatoz gastrointestinal polipler, mukokutanöz pigmentasyon ve özellikle genel popülasyondan daha genç yaşlarda gelişen gastrointestinal ve meme kanserleri riskinde artış ile karakterize Peutz-Jeghers sendromlu hastalarda⁵⁹, bir meta-analizde 65 yaşına kadar kümülatif mide kanseri riskinin %29 olduğu görülmektedir⁶⁰. Juvenil polipozis sendromu ise kolon veya midede veya her ikisinde birden gelişen ve SMAD4 veya BMPR1A mutasyonlarının neden olduğu çok sayıda juvenil polip ile karakterize kalıtsal bir kanser sendromudur⁶¹.

2.7.3. Patogenezi

1970'lerde Kolombiya'da Correa tarafından yapılan gözlemsel çalışmalar⁶², mide mukozasında bir dizi prekanseröz lezyonun tanımlanmasına yol açmıştır⁶³. H. pylori 1983'te gastrit için bir etyolojik ajan olarak kabul edildikten sonra⁶⁴, H. Pylorinin mide mukozasını kolonizasyonu ile prekanseröz sürecin başladığı bilinmektedir. H. pylori esas

olarak mide lümeninde kalmasına rağmen, epitel ile temas, inflamatuvar hücreleri mukozaya çeken sitokinlerin ve kemokinlerin üretimindeki artışla birlikte bir inflamatuvar yanıt başlatır. İmmün yanıt, enfekte edici ajanı ortadan kaldırmada etkili değildir ve bakteri ortadan kaldırılmadıkça on yıllarca sürebilir. Kalıcı, uzun süreli inflamasyon epitel hücrelerinde hasara ve zamanla glandların kaybına neden olabilir. Bu mide glandları daha sonra intestinal metaplazi geliştirebilir. Mide mukozasında sürekli hasar devam ederse, displastik değişiklikler ve malign transformasyon gelişebilir⁶⁵. Buna dayanarak Correa 1975 yılında tanımlanan 1988 ve 1992 yılında da güncellenen Correa kaskadı olarak bilinen kronik gastrit ile başlayan bir model önermiştir⁶⁶ (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Mide adenokarsinomlarında Correa tarafından tanımlanan prekanseröz basamaklar⁶⁶.

Bu kaskadda yer alan intestinal metaplazi genel olarak maligniteye yatkınlık yaratan bir durum olarak kabul edilir, ancak inkomplet metaplazinin varlığı ve bu tipin daha yüksek bir oranı daha yüksek bir kanser riskine işaret eder⁶⁷. Metaplazi tipine ek olarak, atrofik / metaplastik değişikliklerin genişlemesi mide kanseri riskinin bir başka belirleyicisidir⁶⁸.

Kaskadda yer alan bir diğer basamak olan intraepitelyal neoplazi veya noninvaziv neoplazi olarak da adlandırılan displazi, mide adenokarsinomu için önemli bir öncü lezyon olarak ve midenin başka yerlerinde senkron adenokarsinom riskinin artmış bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Mide epitelyal displazisinin gelişmesine yönelik risk faktörleri arasında, en belirgin olarak, *H. pylori* enfeksiyonu (özellikle intestinal metaplazi / atrofi

mevcutsa) ve atrofik gastrit bulunur. Sigara içimi, düşük serum vitamin C seviyeleri, yüksek tuz tüketimi ve yetersiz beslenme de risk faktörleri olarak belirtilmiştir⁶⁹.

Makroskopik olarak, adenomlar ve flat displazi midenin herhangi bir yerinde bulunabilir. Polipoid adenomlar en sık antrumda bulunur ve büyük çoğunluğu soliterdir. Çoğu, 2,0 cm'den küçüktür ve kabaca, saplı, nodüler veya sesil bir konfigürasyona sahip olabilirler. Flat veya deprese displastik odakları endoskopi ile tespit etmek çok zor olabilir, ancak kromoendoskopide düzensiz bir görünüme sahip olabilir⁶⁹.

Displaziden karsinomaya ilerleme oranları değişkendir, ancak düşük dereceli lezyonların %20'sinden fazlası 10 ila 48 ay içinde karsinoma ilerler ve yüksek dereceli lezyonların %85'inin benzer bir süre içinde karsinoma ilerlediği bildirilmiştir. Adenomların neoplastik transformasyon riski, özellikle lezyon 2.0 cm'yi aştığında boyutla birlikte artar⁶⁹.

Tüm bunlarla birlikte mide karsinogenezisi ve karsinom progresyon sırasında çok sayıda genetik ve epigenetik değişiklikler meydana gelir. Bunlar genetik instabilite, onkogenlerde, tümör supresör genlerinde, büyüme faktörlerinde, DNA tamir mekanizmalarında, tirozin kinaz reseptörlerinde, matriks salgılayan enzimlerde, hücre siklusu düzenleyicilerinde ve adezyon moleküllerinde ortaya çıkan çeşitli hasarlanmalar ve anormalliklerdir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu, kromatin yeniden şekillenmesi önemli epigenetik değişikliklerdir.

2.7.4. Histopatolojik sınıflama:

Tarihsel olarak ileri evre mide kanserleri makroskopik Borrmann ve histopatolojik Lauren sınıflandırma sistemlerine göre gruplandırılmaktadır. Bormann sınıflaması sistemi; polipoid karsinom (tip I), mantar oluşturan karsinom (tip II), ülseratif karsinom (tip III) ve diffüz infiltratif karsinom (tip IV) olmak üzere tümörleri dört gruba ayırmaktadır⁷⁰. Tip IV karsinom, midenin çoğunu tuttuğunda linitis plastica olarak da adlandırılır. Tip II karsinom, tüm mide karsinomlarının %36'sını temsil eder ve sıklıkla antrumda ve küçük kurvaturda saptanır. Tip I ve III' karsinomun her biri tüm ileri evre mide kanserlerinin %25'ini temsil eder ve korpusta ve genellikle büyük kurvaturda daha yaygındır²⁹. Üç aşamalı Laurén sınıflandırma sistemi, çevresel faktörlerin ve epidemiyolojik etkenlerin

rolünün anlaşılmasına yardımcı olmak açısından önemlidir ve patoloğlar tarafından en sık kullanılan sistemdir⁸. Bu sınıflandırma sistemi, intestinal tip, diffüz tip ve mikst veya sınıflandırılmayan tip olarak 3 ana gruba ayrılır. Göreceli sıklıkları sırasıyla %50-67, %29-35 ve %3-21'dir⁷¹.

Mide kanserlerinde histolojik fenotipin intratümöral ve intertümöral heterojenitesi birçok farklı klasifikasyon şemasının oluşmasına neden olmuştur. Bu sınıflamalardan en yaygın kullanılanları, Japon Mide Kanseri Topluluğu (JGCA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Nakamura ve arkadaşlarının yaptığı sınıflama sistemi ve Lauren sınıflama sistemidir. Bunlar dışında Ming, Mulligan, Carneiro ve Goseki tarafından önerilen sınıflama sistemleri bulunmaktadır. Bunlar içinde klinik önemi bulunan ve prognostik olarak da kullanılabilecek sistemler Lauren ve WHO sınıflandırmalarıdır¹.

Midenin malign epitelyal tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2019 mide tümörleri sınıflamasına göre histolojik alt tipleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

WHO sınıflamasında, papiller, tübüler, “poorly” koheziv, müsinöz ve mikst tipten oluşan beş ana histolojik tip tanımlanmıştır¹;

Tübüler adenokarsinom: En yaygın görülen alt tiptir, tüm mide kanserlerinin Avrupa'da %45'ini, Japonya'da %64'ünü oluşturur. Özellikle Japonya'da yaşlı hastalarda çok daha yüksek sıklık (%72,4) bildirilmiştir. Solid yapılanma ve tübüllerin diferansiasyonuna göre üç gruba ayrılmıştır: **1) İyi diferansiye, 2) Orta diferansiye, 3) Kötü diferansiye (solid tip)**¹.

Papiller adenokarsinom: Mide kanserlerinin %2,7- 9,9'unu oluşturan, daha nadir görülen alt tiptir. Genellikle egzofitik büyüme paternine sahip ve iyi diferansiye histolojik görünümüne sahip, fibrovasküler korlarla desteklenmiş kolumnar veya küboidal hücrelerle döşeli, uzun parmaklı yapılara sahiptir¹.

Tablo 2.2. Midenin malign epitelyal tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2019 mide tümörleri sınıflamasına göre histolojik alt tipleri ¹

Adenokarsinom, NOS

- Tübüler Adenokarsinom
- Pariyetal hücreli karsinom
- Mikst Subtip İçeren Adenokarsinom
- Papiller Adenokarsinom NOS
- Mikropapiller Karsinom NOS
- Mukoepidermoid Karsinom
- Müsinöz Adenokarsinom
- Taşlı Yüzük Hücreli Adenokarsinom
- Zayıf Koheziv Karsinom
- Lenfoid Stroma İçeren Meduller Karsinom
- Hepatoid Adenokarsinom
- Paneth Hücreli Karsinom

Skumöz Hücreli Karsinom, NOS

Adenoskumöz Karsinom

Andiferansiye Karsinom, NOS

- Büyük Hücreli Karsinom, rabdoid Fenotip
- Pleomorfik Karsinom
- Sarkomatoid Karsinom
- Osteoklast Benzeri Dev Hücreli Karsinom

Gastroblastom

Nöroendokrin Tümör NOS

- Nöroendokrin Tümör Grade 1
- Nöroendokrin Tümör Grade 2
- Nöroendokrin Tümör Grade 3
- Gastrinoma NOS
- Somatostatinoma NOS
- Enterokromaffin Hücreli Karsinoid
- ECL- Hücreli karsinoid, Malign

Nöroendokrin Karsinom, NOS

- Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
- Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
- Mikst Nöroendokrin- Non- Nöroendokrin Neoplazi (MINEN)

“Poorly” koheziv karsinom, taşlı yüzük hücreli ve diğer subtipler: Mide kanserlerinin yaklaşık %20-54’ünü oluşturur. “Poorly” koheziv karsinomlar, iyi forme gland yapıları oluşturmaksızın, izole veya küçük gruplar halinde neoplastik hücrelerden oluşur. Morfolojik olarak taşlı yüzük hücre tipinde görülebilir. Diğer “poorly” koheziv karsinomlarda (“poorly” koheziv, sınıflandırılmayan), pleomorfik, bizar nükleusa sahip, belirgin eozinofilik sitoplazmalı, zayıf kohezyon gösteren histiyosit veya lenfosit benzeyen neoplastik hücreler içerir. Az sayıda taşlı yüzük hücre de içeren farklı hücre tipleri görülebilir. “Poorly” koheziv karsinomlarda, özellikle submukozayı aşan derin invazyon olduğunda belirgin desmoplazi görülebilir¹.

WHO sınıflamasında, papiller, tübüler, “poorly” koheziv, müsinöz ve mikst tipten oluşan beş ana histolojik tip tanımlanmıştır¹;

Tübüler adenokarsinom: En yaygın görülen alt tiptir, tüm mide kanserlerinin Avrupa’da %45’ini, Japonya’da %64’ünü oluşturur. Özellikle Japonya’da yaşlı hastalarda çok daha yüksek sıklık (%72,4) bildirilmiştir. Solid yapılanma ve tübüllerin diferansiasyonuna göre üç gruba ayrılmıştır: **1) İyi diferansiye, 2) Orta diferansiye, 3) Kötü diferansiye (solid tip)**¹.

Papiller adenokarsinom: Mide kanserlerinin %2,7- 9,9’unu oluşturan, daha nadir görülen alt tiptir. Genellikle egzofitik büyüme paternine sahip ve iyi diferansiye histolojik görünümüne sahip, fibrovasküler korlarla desteklenmiş kolumnar veya küboidal hücrelerle döşeli, uzun parmaklı yapılarla sahiptir¹.

“Poorly” koheziv karsinom, taşlı yüzük hücreli ve diğer subtipler: Mide kanserlerinin yaklaşık %20-54’ünü oluşturur. “Poorly” koheziv karsinomlar, iyi forme gland yapıları oluşturmaksızın, izole veya küçük gruplar halinde neoplastik hücrelerden oluşur. Morfolojik olarak taşlı yüzük hücre tipinde görülebilir. Diğer “poorly” koheziv karsinomlarda (“poorly” koheziv, sınıflandırılmayan), pleomorfik, bizar nükleusa sahip, belirgin eozinofilik sitoplazmalı, zayıf kohezyon gösteren histiyosit veya lenfosit benzeyen neoplastik hücreler içerir. Az sayıda taşlı yüzük hücre de içeren farklı hücre tipleri görülebilir. “Poorly” koheziv karsinomlarda, özellikle submukozayı aşan derin invazyon olduğunda belirgin desmoplazi görülebilir¹.

Müsinöz Adenokarsinom: Mide kanserlerinin %2,1-8,1'ini oluşturan müsinöz adenokarsinomlar, ekstraselüler müsin gölcükleri içinde yüzen malign epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Tümörün en az %50'si ekstrasellüler müsin komponentinden oluşmalıdır¹.

Mikst Adenokarsinom: Mide kanserlerinin %6-22'sini oluşturan iki veya daha fazla farklı histolojik komponent içeren tümörlerdir. Bu tümörlerde belirlenen her komponent oranı ile raporlanmalıdır. Genetik çalışmalara göre bu tümörün klonal olduğu ve fenotipik farklılıkların E-Kadherin'i (CDH1) kodlayan gende somatik mutasyon sonucu ortaya çıktığı saptanmıştır. Tek komponent içeren adenokarsinoma göre daha kötü prognoza sahip oldukları bildirilmiştir¹.

Lenfoid stroma içeren mide (adeno)karsinomu: Tüm mide karsinomlarının %1-7'sini oluşturur. Lenfoepitelyoma benzeri karsinom veya medüller karsinom olarak da isimlendirilir. Bu alt tip, intraepitelyal lenfositlerin de eşlik ettiği belirgin lenfositik infiltrasyon içeren stromada, düzensiz tabakalanmalar, trabeküller, tübüller halinde ve sinsisyal büyüme paterni gösteren neoplastik hücreler ile karakterizedir. Mikrosatellit instabil mide adenokarsinomlarının bir kısmı benzer morfolojiye sahip olmasına rağmen, genetik profillerinin farklı olduğu gösterilmiştir¹.

Hepatoid adenokarsinom ve ilişkili diğer antiteler: Hepatoid adenokarsinom, büyük, poligonal, eozinofilik sitoplazmalı, hepatosit benzeri neoplastik hücrelerden oluşur¹.

Mikropapiller adenokarsinom: Boşluklar içinde yer alan, fibrovasküler kor içermeyen, küçük gruplar halinde neoplastik hücrelerden oluşur. Bu komponent, tübüler veya papiller adenokarsinoma, tüm tümörün %10-90'ını oluşturacak şekilde eşlik edebilir¹.

Fundik gland tipi mide adenokarsinomu: Oksintik gland adenomlarından geliştiği düşünülen bu alt tip, endoskopik submukozal rezeksiyon ile tedavi edilen erken gastrik kanserlerin %1'ini oluşturur¹.

2.7.5. Moleküler sınıflama

Mide kanserlerinin çoğu adenokarsinom olmasına rağmen, hastalar arasında önemli ölçüde heterojenite bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırması ve Lauren'ın sınıflandırması dahil olmak üzere geleneksel morfoloji tabanlı sınıflandırma sistemleri, mide kanserlerinin moleküler heterojenitesi nedeniyle klinik tedaviye rehberlik etmede sınırlı bir kullanıma sahiptir. Bununla birlikte, onkogenlerin ve tümör genlerin supresör düzensizliğine yol açabilen çoklu genetik ve epigenetik değişikliklerin birikmesi, tümör oluşumunun itici gücü olarak kabul edilir⁹. Geleneksel morfoloji tabanlı sınıflandırma, mide kanserinin moleküler heterojenliğini aktaramaz ve prognozu belirlemek veya tedaviye yanıt verebilirliği tahmin etmek için klinik uygulamaya rehberlik edemez¹⁰. Bu nedenle son yıllarda, DNA dizileme, RNA dizileme, tam ekzom dizileme, kopya sayısı varyasyon analizi ve DNA metilasyon dizileri dahil olmak üzere yeni nesil dizileme (NGS) gibi moleküler yöntemler ile tümör hakkında histopatolojik özelliklerden daha detaylı bilgi verebilen moleküler alt tipler, mide kanserini sınıflandırmak için kullanılmıştır. Mide kanserleri için, intrinsik alt tipler, Lei alt tipleri, Kanser Genom Atlası (TCGA) alt tipleri, Asya Kanser Araştırma Grubu (ACRG) alt tipleri ve diğer bazı ek sınıflandırmalar dahil olmak üzere çok sayıda moleküler tiplendirme yapılmıştır.

Mide adenokarsinomunun en kapsamlı moleküler karakterizasyonu TCGA Araştırma Ağı tarafından 2014 yılında bildirilmiştir. TCGA mide kanserlerini EBV pozitif mide kanseri, mikrosatellit instabil mide kanseri, genomik stabil mide kanseri ve kromozomal instabil mide kanseri olarak dört moleküler subtiye ayırmayı önermektedir⁷².

EBV Pozitif Mide Kanseri

Mide kanserinin bu alt tipi çoğunlukla mide fundus veya korpusunda yerleşim gösterir. Zeminde intestinal metaplaziye rastlanmaz ve belirgin erkek cinsiyet prodominansı görülür. Bu alt tip, yüksek EBV yükü, aşırı DNA hipermetilasyonu, fosfatidilinozitol 3-kinazda (PIK3CA) tekrarlayan mutasyonlar, AT bakımından zengin etkileşimli alan içeren protein 1A (ARID1A) ve B hücreli lenfoma 6 corepressor (BCOR) mutasyonları, programlanmış ölüm ligand-1/2 (PD-L1/2) aşırı ekspresyonu, Janus ile ilişkili kinaz 2'nin (JAK2) ve Erb-B2 reseptör tirozin kinaz 2 (ERBB2) amplifikasyonu ile karakterizedir. Bu sınıflandırma, fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) inhibitörleri, JAK2

inhibitörleri ve immün kontrol noktası antagonistlerinin potansiyel terapötik rolü olabileceğini düşündürmektedir⁷².

Mikrosatellit İnstabil (MSI) Mide Kanseri

Bu alt tip, kadın hastalarda biraz daha yüksek prevalans ile ve daha ileri yaşta teşhis edilmiştir. Bu alt tip çoğunlukla, DNA yanlış eşleşme onarım geni MLH1'in transkripsiyonel susturulmasına yol açabilen ve mikrosatellit instabilitesi olarak bilinen bir genomik kararsızlık biçimine yol açan promotor metilasyonundan kaynaklanmaktadır⁷³. Bu alt tip hedeflenebilir onkogenik sinyal proteinlerini kodlayan genlerin mutasyonları dahil olmak üzere artmış mutasyon oranları gösterdi. PIK3CA, epitel büyüme faktörü reseptörü (EGFR), ERBB2 ve ERBB3'te mutasyon mevcuttur. DNA'nın tekrarlayan yollarındaki sık çerçeve kayması mutasyonları, anahtar tümör baskılayıcılarının inaktive edici mutasyonlarına veya onkogenlerde sık yanlış anlam aktive eden mutasyonlara neden olur⁷⁴. MSI mide kanseri ayrıca yüksek oranda PD-L1 ekspresyonu gösterir.

MSI mide kanserleri daha çok antrumda görülür. *Helicobacter pylori* (HP) enfeksiyonu ve ayrıca intestinal metaplazi ile ilişkilidirler. Hem EBV hem de MSI alt tiplerinde, tümöre eşlik eden yoğun reaktif lenfoid infiltrasyon vardır. EBV-pozitif tip bazen lenfoepitelyoma benzeri karsinom (LELC) fenotipini gösterir. Her iki moleküler alt tipin de CpG ada metilatör fenotipini (CIMP) sergilediği gösterilmiştir^{75,76}. Ayrıca, her iki moleküler alt tip daha yaygın olarak Lauren'a göre intestinal histoloji ile ilişkilidir.

Genomik Stabil (GS) Mide Kanseri

Bu alt tip, düşük somatik kopya sayısı aberasyonlu tümörler ile işaretlenmiş ve daha genç hastalarda daha sık görülmüştür. GS mide tümörleri, E-kaderin (CDH1), Ras homolog aile üyesi A (RHOA) 'nın tekrarlayan mutasyonları gibi hücre adezyonu ve anjiyogenez ilişkili yollardaki moleküllerin yüksek ekspresyonunu gösterir. CDH1 mutasyonları, Hereditör Diffüz Mide Kanseri sendromunun temelini oluşturur. RHOA mutasyonları veya CLDN18-ARHGAP yeniden düzenlemeleri, invazivliği artırabilir ve hücreler arası kohezyonu bozabilir ve bu da bu alt tipin %73'ünde bulunan Lauren'a göre diffüz histolojik tipi açıklar⁷².

Kromozomal instabil (CIN) Mide Kanseri

Kromozomal instabil mide kanserleri gastroözofageal bileşke / kardiya (%65) daha sık görülür ve Lauren'a göre intestinal tip morfoloji sergilerler. Bu alt tip reseptör tirozin kinazlar-Ras (RTK / RAS) yolağının belirgin anöploidi ve fokal aktivasyonunu göstermektedir. Ayrıca ERBB2, KRAS / NRAS, EGFR, ERBB3, FGFR2 ve MET amplifikasyonunu, TP53 mutasyonlarının yüksek frekansını, siklin E1, D1 (CCNE1, CCND1) ve hücre bölünmesi protein kinaz 6 (CDK6) gibi hücre döngüsü aracılarını kodlayan genlerin amplifikasyonunu da göstermektedir. Bu bulgular, terapötik hedefler olabileceğinden klinik olarak önemlidir⁷².

TCGA grubu, mide kanserinin moleküler olarak farklı dört alt tipini tanımlayabilse de, yaptıkları kohort çalışmada sağkalım açısından anlamlı bir fark gözlememiştir. Daha sonra, retrospektif çalışmalar, CIN alt tipine sahip hastaların adjuvan kemoterapi ile en büyük sağkalım yararına sahip olduğunu, buna karşılık GS alt tipi hastaların adjuvan kemoterapi ile ilişkili en az faydaya sahip olduğunu göstermiştir⁷⁷.

Rutin patolojide, MSH2, MSH6, MLH1, PMS2, p53 ve E-Kadherin immünohistokimyasal ile EBER insitu hibridizasyon çalışmaları, mide kanserlerini TCGA önerilerine göre subtiplere ayırmak için kullanılabilir¹.

2.7.6. Histolojik derece

Mide adenokarsinomları için, Amerikan Patoloji Derneği (CAP) tarafından glandüler diferansiasyonun derecelendirilmesine dayanan histolojik bir sınıflama sistemi önerilmektedir⁷⁸;

Grade X: Değerlendirilemez

Grade 1: İyi diferansiye, gland yapıları tümörün %95'den fazlasını oluşturur.

Grade 2: Orta derecede diferansiye, gland yapıları tümörün %50-95'ini oluşturur.

Grade 3: Az diferansiye, gland yapıları tümörün %50'den azını oluşturur.

Taşlı yüzük hücreli karsinomlar yüksek derecelidir ve Grade 3 olarak sınıflandırılır. AJCC 8. edisyonda, andiferansiye karsinom, “poorly” koheziv karsinom ile birlikte Grade 3 olarak gruplandırılmıştır⁷⁹.

2.7.7. Evreleme

Tümör invazyonunun derinliği, rezeksiyon sonrası cerrahi örneğin incelenmesine dayanmalıdır. Histolojik sınıflandırmanın yanı sıra lenfovasküler veya perinöral invazyonun derecesi ve varlığı CAP kılavuzlarına göre belirtilmelidir⁷⁹.

Tablo 2.3. AJCC 8. Edisyona göre mide kanserlerinde TNM sınıflama⁷⁹

T Kategori	T Kriteri
pTX	Primer tümör değerlendirilemiyor
pT0	Primer tümör izlenmedi
pTis	Karsinoma in situ, lamina propria invazyonu olmayan intraepitelyal karsinom, yüksek dereceli displazi
pT1 pT1a pT1b	Tümör lamina propria, muskularis mukoza veya submukozaya invaze Tümör lamina propria ya da muskularis mukoza ya invaze Tümör submukozaya invaze
pT2	Tümör muskularis propriaya invaze
pT3	Tümör çevre organ ya da visseral periton tutulumu olmaksızın subserozal yağ dokuya invaze
pT4 pT4a pT4b	Tümör seroza (viseral periton) veya komşu yapılara invaze Tümör serozaya (viseral periton) invaze Tümör komşu yapı veya organlara invaze
N Kategori	N Kriteri
pNX	Lenf nodu değerlendirmesi yapılmadı
pN0	Lenf nodu metastazı saptanmadı
pN1	1-2 adet bölgesel lenf nodu metastazı
pN2	3-6 adet bölgesel lenf nodu metastazı
pN3 pN3a pN3b	3-6 adet bölgesel lenf nodu metastazı 7-15 adet bölgesel lenf nodu metastazı 16 ve daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı
M Kategori	M Kriteri
pM0	Uzak metastaz yok
pM1	Uzak metastaz var

Bölgesel lenf nodlarının patolojik değerlendirmesi için çıkarılan lenf nodu sayısı ve metastatik lenf nodu sayısı belirtilmelidir. Rezidü lenf nodu dokusu kanıtı olmaksızın, mide kanserine bitişik subserozal yağ dokudaki metastatik tümör depozitleri, mide kanseri evrelemesi amacıyla bölgesel lenf nodu metastazı olarak kabul edilir. Tümör depozitleri, tanımlanabilir lenf nodu dokusu veya tanımlanabilir vasküler veya nöral yapı olmaksızın primer karsinomun lenf drenaj alanı içinde ayrı tümör nodülleri olarak tanımlanır⁷⁹.

Mide kanseri için lokal veya bölgesel olarak kabul edilenin dışındaki bir bölgeden elde edilen patolojik olarak doğrulanmış metastatik doku, pM1 olarak kabul edilir. Bu tanımlama, cerrahi rezeksiyon örneğinde uzak nodal istasyonlarda tanımlanan tümörü ve diğer organlardan (periton dahil) elde edilen ve periton yıkamalarında veya implantlarda malign hücreleri gösteren doku örneklerini içerir⁷⁹.

2.7.8. Tedavi

Erken mide kanserleri hariç mide kanserleri için standart tedavi gastrektomidir, cerrahinin kapsamı ise büyük ölçüde tümörün boyutuna ve mukozanın geri kalanının durumuna bağlıdır⁸⁰. Amerika’da en sık gerçekleştirilen operasyonlar subtotal gastrektomi, radikal subtotal gastrektomi ve total gastrektomidir. Bunlara bazen splenektomi eşlik eder, ancak bunun sağkalımı artırdığına dair hiçbir kanıt yoktur⁸¹. Total gastrektomiye takiben postoperatif mortalite düşüktür ancak morbidite yüksek kalır. Bu operasyon çoğunlukla kardiyada bulunan veya küçük kurvaturun yukarısında bulunan karsinomlar için yapılır. Bunlar dışında kalan çoğu tümör için, gastrik stump alanında tümör nüksü nadir de olsa görülmesine rağmen, genellikle daha düşük morbidite nedeniyle subtotal rezeksiyonlar yapılır⁸². Kemoradyoterapinin nispeten az yararı var gibi görünmektedir⁸³, ancak tümörde HER2 amplifikasyonu saptanması durumunda hedefe yönelik antikorlardan transtuzumab bu tümörler için kullanılabilir⁸⁴.

2.7.9. Prognostik ve prediktif faktörler

2.7.9.1. Evre

Mide adenokarsinomlarında patolojik evreleme (pTNM) sistemi, rezeksiyon sonrası mikroskopik incelemede tümörün mide duvarındaki invazyon seviyesine (T), metastatik

lenf nodu sayısına (N) ve uzak organ metastaz durumuna (M) dayanır. pTNM evreleme sistemi mide kanserlerinde prognoz tahmininde en önemli faktördür. pT1 ve pN0 olan mide kanserli hastaların 5 yıllık sağ kalım oranı %90'ın üzerindedir. pT4b olgularda 5 yıllık sağkalım %30, pN3b olgularda %20'dir. Sağ kalım oranı, pT ve pN kategorisi arttıkça, aşamalı olarak azalma gösterir¹.

2.7.9.2. Histoloji

Histolojik fenotipin prognozu etkileyebileceği düşünülmektedir. Mide kanserlerinin endoskopik mukozal rezeksiyonu için kriterler, lezyonun büyüklüğüne ve histopatolojik özelliklerine dayanmaktadır. Bol fibröz stroma içeren “poorly” koheziv karsinomlu (linitis plastika veya skiröz karsinom) hastalarda 5 yıllık sağkalım %15'in altındadır¹.

2.7.9.3. Tümör yerleşimi

Distal adenokarsinomların proksimal adenokarsinoma kıyasla daha iyi prognoza sahip olup olmadığı tartışmalı bir konudur⁸⁵⁻⁸⁷. Saito ve meslektaşları, 5 yıllık sağ kalımı, mide distal 1/3'ünde lokalize tümörler için %82,6, kardiyada lokalize tümörler için %61,6 olarak bildirmiştir⁸⁸. Bununla birlikte, başka bir çalışmada 5 yıllık sağ kalım proksimalde lokalize tümörler için %28 ve distalde yerleşimli tümörler için %29 olarak benzer bulunmuştur⁸⁶.

2.7.9.4. Lenf nodu tutulumu

Lenf nodu tutulumu, prognozun en iyi göstergelerinden biridir (Odze) bu nedenle, ideal olarak en az 15 lenf nodu diseke edilecek şekilde gastrektomi materyalinin dikkatli bir şekilde incelenmesi gereklidir⁸⁹. pN1 tümörler için, 5 yıllık sağkalım oranı %40 iken, pN2 tümörler için % 31'e ve pN3 tümörler için % 11'e düşmektedir⁹⁰.

2.7.9.5. Moleküler profil

Yakın zamanda tanımlanan moleküler profiller, yalnızca karsinogenezi aydınlatmakla kalmayıp, aynı zamanda gelecekte klinik olarak ilgili biyobelirteçleri ve yeni potansiyel terapötik hedefleri belirlemeye yardımcı olabilir¹.

MSİ ve EBV: EBV pozitifliği veya mikrosatellit instabilitesi olan mide kansinonlarının prognozu, EBV negatif veya mikrosatellit stabil olan vakalardan daha iyidir. Bu nedenle histolojik olarak lenfoid stroma içeren gastrik kansinonun tanınması, EBER testi ile EBV'nin tespiti ve MSİ tümörlerde MLH-1 hipermetilasyonunun tespiti iyi prognostik parametrelerdir¹.

2.8. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Markerlar ve Mekanizmaları

2.8.1. PD-L1

Onkolojide kişiselleştirilmiş tedavinin ön plana çıktığı günümüzde, çoğu kanserde bulunan somatik mutasyonel çeşitlilik, bireysel mutasyonları hedefleyen tedaviler için zorluklar yaratsa da potansiyel immün tanıma için bir dizi yeni antijen ortaya çıkarır. Bununla birlikte, kanseri tanıyan ve saldırmaya hazır olan kazanılmış ve doğuştan gelen bağışıklık sistemlerinin hücreleri, aktivasyonlarını ve efektör işlevlerini baskılayan moleküler yollarla kontrol altında tutulur. Programlanmış ölüm reseptörü-1 / programlanmış ölüm ligand-1 (PD-1 / PD-L1) sinyal yolu dahil olmak üzere bağışıklık kontrol noktası yolları, self toleransa aracılık etmede ve kendi kendine hasarı kontrol etmede önemli rol oynamaktadır. Bu mekanizma, bazen kanser hücreleri tarafından, immün sistemden kaçınmak için manipüle edilebilir⁹¹. PD-1'in, tümörü infiltre eden lenfositlerde up-regüle edilmesi ve birçok solid kanser türünde hastaların klinik sonuçları üzerinde etkili olması bu alana ilgiyi arttırmıştır⁹². PD-1 ve ana ligand PD-L1'in farklı kontrol noktalarını bloke eden ilaçlar, potansiyel terapötik hedefler olarak birçok farklı kanser türünün tedavisinde büyük umut vaat ederek yeni tedavi seçeneklerini ortaya çıkarmış ve kanser tedavisine yaklaşımımızda devrim yaratmıştır⁹³.

PD-L1 Mekanizma

CD28 ailesine ait bir hücre yüzey proteini olan PD-1, kromozom 2q37'de bulunan PDCD1 geni tarafından kodlanır. PD-1, aktive T hücrelerinde eksprese edilir ve özellikle tümörü infiltre eden T lenfositler tarafından yüksek ekspresyona sahiptir⁹⁴. PD-1 B lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NK) ve monositler dahil olmak üzere diğer aktive hücrelerde de eksprese edilir, bu da PD-1'in bağışıklığı T hücresinden bağımsız bir şekilde modüle edebileceğini gösterir. PD-1'in 2 ana ligandı vardır: PD- L1 / CD274, kromozom

9'da PDCD1LG1 tarafından kodlanır ve PD-L2 / CD273, kromozom 9'da PDCD1LG2 tarafından kodlanır⁹⁵.

PD-1'in PD-L1 veya PD-L2'ye bağlanması, fosfataz SHP2.2 PD-1-PD-L etkileşimi yoluyla T-hücre proliferasyonu, adhezyonu ve sitokin üretimi ve salgılanmasında rol oynayan inhibitör kinazların aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu mekanizmanın antijen maruziyeti üzerine T hücrelerinin ilk tepkisinin sınırlandırılmasında ve T hücre toleransının indüklenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. PD-L1, T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, düzenleyici T (Treg) hücreleri ve dendritik hücreler gibi birçok immün hücre tipinde ve vasküler endotel hücreleri ve pankreas hücreleri gibi bazı immün olmayan hücre türlerinde geniş bir şekilde ifade edilir⁹⁶. Murin tümör modellerinde PD-L1'in aşırı ekspresyonu, PD-L1 / PD-1 eksenini aracılığıyla T hücresi aracılı immün yanıtın inhibisyonuna neden olur, bu da bu eksenini bloke etmenin kansere karşı immünoterapide önemli bir role sahip olduğunu gösterir⁹⁷.

Tümör mikroçevresinde, PD-1 ve ligandı PD-L1, tümör nötralize edici immün denetiminden kaçarak tümörün ilerlemesinde ve hayatta kalmasında hayati bir rol oynar. PD-1'in, monositler, T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve tümörü infiltre eden lenfositler (TIL'ler) gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinde ifade edildiği bulunmuştur. Bununla birlikte, PD-L1, tümör hücrelerinde ve antijen sunan hücrelerde (APC'ler) ifade edilir ve PD-L1'in T hücresinin PD-1'i ile bağlanması, tümör kitlesinde T hücresi disfonksiyonu, tükenme, nötralizasyon ve interlökin-10 üretimine (IL-10) neden olur⁹⁸. Bu nedenle, PD-L1'i aşırı eksprese eden bir tümörün işlevi, kendisini sitotoksik T hücresi (CD8 +) aracılı hücre ölümünden korumaktır¹⁸. Aktive edilmiş T hücreleri ve APC'ler üzerinde eksprese edilen bir protein olan B7-1 (CD80) gibi başka bir etkileşen molekül, efektör T hücresi aktivasyonunun negatif düzenlenmesine neden olan tümör hücrelerinin PD-L1'i ile etkileşime girer⁹⁹. CD8 + T hücrelerinin tükenmesi nedeniyle, tümör hücreleri çok agresif hale gelir ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-2 (IL-2) ve interferon gama (IFN- γ) gibi birkaç proinflamatuvar sitokin salgılar. Düzenleyici T hücreleri (Treg, CD4 + Foxp3 +) gibi başka bir T hücresi alt tipi, yüzeyinde PD-1 ekspresyonunu muhafaza ederek oldukça immünosupresif bir tümör mikroçevresi yaratır¹⁰⁰. CD3 ve TGF- γ varlığında, Treg hücrelerinin PD-1 reseptörünün, naif CD4 + T hücrelerinin Treg hücrelerine de novo dönüşümünü arttırdığı, böylece bağışıklık tepkilerini zayıflatığı bulunmuştur. Bu dönüşüm, rapamisin (mTOR) -Akt sinyal kaskadının memeli hedefinin inhibisyonu yoluyla

CD4 + T hücrelerinin Treg ekspresyonunu ve immün baskılayıcı işlevini artırır¹⁰¹. Bu nedenle PD-1 ekspresyonunun varlığı, yalnızca efektör T hücre fonksiyonunu bastırmakla kalmaz, aynı zamanda immünosupresif Treg hücre popülasyonunun dönüşümünü de artırır. PD-1, T hücrelerinde geniş çapta çalışılmış olsa da B hücrelerindeki işlevleri de tümör immünosupresyonu için belirgin hale gelmiştir. PD-1 ekspresyonunun, B hücre farklılaşması sırasında oldukça düzenlendiği, ancak PD-1 seviyelerinin pro-B hücrelerinde önemsiz olduğu ve B hücre farklılaşması ile arttığı gösterilmiştir¹⁰². Ek olarak, B hücrelerinin olgunlaşması, PD-1 ile aktive edilmiş toll benzeri reseptör 9 (TLR9) agonistleri tarafından önemli ölçüde artırılabilir. Bu nedenle, B hücreleri üzerindeki PD-1 işlevinin inhibisyonunun, antijene özgü antikor yanıtlarını artırdığı gösterilmiştir, bu da PD-1'in B hücresi aracılı T hücresi aktivasyonunu baskılamada rol oynadığını gösterir¹⁰¹.

PD-1, PD-L1 (B7-H1) ve PD-L2 (B7-DC) olmak üzere iki reseptöre sahiptir ve bunların arasında, PD-L1 tümör immün modülasyonundan sorumludur. PD-1'in PD-L1 ile bağlanma afinitesi, PD-L2 için PD-1 arasındaki afiniteden üç kat daha fazladır. Tümör hücrelerindeki ve hematopoietik hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonları, IFN- γ ve TNF- α gibi pro-enflamatuar sitokinlerin uyarılmasıyla belirlenir. Bir başka önemli kontrol noktası molekülü olan CTLA4, CD4 + T efektör (Teff) hücrelerinin down-regülasyonu ve Treg hücre aktivitesinin artırılması yoluyla tümör immün kaçışında geniş çapta yer alır¹⁰³. CD28'in bir homologu (T hücresi reseptörünün bir kostimülatör faktörü) olan CTLA-4, APC'lerin B7-1 / 2 proteinine bağlanır ve T hücrelerinin aktivasyona mı yoksa supresyona mı gireceğini belirler. CTLA-4'ün B7'ye bağlanmasının, T hücresi reseptörlerinin (TCR) ve MHC-Ag bağlanmasının T hücresi inhibe edici sinyaller verdiğine inanılmaktadır. Bu nedenle, PD-1 / PD-L1 ve CTLA-4 / B7 ekseninin kombine inhibisyonunun, çeşitli maligniteleri olan hastalar için etkili bir anti-tümör tedavi stratejisi olduğu tespit edilmiştir⁹⁵. Fibroblast, hücre dışı matris (ECM), tümörle ilişkili makrofajlar (TAM) ve miyeloid türevi baskılayıcı hücreler (MDSC) gibi tümör stromal bileşenlerinin PD-L1'i, T-hücresi (CD8 +) aracılı kanser hücrelerini PD-1 ile etkileşim yoluyla öldürür¹⁰⁴. Benzer şekilde, MDSC'nin TAM'a olgunlaşması ve TAM'tan proinflamatuar sitokinlerin (IFN- γ) salgılanması, T hücre fonksiyonlarını baskılayarak PD-1 ve PD-L1 etkileşiminin pozitif modülasyonunu sağlar¹⁰⁵.

PD-1 ile ilişkili bağışıklık direnci, tümördeki PD-L1 ligandının erişilebilirliğine bağlıdır. PD-L1 ekspresyonu, PI3K-Akt kinazların up-regülasyonu veya IFN- γ sekresyonu

ile izlenir ve PD-L1 ekspresyonu nedeniyle, iki genel immün direnç tipinde değişkenlik gözlemlenir, doğal immün direnç ve adaptif immün direnç. Doğuştan gelen bağışıklık direnci ile, glioblastomlarda PD-L1 ekspresyonu, PI3K-Akt tümörjenik sinyalleme aktivasyonu ile bağlantılı olan PTEN'in down-regülasyonu tarafından yönlendirilir⁹⁴. Benzer şekilde, prostat kanserlerinde PD-1 blokaj tedavisinin yanıtsızlığı, PD-L1 aracılı doğal bağışıklık direncine bağlanmıştır¹⁰⁶. Bazı lenfomalar ve akciğer kanserlerinin, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 3 aktivatörünün (STAT3) ve lenfoma kinaz (ALK) sinyal direncinin up-regülasyonu yoluyla PD-L1 ekspresyonunu tetiklediği bildirilmiştir⁹⁴. STAT3 aktivasyonu, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla modüle edilir ve IL-6-STAT3 eksen, tümörojenik makrofaj polarizasyonunda ve immün baskılamada önemli yollardan biri olarak kabul edilir¹⁰⁷. Adaptif immün dirençte, bazı tümörlerde, PD-L1 ekspresyonu, tümörden ve CD8 + sitotoksik T hücresinin neden olduğu anti-tümör immün yanıtlarını nötralize eden tümör-stromal hücrelerden pro-inflamatuvar IFN- γ salgılanması nedeniyle indüklenir. Çeşitli klinik öncesi ve klinik çalışmalarda adaptif immün direnç tepkisi, ilaç hedeflerinin mutasyonunu içeren alternatif bir geleneksel ilaç direnci mekanizmasını temsil eder¹⁰⁸.

PD-1 ve PD-L1'in varlığı, efektör T hücre fonksiyonunun inhibisyonunda önemli bir role sahiptir⁹⁴. Klinik çalışmalar, PD-1 ve PD-L1'i bloke eden antikörlerin birçok ileri malignite üzerinde güvenilir bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir¹⁰⁹. PD-1 ve PD-L1 hedeflemesi, efektör T hücrelerinin işlevini sürdürmenin etkili bir yoldur. Monoklonal antikörler (mAb'ler), PD-1 ve PD-L1'in etkileşimini inhibe eden ve geleneksel antikanser tedavisinin dezavantajlarının üstesinden gelen, kontrol noktası inhibitörleri olarak adlandırılan bir ilaç sınıfıdır. Lussier tarafından yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, bir antikör kullanılarak PD-1'in bloke edilmesinin T hücre fonksiyonunu kısmen artırabileceğini göstermiştir¹¹⁰. MAb'ler, solid tümörleri küçültebilir, gelişmiş tümörleri ve metastazı bastırabilir ve genel olarak hasta sağkalımını iyileştirirken tolere edilebilir sınırlar dahilinde toksisiteyi önemli ölçüde azaltabilir¹¹¹. Anti-PD-1 ve PD-L1 mAb'ler üzerinde yüzlerce aktif klinik geliştirme çalışması mevcuttur. FDA, yakın zamanda bir dizi maligniteyi hedef alan bazı anti-PD-1 ve PD-L1 mAb'lere onay vermiştir. Anti-PD-1 ve PD-L1 mAb'lerin klinik aktivitesi, PD-1 ve PD-L1 bağışıklık kontrol noktalarının hedeflenmesinde ümit vaat etmektedir¹¹².

PD-1 ve PD-L1 inhibitörlerinin etkinliği, cinsiyet, tümör tipleri, mutasyon, genlerin translokasyonu (EGFR, Kras, ALK) ve tümör metastazları gibi hastaların özelliklerine bağlıdır¹¹³. Tümör doğası gereği heterojen olduğundan, PD-L1 ifadesi tek tip değildir, bu nedenle PD-L1 immünohistokimya boyaması tümör lokasyonlarına göre değişir. Bu nedenle, PD-L1 ekspresyonunun göstergesi ve PD-L1 inhibitörlerinin tepkisi tartışmalıdır ve derinlemesine anlaşılması gerekir¹¹⁴. Atezolizumab FDA onaylı ilk PD-L1 blokeridir ve sisplatine dirençli metastatik ürotelyal karsinom, metastatik küçük hücreli dışı akciğer karsinomu için ilk basamak tedavi olarak kullanılmıştır. Kolorektal kanser, mesane kanseri, renal hücreli karsinom, baş ve boyun kanseri ve GI maligniteleri için çeşitli klinik deneyler devam etmektedir¹¹⁵.

2.8.2. PD-L2

B7-CD28 ailesinin molekülleri, T hücre aktivasyonu ve toleransında önemli bir rol oynar. Bu yollar sadece T hücre aktivasyonunu sürdürmek için pozitif ko-stimülatör sinyaller sağlamaktan sorumlu değildir, aynı zamanda T hücre yanıtlarını modüle eden inhibitör sinyallere de katkıda bulunur¹¹⁶. Bu negatif geribildirim fizyolojik homeostaz sırasında faydalı olmakla birlikte tümör hücrelerinde sorun olabilir. PD-L1 ve PD-L2'nin PD-1 reseptörü ile etkileşiminin, T hücresi antitümör etkilerinin güçlü inhibisyonuna katkıda bulunduğu ve bu da immün kaçışla sonuçlandığı bilinmektedir¹¹⁷. Bu nedenle, bu inhibitör moleküllerin seçici blokajı, kanser immünoterapisinde oldukça ilgi çekicidir.

Programlanmış ölüm-1 reseptörü (PD-1, CD279), ligandları PD-L1 (CD274, B7-H1) ve PD-L2 (CD273, B7-DC) ile böyle bir inhibitör yolu oluşturur. PD-1 ve PD-L1'i bloke etmek için terapötik antikolar geliştirilmiştir¹¹⁸. PD-L1 birçok kanser tarafından up-regüle edildiğinden, PD-1 / PD-L1 etkileşiminin inhibisyonu özellikle ilgi çekicidir. Öte yandan, PD-L2'nin immün tepkileri modüle etmekteki rolü daha az açıktır ve ekspresyonu, PD-L1'e kıyasla daha kısıtlıdır, bu nedenle onu kanser immünoterapisinde daha az belirgin bir hedef haline getirir¹¹⁹.

PD-L1 ve PD-L2'nin ifade kalıpları oldukça farklıdır. PD-L1, çok çeşitli immün hücreler ve çok çeşitli hematopoietik ve hematopoietik olmayan hücrelerde eksprese edilse de, PD-L2, IL-4 ve IFN – γ sekresyonunda makrofajlar, dendritik hücreler (DC'ler) ve mast hücreleri üzerinde kısıtlı ekspresyona sahiptir. PD-L1 ile karşılaştırıldığında, PD-L2'nin

konstitütif bazal ekspresyonu düşüktür¹²⁰. Bununla birlikte, son yıllarda, çeşitli araştırmacılar, PD-L2 ekspresyonunun, mikroçevresel stimülasyonlara bağlı olarak çok çeşitli diğer immün hücrelerde ve immün olmayan hücrelerde indüklenebileceğini göstermiştir¹²¹.

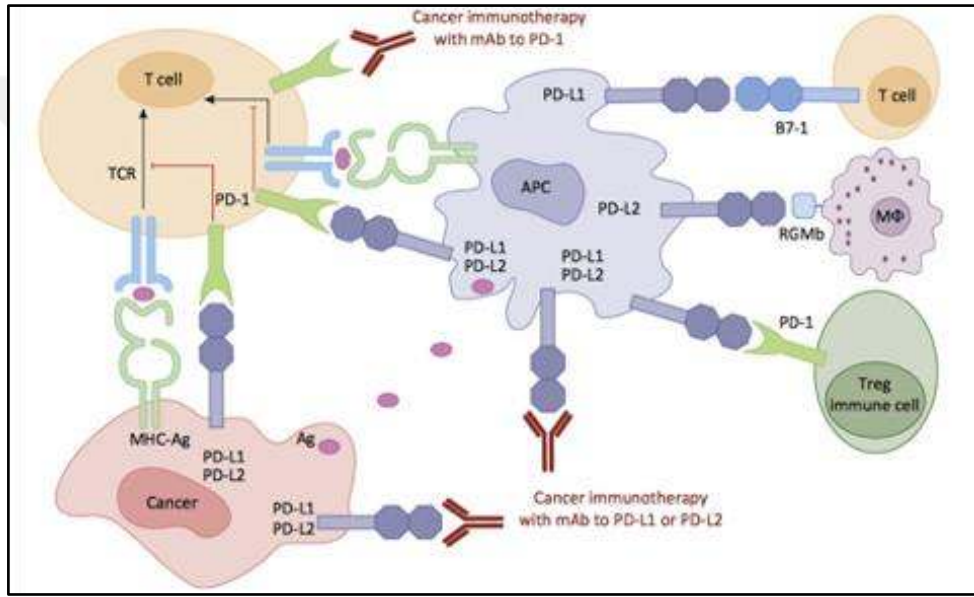
Dendritik hücrelerin ve makrofajların Th2 (IL-4) sitokinlerine maruz kalması, IFN γ ve TLR ligandlarının yaptığı gibi PD-L2 ekspresyonunu arttırmaktadır¹²². Ek olarak, IL-2, IL-7, IL-15 ve IL-21 gibi ortak γ zincirini kullanan reseptörlere bağlanan sitokinler, bu hücrelerde PD-L2 up regulasyonuna neden olur¹²³. Alveolar epitel hücrelerinin, respiratuvar sinsityal virüs ile enfekte olduklarında IL-4 varlığında yüksek seviyelerde PD-L2 eksprese ettikleri gösterilmiştir¹²⁴. PD-L2'nin umbilikal ven endotel hücrelerinde yapısal ekspresyonu gözlenmiş ve in vitro olarak IFN γ ve TNF α tarafından stimülasyon ile ekspresyonun daha da arttığı kaydedilmiştir¹²⁵. Ayrıca kolonik fibroblastların PD-L2 eksprese ettiği ve bağırsak mukoza epitelinde T hücre süpresyonuna neden olduğu gösterilmiştir¹²⁶. Tümör immünolojisi alanında özellikle önemli olan, sadece normal fibroblastların değil, aynı zamanda kanserle ilişkili fibroblastların da PD-L2'yi yapısal olarak eksprese edebildiği bulgusudur¹²⁷. Bu verilerden, PD-L2 ekspresyonunun daha önce düşünülenenden çok daha yaygın olduğu ve Th2 sitokinleri için spesifik bir role sahip olduğu sonucu çıkmaktadır.

PD-L2 ekspresyonunu düzenlediği bildirilen iki ana yol, NF- κ B-yolu ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon (STAT) 6 yolunun aktivasyonudur. STAT6, Th2 immün yanıtlarının düzenlenmesinde özellikle önemli olan bir sinyal molekülü ve transkripsiyon faktörüdür, IL-4 ve IL-13 reseptörleri ve ligandları ile aktive edilir¹²⁸. Son zamanlarda, TSLP ve IL-27 sitokinlerinin de STAT6'yı aktive ettiği ve bunun yanı sıra JAK'tan bağımsız bir şekilde bu uyarıların PD-L2 ekspresyonunu da indüklemeye olasılığını sağladıkları gösterilmiştir¹²⁸.

Liang tarafından NF- κ B'nin PD-L2 ifadesinin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. NF- κ B'nin farmakolojik bloke edilmesinin STAT6 DNA bağlanmasına müdahale ettiğini ancak fosforilasyon veya nükleer translokasyona müdahale etmediğini gösterdiğinden, NF- κ B'nin STAT6 DNA bağlanma aktivitesinin düzenlenmesinde bir rolü olabileceğini ve dolayısıyla dolaylı olarak PD-L2 ekspresyonunu kontrol edebileceği bildirilmiştir¹²⁹. Tüm bu bulgular, PD-L2'nin Th2 tipi bağışıklık tepkilerinin

düzenlenmesinde önemli rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca son zamanlarda PD-L2'nin makrofaj (MΦ) proteinlerinin itici kılavuz molekülü B (RGMB) ile etkileşime girdiği de bildirilmiştir¹³⁰.

PD-L2, Th2 yanıtlarının modülasyonunda önemli bir rol oynar. Fakat anti-tümör bağışıklığında Th1 yanıtlarının daha güçlü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda, tümör mikroçevresinin genellikle etkisiz bir Th2 tipi bağışıklık ortamına saptığını ve bunun da kanser hücrelerinin bağışıklık denetiminden kaçmasıyla sonuçlandığını gösteren kanıtlar birikmiştir²⁰.



Şekil 2.2. PD-1 reseptörü ve PD-L1 / PD-L2 antikorları ile kanser immünoterapisi¹⁰¹

Antijen sunan hücreler (APC'ler) kanser hücrelerinden salınan antijeni (Ag) alır ve T hücrelerine sunar. Kanser hücreleri ayrıca MHC bağlamında aktive edilmiş T hücrelerine Ag sunabilir. T hücresi aktivasyonunda, PD-1 reseptörleri T hücrelerinde ifade edilir ve PD-L1 ve PD-L2'nin APC'lere ve PD-L1'in kanser hücrelerine bağlanmasıyla bağışıklık tepkilerini inhibe eder. Bu nedenle, PD-1 / PD-L1 / PD-L2 yolağının monoklonal antikor (mAb) aracılı spesifik blokajı, antitümör bağışıklığını artırabilir. PD-1'e bağlanmaya ek olarak, PD-L1 ve PD-L2 ayrıca sırasıyla B7-1 ve itici kılavuz molekülü B'yi bağlar. T hücrelerine ve APC'lere ek olarak, diğer bağışıklık hücrelerinde PD-1 ve PD-L1 indüklenebilir¹⁰¹.

2.8.3. Mikrosatellit instabilite-MMR

DNA hasarı, eksojen kimyasallara ve fiziksel ajanlara ve endojen reaktif metabolitlere maruz kalmanın bir sonucu olarak hücrelerde zamanla artar. Başka bir DNA hasarı kaynağı, normal DNA metabolizması veya DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımı dahil olmak üzere anormal DNA işleme reaksiyonları sırasında meydana gelen hatalardır. Nükleotid yanlış birleşmesi, spesifik DNA polimerazlar da dahil olmak üzere birçok faktöre bağlı olarak, DNA sentezi sırasında değişken oranlarda DNA baz-baz uyumsuzlukları oluşturur. Genel olarak, replikatif DNA polimerazlar nispeten yüksek replikasyon doğruluğuna sahipken, spesifik olarak DNA hasarı alanlarını bypass eden translyon DNA polimerazları daha düşük replikasyon doğruluğuna sahiptir. DNA hasarı, onarılmazsa, somatik veya germ hattı hücrelerinde hücresel fenotipi değiştirebilen ve işlev bozukluğuna ve hastalığa neden olabilecek mutasyonlar oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu tür zararlı etkileri önlemek ve genomun bütünlüğünü korumak için hücreler, DNA hasarını onarmak ve dolayısıyla mutasyonları önlemek için birden fazla mekanizmaya sahiptir. Böyle bir sistem, DNA uyuşmazlığı onarımı (MMR) olarak bilinen kritik yoldur. MMR, bakteriden insana neredeyse tüm organizmalarda genomun bütünlüğünün korunmasında kritik bir rol oynar¹³¹.

MMR, DNA replikasyonu sırasında oluşan DNA uyumsuzluklarını düzeltir ve böylelikle bölünen hücrelerde mutasyonların kalıcı hale gelmesini önler¹³². MMR, replikasyonla ilişkili hataların sayısını azalttığı için, MMR'deki kusurlar spontan mutasyon oranını artırır¹³³. İnsanlarda MMR'nin inaktivasyonu hücreler kalıtsal ve sporadik kanserler ile ilişkilidir¹³⁴ ve MMR sistemi, belirli DNA hasarı türlerine yanıt olarak hücre siklusu durması ve / veya programlanmış hücre ölümü için gereklidir¹³⁵. MMR, ciddi şekilde hasar görmüş hücreleri ortadan kaldırarak ve hem kısa vadede mutagenezi hem de uzun vadede tümörögenezi önleyerek DNA hasarı yanıt yolunda rol oynar. MMR aktivitesinin kaybı ile kazanılan mutator fenotip, çok aşamalı karsinogenezin başlatılmasına ve desteklenmesine katkıda bulunur¹³⁶. Kanser araştırmaları için özellikle yararlı olan, uzun tekrarlayan DNA dizilerinin, yani mikrosatellitlerin instabilitesidir. Mikrosatellit DNA lokusları; 2-6 nükleotid uzunlukta kısa, tekrarlanan DNA dizilerini ifade etmektedir. Bunlar, sık iplik kayması ve verimsiz yeniden okuma nedeniyle hatalı bir şekilde çoğaltılır ve MMR'yi mikrosatellit instabilitesine karşı ana koruyucu olarak bırakır¹³⁷. Bu nedenle, mikrosatellit instabilitesi artık tümör hücrelerinde MMR aktivitesi kaybı için yerleşik bir

biyobelirteçtir¹³⁸. Hasar görmemiş uyumsuzluklara ek olarak, MMR sistemi ayrıca normal hücre içi metabolizma ve belirli kemoterapötik ajanlar dahil olmak üzere dış ortamdan fiziksel ve kimyasal saldırılar tarafından oluşturulan belirli DNA lezyonlarını da tanır. Hücre sensörleri olarak çalışan MMR proteinleri, hücre döngüsü kontrol noktalarını etkinleştirir ve apoptoz sinyali verir. Bu işlevlerin kaybı apoptozu azaltır, hücre sağkalımını artırır ve kemoterapiye dirençle sonuçlanır¹³². Dahası, DNA hasarından kaynaklanan veya normal Watson-Crick baz kodlama potansiyelini değiştiren replikasyon hatalarını düzeltmemeye MMR-kusurlu hücrelerde hasara bağlı mutagenesi artırır. Bu etkilerin, çok aşamalı karsinogenez sırasında MMR-kusurlu hücrelerde seçici büyüme avantajlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir¹³⁹. Spesifik MMR genlerinin inaktivasyonu, gen amplifikasyonundaki bir artış ve DNA hasarının transkripsiyona bağlı eksizyon onarımının kaybı yoluyla kanser yatkınlığını da etkileyebilir¹⁴⁰.

MMR sisteminin başlıca fonksiyonu baz-baz uyumsuzluklarını ve DNA replikasyonu ile rekombinasyonu sırasında ortaya çıkan insersiyon-delesyon looplarını (IDL) etkin bir şekilde tanımaktır¹⁴¹. IDL'ler, onarım sistemini hatalı genetik bilgiyi taşıyan yeni sentezlenmiş DNA zincirine yönlendirmelidir. Bu görevlerin nasıl yerine getirildiği ilk olarak E. coli'de açıklanarak mutator suşları mutS, mutL, mutH ve uvrD'nin bu prototipik MMR sisteminin ayrı ayrı saflaştırılmış bileşenlerden yeniden oluşturulması gösterilmiştir¹⁴². Yanlış eşleşmenin tanınması ve onarımın başlatılması için, MSH2 proteini MSH6 veya MSH3 ile heterodimer oluşturur. MSH2'nin MSH6 ile yaptığı heterodimer ATPaz olan MutSα'yı, MSH2- MSH3 heterodimeri ATPaz olan MutSβ'yi oluşturur. MutSα baz-baz uyumsuzluklarını ve 1 veya 2 nükleotid insersiyon-delesyon hatalarını tanırken, MutSβ daha büyük insersiyon-delesyon hatalarını tanıyabilir¹³¹.

İnsanlarda dört MutL homologu (MLH1, MLH3, PMS1 ve PMS2) tanımlanmıştır¹⁴³. MSH6, yalnızca MSH2 ile bir heterodimer oluşturabilir. Bu nedenle, MSH2 geni değiştirilirse, MSH6 protein olarak kararsız hale gelir ve bozulur, bu da immünohistokimya da hem MSH6 hem de MSH2 ekspresyonlarının kaybına neden olur. Bunun aksine, MSH2, MSH6 ile birlikte MSH3 ile de bir heterodimer oluşturabilir. Bu nedenle, MSH6 geni değiştirilse bile, MSH2 ifadesi korunur. Benzer şekilde, PMS2 yalnızca MLH1 ile bir heterodimer oluşturabilir ve MLH1 geni değiştirildiğinde immünohistokimyasal PMS2 ekspresyon kaybı görülür. Ancak MLH1, PMS2 dışındaki

proteinlerle heterodimerler oluşturabildiğinden PMS2 geni değiştirildiğinde MLH1 ifadesi korunur¹⁴⁴.

Mikrosatellit instabilitesinin, tümör baskılaması, hücre proliferasyonu, DNA onarımı, apoptoz vb. ile ilgili gen gruplarında anormal onarımlar nedeniyle birikmiş mutasyonlara yol açtığı ve böylece tümörlerin gelişmesine ve büyümesine katkıda bulunduğu kabul edilir. Mikrosatellit instabilitesinin iki veya daha fazla markerda saptandığı durum MSI-yüksek (MSI-H) olarak tanımlanır ve mikrosatellit instabilitesinin bir marker için pozitif tespit edildiği durum MSI düşük (MSI-L) olarak adlandırılır. Herhangi bir belirteç için pozitif MSI gözlenmediğinde, MSS (mikrosatellit kararlı) olduğu belirlenir. Bazı kanserlerde düşük MMR işlevi tespit edilir. Azalmış MMR işlevi, esas olarak MMR gen mutasyonlarından ve promoter bölgenin anormal metilasyonuna bağlı olarak MMR genlerinin azalmış ekspresyonundan kaynaklanır¹⁴⁴. MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 genlerinin patojenik varyantlarının veya MSH2 geninin hemen yukarısında bulunan EPCAM geninin silinmesi Lynch sendromunu oluşturur¹⁴⁵. Öte yandan, sporadik MMR tümörlerine esas olarak MLH1 geninin promoter bölgesindeki eksikliği ile (dMMR) kazanılmış hipermetilasyon neden olur¹⁴⁶.

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olguların Genel Özellikleri

Bu tez çalışmasına, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalında tanı alan Şubat 2011-Mayıs 2019 tarihleri arasında total ve distal/subtotal gastrektomi yapılmış mide adenokarsinomu olan 104 olgu dahil edilmiştir. Her olgunun hastanemizdeki nükleus dijital dosya arşiv sisteminden klinik öyküleri araştırılarak; hastaların yaş ve cinsiyeti, hastalara ait ameliyat tipi, proton pompa inhibitörü kullanımı, takip süresi, uzak metastaz ve rekürrens varlığı, ölüm-sağkalım durumları kaydedilmiştir.

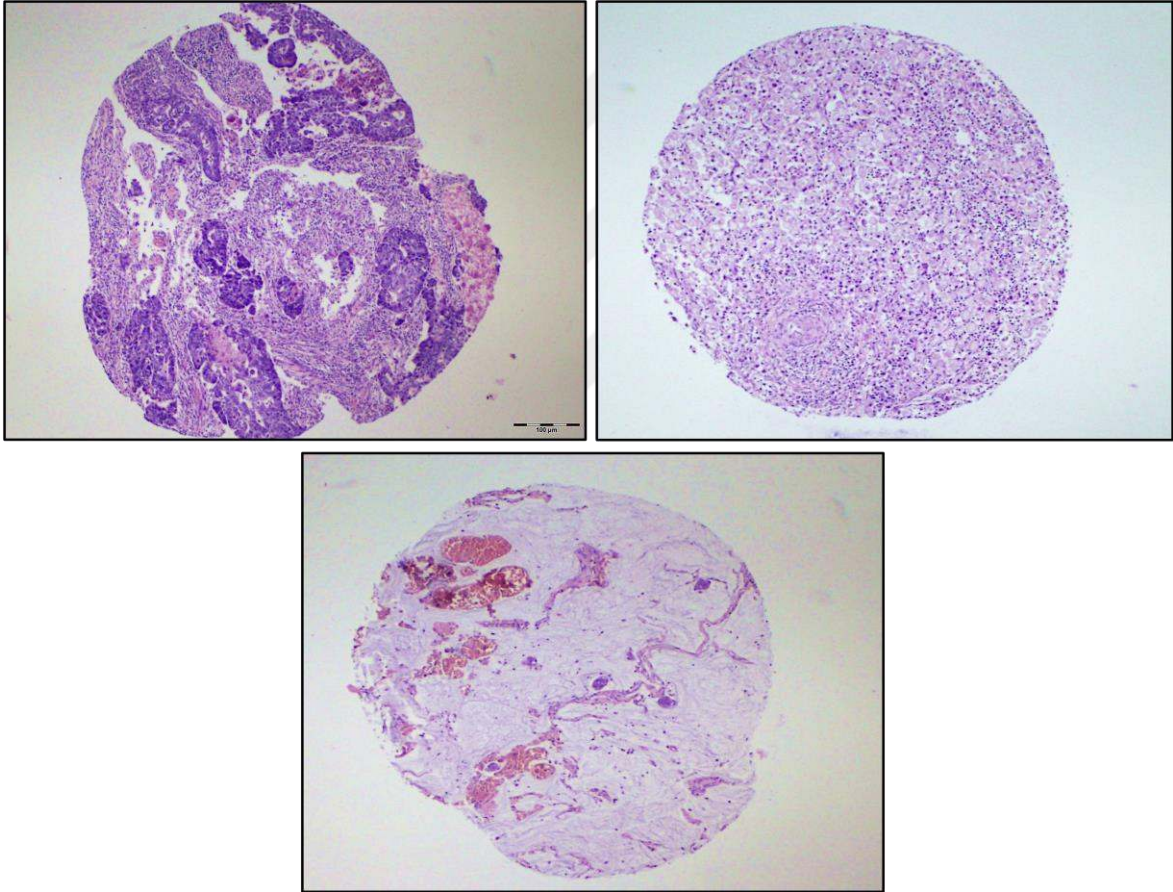
Çalışmaya Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlanmıştır.

3.2. Doku Microarray Yöntemi İçin Blokların Hazırlanması

Retrospektif olarak taranıp çalışmaya alınan olgulara ait, %10'luk formaldehit solüsyonu ile fikse edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış arşivimizde bulunan parafin bloklardan elde edilen Hemotoksilen&Eozin (H&E) boyalı preparatlar morfolojik açıdan yeniden değerlendirilmiştir. Tümör heterojenitesi nedeniyle her olgu için tümörü en iyi temsil eden ikişer alan, H&E boyalı preparat ve buna karşılık gelen parafin blok üzerinden işaretlenmiştir. Parafin blok üzerinde işaretlenen tümöral alanlardan, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında bulunan Doku Microarray cihazı (Advanced Tissue Arrayer, Veridiam, VTA-100) ile 1 mm'lik iki örnek alınmıştır. Alınan örnekler, bir blokta 6 kontrol adenoid dokusu ve 30 tümör dokusu (15 olgu) olacak şekilde sistematik olarak parafine gömülerek yeni parafin bloklar oluşturulmuştur. 105 tümörden elde edilen 210 tümör dokusu, 7 adet parafin blokta bloklanmıştır. Bloklama sırasında olgular, biyopsi protokol numaraları gözetilerek sıralanmıştır. Bloklama sonrası parafin bloklar 55°C'de 22 dakikada etüvlendikten sonra 1 saat yavaş soğutma aşamasına tabii tutulmuş ve daha sonra H&E ve imünhistokimyasal boyama için kesitler alınmıştır.

3.3. Hemotoksilen-Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Olgular, tümör yerleşimine göre, kardiya, fundus/korpus ve antrum-pilor olarak 3 gruba ayrılmıştır. Olgular, tümörün makroskopik özellikleri göz önüne alınarak Borrmann sınıflamasına göre; polipoid (tip 1), fungoid (tip 2), ülser (tip 3) ve diffüz infiltratif- flat (tip 4) olarak dört gruba ayrılmıştır. Lauren sınıflamasına göre, intestinal, diffüz ve mikst tip olmak üzere 3 histolojik alt tipe ayrılmıştır. WHO 2019 mide tümörleri sınıflaması baz alınarak histolojik alt tipler yeniden değerlendirilmiş ve tubuler karsinom, papiller karsinom, “poorly” koheziv karsinom, müsinöz karsinom ve diğer nadir histolojik alt tipler göz önüne alınarak yeniden sınıflandırılmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. a) Tübüler karsinom, b) “Poorly” koheziv karsinom, c) Müsinöz karsinom (H&E $\times 40$ büyütme)

Histolojik derecelendirme, CAP (College of American Pathologists) protokolü kriterlerine göre Grade 1, Grade 2 ve Grade 3 olarak değerlendirilmiştir. Evreleme, AJCC 8. edisyona göre yapılmış ve tüm olgularda evreleme için tümör invazyonu (T), lenf nodu tutulumu (N) ve uzak metastaz (M) olmak üzere üç komponent değerlendirilmiştir. Her olgu için lenfovasküler ve perinöral invazyon belirtilmiştir. Tümör çevresinde

desmoplazi varlığı, lenfositik yanıt derecesi, H. Pylori ve intestinal metaplazi varlığı ile tümör tomurcuklanması varlığı ve derecesi belirtilmiştir. Tümör tomurcuklanması mevcut tüm preparatların incelenmesinden sonra 0,785 mm²'lik bir "hot-point" alan seçilerek kolon ve rektum tümörleri CAP protokolleri-Şubat 2020 verilerine göre incelenmiştir¹⁴⁷. Tomurcuklanma skorlaması, "poorly" koheziv karsinom dışı 71 vakaya uygulanmış ve kolon ve rektum sınıflamasından farklı olarak tomurcuklanma skorlanırken 1-düşük, 2-3 orta, 4 veya daha fazla tomurcuk yüksek olarak değerlendirilmiştir.

3.4. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri

İmmünohistokimyasal inceleme için hazırlanan bloklardan, poly-l-lysine ile kaplı lamlara 3µ kalınlığında kesitler alınmıştır. İmmünohistokimyasal boyama işlemi "Dako Omnis" cihazında EnVision Flex IHC boyama kitleri kullanılarak otomatik olarak yapılmıştır. Hazırlanan kesitler, 60°C'lik etüvde 60 dakika bekletildikten sonra 25°C'de 1 dakika "Clearify (Dako)" solüsyonu uygulanarak deparafinizasyon işlemi yapılmış ardından alkolde rehidrate ve distile suda hidrate edilmiştir. Kesitler primer antikorla inkübe edilmeden önce "antijen retrieval" işlemi uygulanmıştır. PD-L1 ve PD-L2 antikoru için 96°C'de 20 dakika sitrat tamponunda (EnVFlex HRS, Low pH) kaynatılmıştır. Yıkama işleminin ardından kesitler; PD-L1 antikoru (Mouse monoklonal, 1:60, clone 22C3 Dako), PD-L2 antikoru (Mouse monoklonal, 1:60, clone TY25 Dako), anti-human PMS2 antikoru (monoklonal rabbit, clone EP51, RTU, Dako), anti-human MLH1 antikoru (monoklonal mouse, clone ES05, RTU, Dako), anti-human MSH2 antikoru (monoklonal mouse, clone FE11, RTU, Dako) ve anti-human MSH6 antikoru (monoklonal rabbit, clone EP49, RTU, Dako) ile 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra primer antikorla muamele edilmiş kesitlere zemin boyanmanın engellenmesi için peroksidaz solüsyonu (EnV FLEX Peroxidase-Blocking Reagent, Dako) uygulanmış ve 3 dakika inkübe edilmiştir. Yıkama işleminin ardından tüm kesitlere EnV Flex/HRP solüsyonu damlatılarak 20 dakika inkübe edilmiştir. Kesitlere kromojen ve enzim substratı içeren çalışma solüsyonu (EnV Flex Substrate Working Solution, Dako) damlatılıp oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkanmıştır. Hemotoksilen ile 5 dakika zıt boyama işlemi yapıp alkol ve ksilen aşamalarından geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.5. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

3.5.1. PD-L1 antikoru ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi

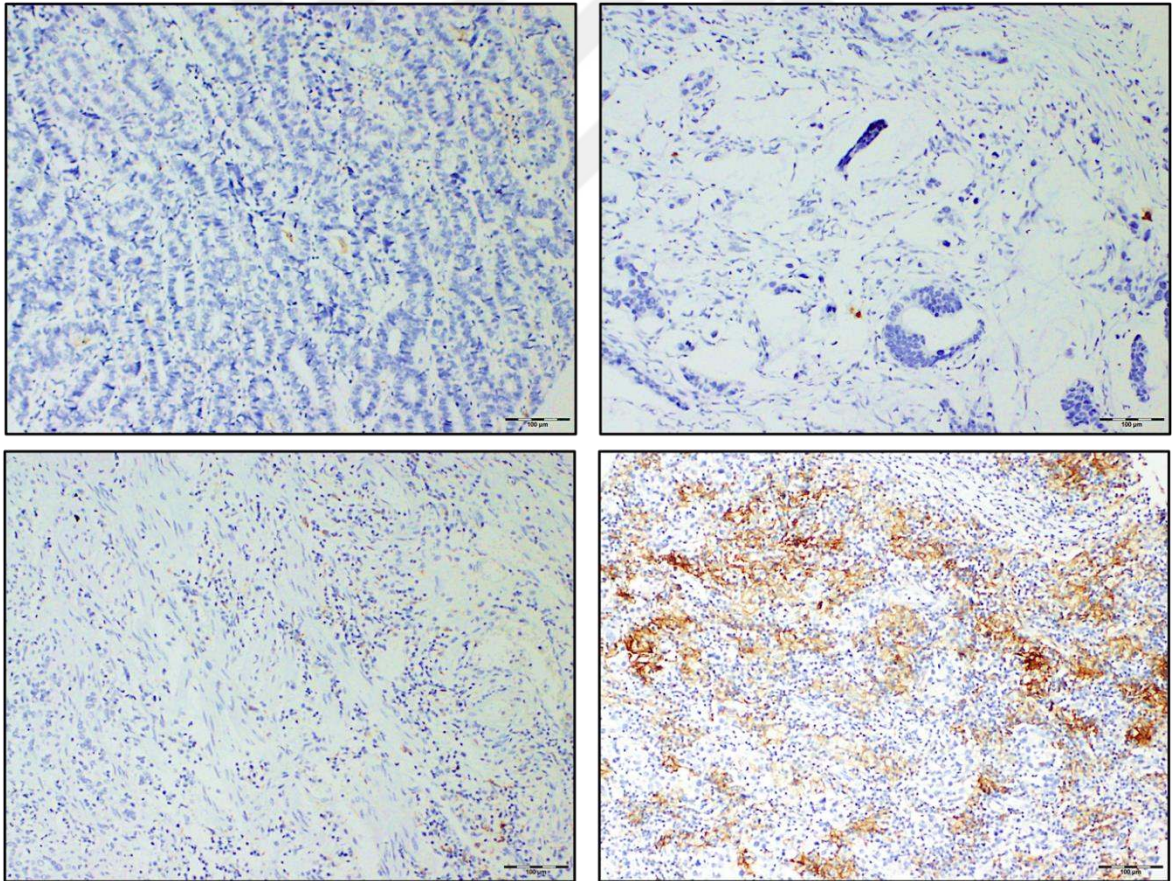
PD-L1 antikorusunun, tümör hücrelerinde zemin ve sitoplazmik boyanmadan ayırt edilebilen, herhangi bir yoğunlukta, komplet ve/veya inkomplet membranöz boyanması anlamlı olarak tanımlanmıştır. Her bir olgu için mevcut iki farklı tümör kesitinin tamamı değerlendirilmiş ve vakaların pozitif boyanma gösteren tümör hücresi oranına göre istatistiksel olarak değerlendirmeye uygun bir skorlama sistemi oluşturulmuştur:

%0: Skor 0, Negatif

%1-3: Skor 1, Hafif derecede ekspresyon

%4-6: Skor 2, Orta derecede ekspresyon

≥%7: Skor 3, Şiddetli derecede ekspresyon olarak gruplandı.



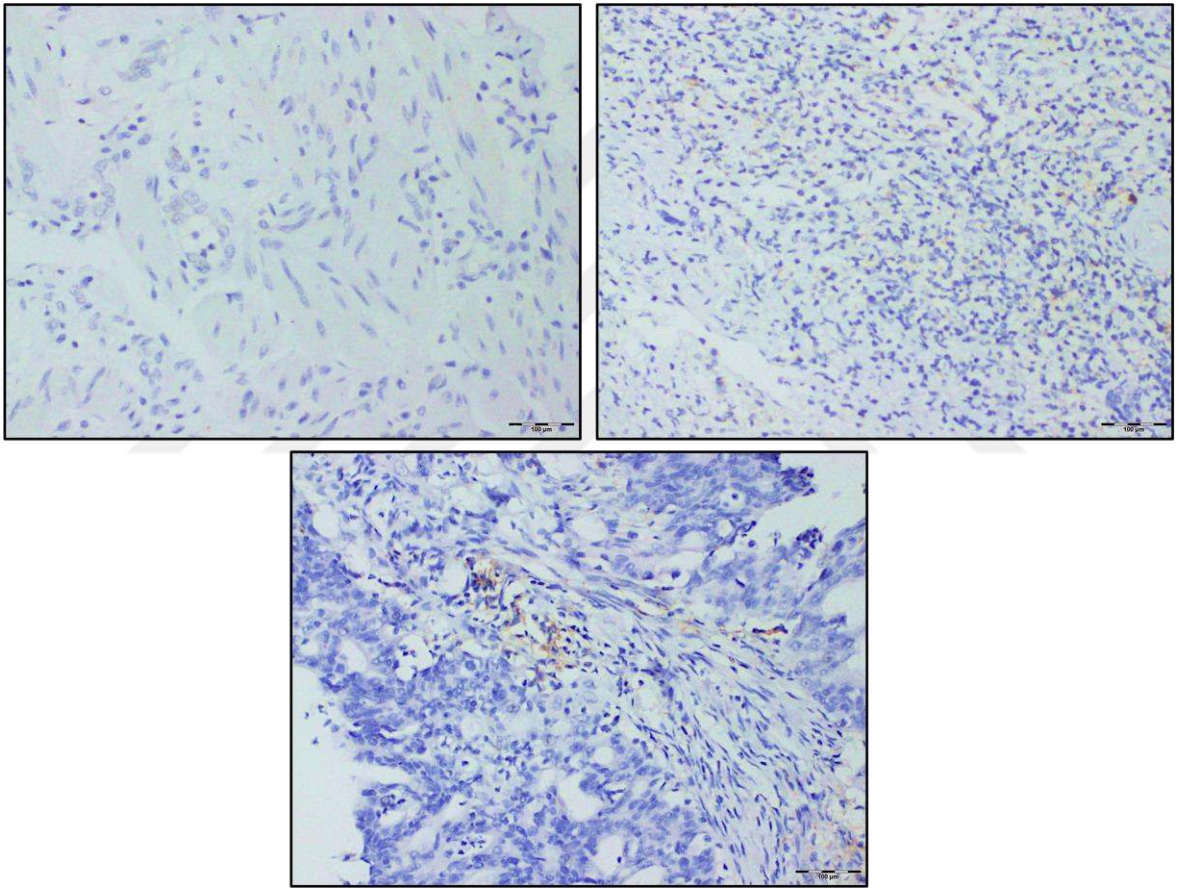
Resim 3.2. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu a) Skor 0, b) Skor 1, c) Skor 2, d) Skor 3 (İHK ×100 büyütme)

PD-L1 antikorunun, peritümöral inflamatuvar hücrelerde zemin boyanmadan ayırdedilebilen, herhangi bir yoğunlukta boyanması anlamlı olarak tanımlanmıştır. Her bir olgu için mevcut iki farklı tümör kesitinin tamamı değerlendirilmiş ve vakaların pozitif boyanma gösteren inflamatuvar hücre oranına göre istatistiksel olarak değerlendirmeye uygun bir skorelama sistemi oluşturulmuştur:

%0: Skor 0, Negatif

%1: Skor 1, Hafif derecede ekspresyon

≥2: Skor 2, Şiddetli derecede ekspresyon olarak gruplandı.



Resim 3.3. İnflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu a) Skor 0 (negatif), b) Skor 1 (hafif), c) Skor 2 (şiddetli), (İHK ×100 büyütme)

3.5.2. PD-L2 antikoruna ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi

PD-L2 antikorunun, tümör hücrelerinde zemin boyanmadan ayırdedilebilen, herhangi bir yoğunlukta, membranöz, sitoplazmik veya membranöz + sitoplazmik boyanması anlamlı olarak tanımlanmıştır. Artefaktif granüler boyanma pozitif ekspresyon olarak kabul

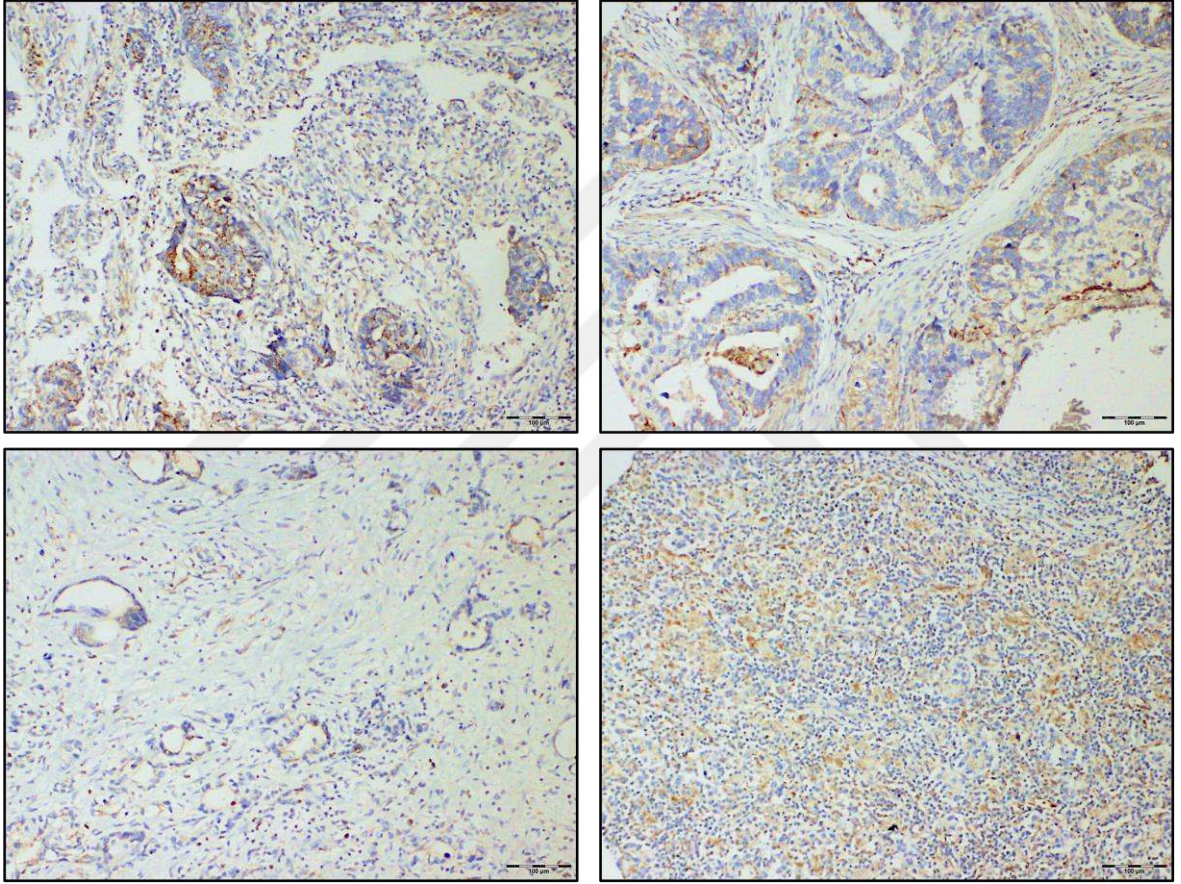
edilmemiştir. Her bir olgu için mevcut iki farklı tümör kesitinin tamamı değerlendirilmiş ve vakaların pozitif boyanma gösteren tümör hücresi oranına göre istatistiksel olarak değerlendirmeye uygun bir skorlama sistemi oluşturulmuştur:

%0: Skor 0, Negatif

%1-2: Skor 1, Hafif derecede ekspresyon

%3-5: Skor 2, Orta derecede ekspresyon

≥%6: Skor 3, Şiddetli derecede ekspresyon olarak gruplandı.

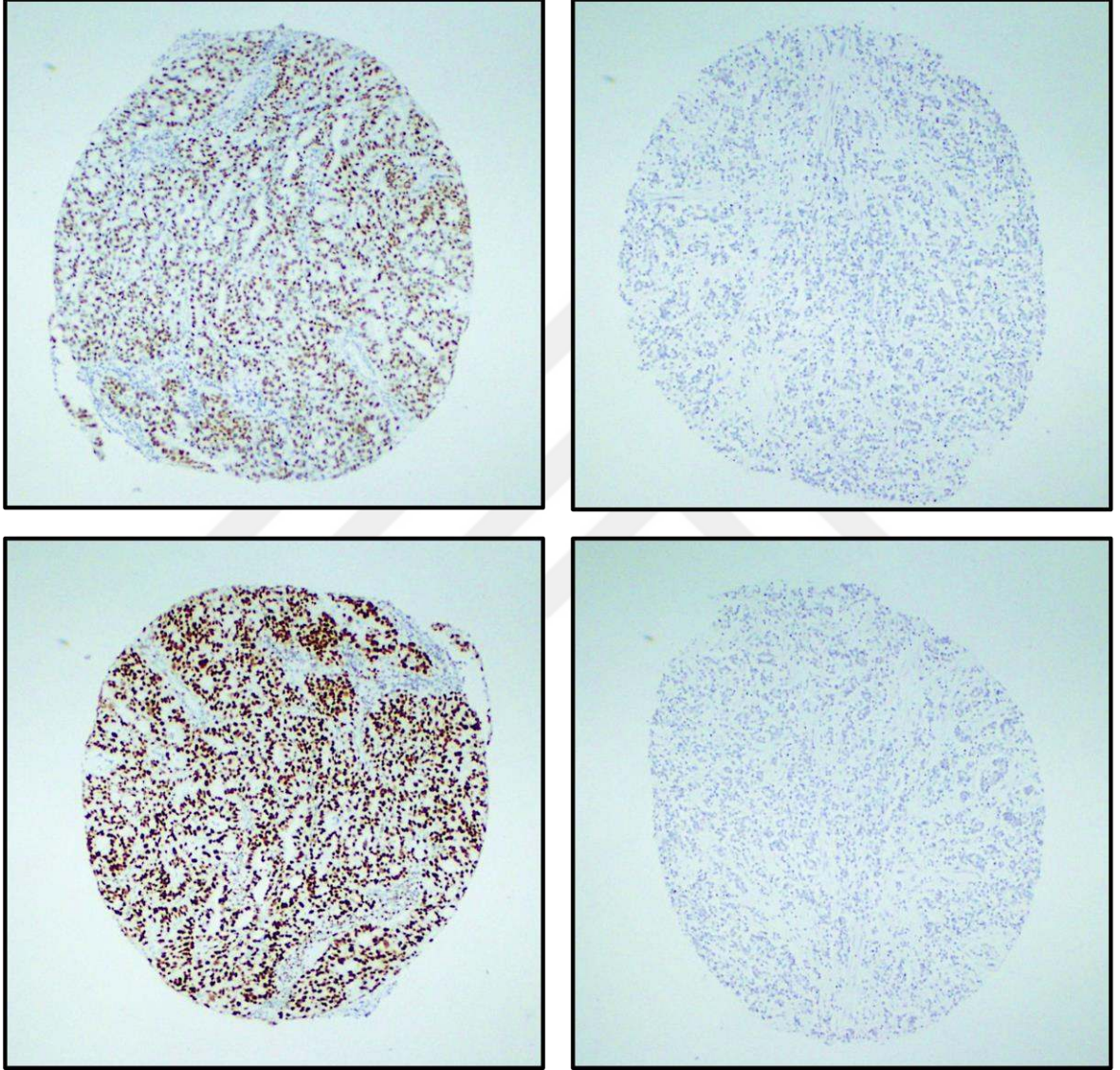


Resim 3.4. Tümör hücrelerinde PD-L2 ekspresyonu a) Skor 0, b) Skor 1, c) Skor 2, d) Skor 3 (İHK $\times 100$ büyütme) (Artefaktif sitoplazmik granüler boyanma pozitif ekspresyon olarak kabul edilmemiştir).

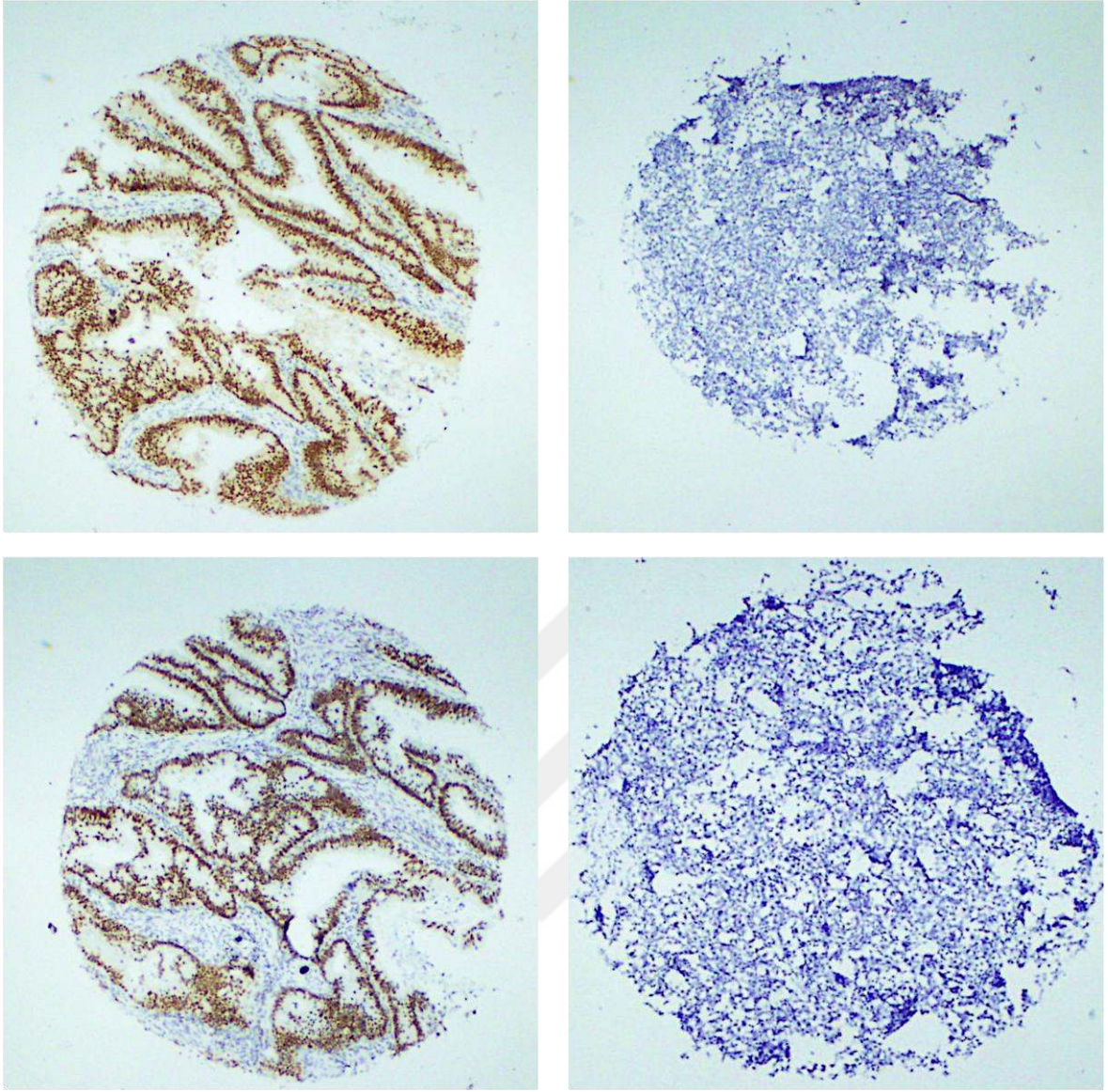
3.5.3. MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 ile boyanan kesitlerin değerlendirilmesi

MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 ile her bir olgu için mevcut iki farklı tümör kesitinin tamamı değerlendirilmiş ve pozitif tümör hücre yüzdesi araştırılmıştır. Antikorların tümör hücrelerinde nükleer ekspresyonu esas alınmıştır. MMR protein ekspresyon kaybı belirlenirken ≥ 1 nükleer ekspresyon stabil kabul edilmiştir. MSH2-MSH6 ve PMS2-

MLH1 dimer olarak ve global dörtlü değerlendirme ile değerlendirilmiştir. MSH2 veya MSH6'dan herhangi birinde <%1 ekspresyon olması durumunda MSH-MSH6 dimeri instabil kabul edilmiştir. PMS2-MLH1 dimeri için de aynı yöntem uygulanmıştır. Global dörtlü değerlendirme için antikorların herhangi birinde %1'in altında ekspresyon saptandığında vaka instabil kabul edilmiştir.



Resim 3.5. a) MSH2 stabil, b) MSH2 instabil, c) MSH6 stabil, d) MSH6 instabil (İHK ×40 büyütme)



Resim 3.6. a) PMS2 stabil, b) PMS2 instabil, c) MLH1 stabil, d) MLH1 instabil (İHK $\times 40$ büyütme)

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri “Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)” for Windows yazılımı, version 25.0, SPSS INC, Chicago, IL, USA ile yapılmıştır. Çalışmada yer alan kategorik değişkenler frekans ve yüzde ile sürekli değişkenlerden dağılıma uyanlar ortalama ve standart sapma, uymayanlar ortanca ve minimum maksimum değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare ve Fisher Ki-kare anlamlılık testleri uygulanmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki durumu Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları kullanılarak analiz edilmiştir. İmmünohistokimyasal ve histopatolojik verilerin sağkalım üzerine etkileri log rank testi kullanılarak incelenmiştir.

Sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplanmıştır. “p” değeri 0,05’in altındaki değerler istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



BULGULAR

4.1. Klinik Parametrelerin Sonuçları

2011-2019 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan ve çalışmaya dahil edilen 104 hastanın 39'u (%37,5) kadın, 65'i (%72,5)' i erkektir. Olguların tanı anındaki yaş ortalaması $62,02 \pm 11,21$ 'dir (yaş dağılımı: 31-90; ortanca değer: 63). Vakaların 41'i (%39,4) <60 yaş iken, 63'ü (%60,6) ≥ 60 yaştır.

Tanı anında uzak metastaz, 32 olguda (%30,8) saptanmıştır. İzlem sürecinde, 25 (%24) olguda nüks (lokal ve/veya uzak organ), 63 (%60,6) olguda ölüm gelişmiştir. Nüks, cerrahi sonrası ortalama $13,16 \pm 13,71$ ayda (süre dağılımı: 2-73 ay; ortanca değer: 9 ay) izlenmiştir. Nüks gelişen olguların 11'i (%44) tübüler karsinom, 11'i (%44) "poorly" koheziv karsinom ve 3'ü (%12) müsinöz karsinomdur. Nüks gelişen 24 (%96) olguda, ilerleyen dönemde ölüm gerçekleşmiştir. İzlem 63 olguda ölüm ile sonlanmış olup cerrahiden ortalama $30,08 \pm 27,2$ ay (süre dağılımı: 0-118 ay; ortanca değer: 23,50 ay) sonra gerçekleşmiştir. Ölen hastaların 33'ü (%52,3) tübüler karsinom, 22'si (%34,9) "poorly" koheziv karsinom ve 8'i (%12,6) müsinöz karsinom tanılıdır.

Olgularda; ortalama hastalıksız sağ kalım süresi $28,34 \pm 27,80$ ay (süre dağılımı: 0-118 ay; ortanca değer: 17,5 ay) 'dır.

Olguların 58'ine (%55,8) total gastrektomi, 46'sına (%44,2) distal/subtotal gastrektomi operasyonu yapılmıştır.

4.2. Histolojik Parametrelerin Sonuçları

Olguların tümör çapı, ortalama $5,72 \pm 3,62$ cm (boyut dağılımı: 0,6-19,5 cm; ortanca değer: 4,7 cm)'dir. Olgulardan 12'si (%11,5) ≤ 2 cm, 43'ü (%41,3) 2-5 cm, 49'u (%47,1) > 5 cm'dir.

Vakaların 51'i (%49) antrum, 33'ü (%31,7) korpus ve 20'si (%19,2) kardiya yerleşimlidir. Vakalar Bormann sınıflamasına göre değerlendirildiğinde, vakaların 10'u

(%9,6) Tip 1, 21'i (%22,6) Tip 2, 62'si (%59,6) Tip 3 ve 9'u (%8,7) Tip 4 olarak sınıflandırılmıştır.

Olgular, Lauren histolojik tip sınıflamasına göre, 57 (%54,8) intestinal tip, 36 (%34,6) diffüz tip ve 11 (%10,6) mikst tip olarak değerlendirilmiştir.

Olgular, "WHO 2019" histolojik tip sınıflamasına göre, 63 (%60,6) tübüler karsinom, 32 (%30,8) "poorly" koheziv karsinom ve 9 (%8,7) müsinöz karsinom olarak değerlendirilmiştir.

Olguların diferansiasyon derecesi, 22 olguda (%21,2) Grade 1, 25 olguda (24) Grade 2 ve 57 olguda (%54,8) Grade 3 olarak değerlendirilmiştir.

Tümörlerin 1'i (%1) pT1a, 8'i (%7,7) pT1b, 11'i (%10,6) pT2, 26'sı (%25) pT3, 47'si (%45,2) pT4a ve 11'i (%10,6) pT4b olarak sınıflandırılmıştır.

Olgulardan 28'i (%26,9) N0, 24'ü (%23,1) N1, 17'si (%16,3) N2, 18'i (%17,3) N3a ve 17'si (%16,3) N3b olarak değerlendirilmiştir. Vakaların 72'si (%69,2) M0, 32'si (%30,8) M1'dir.

Olguların 85'inde (%81,7) lenfovasküler invazyon izlenmekte olup 19'unda (%18,3) lenfovasküler invazyon izlenmemiştir.

Olguların 83'ünde (%79,8) perinöral invazyon saptanmış, 21'inde (%20,2) ise perinöral invazyon görülmemiştir.

Vakaların, 51'inde (%49) hafif derecede desmoplazi, 29'unda (%27,9) şiddetli derecede desmoplazi izlenmiş, 23'ünde (%22,1) desmoplazi gözlenmemiştir.

Vakaların 75'inde (%72,1) ülserasyon saptanmış olup 29'unda (%27,9) ülserasyon görülmemiştir.

Vakaların 50'sinde (%48,1) hafif derecede, 54'ünde (%51,9) şiddetli derecede intratümöral lenfositik yanıt gözlenmiştir.

Vakaların 38'inde (%36,5) hafif derecede, 34'ünde (%32,7) şiddetli derecede peritümöral lenfositik yanıt saptanmıştır, 32'sinde (30,8) ise peritümöral lenfositik yanıt izlenmemiştir.

Tümör tomurcuklanması, tübüler karsinom ve müsinöz karsinomlardan oluşan 71 vaka için değerlendirilmiş olup vakaların 36'sında (%50,7) tümör tomurcuklanması gözlenmezken 35'inde (49,2) tümör tomurcuklanması mevcuttur. Tümör tomurcuklanması sayısal değerleri tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Tümör tomurcuklanması skoru 26 vakada (%36,6) düşük, 6 vakada orta (%8,4), 3 vakada (%4,2) yüksek olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Vakaların tümör tomurcuklanması sayısı

Tomurcuklanma Sayısı	n	%
0	36	50,7
1	9	12,6
2	8	11,2
3	9	12,6
4	4	5,6
5	2	2,8
6	2	2,8
8	1	1,4
Toplam	71	100

Tümör dışı mide mukozası intestinal metaplazi açısından değerlendirildiğinde olguların 84'ünde (%80,8) intestinal metaplazi saptanmış olup 20'sinde (%19,2) intestinal metaplazi saptanmamıştır.

Vakaların 80'inde (%76,9) Helicobacter Pylori mikroorganizması görülmemekle birlikte 24'ünde (%23,1) Helicobacter Pylori mevcuttur.

Hastaların 22'si (%21,2) proton pompa inhibitörü (PPI) kullanmakta olup 82'si (%78,8) kullanmamaktadır.

Olguların klinik ve histopatolojik özellikleri Tablo 4.2'de, TNM sınıflaması verileri Tablo 4.3'de, olguların takiplerinde nüks ve ölüm verileri ise Tablo 4.4'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Olguların klinik ve histopatolojik özellikleri

		n	%
Cinsiyet	Kadın	39	37,5
	Erkek	65	72,5
Yaş	59 yaş ve altı	41	39,4
	60 yaş ve üzeri	63	60,6
Tümör çapı	≤2 cm	12	11,5
	2-5 cm	43	41,3
	>5 cm	49	47,1
Tümör yerleşimi	Antrum	51	49
	Korpus	33	31,7
	Kardiya	20	19,2
Bormann sınıflaması	Tip 1	10	9,6
	Tip 2	21	22,6
	Tip 3	62	59,6
	Tip 4	9	8,7
Lauren sınıflaması	İntestinal tip	57	54,8
	Diffüz tip	36	34,6
	Mikst tip	11	10,6
WHO 2019 histolojik tip	Tübüler karsinom	63	60,6
	“Poorly” koheziv” karsinom	32	30,8
	Müsinöz karsinom	9	8,7
Diferansiasyon derecesi	Grade 1	22	21,2
	Grade 2	25	24
	Grade 3	57	54,8
Lenfovasküler invazyon	Yok	19	18,3
	Var	85	81,7
Perinöral invazyon	Yok	21	20,2
	Var	83	79,8
Desmoplazi	Yok	23	22,1
	Hafif derecede	51	49
	Şiddetli derece	29	27,9
Ülserasyon	Yok	29	27,9
	Var	75	72,1
İntratümöral lenfositik yanıt	Hafif derecede	50	%48,1
	Şiddetli derecede	54	%51,9
Peritümöral lenfositik yanıt	Yok	32	30,8
	Hafif derecede	38	36,5
	Şiddetli derecede	34	32,7
Tümör tomurcuklanması skor	Yok	36	50,7
	Düşük	26	36,6
	Orta	6	8,4
	Yüksek	3	4,2
İntestinal metaplazi	Yok	20	19,2
	Var	84	80,8
Helicobacter Pylori	Yok	80	76,9
	Var	24	23,1
PPI kullanımı	Yok	82	78,8
	Var	22	21,2

Tablo 4.3. Olguların TNM sınıflaması

		n	%
T evre	pT1a	1	1
	pT1b	8	7,7
	pT2	11	10,6
	pT3	26	25
	pT4a	47	45,2
	pT4b	11	10,6
N evre	N0	28	26,9
	N1	24	23,1
	N2	17	16,3
	N3a	18	17,3
	N3b	17	16,3
M evre	M0	72	69,2
	M1	32	30,8

Tablo 4.4. Olguların takiplerinde nüks ve ölüm verileri

		n	%
Tanı anında uzak metastaz	Yok	72	69,2
	Var	32	30,8
Nüks	Yok	79	76
	Var	25	24
Ölüm	Yok	41	39,4
	Var	63	60,6

4.3. Histolojik Parametrelerin Birbiri ile İlişkisi

4.3.1. Histolojik tip

Yapılan istatistiksel çalışmalarda; WHO 2019 histolojik tip ile yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,024$). Tübüler ve müsinöz karsinomlar ağırlıklı olarak 60 yaş üzerinde (sırasıyla %69,8 ve %55,6) görülürken, “poorly” koheziv karsinom daha çok 60 yaş altında (%56,3) görülmektedir.

Tümörlerin histolojik tipi ile hasta takiplerinde nüks ($p=0,05$) ve sağkalım durumu ($p=0,024$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür. “poorly” koheziv karsinom ve müsinöz karsinom vakalarının takiplerinde nüks gelişimi sırasıyla %34,3 ve %33,3 oranlarında görülürken, tübüler karsinomda bu oran %17,5 olup daha düşük izlenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Tümör histolojik alt tipleri ile klinik parametrelerin karşılaştırılması

		Tübüler karsinom	“Poorly” koheziv” karsinom	Müsinöz karsinom	p değeri
Yaş grubu	<60	19 (%30,2)	18 (%56,3)	4 (%44,4)	0,024
	≥60	44 (%69,8)	14 (%43,8)	5 (%55,6)	
	Erkek	41 (%65,1)	9 (%53,1)	7 (%77,8)	
Nüks	Yok	52 (%82,5)	21 (%65,6)	6 (66,7)	0,05
	Var	11 (%17,5)	11 (%34,4)	3 (%33,3)	
Survival	Sağ	30 (%47,6)	10 (%31,3)	1 (%39,4)	0,024
	Ölü	33 (%52,4)	22 (%68,8)	8 (%60,6)	

Histolojik tip ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,011**). Tübüler karsinom daha yüksek oranda 2-5 cm tümör çapına sahipken, “poorly” koheziv karsinomların büyük çoğunluğu 5 cm’den büyüktür. Müsinöz karsinomlar ise aynı oranda 2-5 cm ve >5 cm çaplı tümörlerden oluşmaktadır.

Tümör histolojik tipi ile patolojik N evresi ve M evresi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,014** ve **p=0,05**). Tübüler karsinomlar sıklıkla N0 olarak gözlenirken, “poorly” koheziv karsinomlar büyük oranda N3a ve N3b, müsinöz karsinomlar ise N0 ve N3a olarak değerlendirilmiştir. Tübüler ve müsinöz karsinomlar büyük oranda M0 iken, “poorly” koheziv karsinomlar çoğunlukla M1 olarak sınıflandırılmıştır.

Histolojik tip ile diferansiasyon derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,005**). Tübüler karsinomlar benzer oranlarda Grade 1, Grade 2 ve Grade 3 olarak sınıflandırılırken, “poorly” koheziv karsinomlar çok yüksek oranda Grade 3 tümörlerden oluşmaktadır. Müsinöz karsinomlarda ise daha çok Grade 1 diferansiasyon saptanmıştır.

Tümör histolojik tipi ile Lauren ve Bormann sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,001** ve **p=0,002**). Tübüler ve müsinöz karsinomlar yüksek oranda intestinal tip olarak sınıflandırılırken, “poorly” koheziv karsinomların %97’si diffüz tip, %3’ü ise mikst tip olarak değerlendirilmiştir. Her üç tümör tipi de en yüksek oranda

Bormann Tip 3 olarak sınıflandırılmakla birlikte, ikinci sıklıkta tübüler ve müsinöz karsinomlarda Bormann Tip 2, “poorly” koheziv karsinomlarda Bormann Tip 4 görülmektedir.

Tümör histolojik tipi ile desmoplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,001**). Tübüler karsinomlarda daha çok hafif ve şiddetli derecelerde desmoplazi görülürken, “poorly” koheziv karsinomlarda genellikle desmoplazi görülmemiş veya hafif derecede desmoplazi izlenmiştir. Müsinöz karsinomlarda genel olarak hafif derecede desmoplazi saptanmıştır.

Tümör histolojik tipi ile intestinal metaplazi ve *Helicobacter Pylori* mikroorganizması varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,05** ve (**p=0,011**). Her üç tümör tipinde de intestinal metaplazi varlığı yüksek oranlarda gözükürken, intestinal metaplazi içermeyen olgular büyük oranda “poorly” koheziv karsinom tipindedir. *Helicobacter Pylori* mikroorganizması gözlenen olgular büyük oranda tübüler karsinom morfolojisinde izlenmiştir.

Tümör histolojik tipi ile lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, tümör yerleşimi, patolojik T evresi, ülserasyon, tümör tomurcuklanması, intratümöral lenfositik yanıt ve peritümöral lenfositik yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

4.3.2. Patolojik T evresi

Olguların patolojik T evreleri ile tümör çapları ve diferansiasyon dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000** ve **p=0,005**). pT1 tümörlerin tümör çapları daha çok <2 cm iken, pT2 tümörlerin tümör çapları sıklıkla 2-5 cm’dir. pT3 ve pT4 tümörlerin tümör çapları büyük oranda >5 cm’dir. Patolojik T evresi arttıkça diferansiasyonun azaldığı, pT3 ve pT4 tümörlerin benzer oranda Grade 3 diferansiasyona sahip olduğu dikkati çekmiştir.

Tümörlerin patolojik T evresi ile patolojik N evresi ve M evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000** ve **p=0,002**). Patolojik T evresi arttıkça

patolojik N evresinin de arttığı dikkati çekmiştir. M1 tümörlerin büyük çoğunluğunun pT4 tümörlerden oluştuğu dikkati çekmiştir.

Tümörlerin patolojik T evreleri ile Lauren ve Bormann sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,027** ve **p=0,000**). pT1, pT2 ve pT3 tümörler daha yüksek oranlarda intestinal tip iken, pT4 tümörlerde intestinal ve diffüz tip benzer oranlarda saptanmıştır. Patolojik T evresi arttıkça mikst tip görülme sıklığı artmıştır. pT1 ve pT2 tümörlerde benzer oranlarda Bormann Tip 1, Tip 2 ve Tip 3 görülürken, pT3 ve pT4 tümörler yüksek oranda Bormann Tip 3 görünümündedir. Bormann Tip 4, en sık pT4 tümörlerde görülmektedir.

Tümörlerin patolojik T evresi ile ülserasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,023**). Ülserasyon en sık pT3 ve pT4 tümörlerde görülürken, onları pT2 tümörler takip etmektedir. Ülserasyon en az sıklıkla pT1 tümörlerde görülmüştür.

Tümörlerin patolojik T evreleri ile lenfovasküler ve perinöral invazyon gösterme sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000** ve **p=0,000**). Tümörlerin patolojik T evreleri arttıkça lenfovasküler invazyon görülme oranı artmaktadır. Tümörlerin patolojik T evreleri arttıkça perinöral invazyon görülme oranı da artmakta olup pT2 ve pT3 tümörlerde benzer oranlarda perinöral invazyon varlığı dikkati çekmiştir.

Tümörlerin patolojik T evreleri ile takiplerinde nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,004**). pT1 ve pT2 tümörlerin uzun dönem takiplerinde nüks görülmemiştir. pT3 tümörlerin takiplerinde %23,1 oranında, pT4 tümörlerin takiplerinde ise %38,2 oranında nüks gelişimi görülmüştür.

Tümörlerin patolojik T evresi ile cinsiyet, yaş, tümör yerleşimi, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı ve PPI kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.3.3. Patolojik N evresi

Tümörlerin patolojik N evreleri ile tümör çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,000**). pN0 tümörlerde tümör çapı büyük oranda <2 cm ve 2-5, daha

az oranda ise >5 cm izlenirken, pN1 ve pN2 tümörlerde tümör çapı daha çok 2-5 cm, pN3 tümörlerde ise tümör çapı büyük oranda >5 cm olarak görülmüştür.

Tümörlerin patolojik N evreleri ile patolojik M evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000**). pN0, pN1 ve pN2 tümörler büyük oranlarda M0 iken, M1 tümörlerin büyük çoğunluğunun pT4 tümörlerden oluştuğu görülmüştür.

Olguların patolojik N evresi ile diferansiasyon dereceleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,005**). G1 tümörler daha çok N0 iken, G2 tümörler benzer oranlarda patolojik N evresine sahiptir. G3 tümörlerde ise en sık pN3 tümörler, ikinci sıklıkla pN1 tümörler ve üçüncü sıklıkla eşit oranda pN0 ve pN1 tümörler görülmektedir.

Tümörlerin patolojik N evreleri ile Lauren ve Bormann sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,003** ve **p=0,001**). İntestinal tip tümörlerin büyük çoğunluğu pN0 iken, pN1, pN2 ve pN3 tümörler benzer oranlarda görülmektedir. Diffüz tip tümörlerin ise büyük çoğunluğu pN3 iken, pN0, pN1 ve pN2 tümörler benzer oranlarda görülmektedir. Mikst tip tümörler sıklıkla pN1 tümörlerde görülürken, ikinci sıklıkta pN2 ve pN3 tümörlerde izlenmektedir. Bormann tip 1 ve tip 2 tümörlerde en sık pN0 izlenirken, Bormann tip 3 tümörlerde en sık pN1 ve pN3, Bormann Tip 4 tümörlerde ise yalnızca pN3 tümörler görülmektedir.

Tümörlerin patolojik N evreleri ile lenfovasküler ve perinöral invazyon gösterme sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000**). Lenfovasküler invazyonun izlenmediği tümörlerin tamamı pN0 evresindedir. Lenfovasküler invazyon en çok pN3 tümörlerde, ikinci sıklıkta pN1 ve pN2 tümörlerde benzer oranlarda ve en az pN0 tümörlerde görülmektedir. pN0 tümörlerin büyük çoğunluğunda perinöral invazyon gözlenmemiştir. Perinöral invazyon varlığı en çok pN3 tümörlerde, ikinci sıklıkta pN1 tümörlerde, üçüncü sıklıkta ise pN0 ve pN2 tümörlerde benzer oranlarda görülmektedir.

Tümörlerin patolojik N evreleri ile cinsiyet, yaş, tümör yerleşimi, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı, PPI kullanımı ve nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.3.4. M evresi

Olguların M evreleri ile yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,05$). M0 tümörler daha yüksek oranda >60 yaşta görülürken, M1 tümörler sıklıkla ≤ 60 yaşta görülmektedir.

Tümörlerin M evreleri ile tümör çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,003$). M0 tümörlerde tümör çapı büyük oranda 2-5 cm, daha az oranda ise >5 cm izlenirken, M1 tümörlerde tümör çapı çoğunlukla >5 cm olarak görülmüştür. <2 cm tümörlerin tamamına yakını M0 evresinde görülmüştür.

Olguların M evreleri ile Bormann klasifikasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,001$). Bormann tip 1, tip 2 ve tip 3 tümörlerde daha sık olarak M0 evresi görülürken, Bormann tip 4 tümörlerin büyük çoğunluğu M1 evresindedir.

Tümörlerin M evreleri ile lenfovasküler invazyon gösterme sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,035$). M1 tümörlerin tamamına yakınında lenfovasküler invazyon izlenmektedir.

Olguların M evreleri ile intratümöral lenfositik yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,05$). M0 tümörlerde daha çok hafif derecede intratümöral lenfositik yanıt görülürken, M1 tümörlerde çoğunlukla şiddetli derecede intratümöral lenfositik yanıt görülmüştür.

Tümörlerin M evreleri ile cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör diferansiasyon derecesi, Lauren sınıflaması, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, perinöral invazyon, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı, PPI kullanımı ve takiplerinde nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.3.5. Diferensiasyon derecesi

Olguların diferansiasyon dereceleri ile tümör çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,009$). G1 tümörler sıklıkla 2-5 cm, ikinci sıklıkla <2 cm olarak görülürken, G2 ve G3 tümörler büyük oranda >5 cm çapında gözlenmektedir.

Tümörlerin diferansiasyon dereceleri ile Lauren sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,000$). G1 tümörlerin tamamı, G2 tümörlerin tamamına yakını intestinal tip morfolojisinde iken, G3 tümörlerin büyük çoğunluğu diffüz tip ve ikinci sıklıkta eşit oranda intestinal tip ve mikst tip morfolojisindedir. Mikst tip tümörlerin tamamı G3'tür.

Tümörlerin diferansiasyon dereceleri ile lenfovasküler invazyon ($p=0,000$) ve perinöral invazyon ($p=0,015$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Diferansiasyon azaldıkça lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon artmaktadır.

Tümörlerin diferansiasyon dereceleri ile intratümöral lenfositik yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,000$). G1 ve G2 tümörlerde sıklıkla hafif derecede intratümöral lenfositik yanıt görülürken, G3 tümörlerde daha çok şiddetli derecede intratümöral lenfositik yanıt görülmüştür. Olguların diferansiasyon dereceleri ile peritümöral lenfositik yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,000$). G1 tümörlerde peritümöral lenfositik yanıt sıklıkla görülmezken, G2 tümörlerde benzer oranlarda peritümöral lenfositik yanıt görülmemiş veya hafif derecede görülmüştür. G3 tümörlerde daha çok şiddetli derecede peritümöral lenfositik yanıt görülmüştür.

Tümörlerin diferansiasyon dereceleri ile cinsiyet, tümör yerleşimi, Bormann sınıflaması, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı, PPI kullanımı ve takiplerinde nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.3.6. Lenfovasküler invazyon

Vakalarda lenfovasküler invazyon ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,000$). <2 cm çaplı tümörlerde lenfovasküler invazyon sıklıkla izlenmezken, 2-5 cm çaplı tümörler büyük oranda lenfovasküler invazyon göstermektedir. >5 cm çaplı tümörlerin neredeyse tamamı lenfovasküler invazyon göstermektedir.

Olgularda lenfovasküler invazyon ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,000$). Lenfovasküler invazyon içermeyen olgular

çoğunlukla perinöral invazyon da içermezken, lenfovasküler invazyon içeren olgular büyük oranda perinöral invazyon da göstermektedir.

Vakalarda lenfovasküler invazyon ile Lauren sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür (**p=0,005**). Diffüz tip morfolojinin büyük çoğunluğunda ve mikst tip morfolojinin tamamında lenfovasküler invazyon mevcuttur.

Olgularda lenfovasküler invazyon ile nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,035**). Lenfovasküler invazyon olan olguların %28,2'sinde takiplerde nüks görülmüştür.

Olgularda lenfovasküler invazyon varlığı ile yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör tomurcuklanması, Bormann sınıflaması, ülserasyon, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı ve PPI kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.3.7. Perinöral invazyon

Vakalarda perinöral invazyon ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür (**p=0,001**). <2 cm çaplı tümörlerde perinöral invazyon sıklıkla izlenmezken, 2-5 cm ve >5 cm çaplı tümörler çok yüksek oranda perinöral invazyon göstermektedir.

Olgularda perinöral invazyon ile Lauren sınıflaması ve Bormann sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür (**p=0,016** ve **p=0,004**). Perinöral invazyonun yokluğu daha çok intestinal tipte görülmektedir. Diffüz tip morfolojinin büyük çoğunluğunda ve mikst tip morfolojinin tamamında perinöral invazyon mevcuttur. Bormann tip 1'den tip 4'e ilerledikçe perinöral invazyon artmış olup Bormann tip 4 vakaların tümünde perinöral invazyon görülmüştür.

Olgularda perinöral invazyon varlığı ile yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör tomurcuklanması, ülserasyon, intestinal metaplazi, Helicobacter Pylori varlığı ve PPI kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Olgularda perinöral invazyon ile nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.3.8. Bormann sınıflaması

Vakalarda Bormann sınıflaması ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,000$). Bormann tip 1 tümörler en sık >5 cm, ikinci sıklıkta eşit oranda <2 cm ve 2-5 cm çapındadır. Bormann tip 2 tümörler büyük oranda 2-5 cm çapındadır. Bormann tip 3 tümörlerin yarısı >5 cm, yarıya yakını 2-5 cm ve yalnızca bir tanesi <2 cm çapındadır. Bormann tip 4 tümörlerin tamamı >5 cm'dir.

Vakalarda Bormann sınıflaması ile intestinal metaplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,034$). Bormann tip 1 tümörlerin neredeyse tamamında intestinal metaplazi izlenmiştir. Bormann tip 2, tip 3 ve tip 4 tümörlerin büyük çoğunluğunda intestinal metaplazi izlenmekle birlikte, tip 2'den tip 4'e doğru ilerledikçe intestinal metaplazi görülme oranı azalmaktadır.

Olgularda Bormann sınıflaması ile Lauren sınıflaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,024$). Bormann tip 1, tip 2 ve tip 3 tümörlerin büyük kısmında intestinal morfoloji görülürken, tip 4 tümörlerin tamamında diffüz morfoloji görülmektedir.

Olgularda Bormann sınıflaması ile yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör tomurcuklanması, intestinal metaplazi, ülserasyon, Helicobacter Pylori varlığı, PPI kullanımı ve nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.3.9. Tümör tomurcuklanması

Vakaların tümör tomurcuklanması skorları ile takiplerinde nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmiştir ($p=0,046$). Tomurcuklanma skoru düşük olan vakaların takiplerinde nüks gelişimi gözlenmemiştir. Tomurcuklanma skoru orta olan vakaların takiplerinde %11,8 oranında, tomurcuklanma skoru yüksek olan vakaların ise takiplerinde %33,3 oranında nüks gelişimi gözlenmiştir.

4.4. İmmünohistokimyasal Bulguların Prognostik ve Diğer Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi

4.4.1. Tümör hücrelerinde PD-L1 değerlendirilme sonuçları

Vakaların 63 (%60,6) tanesinde herhangi bir şiddette PD-L1 ekspresyonu saptanmazken 41 (%39,4) olguda PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. 16 (%15,4) olguda $\leq$ %3 (hafif derecede), 14 (%13,5) olguda %4-6 (orta derecede), 11 (%10,6) olguda ise $>$ %6 (şiddetli derecede) PD-L1 pozitifliği izlenmiştir.

Vakaların boyanma paterni incelendiğinde 32 (%78) vaka komplet membranöz, 9 (%22) vaka inkomplet membranöz boyanma göstermektedir. Vakaların boyanma şiddeti değerlendirildiğinde 16 (%39) vaka hafif şiddette, 16 (%39) vaka orta şiddette, 9 vaka (%22) şiddetli pozitiflik göstermiştir.

Tablo 4.6. Tümör hücrelerinde PD-L1, PD-L2 boyanma skoru ve MSH2-MSH6, PMS2-MLH1 durumu ile pT, pN ve M evre ilişkisi

		PD-L1 Boyanma Skoru				p	PD-L2 Boyanma Skoru				p	MSH2-MSH6		p	PMS2-MLH1		p
		Yok	Hafif	Orta	Şiddetli		Yok	Hafif	Orta	Şiddetli		Stabil	İnstabil		Stabil	İnstabil	
pT evre	pT1	6 9,5%	1 6,3%	2 14,3%	0 0%	>0,05	1 2,6%	3 8,6%	2 9,5%	3 30%	>0,05	7 8,1%	2 11,1%	>0,05	8 9,8%	1 4,5%	>0,05
	pT2	5 7,9%	3 18,8%	2 14,3%	1 9,1%		5 13,2%	3 8,6%	2 9,5%	1 10%		10 11,6%	1 5,6%		8 9,8%	3 13,6%	
	pT3	13 20,6%	5 31,3%	3 21,4%	5 45,5%		11 28,9%	9 25,7%	4 19%	2 20%		20 23,3%	6 33,3%		18 22%	8 36,4	
	pT4	39 61,9%	7 43,8%	7 50%	5 45,5%		21 55,3%	20 57,1%	13 61,9%	4 40%		49 57%	9 50%		48 58,5%	10 45,5%	
pN evre	pN0	18 28,6%	4 25%	2 14,3%	4 36,4%	>0,05	6 15,8%	12 34,3%	7 33,3%	3 30%	>0,05	25 29,1%	3 16,7%	>0,05	24 29,3%	4 18,2%	>0,05
	pN1	13 20,6%	5 31,3%	3 21,4%	3 27,3%		9 23,7%	7 20%	5 23,8%	3 30%		19 22,1%	5 27,8%		17 22,7%	7 31,8%	
	pN2	7 11,1%	4 25%	5 35,7%	1 9,1%		5 13,2%	7 20%	4 19%	1 10%		16 18,6%	1 5,6%		13 15,9%	4 18,2%	
	pN3	25 39,7%	3 18,8%	4 28,6%	3 27,3%		18 47,4%	9 25,7%	5 23,8%	3 30%		26 30,2%	9 50%		8 34,1%	7 31,2%	
M evre	M0	44 69,8%	11 68,8%	10 71,4%	7 63,6%	>0,05	26 68,4%	24 68,6%	16 76,2%	6 60%	>0,05	62 72,1%	10 55,6%	>0,05	55 67,1%	17 77,3%	>0,05
	M1	19 30,2%	5 31,2%	4 28,6%	4 36,4%		12 31,6%	11 31,4%	5 23,8%	4 40%		24 27,9%	8 45,4%		27 32,9%	5 22,7%	

4.4.2. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi

PD-L1 boyanma skoru ile perinöral invazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,05$). PD-L1 ekspresyonu saptanmayan olgularda daha yüksek oranda perinöral invazyon varlığı görülmüştür. Vakalara ait ayrıntılı veriler Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skorunun perinöral invazyon ile ilişkisi

			PD-L1				p
			Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
Perinöral invazyon	Yok	n	8	6	3	4	0,05
		Perinöral invazyon	38,1%	28,6%	14,3%	19,0%	
		PD-L1	12,7%	37,5%	21,4%	36,4%	
	Var	n	55	10	11	7	
		Perinöral invazyon	66,3%	12,0%	13,3%	8,4%	
		PD-L1	87,3%	62,5%	78,6%	63,6%	
Total		n	63	16	14	11	
		Perinöral invazyon	60,6%	15,4%	13,5%	10,6%	
		PD-L1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

PD-L1 boyanma skoru ile peritümöral lenfositik yanıt varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,004$). Peritümöral lenfositik yanıt saptanmayan olguların büyük çoğunluğunda PD-L1 negatif bulunmuştur. PD-L1 pozitif vakalarda boyanma şiddeti ile peritümöral lenfositik yanıt şiddeti benzer bir dağılım göstermektedir. Vakalara ait ayrıntılı veriler Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile peritümöral lenfositik yanıtın ilişkisi

			PD-L1				p
			Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
Peritümöral lenfositik yanıt	Yok	n	26	4	1	1	0,004
		Peritümöral lenfositik yanıt	81,3%	12,5%	3,1%	3,1%	
		PD-L1	41,3%	25,0%	7,1%	9,1%	
	Hafif	n	21	6	6	5	
		Peritümöral lenfositik yanıt	55,3%	15,8%	15,8%	13,2%	
		PD-L1	33,3%	37,5%	42,9%	45,5%	
	Şiddetli	n	16	6	7	5	
		Peritümöral lenfositik yanıt	47,1%	17,6%	20,6%	14,7%	
		PD-L1	25,4%	37,5%	50,0%	45,5%	
Total		n	63	16	14	11	
		Peritümöral lenfositik yanıt	60,6%	15,4%	13,5%	10,6%	
		PD-L1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

PD-L1 boyanma skoru ile MSH2-MSH6 durumu arasındaki ilişkiye bakıldığında MSH2-MSH6 instabil vakaların büyük çoğunluğunda PD-L1 boyanması görülmemiştir (**p=0,04**) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile MSH2-MSH6 durumunun ilişkisi

			PD-L1				p
			Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
MSH2-MSH6	Stabil	n	48	14	14	10	0,04
		MSH2-MSH6	55,8%	16,3%	16,3%	11,6%	
		PD-L1	76,2%	87,5%	100,0%	90,9%	
	İnstabil	n	15	2	0	1	
		MSH2-MSH6	83,3%	11,1%	0,0%	5,6%	
		PD-L1	23,8%	12,5%	0,0%	9,1%	
Total		n	63	16	14	11	
		MSH2-MSH6	60,6%	15,4%	13,5%	10,6%	
		PD-L1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile PMS2 durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,04**). PMS2 instabil vakaların %87'si PD-L1 ile de negatiftir. Vakalara ait ayrıntılı veriler tablo 4.10'de gösterilmiştir.

Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile MLH-1 stabilite-instabilitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.

Tablo 4.10. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile PMS2 durumunun ilişkisi

			PD-L1 skor				p
			Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
PMS2	Stabil	n	49	15	14	10	0,04
		PMS2	55,7%	17,0%	15,9%	11,4%	
		PD-L1 skor	77,8%	93,8%	100,0%	90,9%	
	İnstabil	n	14	1	0	1	
		PMS2	87,5%	6,3%	0,0%	6,3%	
		PD-L1 skor	22,2%	6,3%	0,0%	9,1%	
Total		n	63	16	14	11	
		PMS2	60,6%	15,4%	13,5%	10,6%	
		PD-L1 skor	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür (**p=0,000**). Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 negatif olguların %80'inde tümör hücrelerinde de PD-L1 ekspresyonu da görülmemiştir. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 negatif olgularda, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği görüldüğü durumlarda ise olguların neredeyse tamamı hafif derecede skorlanmıştır. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorunun hafif derecede olduğu vakalarda, olguların yarısında tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği görülmemiştir. Olguların kalan yarısında ise tümör hücrelerinde PD-L1 pozitiflik oranı hafiften şiddetliye doğru azalmaktadır. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skorunun şiddetli olduğu durumlarda vakaların büyük çoğunluğunda tümör hücrelerinde, eşit oranda orta ve şiddetli derecede PD-L1 pozitifliği görülmektedir. Vakalara ait ayrıntılı veriler Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skorlaması ile peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ilişkisi

			Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru				p
			Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru	Yok	n	46	10	1	0	0,000
		İnflamatuvar hücre PD-L1 skor	80,7%	17,5%	1,8%	0,0%	
		Tümör PD-L1	73,0%	62,5%	7,1%	0,0%	
	Hafif	n	12	6	4	2	
		İnflamatuvar hücre PD-L1 skor	50,0%	25,0%	16,7%	8,3%	
		Tümör PD-L1	19,0%	37,5%	28,6%	18,2%	
	Şiddetli	n	5	0	9	9	
		İnflamatuvar hücre PD-L1 skor	21,7%	0,0%	39,1%	39,1%	
		Tümör PD-L1	7,9%	0,0%	64,3%	81,8%	
Total		n	63	16	14	11	
		İnflamatuvar hücre PD-L1 skor	60,6%	15,4%	13,5%	10,6%	
		Tümör PD-L1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

PD-L1 boyanma skoru ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör yerleşimi, patolojik T evre, patolojik N evre, M evre, tümör diferansiasyonu, Lauren sınıflaması, Bormann sınıflaması, WHO 2019 Tümör tipi, lenfovasküler invazyon, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, intratümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, PPI kullanımı, nüks gelişimi ve PD-L2 boyanma skoru arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.4.3. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 değerlendirme sonuçları

Vakaların 57 tanesinde peritümöral inflamatuvar hücrelerde boyanma görülmezken, 24 tanesinde %1 (hafif derecede), 23 tanesinde %2-5 (şiddetli derecede) PD-L1 pozitifliği saptanmıştır.

4.4.4. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi

Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile pN evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,007$). Peritümöral inflamatuvar hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu göstermeyen vakalar en yüksek oranda pN3 evresinde görülmektedir. Peritümöral inflamatuvar hücrelerinde PD-L1 skoru orta ve şiddetli derecede olan vakalar en yüksek oranda pN0 evresinde izlenmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.12. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile pN evre ilişkisi

			pN Evre				p
			pN0	pN1	pN2	pN3	
Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması	Yok	n	10	13	10	24	0,007
		PD-L1	17,5%	22,8%	17,5%	42,1%	
		pN Evre	35,7%	54,2%	58,8%	68,6%	
	Hafif	n	8	5	4	7	
		PD-L1	33,3%	20,8%	16,7%	29,2%	
		pN Evre	28,6%	20,8%	23,5%	20,0%	
	Orta	n	7	3	2	3	
		PD-L1	46,7%	20,0%	13,3%	20,0%	
		pN Evre	25,0%	12,5%	11,8%	8,6%	
	Şiddetli	n	3	3	1	1	
		PD-L1	37,5%	37,5%	12,5%	12,5%	
		pN Evre	10,7%	12,5%	5,9%	2,9%	
Total		n	28	24	17	35	
		PD-L1	26,9%	23,1%	16,3%	33,7%	
		pN Evre	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,02$). En yüksek oranlarda perinöral invazyon peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu olmayan veya

hafif derecede skorlanan vakalarda görülmüştür. Orta ve şiddetli derecede skorlanan vakalarda perinöral invazyon görülme olasılığı daha düşük olup benzer aralıktadır (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile perinöral invazyon ilişkisi

			Perinöral invazyon		p
			Yok	Var	
Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması	Yok	n	8	49	0,02
		PD-L1	14,0%	86,0%	
		Perinöral invazyon	38,1%	59,0%	
	Hafif	n	4	20	
		PD-L1	16,7%	83,3%	
		Perinöral invazyon	19,0%	24,1%	
	Orta	n	6	9	
		PD-L1	40,0%	60,0%	
		Perinöral invazyon	28,6%	10,8%	
	Şiddetli	n	3	5	
		PD-L1	37,5%	62,5%	
		Perinöral invazyon	14,3%	6,0%	
Total		n	21	83	
		PD-L1	20,2%	79,8%	
		Perinöral invazyon	100,0%	100,0%	

Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile *Helicobacter Pylori* varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,004**). En yüksek oranda *H. Pylori* peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu olmayan vakalarda görülmüş ve bu oran hafif derecededen şiddetli dereceye doğru skorlanan vakalarda giderek azalmıştır. Şiddetli derecede skorlanan vakaların hiçbirinde *H. Pylori* varlığı görülmemiştir.

Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (**p=0,046**). En yüksek oranda MSH2-MSH6 instabilitesi peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanması olmayan vakalarda görülmüş ve bu oran hafif derecededen şiddetli dereceye doğru skorlanan vakalarda giderek azalmıştır. Şiddetli derecede skorlanan vakaların hiçbirinde MSH2-MSH6 instabilitesi görülmemiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skorlaması ile MSH2-MSH6 durumu arasındaki ilişki

			MSH2-MSH6		P
			Stabil	İnstabil	
Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması	Yok	n	44	13	0,046
		PD-L1	77,2%	22,8%	
		MSH2-MSH6	51,2%	72,2%	
	Hafif	n	20	4	
		PD-L1	83,3%	16,7%	
		MSH2-MSH6	23,3%	22,2%	
	Orta	n	14	1	
		PD-L1	93,3%	6,7%	
		MSH2-MSH6	16,3%	5,6%	
	Şiddetli	n	8	0	
		PD-L1	100,0%	0,0%	
		MSH2-MSH6	9,3%	0,0%	
Total		n	86	18	
		PD-L1	82,7%	17,3%	
		MSH2-MSH6	100,0%	100,0%	

Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör çapı, patolojik T evre, M evre, tümör diferansiasyonu, Lauren sınıflaması, Bormann sınıflaması, WHO 2019 Tümör tipi, lenfovasküler invazyon, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, PPI kullanımı, PD-L2 boyanma skoru ve PMS2-MLH1 durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

4.4.5. Tümör hücrelerinde PD-L2 değerlendirilme sonuçları

Vakaların 38 (%36,5) tanesinde herhangi bir şiddette PD-L2 boyanması görülmezken 66 (%63,5) olguda PD-L2 pozitifliği saptanmıştır. 35 (%33,7) olguda $\leq$ %2 (hafif derecede), 21 (%20,2) olguda %3-5 (orta derecede), 10 (%9,6) olguda ise $\geq$ %6 (şiddetli derecede) PD-L2 pozitifliği izlenmiştir.

Vakaların boyanma paterni incelendiğinde 16 (%24,2) vaka sitoplazmik, 24 (%36,4) vaka membranöz, 26 (%39,4) vaka ise sitoplazmik + membranöz boyanma göstermektedir. Vakaların boyanma şiddeti değerlendirildiğinde 21 (%31,8) vaka hafif şiddette, 23 (%34,8) vaka orta şiddette, 22 vaka (%33,3) şiddetli pozitiflik göstermiştir.

4.4.6. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi

Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,008$). PD-L2 boyanması göstermeyen tümörlerde en sık >5 cm tümör çapı görülmüştür. Hafif ve orta derecede skorlanma gösteren PD-L2 pozitif vakalarda, en sık 2-5 cm, ikinci sıklıkla >5 cm çaplı tümörler izlenmiştir. Şiddetli derecede skorlanma gösteren vakalarda ise eşit oranda 2-5 cm ve >5 cm çaplı tümörler görülmüş, daha az sıklıkta ise <2 cm çaplı tümörler izlenmiştir.

Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru ile erken ve ileri evre mide kanserleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,016$). İzlenen az sayıda erken evre mide kanserinde PD-L2 boyanma skoru en yüksek olarak eşit oranlarda hafif ve şiddetli derecede olup 2. sıklıkta orta derecede izlenmiştir. İleri evre mide kanserlerinde ise PD-L2 pozitiflik oranları, PD-L2 boyanması olmayan vakalardan, hafif, orta ve şiddetli derecede skorlanan vakalara doğru azalmaktadır (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skorlaması ile erken ve ileri evre mide kanserleri arasındaki ilişki

	Erken ve İleri Evre Mide Kanseri				p
			Erken evre	İleri evre	
PD-L2	Yok	n	1	37	0,016
		PD-L2	2,6%	97,4%	
		Erken-İleri Evre	11,1%	38,9%	
	Hafif	n	3	32	
		PD-L2	8,6%	91,4%	
		Erken-İleri Evre	33,3%	33,7%	
	Orta	n	2	19	
		PD-L2	9,5%	90,5%	
		Erken-İleri Evre	22,2%	20,0%	
	Şiddetli	n	3	7	
		PD-L2	30,0%	70,0%	
		Erken-İleri Evre	33,3%	7,4%	
Total	n	9	95		
	PD-L2	8,7%	91,3%		
	Erken-İleri Evre	100,0%	100,0%		

Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru ile MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür (**p=0,012** ve **p=0,000**). MSH2-MSH6 stabil vakalar, PD-L2 pozitif boyanan vakalar arasında en sık hafif boyanma skoru göstermekte olup, onu orta ve şiddetli derecede skorlanan vakalar takip etmektedir. MSH2-MSH6 stabil vakaların %30,2'si PD-L2 negatif vakalardır. MSH2-MSH6 instabil vakalarda ise en yüksek oranda PD-L2 negatifliği görülmüş ve onu eşit derecede hafif ve orta derecede skorlanan PD-L2 pozitifliği takip etmiştir. Bu grupta şiddetli derecede skorlanan vaka izlenmemiştir. PMS2-MLH1 stabil vakalar, PD-L2 pozitif boyanan vakalar arasında en sık hafif boyanma skoru göstermekte olup, onu orta ve şiddetli derecede skorlanan vakalar takip etmektedir. PMS2-MLH1 stabil vakaların %25,6'sı PD-L2 negatif vakalardır. PMS2-MLH1 instabil vakalarda ise çok yüksek oranda PD-L2 negatifliği görülmüş ve onu hafif derecede skorlanan PD-L2 pozitifliği takip etmiştir. Bu grupta şiddetli derecede skorlanan vaka izlenmemiştir (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skorlaması ile MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu arasındaki ilişki

			MSH2-MSH6		p		PMS2-MLH1		p
			Stabil	İnstabil			Stabil	İnstabil	
PD-L2	Yok	n	26	12	0,012	n	21	17	0,000
		PD-L2	68,4%	31,6%		PD-L2	55,3%	44,7%	
		MSH2-MSH6	30,2%	66,7%		PMS2-MLH1	25,6%	77,3%	
	Hafif	n	32	3		n	31	4	
		PD-L2	91,4%	8,6%		PD-L2	%88,6	11,4%	
		MSH2-MSH6	37,2%	16,7%		PMS2-MLH1	37,8%	18,2%	
	Orta	n	18	3		n	20	1	
		PD-L2	85,7%	14,3%		PD-L2	95,2%	4,8%	
		MSH2-MSH6	20,9%	16,7%		PMS2-MLH1	24,4%	4,5%	
	Şiddetli	n	10	0		n	10	0	
		PD-L2	100,0%	0,0%		PD-L2	100,0%	0,0%	
		MSH2-MSH6	11,6%	0,0%		PMS2-MLH1	12,2%	0,0%	
Total		n	86	18		n	82	22	
		PD-L2	82,7%	17,3%		PD-L2	78,8%	21,2%	
		MSH2-MSH6	100,0%	100,0%		PMS2-MLH1	100,0%	100,0%	

PD-L2 boyanma skoru ile yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, patolojik T evre, patolojik N evre, M evre, tümör diferansiasyonu, Lauren sınıflaması, Bormann sınıflaması, WHO 2019 Tümör tipi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, ülserasyon, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, PPI kullanımı ve nüks durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.4.7. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 değerlendirme sonuçları

Vakaların 86 (%82,7) tanesi MSH2 stabil, 18 (%17,3) tanesi ise MSH2 instabil bulunmuştur. 89 (%85,6) vaka MSH6 stabil, 15 (%14,4) vaka MSH6 instabildir. MSH2-MSH6 birlikte değerlendirildiğinde ise 86 (%82,7) vaka MSH2-MSH6 stabil, 18 (%17,3) vaka MSH2-MSH6 instabil izlenmiştir.

Vakaların 82 (%78,8) tanesi MLH1 stabil, 22 (%21,2) tanesi ise MLH1 instabil bulunmuştur. 88 (%84,6) vaka PMS2 stabil, 16 (%15,4) vaka PMS2 instabildir. MLH1-PMS2 birlikte değerlendirildiğinde ise 82 (%78,8) vaka MSH2-MSH6 stabil, 22 (%21,2) vaka MSH2-MSH6 instabil izlenmiştir.

4.4.8. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 boyanma değerlerinin klinik ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi

MSH2-MSH6 ekspresyon durumu ile PMS2-MLH1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,000$). MSH2-MSH6 stabil vakaların %88,4'ünde PMS2-MLH1 de stabil bulunmuştur. MSH2-MSH6 instabil vakaların %33,3'ü PMS2-MLH1 stabil, %66,7'si ise PMS2-MLH1 instabildir. MSH2-MSH6 stabil vakaların %11,6'sında ise PMS2-MLH1 instabildir (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 durumu ile PMS2-MLH1 durumu arasındaki ilişki

			PMS2-MLH1		p
			Stabil	İnstabil	
MSH2-MSH6	Stabil	n	76	10	0,000
		MSH2-MSH6	88,4%	11,6%	
		PMS2-MLH1	92,7%	45,5%	
	İnstabil	n	6	12	
		MSH2-MSH6	33,3%	66,7%	
		PMS2-MLH1	7,3%	54,5%	
Total	n		82	22	
	MSH2_MSH6		78,8%	21,2%	
	PMS2_MLH1		100,0%	100,0%	

MSH2-MSH6 ekspresyon durumu ile tümör yerleşimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,005$). MSH2-MSH6 stabil vakalar yüksek oranda antrum yerleşimli olup, ikinci sıklıkta korpus ve üçüncü sıklıkta kardiya yerleşimlidir. MSH2-MSH6 instabil vakalar ise en çok eşit sıklıkta korpus ve kardiya daha az oranda ise antrum yerleşimli izlenmiştir.

PMS2-MLH1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,011$). PMS2-MLH1 instabil tümörlerde tümör çapının daha yüksek olduğu görülmüştür.

MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu ile ülserasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür ($p=0,021$ ve $p=0,028$). Günlük pratikte prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir bir veri olmasa da instabil vakaların daha yüksek oranda ülserasyon içerdiği görülmüştür.

MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu ile yaş, cinsiyet, patolojik T evre, patolojik N evre, M evre, tümör diferansiasyonu, Lauren sınıflaması, Bormann sınıflaması, WHO 2019 Tümör tipi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, H. Pylori ve PPI kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 ekspresyon durumu ile nüks durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.4.9. Hastaların genel sağkalım ve hastalıksız sağkalımının, klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi

Çalışmaya dahil edilen hastaların 41 (%39,4) tanesi halen hayatta olup 63 (%60,6) hasta kaybedilmiştir. Tüm hastaların ortalama genel sağkalım süresi $30,08 \pm 27,20$ ay (süre dağılımı: 0-118 ay; ortanca değer: 23,5 ay) 'dır.

Olguların 79 (%76) tanesinde nüks görülmemiş olup 76 (%24) olguda nüks izlenmiştir. Nüks gelişen olgularda ortalama $13,16 \pm 13,71$ ayda (süre dağılımı: 2-73 ay; ortanca değer: 8 ay) nüks gelişimi izlenmiştir.

Olgularda; ortalama hastalıksız sağ kalım süresi $28,34 \pm 27,80$ ay (süre dağılımı: 0-118 ay; ortanca değer: 17,5 ay)'dır.

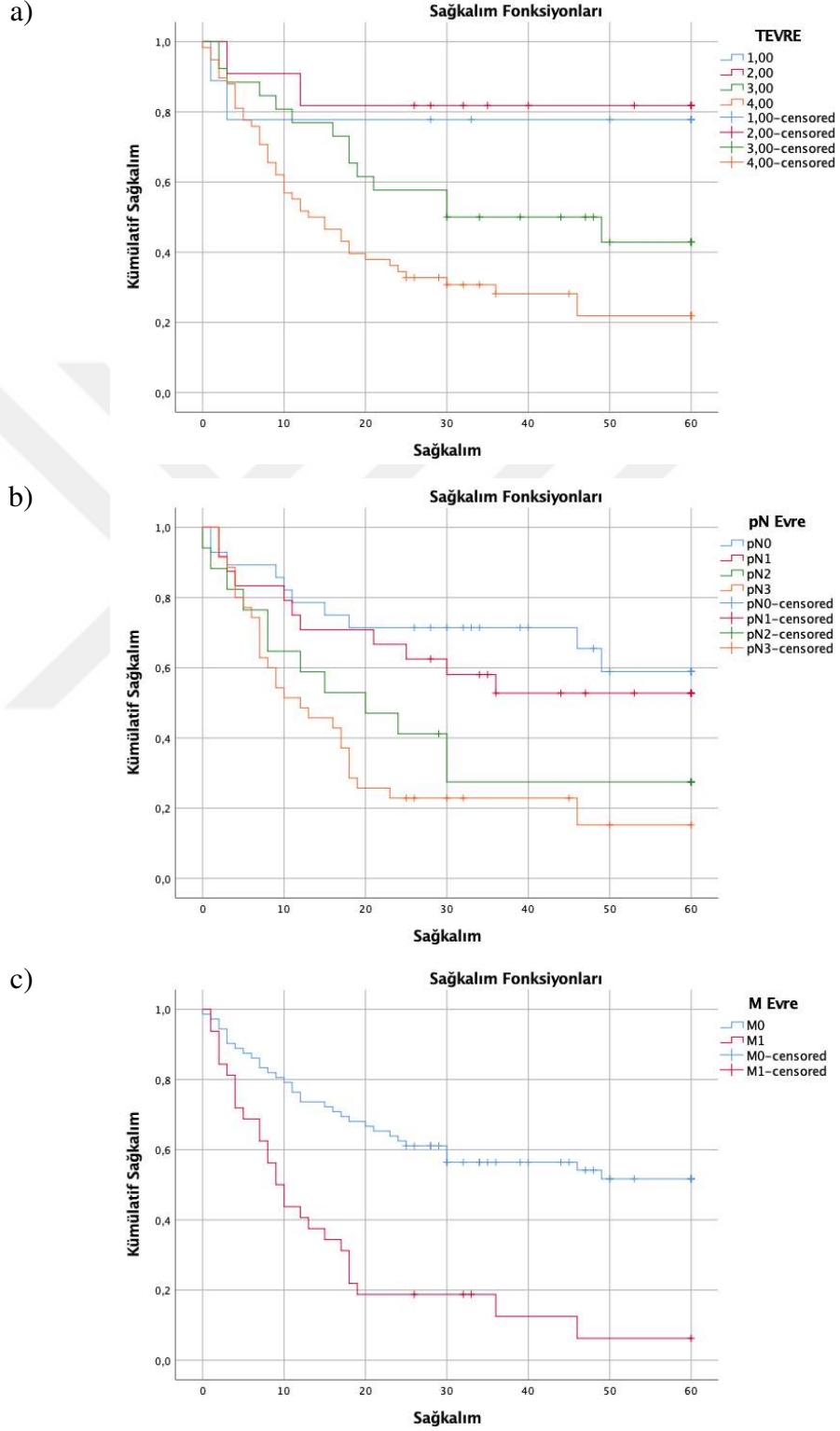
Hastaların genel sağkalım oranlarına bakıldığında, 6 aylık sağkalım %81,7, 12 aylık sağkalım %66,3, 18 aylık sağkalım %57,7, 24 aylık sağkalım %50, 36 aylık sağkalım %31,7 ve 60 aylık sağkalım %18,3'dür.

4.4.10. Histomorfolojik bulguların sağkalım düzeyi ile ilişkisi

Histomorfolojik bulguların, genel sağ kalım ile ilişkileri Log Rank testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.18'de özetlenmiştir. İstatistiksel analizlerde anlamlı sonuç veren özellikler, Kaplan-Meier grafikleri ile Şekil 4.1-4.3'de gösterilmiştir.

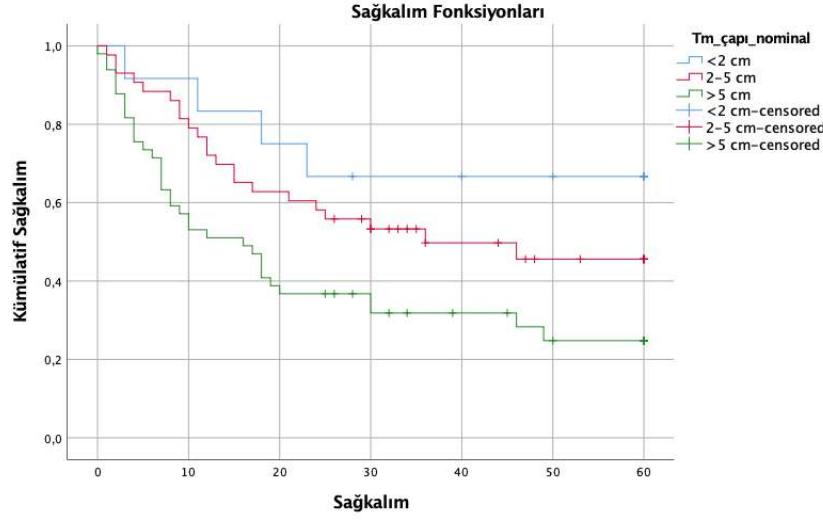
pT evre, pN evre ve M evre ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,001$, $p=0,001$ ve $p=0,000$). pT1 ve pT2 vakalarda sağkalım benzer oranlarda ve en yüksek seviyede olup diğer evreler için, evre arttıkça genel sağkalım süresi

azalmaktadır (Şekil 4.1a). pN evre arttıkça genel sağkalım süresi azalmaktadır (Şekil 4.1b). Metastaz görülmeyen olgularda genel sağkalım metastaz görülen olgulara göre belirgin olarak daha fazladır (Şekil 4.1c).



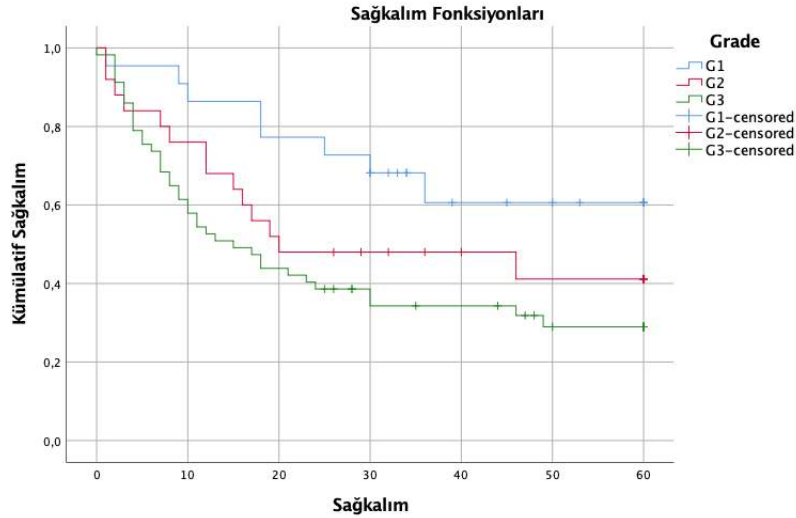
Şekil 4.1. a) pT evre ile genel sağkalım ilişkisi, b) pN evre ile genel sağkalım ilişkisi, c) M evre ile genel sağkalım ilişkisi

Tümör çapı ile genel sağ kalım arasında tümör çapı arttıkça genel sağkalım süresinin azaldığı istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,011$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Tümör çapı ile genel sağkalım ilişkisi

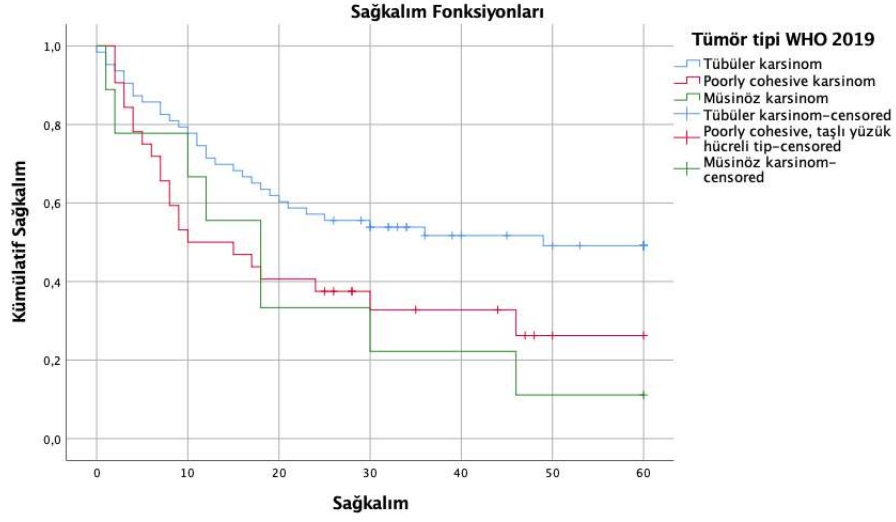
Diferansiasyon derecesi ile genel sağ kalım arasında olguların grade'i arttıkça sağkalım süresinin kısaldığı istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,026$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Diferansiasyon derecesi ile genel sağkalım ilişkisi

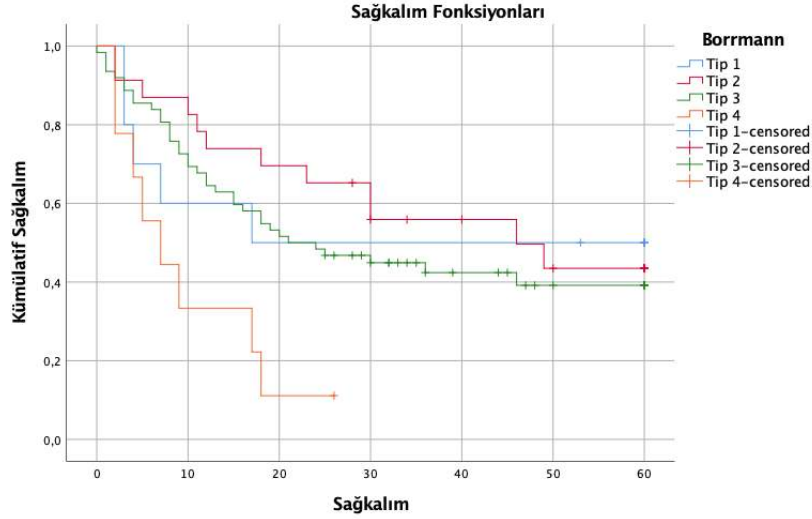
WHO-2019 sınıflamasına göre tümörlerin histolojik tipi ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,025$). Tübüler karsinomlar daha uzun sağkalım süresine sahiptir. “Poorly” koheziv karsinom ve müsinöz karsinomların sağkalım

verileri birbirine yakın olup müsinöz karsinomlarda sağkalım süresi daha düşük saptanmıştır (Şekil 4.4).



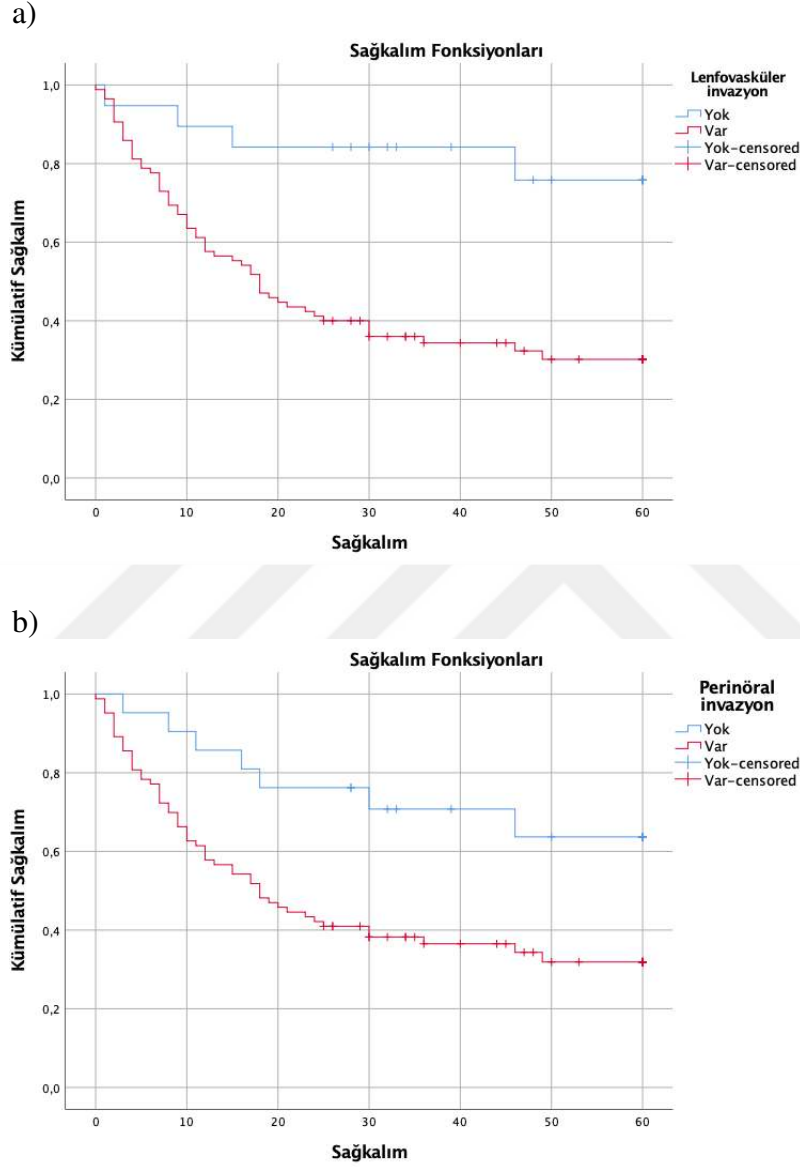
Şekil 4.4. Tümör histolojik tipi ile genel sağkalım ilişkisi

Bormann sınıflaması ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,020$). Bormann Tip 4 vakalar diffüz infiltratif olduğu için genel sağkalım süreleri oldukça düşük görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Bormann klasifikasyonu ile genel sağkalım ilişkisi

Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon ile genel sağ kalım arasında lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon göstermeyen vakalarda genel sağkalım oranlarının belirgin olarak daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,001$ ve $p=0,008$) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. a) Lenfovasküler invazyon ile genel sağkalım ilişkisi, b) Perinöral invazyon ile genel sağkalım ilişkisi

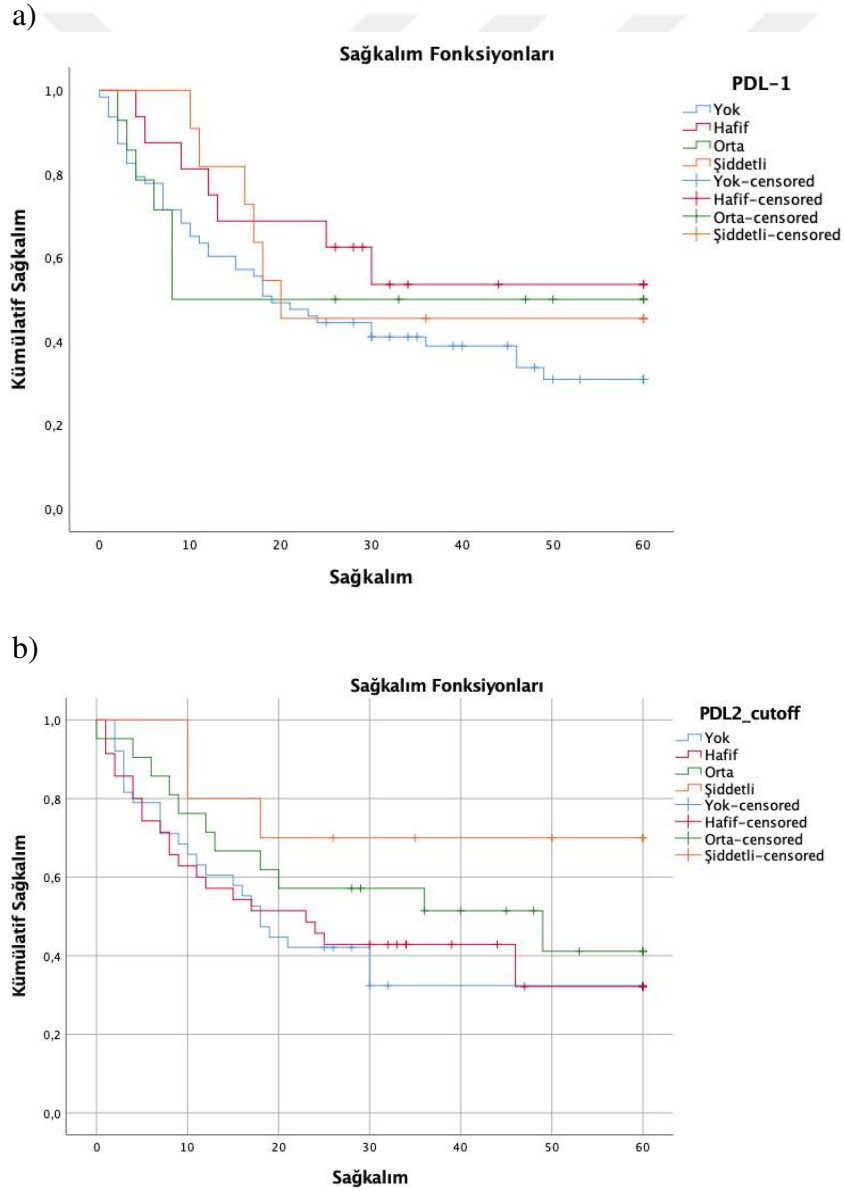
Lauren sınıflaması, tümör tomurcuklanması, desmoplazi, intratümöral lenfositik yanıt, peritümöral lenfositik yanıt, intestinal metaplazi, *Helicobacter Pylori*, PPI kullanımı ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Histolojik parametrelerin sağkalım verileri Tablo 4.18’de özetlenmiştir.

Tablo 4.18. Klinik ve histopatolojik verilerin sağkalım verileri ve ortalama sağkalım süreleri ile ilişkisi

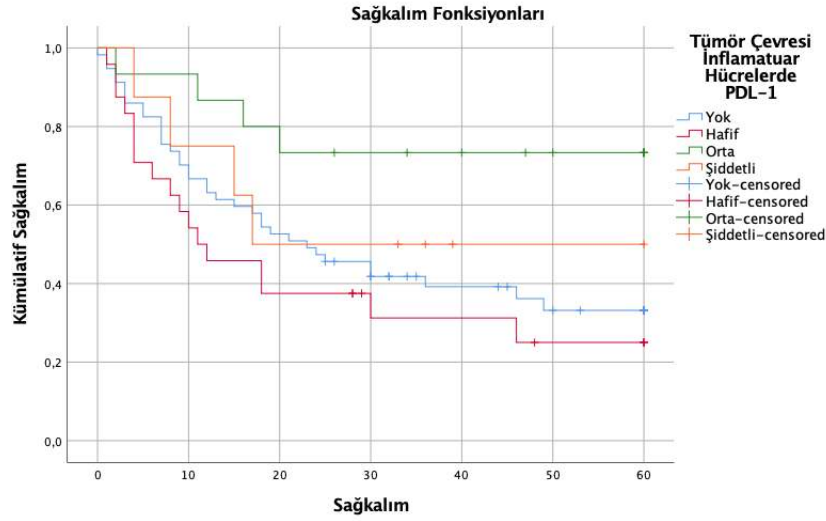
		Total N	N (Ölü)	12 Aylık Sağkalım (%)	36 Aylık Sağkalım (%)	60 Aylık Sağkalım (%)	Ortalama Sağkalım Süresi	P Değeri (Log Rank)
Tümör yerleşimi	Antrum	51	26	70	52	45	36,29±3,44	0,098
	Korpus	33	19	57	45	39	31,03±4,41	
	Kardiya	20	16	70	18	18	21,85±4,49	
Tümör Çapı	<2 cm	12	4	83	66	66	44,58±6,41	0,011
	2-5 cm	43	22	72	49	45	36,29±3,65	
	>5 cm	49	35	51	31	24	24,81±3,73	
pT Evre	pT1	9	2	77	77	77	47,11±8,03	0,001
	pT2	11	2	81	81	81	50,45±6,13	
	pT3	26	14	76	50	42	36,36±4,57	
	pT4	58	43	51	28	21	24,03±2,94	
pN Evre	pN0	28	10	71	71	58	43,73±4,37	0,001
	pN1	24	11	70	52	52	38,64±4,93	
	pN2	17	12	58	27	27	26,23±5,56	
	pN3	35	28	48	22	15	20,27±3,46	
M Evre	M0	72	33	83	56	51	38,76±2,84	0,000
	M1	32	28	40	12	6	15,93±3,01	
Grade	G1	22	8	86	60	60	44,13±4,59	0,026
	G2	25	14	68	48	41	33,16±4,95	
	G3	57	39	52	34	29	26,59±3,18	
Lauren	İntestinal	57	30	70	48	44	35,09±3,24	0,176
	Diffüz	36	25	52	35	24	26,10±3,95	
	Mikst	11	6	63	45	45	33,45±7,50	
Bormann	Tip 1	10	5	60	50	50	33,40±8,49	0,020
	Tip 2	23	12	55	55	43	38,39±4,75	
	Tip 3	62	36	64	42	39	31,93±3,12	
	Tip 4	9	8	33	11	11	10,00±2,64	
Tümör Tipi	Tübüler	63	31	71	51	49	36,74±3,09	0,025
	“Poorly” Koheziv	32	22	50	32	26	25,26±4,24	
	Müsinöz	9	8	55	22	11	21,88±6,28	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	19	4	89	84	75	50,66±4,38	0,001
	Var	85	57	57	34	30	27,72±2,58	
Perinöral İnvazyon	Yok	21	7	85	70	63	45,75±4,60	0,008
	Var	83	54	57	36	31	28,37±2,66	
Tümör Tomurcuklanma Skoru	Düşük	9	3	66	66	66	42,33±8,36	0,230
	Orta	17	9	88	52	42	39,24±5,02	
	Yüksek	9	7	66	22	22	26,33±6,89	
Desmoplazi	Yok	23	13	60	47	41	32,78±5,19	0,966
	Hafif	52	30	59	42	42	31,06±3,53	
	Şiddetli	29	18	72	43	33	33,2±4,24	
İntratümöral Lenfositik Yanıt	Hafif	50	31	68	38	32	30,92±3,32	0,699
	Şiddetli	54	30	59	48	43	32,64±3,49	
Peritümöral Lenfositik Yanıt	Yok	32	20	65	43	31	31,22±4,20	0,700
	Hafif	38	20	71	48	43	34,48±4,03	
	Şiddetli	34	21	52	37	37	24,32±4,26	
İntestinal Metaplazi	Yok	20	11	60	50	33	31,81±5,63	0,976
	Var	84	50	64	42	38	31,83±2,67	
Helicobacter Pylori	Yok	80	47	63	42	38	31,61±2,76	0,854
	Var	24	14	62	45	39	32,92±5,01	
PPI Kullanımı	Yok	82	50	64	41	35	31,26±2,67	0,538
	Var	22	11	59	50	50	34,36±5,53	

4.4.11. Tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 boyanma skorlamasının sağkalım düzeyi ile ilişkisi

PD-L1 ve PD-L2 skorumaya sonuçlarına göre, genel sağkalım verileri Log Rank testi ile değeriendirildiğinde, tümör PD-L1 ve PD-L2 skorumaları ve genel sağ kalım oranları arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır. Öte yandan, peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorumaları ve genel sağ kalım oranları arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,048$). Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanması olmayan veya hafif derecede olan vakalarda, orta ve şiddetli derecede boyanan vakalara göre genel sağkalım süreleri daha düşük olarak bulunmuştur (Şekil 4.7) (Tablo 4.19).



c)



Şekil 4.7. a) Tümör hücrelerinde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi, b)PD-L2 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi, c) Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım ilişkisi

Tablo 4.19. Mide adenokarsinom hastalarına ait tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 skorlaması ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması ile genel sağkalım ile sağkalım istatistikleri

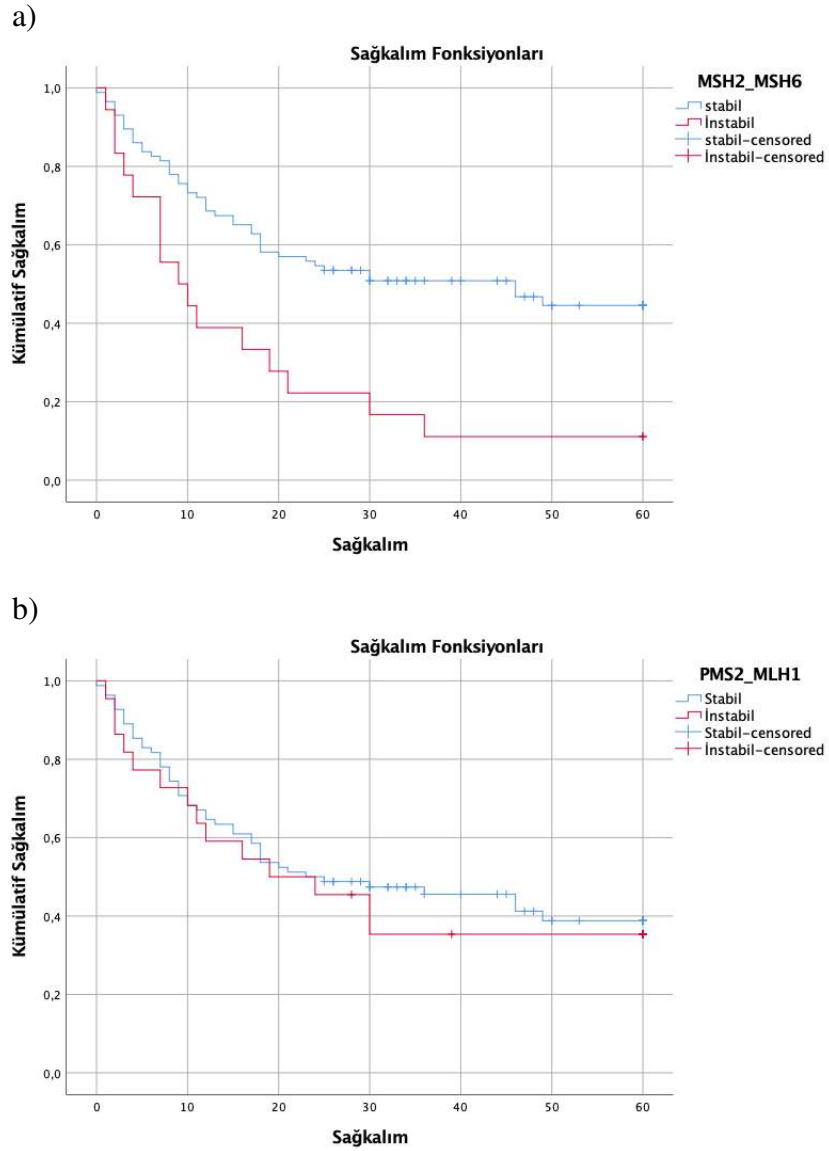
		Total N	N (Ölü)	12 Aylık Sağkalım %	36 Aylık Sağkalım %	60 Aylık Sağkalım %	Ortalama Sağkalım Süresi (Ay)	P Değeri (Log-rank)
Tümör hücrelerinde PD-L1 skorlaması	Yok	63	41	60	38	30	29,20±3,03	0,467
	Hafif	16	7	75	53	53	39,07±6,01	
	Orta	14	7	50	50	50	32,78±7,28	
	Şiddetli	11	6	81	45	45	35,63±6,75	
Tümör hücrelerinde PD-L2 skorlaması	Yok	38	25	60	32	32	27,84±3,87	0,208
	Hafif	35	22	57	43	32	29,47±4,17	
	Orta	21	11	71	51	41	36,06±5,23	
	Şiddetli	10	3	80	70	70	45,80±6,89	
Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 skorlaması	Yok	57	36	63	39	33	30,39±3,17	0,048
	Hafif	24	17	75	53	53	24,41±4,86	
	Orta	15	4	86	73	73	47,26±5,52	
	Şiddetli	8	4	75	50	50	35,50±8,76	

4.4.12. Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumunun sağkalım düzeyi ile ilişkisi

MSH2-MSH6 durumuna göre, genel sağkalım verileri Log Rank testi ile değerlendirildiğinde, MSH2-MSH6 stabilite-instabilitesi ve genel sağ kalım oranları

arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$). MSH2-MSH6 stabil 86 vakadan, 60 ay sonunda sağ kalan 45 (%47,7) vaka görülürken, instabil vakalardan 60 ay sonunda 2 (%11,1) vakanın sağ kaldığı görülmüştür.

Öte yandan PMS2-MLH1 ekspresyonları açısından, genel sağkalım verileri Log Rank testi ile değerlendirildiğinde, PMS2-MLH1 ekspresyon durumu ve genel sağ kalım oranları arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.8) (Tablo 4.20).



Şekil 4.8. Tümör hücrelerinde a) MSH2-MSH6 durumu ile genel sağkalım ilişkisi b) PMS2-MLH1 durumu ile genel sağkalım ilişkisi

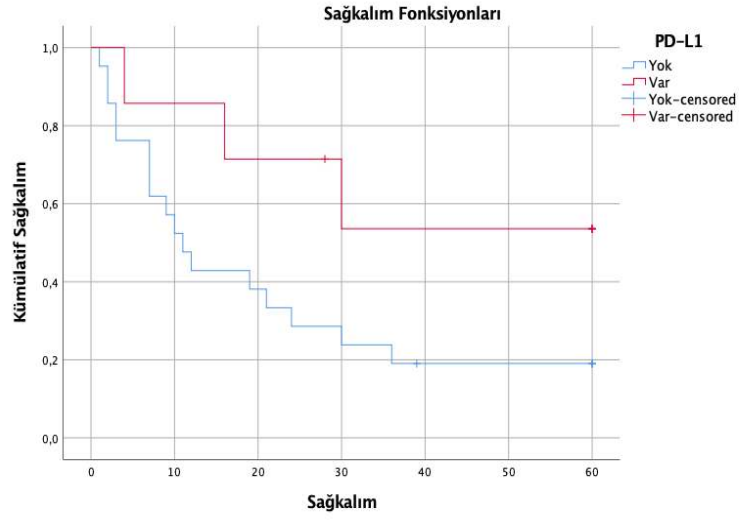
Tablo 4.20. Mide adenokarsinom hastalarına ait MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumları ile sağkalım istatistikleri

		Total N	N (Ölü)	12 Aylık Sağkalım %	36 Aylık Sağkalım %	60 Aylık Sağkalım %	Ortalama Sağkalım Süresi (Ay)	P Değeri (Log-rank)
MSH2-MSH6	Stabil	86	45	68	50	44	35,15±2,66	0,001
	İnstabil	18	16	38	11	11	16,94±4,22	
PMS2-MLH1	Stabil	82	47	64	45	38	32,53±2,72	0,642
	İnstabil	22	14	59	35	35	29,28±5,17	

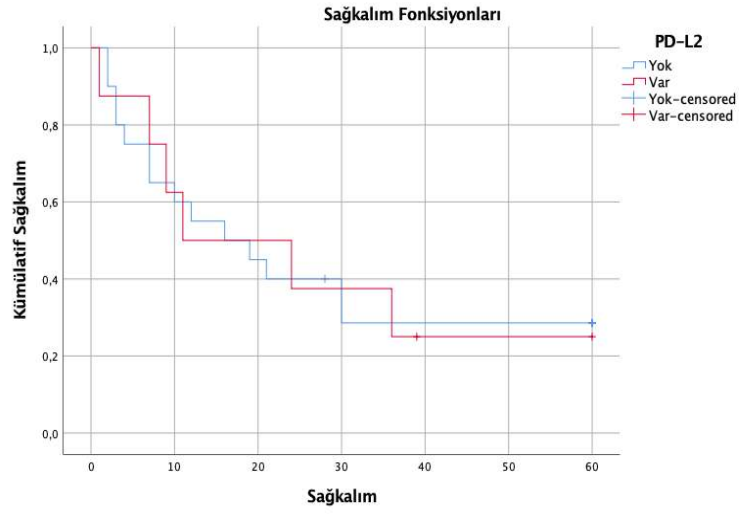
Mikrosatellit instabil vakalarda, tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu değerlendirildiğinde, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gösteren vakaların daha uzun sağkalıma sahip oldukları görülmüş ancak PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Öte yandan mikrosatellit instabil vakalarda, peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde, PD-L1 ekspresyonu gösteren vakalarda sağkalımın anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (**p=0,035**) (Şekil 4.9) (Tablo 4.21).

Mikrosatellit stabil vakalarda ise tümör hücrelerinde PD-L1 ile PD-L2 ekspresyonunun ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi görülmemiştir.

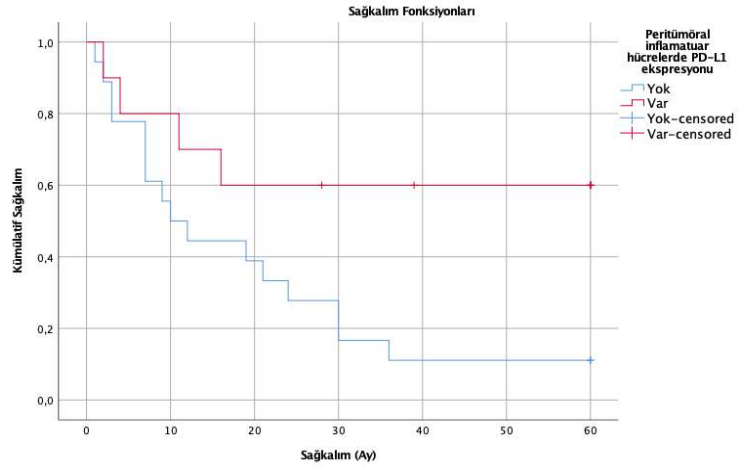
a)



b)



c)



Şekil 4.9. Mikrosatellit instabil vakalarda tümör hücrelerinde a) PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi, b) PD-L2 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi, c) Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi

Tablo 4.21. Mide kanseri vakalarında mikrosatellit durumu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun genel sağkalım ile ilişkisi

			Total N	N (Ölü)	12 Aylık Sağkalım %	36 Aylık Sağkalım %	60 Aylık Sağkalım %	Ortalama Sağkalım Süresi (Ay)	P Değeri (Log- rank)
Mikrosatellit stabil	Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu	Yok	42	24	69,0	49,8	36,0	33,35±3,78	0,634
		Var	34	17	64,7	50,0	50,0	35,26±4,9	
	Tümör hücrelerinde PD-L2 ekspresyonu	Yok	18	11	66,7	37,0	37,0	30,16±5,71	0,480
		Var	58	30	70,7	53,4	44,1	35,34±3,27	
	Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu	Yok	39	20	71,8	49,0	44,1	35,98±3,92	0,56
		Var	37	21	62,2	40,9	40,9	32,22±4,12	
Mikrosatellit instabil	Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu	Yok	21	17	42,9	19,0	19,0	21,14±4,56	0,082
		Var	7	3	85,7	53,6	53,6	40,35±8,69	
	Tümör hücrelerinde PD-L2 ekspresyonu	Yok	20	14	55,0	28,6	28,6	25,87±5,21	0,972
		Var	8	6	50,0	25,0	25,0	26,0±7,82	
	Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu	Yok	18	16	44,4	11,1	11,1	18,94±4,18	0,035
		Var	10	4	70,0	60,0	60,0	39,30±8,09	

TARTIŞMA

Mide kanserleri, dünya genelinde kansere bağlı ölümler arasında 3. sırada, görülme sıklığı açısından ise 5. sırada yer almaktadır¹. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kansere Daire Başkanlığı 2016 verilerine göre ülkemizde mide kanseri en sık görülen kanserler arasında erkeklerde beşinci, kadınlarda altıncı sırada yer almaktadır⁵.

Son yıllarda, antitümör immün terapi çabaları, antitümör immünitesini artırmak için spesifik tümör antijenlerinin tanımlanmasına odaklanmıştır. Bununla birlikte, bu yaklaşım, kanserlerde sunulan gen mutasyonunun ve protein modifikasyonunun karmaşıklığı ve çeşitliliği tarafından sürekli olarak sorgulanmıştır ve bu da sınırlı başarı ile sonuçlanmıştır¹⁴⁸. Son zamanlarda, self toleransa aracılık etmede ve kendine zararı kontrol etmede önemli olduğu iyi bilinen programlanmış ölüm reseptörü-1/programlanmış ölüm ligandı-1 (PD-1/PD-L1) sinyal yolu⁹⁴ dahil olmak üzere bağışıklık kontrol noktası yollarının, bazen kanser hücreleri tarafından bağışıklık sürveyansından kaçınmak için manipüle edilebilir olduğu görülmüştür⁹¹. PD-1'in tümör infiltrate edici lenfositlerde yüksek oranda düzenlenmesi gerçeğinin yanı sıra bazı seminal klinik deneylerle birçok hastada solid kanserlerde PD-L1 ekspresyonu ile hastaların klinik sonuçları arasında korelasyon gözlenmiştir. Bu denemeler ayrıca PD-1/PD-L1 hedefli tedavinin etkinliğini göstermekte ve kanser immünoterapisinde yeni bir çağa girildiğini ortaya koymaktadır⁹².

Günümüzde birçok immün kontrol noktası inhibitörü, hayatta kalma oranlarında önemli artışlar elde etmek için kullanılmaktadır. Melanom için PD-1 antikoru nivolumab ve pembrolizumab, ileri evre melanomlar için CTLA-4'e karşı geliştirilmiş monoklonal antikor ipilimumab, renal kanser ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri için PD-1 antikoru nivolumab, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, şeffaf hücreli renal kanser, mesane kanseri için PD-L1 antikoru atezolizumab klinik kullanıma giren immün kontrol noktası inhibitörü antikorlardır¹⁴⁹.

Çalışmamızda mide adeokarsinom tanısı almış bir hasta grubunda tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonlarının ve tümör çevresi inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun klinik veriler, histopatolojik özellikler ve sağkalım ile ilişkisi incelenmiştir. PD-L1 ile mide karsinom prognozunu incelenen 15 çalışmanın dahil edildiği geniş kapsamlı bir meta-analizde, vakalarda PD-L1 pozitiflik oranı %14,32-

%69,40 (ortalama %41,05) olarak bulunmuştur¹⁵⁰. Bizim çalışmamızda ise literatürle uyumlu olarak çalışmaya dahil edilen olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyon oranı %39,4 bulunmuştur.

Zhang ve ark. Tarafından yapılan, 10 çalışmadan ve 1901 hastadan oluşan geniş bir meta-analizde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun yaş ve cinsiyet ile ilişkili olmadığı görülmüştür¹⁵¹. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumu olarak PD-L1 ekspresyonu ile yaş ve cinsiyet arasında ilişki görülmemiştir.

Böger ve arkadaşları tarafından yapılan 465 hastadan oluşan bir çalışmada, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun, tümör lokalizasyonu, Lauren sınıflaması, pT evre ve M evre ilişkili olduğu, pN evre, lenfatik invazyon, vasküler invazyon, perinöral invazyon, tümör diferansiasyon derecesi ve H. Pylori varlığı ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir¹⁵. Yine 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun pT evre, tümör diferansiasyonu, histolojik tip, lenf nodu metastaz durumu ile ilişkili olduğu, tümör boyutu ve tümör lokalizasyonu ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir¹⁵². Geniş bir meta-analiz, PD-L1 ekspresyonunun tümör boyutu ve lenf nodu metastaz durumu ile korele olduğu, tümör lokalizasyonu, tümör diferansiasyonu, pT evre ile ilişkili olmadığını göstermiştir¹⁵¹. 2017 yılında yapılan bir başka meta-analiz, pT evre, pN evre, venöz invazyon ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun ilişkisini göstermiş ancak tümör yerleşimi, tümör çapı, tümör diferansiasyonu, Lauren sınıflaması, lenfatik invazyon ve perinöral invazyon ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arasında ilişki olmadığını belirtmiştir¹⁵⁰.

Bizim çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile literatürdeki bazı çalışmalar ile uyumlu, bazı çalışmalara karşıt olarak, pT evre, pN evre, M evre, tümör diferansiasyon derecesi, tümör çapı, tümör histolojik tipi, Lauren sınıflaması, lenfovasküler invazyon arasında ilişki bulunamamıştır. Çalışmamızda, literatürdeki bazı çalışmalar ile uyumlu olarak, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında, PD-L1 ekspresyonu gösteren vakalarda perinöral invazyonun daha düşük olduğu bir ilişki görülmektedir^{153,154}.

Literatürde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile histopatolojik parametreler arasındaki ilişkide görülen bu değişikliğe, hasta etnik kökenindeki farklılıklar, tümör

heterojenitesi, immünohistokimyasal incelemede farklı sensitivite ve spesifisite gösteren antikorların kullanılması, bu antikorların pozitifliğinin değerlendirilmesinde araştırmacılar tarafından farklı eşik değerlerinin ve skorlama sistemlerinin uygulanması gibi birçok etkenin neden olabileceği düşünülmüştür.

Tümörü infiltre eden immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu bazı kanserler için prognostik öneme sahiptir^{155,156}. Tümör hücrelerinde ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ifadesi farklı mekanizmalar içerebilir. Bir transkriptome analizinde, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun, endojen onkogenlerin aktivasyonu ve ilgili sinyal yolları gibi tümöre özgü mekanizmalar tarafından yönlendirilebileceğini bildirilmiştir. Bununla birlikte, peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu, önceden var olan bağışıklığı gösteren ekzojen inflamasyon aracılı immün yanıt dahil adaptif mekanizmalar yoluyla up-regüle edilir. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu, kanser immün yanıtı ile güçlü bir ilişkiye sahiptir¹⁵⁷. Birçok tümörde olduğu gibi mide adenokarsinomlarında da, peritümöral inflamatuvar hücrelerin değerlendirmesinin yer aldığı çalışmalar bulunmaktadır.

Çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru literatür ile uyumlu olarak ilişkili bulunmuştur¹⁵⁸.

Geniş bir çalışmada, mide adenokarsinomları çevresindeki inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör lokalizasyonu, Lauren sınıflaması, pN evre, venöz invazyon, tümör diferansiasyon derecesi ve H.pylori varlığı arasında ilişki bulunamamış, pT evre M evre ve lenfatik invazyon ile ilişkili bulunmuştur¹⁵. Çalışmamızda, peritümöral inflamatuvar hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonu ile pN evre, perinöral invazyon ve H. Pylori arasında ilişki saptanmıştır ancak literatüre karşıt olarak tümör pT evre, M evre ve lenfatik invazyon ile ilişki görülmemiştir.

Çalışmamızda doku mikro-array (TMA) metodu kullanmamız literatür ile var olan uyumsuzlukların oluşmasına sebep olarak gösterilebilir. TMA ile her olguya ait 1 mm çapında 2 örnek inceledik. Bu tümör heterojenitesi nedeniyle yanlış negatif sonuçlara yol açmış olabilir. TMA metodu ile daha çok yoğun tümör infiltrasyonunun bulunduğu tümörün merkezi kısımlarını örnekledik fakat tümör mikroçevresini değerlendirmek için

inflamatuvar hücrelerin daha yoğun olduğu stromanın ve tümörün invazyon sınırının incelenebileceği örneklem daha uygun olmaktadır.

Mide adenokarsinomlarında tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun prognoz ile ilişkisi yönünde literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur. 950 hastayı kapsayan bir meta-analizde ve 1901 hastadan oluşan bir başka meta-analizde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gösteren hasta grubunun, PD-L1 ekspresyonu göstermeyen hasta grubuna göre sağkalım süresinin daha kısa olduğu görülmüştür^{151,159}. Ayrıca Asyalı hastalarda yapılan beş araştırmada da PD-L1 ekspresyonunun sağkalıma negatif etkisi olduğu gösterilmiştir^{152,160–163}.

PD-L1 ekspresyonu ile kötü prognoz arasındaki korelasyon için araştırmacılar tarafından ortaya konan bazı olası açıklamalar vardır. İlk olarak, PD-L1 ve PD-1'in bağlanması, aktive edilmiş T hücresi apoptozunu, tükenmesini ve interlökin-10 (IL-10) ekspresyonunu indükleyebilir. İkinci olarak, PD-L1, PD-L1 pozitif tümör hücrelerini CD8+ T hücre aracılı lizisten korumak için moleküler bir kalkan olarak işlev görebilir. Üçüncüsü, PD-L1, mTOR, AKT, S6 ve ERK2'nin fosforilasyonunu down-regüle ederek indüklenmiş Treg'lerin oluşumunu teşvik edebilir ve PTEN'i artırır, böylece efektör T hücrelerinin aktivitesini kısıtlar. PD-L1 ekspresyonunun tümör üzerindeki bu eylemleri, T-hücre toleransını destekleyebilir ve konak bağışıklığından kurtulabilir¹⁵¹.

Bu araştırmaların aksine başka bir çalışmada ise PD-L1 skorunun pozitif olduğu hastalarda, negatif olan hastalara göre daha uzun sağkalım süreleri görülmüştür¹⁶⁴. Böger ve ark. Tarafından yapılan bir başka çalışma yine tedaviden bağımsız olarak PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile pozitif ilişkili olduğunu göstermiştir¹⁵.

Literatürde 2021 yılında yayınlanan bir makalede PD-L1 ekspresyonu %1'den büyük olan vakalar PD-L1 pozitif kabul edilmiştir¹⁶⁵. Çalışmamızda uyguladığımız skorlama sistemi yerine %1'den büyük PD-L1 ekspresyonu gösteren vakaları pozitif kabul ettiğimizde, PD-L1 pozitifliği ile sağkalım arasında, PD-L1 pozitif vakaların belirgin olarak daha uzun sağkalıma sahip oldukları istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür (**p=0,034**).

Ağırlıklı olarak Asya ülkelerinde yapılmış çalışmaları kapsayan bir başka meta-analiz verilerine göre, araştırmaya dahil edilen çalışmaların 11'inde PD-L1 ekspresyonunun düşük sağkalım düzeyi ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu, 3 çalışmada, PD-L1 ekspresyonunun iyi prognoz ve yüksek sağkalım verileri ile ilişkili olduğu ve 1 çalışmada ise PD-L1 ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisinin bulunamadığı saptanmıştır¹⁵⁰.

PD-L1 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olması Chen ve arkadaşlarının Kanseri-Bağışıklık Döngüsü teorisine uygundur¹⁶⁶. Bu teoride, kanser hücreleri apoptoza uğradığında antijenleri serbest bırakır ve bunlar daha sonra onları işleyen ve sunan dendritik hücreler tarafından yakalanır. Dendritik hücreler, kansere özgü antijenlere karşı Teff hücrelerinin tepkilerini hazırlar ve aktive eder. Aktive edilmiş Teff hücreleri daha sonra tümör yatağına sızar, spesifik olarak kanser hücrelerini tanıır, onlara bağlanır ve hedef tümör hücrelerini öldürür. Kanseri hastalarında, Kanseri-Bağışıklık Döngüsü optimal olarak çalışmaz, bunun nedenlerinden biri veya en önemlisi tümör mikroçevresindeki bazı immün direnç faktörlerinin (PD-L1/PD-1 gibi) bu Teff hücreleri baskılıyor olması olabilir¹⁵⁰.

Sakaguchi tarafından belirtilen bir başka immün tolerans teorisine göre, Treg hücreler, çevresel toleransın ana araçlarıdır. Teff hücrelerini aktif olarak baskırlar ve bağışıklık aracılı doku hasarını engellerler¹⁶⁷. Treg hücreleri, doğal olarak oluşan Treg (nTreg) ve indüklenmiş (iTreg) hücreleri olarak ikiye ayrılabilir. PD-L1, T reg hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir ve iTreg hücrelerinin bazı molekülleri (CD25, CTLA-4 gibi) eksprese etmesini sağlayabilir, bu da potansiyel olarak Teff hücrelerini baskılayabilir. Tümör hücreleri tarafından artan PD-L1 ekspresyonu, periferde iTreg hücrelerini indükleyebilir ve muhafaza edebilir, böylece anti-tümör T hücre tepkilerinin baskılanmasını arttırır ve tümörün ilerlemesine izin verir^{168,169}.

Bizim çalışmamızda PD-L1 ekspresyonu ve skorlaması ile sağkalım arasında ilişki görülmemiştir. Tümör heterojenitesi düşünüldüğünde TMA metodunun kullanılması, kısıtlı vaka sayısı, daha eski vakalarda doku takibinden kaynaklanan antijenite problemleri bu sonuca yol açmış olabilir. Literatürdeki çelişkili veriler de göz önüne alındığında, çalışmalar arasındaki heterojenlik göz ardı edilemez. Sağkalımı etkilediği bilinen çevresel ve etnik faktörler, sosyoekonomik durum, çalışmalarda kullanılan immünohistokimyasal antikorların farklılığı, PD-L1 pozitifliğini kabul etmede ve skorlamada kullanılan farklı

puanlama sistemleri bu çeşitliliğin temel nedenleri olabilir. PD-L1'in sağkalım, prognoz ve diğer histolojik parametreler ile ilişkisinin net olarak gösterilebilmesi için çok sayıda etnik kökenin dahil edildiği, ortak skorlama sistemlerinin kullanıldığı, geniş hasta grubuna sahip meta-analizlere ihtiyaç vardır.

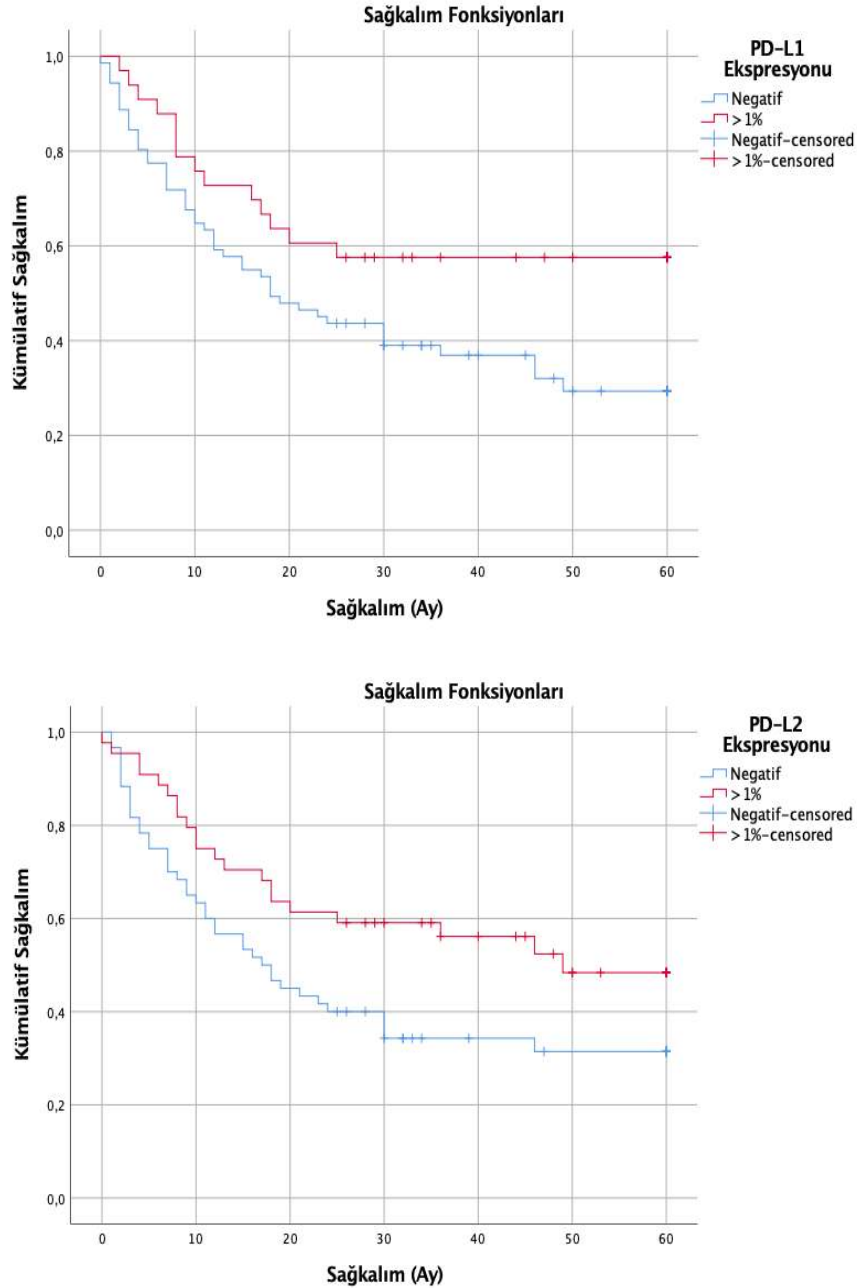
PD-1:PD-L1/L2 yolu T efektör hücrelerinin proliferasyonunu ve işlevini engellemek için güçlü inhibitör sinyallere aracılık eder ve antitümör immünite üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Bu yolun terapötik hedeflenmesi, tümörlere karşı T hücresi bağışıklığının başarılı bir şekilde arttırılmasıyla sonuçlanmıştır¹⁶⁹. Literatürde çeşitli karsinomlarda PD-L1'in prognoza etkisi yoğun olarak tartışılmasına rağmen PD-L2'nin prognoza etkisini gösteren çok kısıtlı çalışma bulunmaktadır.

Gao ve arkadaşlarının mide adenokarsinomlarında PD-L2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada, PD-L2 vasküler ve nöral invazyon ile ilişkili bulunmuş, yaş, cinsiyet, tümör diferansiasyonu, tümör lokalizasyonu, klinik evre ve Lauren sınıflaması ile ilişki gösterilememiştir. Aynı zamanda PD-L2 ekspresyonunun kısa sağkalım süresi ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir¹⁷⁰. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan moleküler çalışmada ise PD-L2 ile klinik evre arasında korelasyon görülmemiştir¹⁷¹. Dong ve arkadaşlarının EBV ilişkili gastrik karsinom ve EBV negatif gastrik karsinomlarda PD-L2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada ise PD-L2 ekspresyonu yaş, tümör diferansiasyon derecesi ve Lauren klasifikasyonu ile ilişkili görülmüştür¹⁷².

Özofagus adenokarsinomlarında PD-L2 ekspresyonunu araştıran 354 vakadan oluşan bir çalışmada, tümörlerin %51,7'sinde PD-L2 pozitifliği saptanmıştır¹⁷³. Yine 437 özofagus karsinomunda PD-L1 ve PD-L2'nin prognoza etkisini araştıran başka bir çalışmada, PD-L2 ekspresyonu daha kısa sağkalım ve kötü prognoz ile ilişkili görülmüştür¹⁷⁴. Araştırmada bizim çalışmamızda da olduğu gibi tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-L1 ile ilişkili fakat PD-L2 ile ilişkisiz olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda yine bizim çalışmamızda olduğu gibi PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu arasında korelasyon görülmemiştir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, PD-L1 ve PD-L2 pozitif tümörlerin farklı klinik özelliklere sahip olabileceği düşünülmüştür¹⁷⁴.

Bizim çalışmamızda vakaların %63,5'i PD-L2 ile değişen derecelerde pozitif saptanmıştır. Çalışmamızda PD-L2 ekspresyon skorlaması, tümör çapı ve erken veya ileri

evre hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Yaptığımız analizlerde PD-L2 skorumuz sistemimiz ile genel sağkalım arasında ilişki görülmemiştir. Ancak bazı çalışmalarda PD-L1 ile benzer şekilde PD-L2 ekspresyonunun %1'den büyük olmasının pozitiflik olarak kabul edildiği görülmüş¹⁷⁵ ve aynı yöntem ile vakalar değerlendirildiğinde PD-L2 pozitifliği ile genel sağkalım arasında PD-L2 pozitif vakaların daha uzun sağkalım süresine sahip olduğu anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0,035$) (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. a) PD-L1 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde PD-L1 ekspresyonu ve sağkalım ilişkisi b) PD-L2 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde PD-L2 ekspresyonu ve sağkalım ilişkisi

İmmün kontrol noktası inhibitörleri gibi immünoterapilerin yeni bir tedavi stratejisi olarak artan bir ilgi gördüğü günümüzde PD-L1 ekspresyonunun prognostik bir biyobelirteç olarak önemi çokça araştırılmış ve araştırılmaya devam edilmektedir. Yine de, PD-1'in bir başka ligandı olan PD-L2 daha az dikkat çekmiştir ve PD-L2 ekspresyonunun, prognoza etkisi hala belirsizliğini korumaktadır. Hem PD-L2 hem de PD-L1, B7 ailesi üyeleridir ve bu ligandların reseptör PD-1'e bağlanması, T hücrelerinin inhibisyonu ve B hücre yanıtları ile sonuçlanır. PD-L2 ve PD-L1 arasında birçok benzerlik olmasına rağmen, lokalizasyonları, reseptöre bağlanma afiniteleri ve sitokinlere yanıtları açısından bazı farklılıklar bildirilmiştir¹⁷⁶. PD-L1 ve PD-L2 arasındaki ilişki ve çeşitli kanser türlerinde PD-L2 ekspresyonu hala tartışmalıdır¹⁷⁷.

Yearley ve arkadaşları, PD-L2 durumunun, PD-L1 durumundan bağımsız olarak pembrolizumab ile progresyonsuz sağkalım için önemli bir prognostik belirteç olduğunu ve baş-boyun skuamöz hücreli kanserlerinde, PD-L2 ekspresyonu gösteren vakalarda sağkalım süresinin uzadığını ve hem PD-L1 hem de PD-L2 eksprese eden hastalarda tedaviye yanıt oranının en yüksek olduğunu bildirmiştir¹⁷⁸. PD-L2 ile PD-L1'in eş zamanlı değerlendirilmesi, PD-1/PD-L1 immün kontrol noktası inhibitörleri için endikasyon gösteren hasta sayısında artışa neden olabilir ve bu ilaçlar PD-L1 negatif, PD-L2 pozitif hastalar için de faydalı sonuçlar verebilir¹⁷⁴.

Elde edilen bu veriler, PD-L2 ekspresyonunun bazı solid tümörlerde pozitif prognostik bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Henüz hakkında yeterli çalışma bulunmayan bir alan olan PD-L2 konusunda, hem mide adenokarsinomlarında hem de diğer kanser türlerinde daha geniş kapsamlı ve daha fazla sayıda araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Mikrosatellitler, genom boyunca rastgele yaygın olarak bulunan kısa ve tekrarlayan DNA dizileridir⁷². Yanlış eşleşme onarım sistemi eksikliğine (MMRD) genellikle, DNA replikasyonu sırasında mikrosatellit bölgelerinde nükleotidlerin eklenmesine veya silinmesine yol açan germ hattı mutasyonları veya sporadik epigenetik susturma neden olur; bu durum mikrosatellit instabilitesi olarak adlandırılır¹². MSI-H'nin kolorektal kanserdeki rolü, prediktif ve prognostik bir faktör olarak belirlenmiş olmasına rağmen^{179,180}, MSI ile mide kanserlerinde klinik ve patolojik özellikler arasındaki ilişki, henüz belirsizliğini korumaktadır.

Kanser Genom Atlas (TCGA) araştırma grubunun genomik karakterizasyonlarına göre, mide tümörlerini ayırdığı dört alt gruptan biri olan MSI-H görülme oranı daha önce %8.5-37.8 olarak rapor edilmiştir. Bununla birlikte, mide kanserlerinde MSI-H durumunun prognostik önemi tartışmalıdır¹⁸¹. MMR genlerindeki mutasyonlar, heterodimerlerin proteolitik bozunmasından sorumludur. hMLH1'deki mutasyonlar, hem MLH1 hem de PMS2'nin immünohistokimyasal kaybıyla ilişkilidir, MSH2'deki mutasyonlar ise çoğunlukla hem MSH2 hem de MSH6'nın immünohistokimyasal kaybıyla ilişkilidir¹⁸². Böylece, İHK analizi ile MMR genlerinden hangisinin kusurlu olduğunu saptanabilir ve daha ileri genetik analiz hakkında yol göstericidir¹³. Biz de araştırmamızda immünohistokimyasal olarak MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 heterodimerlerini ayrı ayrı inceledik.

Puliga ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analizde mikrosatellit instabilitesi, ileri yaş (>65), kadın cinsiyet, midede orta-distal tümör yerleşimi, daha az sıklıkla lenf nodu tutulumu ve serozal tabaka invazyonuna daha az meyil ile ilişkili bulunmuştur.¹³ 2017'de Polom ve arkadaşlarının yaptığı, 14.404 hastayı içeren 35 çalışmadan oluşan geniş çaplı bir meta-analizde, MSI durumu ve cinsiyete ilişkin mevcut veriler incelenmiştir. Kadınların oranı MSI grubunda %46,2 ve MSS grubunda %33,7 görülmüştür. Bu analiz, kadınların erkeklere kıyasla önemli ölçüde artmış MSI riskine sahip olduğunu göstermiştir¹⁸³. Çalışmamızda MSS grupta kadınların oranı %36,8, MSI grupta kadınların oranı %39,3 olarak görülmüş olup mikrosatellit durumu ile cinsiyet arasında ilişki görülmemiştir.

Meta-analizde seçilen tüm çalışmalar MSI durumu ve yaşı hakkında veri bildirmiştir. MSI hastalarının ağırlıklı ortalama yaşı 65.9 yıl ve MSS hastalığı olan hastaların yaşı 60.4 yıl görülmüştür. 1605 hastayı içeren 7 çalışma, MSI durumu ve alt gruplarda (65 yaş veya üzeri ve 65 yaş altı) ifade edilen yaşa ilişkin mevcut verileri bildirmiştir. Ve bu verilerden birleştirilmiş analiz, MSI durumu ile 65 yaş veya üzeri yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir¹⁸³. Çalışmamızda MSI hastaların yaş ortalaması 60,4, MSS hastaların yaş ortalaması ise 62,5 bulunmuştur. Çalışmamız hastaların yaşlarını 60 yaş veya üzeri ve 60 yaş altı olarak gruplandırmış olup mikrosatellit durumu ile yaş arasında ilişki görülmemiştir.

Yine aynı meta-analiz incelendiğinde, Lauren sınıflamasına göre, intestinal tip %10,7, mikst tip %0,9 ve diffüz tip %2,9 oranında MSI göstermiştir. Lauren'e göre MSI

durumu ile histolojik sınıflandırma arasındaki ilişki için 34 çalışma analiz edilmiş ve birleştirilmiş analiz, MSI riskinin intestinal tip için diffüz ve mikst tip mide kanserlerine göre daha yüksek oranda olduğunu göstermiştir¹⁸³. Yine bir başka meta-analizde mikrosatellit instabilitesinin daha çok Lauren intestinal tip ile ilişkili olduğu görülmüştür¹³. Çalışmamızda ise intestinal tip %29,8, mikst tip %18,2 ve diffüz tip ise %25 oranında MSI göstermiş olup Lauren klasifikasyonu ile mikrosatellit durumu arasında ilişki görülmemiştir.

Meta-analizde mide üst kısmında yerleşen tümörlerin %9,5'i, orta kısmında yerleşen tümörlerin %8,8'i ve alt kısmında yerleşen tümörlerin %22'si MSI göstermiştir. 11.101 hastayı içeren 36 çalışmanın kantitatif sentezi, MSI ile orta/alt mide kanseri lokasyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir¹⁸³. Çalışmamızda MSH2-MSH6 instabil tümörlerin daha çok kardiya ve korpus yerleşimli olduğu görülmüş ve MSH2-MSH6 instabilitesi ile tümör yerleşimi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Literatürde MSI ile orta-distal yerleşim arasında anlamlı ilişki görülürken çalışmamızda proksimal-orta yerleşim arasında ilişki görülmesi çalışmamızın meta-analizlere göre çok daha az sayıda hastayla yapılmış olması ve hasta popülasyonumuz arasında heterojenitenin az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Meta-analizde 35 çalışma, MSI durumu ve lenf nodu metastazları ile ilgili mevcut verileri bildirmiş olup bu bilgiyi bildiren tüm çalışmalar arasında MSI hastalarının %12,9'unda lenf nodu metastazı tespit edilmiştir. Veriler MSI ile lenf nodu metastazının yokluğu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir ancak dahil edilen çalışmalar arasında önemli derecede heterojenlik bulunmuş ($I^2 = \%61.0$, $p < 0.001$) ve rastgele etki analizi modeli kullanılmıştır¹⁸³. Çalışmamızda MSI vakaların %17,9'unda lenf nodu metastazı tespit edilmiş olup mikrosatellit durumu ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki elde edilememiştir.

Kore'de yapılan bir çalışmada, MSI ile artmış tümör çapı arasında ilişki görülmüştür¹⁸⁴. Çalışmamızda PMS2-MLH1 instabilitesi ile >5 cm tümör çapı ilişkili saptanmıştır.

Polonya'da yapılan bir çalışmada mikrosatellit durumu ile ülserasyon arasında ilişki saptanmamıştır¹⁸⁵. Çalışmamızda hem MSH2-MSH6 hem de PMS2-MLH1 instabilitesi

gösteren tümörlerin neredeyse tamamında ülserasyon görülmüş olup MSI ile ülserasyon ilişkili bulunmuştur.

Mikrosatellit instabilitesinin prognostik önemini sorgulayan 14 ülkeden 24 çalışma ve 5438 hastadan oluşan bir meta-analizde¹⁸¹ ve 8 çalışmadan oluşan başka bir meta-analizde¹⁸⁶ hastalar MSI-H ve MSS ile MSI-L olarak iki gruba ayrılmış, MSI-H mide kanserlerinin, MSS ve MSI-L mide kanserlerine göre, tıpkı kolorektal kanserlerde olduğu gibi, daha iyi prognoza ve sağkalıma sahip olduğu görülmüştür. Asya ülkelerinde yapılan 2 ayrı çalışmada ise MSI ile sağkalım arasında ilişki görülmemiştir^{187,188}. 1998'de Almanya'da yapılan, vakaların MSS ve MSI olarak değerlendirildiği, PCR bazlı bir başka çalışma yine mikrosatellit durumu ile genel sağkalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını öne sürmüştür.¹⁸⁹ PCR bazlı 240 hastadan oluşan başka bir çalışmada vakalar MSS, MSI-L, MSI-H olarak sınıflanmış ve yine MSI ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki görülmemiştir¹⁹⁰. Kore'de yapılan bir çalışmada MSI evre 4 tümörlerin, MSS evre 4 tümörlere göre daha kötü prognoza ve daha düşük sağkalıma sahip olduğu görülmüştür¹⁹¹. Çalışmamızda MSH2-MSH6 instabil tümörlerde, MSH2-MSH6 stabil tümörlere göre genel sağkalım süresinin belirgin derecede kısa olduğu görülmüştür. Stabil tümörlerde ortalama genel sağkalım 35,15±2,66 ay iken instabil tümörlerde 16,94±4,22 ay saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızda global değerlendirdiğimiz MSI ve PMS2-MLH1 instabilitesi ile genel sağkalım arasında ilişki görülmemiştir. Literatürde çelişkili olan bu durum, mide kanserinde MSI'ı belirlemek için bir konsensüs paneli olmadığından, MSI fenotip değerlendirmesi için PCR bazlı amplifikasyonda farklı gen lokusları kullanılmasından, mikrosatellit durumunu belirlemek için kimi çalışmalarda PCR kimi çalışmalarda ise immünohistokimya kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca bu farklılık Doğu ve Batı halkları arasındaki mide karsinogenezinin moleküler arka planındaki ve etiyolojisindeki farklılıkla ilişkili olabilir¹⁸⁷.

Mide adenokarsinomlarında MSI oluşumunun primer mekanizması, kolorektal adenokarsinomdan farklıdır. Kolorektal adenokarsinomlarda MSI'nin başlıca nedeni, DNA-MMR geni MLH1 veya MSH2 mutasyonudur. Ancak, MSI-H mide kanserlerinde bir MLH1 veya MSH2 mutasyonu nispeten daha nadir iken, MLH1 promotorunun metilasyonu sıklıkla gözlenir¹⁹². Bazı çalışmalar MSI'nin prekanser lezyonlarda bulunduğunu ve MSI saptama oranının prekanseröz lezyonlardan mide adenokarsinomuna ilerleme sırasında artan bir eğilim gibi görüldüğünü bildirmiştir. Bu nedenle, MSI, mide

kanserinin erken teşhisi ve profilaksisi için potansiyel bir moleküler göstergesi temsil ediyor olabileceği ve prekanseröz lezyonlarda büyük önem taşıdığı düşünülmüştür^{193,194}. Şu anda, MSI ile mide kanserinin prognozu arasındaki ilişki konusunda çok fazla tartışma vardır. Ancak, yalnızca MSI durumu ile değerlendirilen mide kanseri hastalarının prognozunun tek başına kullanılmasının çok zor olduğu aşıkardır çünkü prognoz, hastanın yaşı, tümörün evresi, derecesi gibi diğer faktörlerden de etkilenebilir¹⁹⁵. Polom'un çalışmasına göre mide kanseri hastalarının prognozu, MSI durumundan çok yaşla daha anlamlı bir korelasyona sahiptir. Spesifik olarak, 65 yaşından büyük hastalarda, mikrosatellit instabil hastalarının prognozu daha iyiiken, daha genç mide kanseri hastalarında (<65 yaş), prognoz ve MSI alt tipleri arasında istatistiksel bir anlamlılık görülmemiştir¹⁸³. Mide kanseri hastalarının prognozu, MSI paternleri, evre, derece, yaş ve kemoterapi tedavisi dahil olmak üzere birçok faktörden etkilenir. MSI alt tipleri, hastaların prognozunu değerlendirmek için diğer faktörlerle birlikte yardımcı bir referans indeksi olarak kullanılabilir, ancak prognozu değerlendirmek için mutlak veya tek indeks olarak yeterli değildir. Sonuçta, MSI durumunun mide kanserlerinde klinik kullanımının artabilmesi için mide kanserinde MSI belirteçleri için geniş kapsamlı ek çalışmalara ve global değerlendirmelerle birlikte bir fikir birliğine ihtiyaç vardır.

MSI-H mide kanseri ve PD-L1 durumu arasındaki ilişki henüz tam olarak ortaya konulmamıştır. Son yıllarda yapılan birkaç çalışmada, MSI-H mide kanseri olan vakalar, MSS mide kanseri olan vakalara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek PD-L1 ekspresyon oranları göstermiştir.18,302–304 Örneğin Zhang ve arkadaşlarının yaptığı 2504 hastadan oluşan araştırmada, MSI hastalarda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyon seviyeleri belirgin derecede daha yüksek gözlenmiştir.304 Choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise MSI-H mide kanserlerinde hem tümör hücrelerinde hem de immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun MSS ve MSS-L hastalara göre daha yüksek olduğu görülmüştür^{15,52,196}. Çalışmamızda bu literatürlerle çelişkili olarak, MSI vakalarda hem tümör hücrelerinde hem de peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun MSS vakalara göre daha düşük olduğunu gözlemledik.

Cho ve arkadaşları, PD-1/PD-L1 etkileşimlerini hedefleyen bir terapötik stratejinin MSI-H mide kanseri olan hastalarda, MSS mide kanseri olan hastalardan daha etkili olabileceğini varsayarak bir araştırma yapmıştır. Çalışmada, MSI-H mide kanserli hastalarda PD-L1 ekspresyonunun klinikopatolojik özelliklerini araştırmış ve PD-L1

ekspresyonunun bu hastalarda sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olduğunu bulmuşlardır. MSI-H mide kanserleri ile yaptıkları bu çalışmada, vakaların %9'unda PD-L1 tümör hücrelerinde ve vakaların %60,3'ünde PD-L1 immün hücrelerde ekspresyon göstermiştir. Çalışmada MSI-H mide kanseri olan hastalarda, özellikle intra ve peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunun daha uzun sağkalım ile ilişkili olduğu görülmüştür¹⁹⁸. Çalışmamızda MSI hastalarda peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdiğimizde, PD-L1 ekspresyonu gösteren hastalarda sağkalımın anlamlı derecede yüksek olduğu sonucuna ulaştık. Cho ve arkadaşlarının çalışmasında inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu gösteren hastaların %85,7'sinde tümör hücrelerinde de PD-L1 ekspresyonu gözlenmiştir¹⁹⁸. Çalışmamızda ise peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu gösteren hastaların %75'inde tümör hücrelerinde de PD-L1 ekspresyonu gözledik. Bu bulgu, tümör hücrelerinde ve tümör içi-çevresi bağışıklık hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun yakından ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, lenfositler tarafından interferon gama (IFN- γ) salınımı, tümör hücrelerinde ve inflamatuvar hücrelerde doğrudan PD-L1 ekspresyonunu indükleyebileceği bildirilmiştir¹⁹⁹. Mide kanseri vakalarında yüksek peritümöral lenfosit oranlarına sahip hastaların olumlu bir prognoza sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur^{199,200}. Aynı şekilde bizim çalışmamızda da peritümöral inflamatuvar hücrelerde şiddetli PD-L1 pozitifliği gösteren hastalarda sağkalımın belirgin derecede yüksek olduğu gözlenmiştir.

Cho ve arkadaşlarının çalışması ile bizim çalışmamız, literatürdeki daha önceki teorilerle çelişen bir gözlem olarak, PD-L1 ekspresyonu olan mikrosatellit instabil mide kanserli hastaların daha uzun sağkalıma sahip olduğunu göstermiştir.⁹⁴ Çalışmamızda MSI hastalarda tümör hücrelerinde ve peritümöral lenfositlerde PD-L1 ekspresyonunun iyi prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceği sonucuna ulaştık.

Sonuç olarak, altta yatan immünolojik yolları aydınlatmak ve hangi mide kanseri alt tipinin veya mikrosatellit durumunun, anti-PD-1/PD-L1 immünoterapisine en uygun şekilde yanıt verebileceğini tahmin etmek için daha ileri çalışmaların gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

- İzlemede 25 (%24) olguda nüks gelişmiş olup cerrahi sonrası ortalama $13,16 \pm 13,71$ ayda izlenmiştir.

- İzlem 63 olguda ölüm ile sonlanmış olup cerrahiden ortalama $30,08 \pm 27,2$ ay) sonra gerçekleşmiştir.

- Hastaların genel sağkalım oranlarına bakıldığında, 6 aylık sağkalım %81,7, 12 aylık sağkalım %66,3, 18 aylık sağkalım %57,7, 24 aylık sağkalım %50, 36 aylık sağkalım %31,7 ve 60 aylık sağkalım %18,3'dir.

- Olgularda; ortalama hastalıksız sağkalım süresi $28,34 \pm 27,80$ ay'dır.

- Tümör çapı ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup tümör çapı arttıkça genel sağkalım süresi azalmaktadır.

- Erken evre mide duvar invazyon seviyesine (pT1+pT2) sahip olan olgularda artmış genel sağkalım saptanmıştır.

- pN evre arttıkça genel sağkalım süresi azalmaktadır.

- Metastaz görülmeyen olgularda genel sağkalım süresi metastaz görülen olgulara göre belirgin olarak daha fazladır.

- Diferansiasyon derecesi azaldıkça genel sağkalım sürelerinin azalmıştır.

- Bormann tip 4 vakaların genel sağkalım süresi belirgin olarak daha düşüktür.

- Tübüler karsinomlar daha uzun sağkalım süresine sahiptir.

- Lenfovasküler invazyon göstermeyen vakalarda genel sağkalım oranları belirgin olarak daha yüksektir.

- Perinöral invazyon göstermeyen vakalarda genel sağkalım oranları belirgin olarak daha yüksektir.

- Tümör tomurcuklanması ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- Tanı anındaki hasta yaşına göre 60 yaşından küçük ve büyük hastalarda tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 boyanma skorlarında ve MSH2-MSH6 ile PMS2-MLH1 durumlarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- Kadın ve erkek hastalarda tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 boyanma skorlarında ve MSH2-MSH6 ile PMS2-MLH1 durumlarında istatistiksel olarak ilişkili olmadığı görülmüştür.

- Patolojik T evre, patolojik N evre, M evre ile tümör hücrelerinde PD-L1 ve PD-L2 boyanma skorları ve MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumları arasında istatistiksel olarak ilişki olmadığı saptanmıştır.

- Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında negatif korelasyon görülmüştür.

- Peritümöral lenfositik yanıtın izlenmediği olguların istatistiksel olarak anlamlı çoğunluğunda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği de izlenmemiştir.

- MSH2-MSH6 instabil vakaların istatistiksel olarak anlamlı kısmında tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu görülmemiştir.

- PMS2 instabil vakaların neredeyse tamamında tümör hücrelerinde PD-L1 negatif saptanmıştır.

- MLH-1 stabilite-instabilitesi ile tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

- Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile PD-L2 boyanma skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir.

- Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma skoru ile nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 eksprese etmeyen vakaların daha yüksek pN evresine sahip oldukları ve PD-L1 ekspresyonu yüksek olan vakaların ise daha düşük pN evresine sahip oldukları izlenmiştir.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanması ile perinöral invazyon varlığı negatif koreledir.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu ile H. Pylori varlığı arasında negatif korelasyon görülmüştür.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 eksprese etmeyen vakalarda MSH2-MSH6 instabilitesi yüksek oranda görülmüştür. Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu şiddetli olan vakalar ise MSH2-MSH6 stabil bulunmuştur.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 boyanma skoru ile tümör hücrelerinde PMS2-MLH1 durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- İzlenen az sayıda erken evre mide kanserinde tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru daha yüksek, ileri evre mide kanserlerinde ise tümör hücrelerindePD-L2 boyanma skoru daha düşüktür.

- PD-L2'nin tümör boyutuna göre değerlendirildiği olgularda 5 cm'den büyük tümörlerde PD-L2 ekspresyonunun daha düşük olduğu saptanmıştır. Tümör hücrelerinde PD-L2 negatif olgularda en sık >5 cm tümör çapı görülmüştür.

- MSH2-MSH6 instabil vakalarda, tümör hücrelerinde PD-L2 negatifliğinin daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır.

- PMS2-MLH1 instabil vakalarda PD-L2 negatifliği çok yüksek oranda görülmüştür.

- Tümör hücrelerinde PD-L2 boyanma skoru ile nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- MSH2-MSH6 stabil vakalar yüksek oranda antrum yerleşimli, MSH2-MSH6 instabil vakalar ise en sık korpus ve kardiya yerleşimlidir.

- Ülserasyon içermeyen vakalar yüksek oranda MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 stabil vakalardır.

- Tümör hücrelerinde MSH2-MSH6 ve PMS2-MLH1 durumu ile nüks gelişip gelişmemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- MSH2-MSH6 stabil vakaların çok büyük çoğunluğunda PMS2-MLH1 de stabil bulunmuştur.

- PMS2-MLH1 instabil tümörler yüksek sıklıkla >5 cm olarak görülmüştür.

- Tümör hücrelerinde PD-L1 skrolama sistemi ile genel sağkalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki olmadığı görülmemiştir. Ancak PD-L1 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde, PD-L1 pozitif vakaların sağkalım süresinin anlamlı derecede uzun olduğu görülmüştür.

- Tümör hücrelerinde PD-L2 skrolama sistemi ile genel sağkalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki olmadığı görülmemiştir. Ancak PD-L2 ekspresyonunun %1'den büyük olması pozitif ekspresyon kabul edildiğinde, PD-L2 pozitif vakaların sağkalım süresinin anlamlı derecede uzun olduğu görülmüştür.

- Peritümöral inflamatuvar hücrelerde PD-L1 ekspresyonu olmayan veya hafif derecede olan vakaların, orta ve şiddetli derecede eksprese olan vakalara göre genel sağkalım süreleri daha düşüktür.

- MSH2-MSH6 stabil vakaların instabil vakalara göre genel sağkalım süreleri anlamlı derecede yüksektir.

- PMS2-MLH1 durumu ve genel sağkalım oranları arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır

- MSH2-MSH6 ile PMS2-MLH1 instabil vakalarda, peritümöral immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonu gösteren hastalarda sağkalım anlamlı derecede yüksektir.



KAYNAKÇA

1. Nagtegaal, I. D. *The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system*. (WHO classification of tumours, 2019).
2. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **68**, 394–424 (2018).
3. Smyth, E. C. *et al.* Gastric cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **27**, v38–v49 (2016).
4. Waddell, T. *et al.* Gastric cancer+: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **24**, (2013).
5. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2016.pdf.
6. Padmanabhan, N., Ushijima, T. & Tan, P. How to stomach an epigenetic insult: The gastric cancer epigenome. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* vol. 14 467–478 (2017).
7. Hu, B. *et al.* Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Journal of Gastrointestinal Oncology* vol. 3 251–261 (2012).
8. LAUREN, P. THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. AN ATTEMPT AT A HISTO-CLINICAL CLASSIFICATION. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica* **64**, 31–49 (1965).
9. Liu, L., Cao, L., Gong, B. & Yu, J. Novel biomarkers for the identification and targeted therapy of gastric cancer. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology* vol. 9 1217–1226 (2015).

10. Bijlsma, M. F., Sadanandam, A., Tan, P. & Vermeulen, L. Molecular subtypes in cancers of the gastrointestinal tract. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* vol. 14 333–342 (2017).
11. Bass, A. J. *et al.* Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* **513**, 202–209 (2014).
12. Cristescu, R. *et al.* Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nature Medicine* **21**, 449–456 (2015).
13. Puliga, E., Corso, S., Pietrantonio, F. & Giordano, S. Microsatellite instability in Gastric Cancer: Between lights and shadows. *Cancer Treatment Reviews* vol. 95 (2021).
14. Funkhouser, W. K. *et al.* Relevance, Pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair-defective colorectal carcinomas: A report of the association for molecular pathology. *Journal of Molecular Diagnostics* **14**, 91–103 (2012).
15. Böger, C. *et al.* *PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients.* *Oncotarget* vol. 7 www.impactjournals.com/oncotarget/ (2016).
16. Freeman, G. J. *et al.* *Engagement of the PD-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation.* *J. Exp. Med* vol. 192 <http://www.jem.org/cgi/content/full/192/7/1027> (2000).
17. Keir, M. E., Butte, M. J., Freeman, G. J. & Sharpe, A. H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annual Review of Immunology* vol. 26 677–704 (2008).
18. Zou, W. & Chen, L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nature Reviews Immunology* vol. 8 467–477 (2008).
19. Poole, R. M. Pembrolizumab: First global approval. *Drugs* **74**, 1973–1981 (2014).
20. Aspod, C. *et al.* Breast cancer instructs dendritic cells to prime interleukin 13-secreting CD4+ T cells that facilitate tumor development. *Journal of Experimental Medicine* **204**, 1037–1047 (2007).

21. Le, D. T. *et al.* Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* **357**, 409–413 (2017).
22. Thompson, E. D. *et al.* Patterns of PD-L1 expression and CD8 T cell infiltration in gastric adenocarcinomas and associated immune stroma. *Gut* **66**, 794–801 (2016).
23. Muro, K. *et al.* Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *The Lancet Oncology* **17**, 717–726 (2016).
24. Aparicio, T. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency: Le DT (2015) N Engl J Med May 30. *Colon and Rectum* **9**, 182–184 (2015).
25. Sadler, T. W. *Langman's Medical Embryology*. vol. 14. edition (2019).
26. Mills, S. *Histology for Pathologists; Lippincott Williams & Wilkins; 2019.* (2019).
27. Moore Keith, Persaud T. V. N. & Torchia Mark. *The Developing Human, Clinically Oriented Embryology*. (Elsevier, 2018).
28. Blackmon S.H. *Atlas of Esophageal Disease and Intervention*. (Springer, 2015).
29. Odze, R. D. & Goldblum, J. *ODZE AND GOLDBLUM SURGICAL PATHOLOGY OF THE GI TRACT, LIVER, BILIARY TRACT, AND PANCREAS*. (Elsevier Saunder, 2015).
30. Glickman, J. N., Shahsfaei, A. & Odze, R. D. *Mucin Core Peptide Expression Can Help Differentiate Barrett's Esophagus From Intestinal Metaplasia of the Stomach*. (2003).
31. Ho, S. B. *et al.* *The Adherent Gastric Mucous Layer Is Composed of Alternating Layers of MUC5AC and MUC6 Mucin Proteins. Digestive Diseases and Sciences* vol. 49 (2004).
32. Matsuyama HM & Suzuki H. Differentiation of immature mucous cells into parietal, argyrophil, and chief cells in stomach grafts. *Science* **169**, 385–387 (1970).

33. Genta, R. M., Wentzell Hamner, H. & Graham, D. Y. *Gastric Lymphoid Follicles in Helicobacter pylori Infection: Frequency, Distribution, and Response to Triple Therapy*.
34. American Institute for Cancer Research. *Diet, nutrition, physical activity and stomach cancer*. (2016).
35. Hayashi Y., Nagao M. & Sugimura T. *Diet, Nutrition and Cancer. Proceedings of the 16th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund; Tokyo, Japan; 1985*. (1985).
36. Kolonel, L. N., Hankin J.H & Nomura A.M. *Multiethnic studies of diet, nutrition, and cancer in Hawaii. Princess Takamatsu Symp, 1985*. (Princess Takamatsu Symp, 1985, 1985).
37. Suzuki, H., Iwasaki, E. & Hibi, T. Helicobacter pylori and gastric cancer. *Gastric Cancer* **12**, 79–87 (2009).
38. Khatoon, J., Rai. Ravi Prakash Rai & Prasad, K. N. Role of Helicobacter pylori in gastric cancer: Updates. *World Journal of Gastrointestinal Oncology* **8**, 147–158 (2016).
39. Chang, W.-L., Yeh, Y.-C. & Sheu, B.-S. The impacts of H. pylori virulence factors on the development of gastroduodenal diseases. . *Journal of Biomedical Science* **25**, (2018).
40. Roesler, B. M., Rabelo-Gonçalves, E. M. A. & Zeitune, J. M. R. Virulence Factors of Helicobacter pylori: A Review. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology* **7**, 9–17 (2014).
41. Baj, J. *et al.* Mechanisms of the Epithelial–Mesenchymal Transition and Tumor Microenvironment in Helicobacter pylori-Induced Gastric Cancer. *Cells* **9**, 1055–1083 (2020).
42. Ye, W., Chow, W.-H., Lagergren, J., Yin, L. & Nyrén, O. Risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in patients with gastroesophageal reflux diseases and after antireflux surgery. *Gastroenterology*, **121**, 1286–1293 (2001).

43. Derakhshan, M. H. *et al.* Combination of gastric atrophy, reflux symptoms and histological subtype indicates two distinct aetiologies of gastric cardia cancer. *Gut* **57**, 298–305 (2008).
44. Pinheiro, H. *et al.* *Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. Review Lancet Oncol* vol. 16 www.thelancet.com/oncology (2015).
45. Pinheiro, H., Oliveira, C., Seruca, R. & Carneiro, F. Hereditary diffuse gastric cancer - Pathophysiology and clinical management. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology* vol. 28 1055–1068 (2014).
46. Corso Giovanni & Roviello Franco. *Spotlight on Familial and Hereditary Gastric Cancer*. (Springer, 2013).
47. Majewski, I. J. *et al.* An α -E-catenin (CTNNA1) mutation in hereditary diffuse gastric cancer. *Journal of Pathology* **229**, 621–629 (2013).
48. Oliveira, C., Pinheiro, H., Figueiredo, J., Seruca, R. & Carneiro, F. E-cadherin alterations in hereditary disorders with emphasis on hereditary diffuse gastric cancer. in *Progress in Molecular Biology and Translational Science* vol. 116 337–359 (Elsevier B.V., 2013).
49. Fitzgerald, R. C. *et al.* Hereditary diffuse gastric cancer: Updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. *Journal of Medical Genetics* **47**, 436–444 (2010).
50. Pharoah, P. D. P., Guilford, P. & Caldas, C. Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology* **121**, 1348–1353 (2001).
51. Worthley, D. L. *et al.* Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS): A new autosomal dominant syndrome. *Gut* **61**, 774–779 (2012).
52. Li, Z. *et al.* PD-L1 expression is associated with massive lymphocyte infiltration and histology in gastric cancer. *Human Pathology* **55**, 182–189 (2016).

53. Boland, C. R. & Yurgelun, M. B. Historical Perspective on Familial Gastric Cancer. *CMGH* vol. 3 192–200 (2017).
54. Rahner, N. *et al.* Clinical utility gene card for: Lynch syndrome (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). *European Journal of Human Genetics* vol. 18 1069 (2010).
55. Li F.P. & Fraumeni Jr J.F. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. *Journal of the National Cancer Institute* **43**, 1365–1373 (1969).
56. Masciari, S. *et al.* Gastric cancer in individuals with Li-Fraumeni syndrome. *Genetics in Medicine* **13**, 651–657 (2011).
57. Lipton, L. & Tomlinson, I. The genetics of FAP and FAP-like syndromes. *Familial Cancer* **5**, 221–226 (2006).
58. Lynch, H. T., Grady, W., Suriano, G. & Huntsman, D. Gastric cancer: New genetic developments. in *Journal of Surgical Oncology* vol. 90 114–133 (2005).
59. Utsunomiya, J., Gocho, H., Miyanaga, Y., Hamaguchi, E. & Kashimure, A. Peutz-Jeghers syndrome: its natural course and management. *The Johns Hopkins Medical Journal* **136**, 71–82 (1975).
60. van Lier, M. G. F. *et al.* High cancer risk in peutz-jeghers syndrome: A systematic review and surveillance recommendations. *American Journal of Gastroenterology* vol. 105 1258–1264 (2010).
61. Allen, B. A. & Terdiman, J. P. Hereditary polyposis syndromes and hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **17**, 237–258 (2003).
62. Correa P, Cuello C & Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the stomach in Colombian migrants. . *Journal of the National Cancer Institute* **44**, 297–306 (1970).
63. Correa, P., Haenszel, W., Cuello, C. & Tannenbaum, S. A MODEL FOR GASTRIC CANCER EPIDEMIOLOGY. *The Lancet* **306**, 58–60 (1975).

64. Robin Warren, J. & Marshall, B. UNIDENTIFIED CURVED BACILLI ON GASTRIC EPITHELIUM IN ACTIVE CHRONIC GASTRITIS. *The Lancet* vol. 321 1273–1275 (1983).
65. Correa, P. & Piazuelo, B. *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Adenocarcinoma. *US Gastroenterol Hepatol Rev* vol. 7 (2011).
66. Correa, P. & Piazuelo, M. B. The gastric precancerous cascade. *Journal of Digestive Diseases* **13**, 2–9 (2012).
67. Tava, F., Luinetti, O., Ghigna, M. R. & Alvisi, C. Type or extension of intestinal metaplasia and immature:atypical “indefinite-for-dysplasia” lesions . *Human Pathology* **37**, 1489–1497 (2006).
68. Correa, P., Piazuelo, M. B. & Wilson, K. T. Pathology of gastric intestinal metaplasia: Clinical implications. *American Journal of Gastroenterology* vol. 105 493–498 (2010).
69. Lamps, L., Bellizzi, A. M. & Frankel, W. L. *Neoplastic Gastrointestinal Pathology: An Illustrated Guide*. (2015).
70. Borrmann R. Geschwulste des Magens und Duodenums. in *Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie* (eds. Henke F & Lubarsch O) (Springer-Verlag, 1926).
71. Cimerman, M., Repse, S., Jelenc, F. & Omejc, M. Comparison of Lauren’s, Ming’s and WHO histological classifications of gastric cancer as a prognostic factor for operated patients. *International Surgery* **79**, 27–32 (1994).
72. Bass, A. J. *et al.* Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* **513**, 202–209 (2014).
73. Leung, S. Y., Yuen, S. T. & Chung, L. P. hMLH1 Promoter Methylation and Lack of hMLH1 Expression in Sporadic Gastric Carcinomas with High-Frequency Microsatellite Instability. *Cancer Research* **59**, 159–164 (1999).

74. Leung, S. Y. *et al.* Microsatellite instability, Epstein-Barr virus, mutation of type II transforming growth factor β receptor and BAX in gastric carcinomas in Hong Kong Chinese. *British Journal of Cancer* **79**, 582–588 (1999).
75. Kusano, M. *et al.* Genetic, epigenetic, and clinicopathologic features of gastric carcinomas with the CpG island methylator phenotype and an association with Epstein-Barr virus. *Cancer* **106**, 1467–1479 (2006).
76. Toyota, M. *et al.* Aberrant Methylation in Gastric Cancer Associated with the CpG Island Methylator Phenotype 1. *CANCER RESEARCH* **59**, 5438–5442 (1999).
77. Constanza Camargo, M. *et al.* Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: An international pooled analysis. *Gut* **63**, 236–243 (2014).
78. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Stomach. <https://documents.cap.org/protocols/cp-giupper-stomach-20-4100.pdf>.
79. *AJCC Cancer Staging Manual*. (Springer International Publishing, 2017).
80. Yamamoto, M., Rashid, O. M. & Wong, J. Surgical management of gastric cancer: The East vs. West perspective. *Journal of Gastrointestinal Oncology* vol. 6 79–88 (2015).
81. Maehara, Y. *et al.* Splenectomy Does Not Correlate With Length of Survival in Patients Undergoing Curative Total Gastrectomy for Gastric Carcinoma Univariate and Multivariate Analyses. *Cancer* **67**, 3006–3009 (1991).
82. Santoro, R., Ettorre, G. M. & Santoro, E. Subtotal gastrectomy for gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology* vol. 20 13667–13680 (2014).
83. Cohen, D. J. & Leichman, L. Controversies in the treatment of local and locally advanced gastric and esophageal cancers. *Journal of Clinical Oncology* vol. 33 1754–1759 (2015).
84. Vakiani, E. HER2 Testing in Gastric and Gastroesophageal Adenocarcinomas. *Advances in Anatomic Pathology* **22**, 194–201 (2015).

85. Hundahl, S. A., Phillips, J. L. & Menck H.R. The National Cancer Data Base Report on poor survival of U.S. gastric carcinoma patients treated with gastrectomy: Fifth Edition American Joint Committee on Cancer staging, proximal disease, and the “different disease” hypothesis. *Cancer* **88**, 931–932 (2000).
86. Cunningham, S. C. *et al.* Survival after gastric adenocarcinoma resection: Eighteen-year experience at a single institution. *Journal of Gastrointestinal Surgery* **9**, 718–725 (2005).
87. Noguchi, Y. *et al.* Is Gastric Carcinoma Different between Japan and the United States? *Cancer* **89**, 2237–2246 (2000).
88. Saito, H. *et al.* Distinct recurrence pattern and outcome of adenocarcinoma of the gastric cardia in comparison with carcinoma of other regions of the stomach. *World Journal of Surgery* **30**, 1864–1869 (2006).
89. Goldblum JR, Lamps LW, McKenney JK & Myers JL. *Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology*. (Elsevier, 2017).
90. Roder JD, Bottcher K & Busch R. Classification of regional lymph node metastasis from gastric carcinoma: German Gastric Cancer Study Group. *Cancer* **82**, 621–631 (1998).
91. Gubin, M. M. *et al.* Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature* **515**, 577–581 (2014).
92. Topalian, S. L. *et al.* Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *New England Journal of Medicine* **366**, 2443–2454 (2012).
93. Topalian, S. L., Drake, C. G. & Pardoll, D. M. Immune checkpoint blockade: A common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell* vol. 27 450–461 (2015).
94. Pardoll, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* vol. 12 252–264 (2012).

95. Postow, M. A., Callahan, M. K. & Wolchok, J. D. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Journal of Clinical Oncology* vol. 33 1974–1982 (2015).
96. Mueller, S. N., Vanguri, V. K., Ha, S. J. & West, E. E. PD-L1 has distinct functions in hematopoietic and nonhematopoietic cells in regulating T cell responses during chronic infection in mice. *The Journal of Clinical Investigation* **120**, 2508–2515 (2010).
97. Guan, J., Lim, K. S., Mekhail, T. & Chang, C. C. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade a key player against various cancers. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* vol. 141 851–861 (2017).
98. Sun, Z. *et al.* IL-10 and PD-1 cooperate to limit the activity of tumor-specific CD8 + T cells. *Cancer Research* **75**, 1635–1644 (2015).
99. Butte, M. J., Keir, M. E., Phamduy, T. B., Sharpe, A. H. & Freeman, G. J. Programmed Death-1 Ligand 1 Interacts Specifically with the B7-1 Costimulatory Molecule to Inhibit T Cell Responses. *Immunity* **27**, 111–122 (2007).
100. Francisco, L. M., Sage, P. T. & Sharpe, A. H. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunological Reviews* vol. 236 219–242 (2010).
101. Ohaegbulam, K. C., Assal, A., Lazar-Molnar, E., Yao, Y. & Zang, X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends in Molecular Medicine* vol. 21 24–33 (2015).
102. Thibult, M. L. *et al.* Pd-1 is a novel regulator of human B-cell activation. *International Immunology* **25**, 129–137 (2013).
103. Topalian, S. L., Taube, J. M., Anders, R. A. & Pardoll, D. M. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* vol. 16 275–287 (2016).
104. Sznol, M. & Chen, L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clinical Cancer Research* **19**, 1021–1034 (2013).

105. Turley, S. J., Cremasco, V. & Astarita, J. L. Immunological hallmarks of stromal cells in the tumour microenvironment. *Nature Reviews Immunology* vol. 15 669–682 (2015).
106. Martin, A. M. *et al.* Paucity of PD-L1 expression in prostate cancer: Innate and adaptive immune resistance. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* **18**, 325–332 (2015).
107. Sau, S., Mondal, S. K., Kashaw, S. K., Iyer, A. K. & Banerjee, R. Combination of cationic dexamethasone derivative and STAT3 inhibitor (WP1066) for aggressive melanoma: a strategy for repurposing a phase I clinical trial drug. *Molecular and Cellular Biochemistry* **436**, 119–136 (2017).
108. Ribas, A. Adaptive immune resistance: How cancer protects from immune attack. *Cancer Discovery* vol. 5 915–919 (2015).
109. Agata, Y. *et al.* Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *International Immunology* vol. 8 <http://intimm.oxfordjournals.org/> (1996).
110. Lussier, D. M. *et al.* Enhanced T-Cell Immunity to Osteosarcoma Through Antibody Blockade of PD-1/PD-L1 Interactions. *Immunotherapy Journal* **38**, 96–106 (2015).
111. Topalian, S. L. *et al.* Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *Journal of Clinical Oncology* **32**, 1020–1030 (2014).
112. Chen, L. & Han, X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: Past, present, and future. *Journal of Clinical Investigation* vol. 125 3384–3391 (2015).
113. D’Incecco, A. *et al.* PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. *British Journal of Cancer* **112**, 95–102 (2015).
114. Wang, D. *et al.* Acid-Activatable Versatile Micelleplexes for PD-L1 Blockade-Enhanced Cancer Photodynamic Immunotherapy. *Nano Letters* **16**, 5503–5513 (2016).

115. Alsaab, H. O. *et al.* PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Frontiers in Pharmacology* vol. 8 (2017).
116. Nurieva, R. I., Liu, X. & Dong, C. Yin-Yang of costimulation: Crucial controls of immune tolerance and function. *Immunological Reviews* vol. 229 88–100 (2009).
117. Chen, J., Jiang, C. C., Jin, L. & Zhang, X. D. Regulation of PD-L1: A novel role of pro-survival signalling in cancer. *Annals of Oncology* vol. 27 409–416 (2016).
118. Topalian, S. L., Drake, C. G. & Pardoll, D. M. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Current Opinion in Immunology* vol. 24 207–212 (2012).
119. Rozali, E. N., Hato, S. v., Robinson, B. W., Lake, R. A. & Lesterhuis, W. J. Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression. *Clinical and Developmental Immunology* vol. 2012 (2012).
120. Latchman, Y. *et al.* PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. <http://immunol.nature.com> (2001).
121. Lesterhuis, W. J., Steer, H. & Lake, R. A. PD-L2 is predominantly expressed by Th2 cells. *Molecular Immunology* vol. 49 1–3 (2011).
122. Yamazaki, T. *et al.* Expression of Programmed Death 1 Ligands by Murine T Cells and APC 1. *The Journal of Immunology* vol. 169 (2002).
123. Kinter, A. L. *et al.* The Common-Chain Cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 Induce the Expression of Programmed Death-1 and Its Ligands. *The Journal of Immunology* vol. 181 www.jimmunol.org (2008).
124. Stanciu, L. A. *et al.* Expression of Programmed Death-1 Ligand (PD-L) 1, PD-L2, B7-H3, and Inducible Costimulator Ligand on Human Respiratory Tract Epithelial Cells and Regulation by Respiratory Syncytial Virus and Type 1 and 2 Cytokines. <http://jid.oxfordjournals.org/>.

125. Rodig, N. *et al.* Endothelial expression of PD-L1 and PD-L2 down-regulates CD8+ T cell activation and cytotoxicity. *European Journal of Immunology* **33**, 3117–3126 (2003).
126. Pinchuk, I. v. *et al.* PD-1 Ligand Expression by Human Colonic Myofibroblasts/Fibroblasts Regulates CD4+ T-Cell Activity. *Gastroenterology* **135**, (2008).
127. Nazareth, M. R. *et al.* Characterization of Human Lung Tumor-Associated Fibroblasts and Their Ability to Modulate the Activation of Tumor-Associated T Cells. *The Journal of Immunology* **178**, 5552–5562 (2007).
128. Hebenstreit, D., Wirnsberger, G., Horejs-Hoeck, J. & Duschl, A. Signaling mechanisms, interaction partners, and target genes of STAT6. *Cytokine and Growth Factor Reviews* vol. 17 173–188 (2006).
129. Thieu, V. T. *et al.* IL-4-stimulated NF- κ B activity is required for Stat6 DNA binding. *Journal of Leukocyte Biology* **82**, 370–379 (2007).
130. Xiao, Y. *et al.* RGMb is a novel binding partner for PD-L2 and its engagement with PD-L2 promotes respiratory tolerance. *Journal of Experimental Medicine* **211**, 943–959 (2014).
131. Li, G. M. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Research* vol. 18 85–98 (2008).
132. Kunkel, T. A. & Erie, D. A. DNA mismatch repair. *Annual Review of Biochemistry* vol. 74 681–710 (2005).
133. Tiraby, J.-G. & Fox, M. S. Marker Discrimination in Transformation and Mutation of *Pneumococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **70**, 3541–3545 (1973).
134. Modrich, P. & Lahue, R. MISMATCH REPAIR IN REPLICATION FIDELITY, GENETIC RECOMBINATION, AND CANCER BIOLOGY. *Annu Rev. Biochem.* 19% vol. 65 www.annualreviews.org (1996).

135. Li, G. M. The role of mismatch repair in DNA damage-induced apoptosis. *Oncology Research* **11**, 393–400 (1999).
136. Loeb, L. A., Loeb, K. R. & Anderson, J. P. Multiple mutations and cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 776–781 (2003).
137. Bebenek, K. & Kunkel, T. A. Streisinger revisited: DNA synthesis errors mediated by substrate misalignments. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **65**, 81–91 (2000).
138. Umar, A. *et al.* Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *J Natl Cancer Inst* vol. 96 (2004).
139. Fishel, R. *The Selection for Mismatch Repair Defects in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer: Revising the Mutator Hypothesis 1.* *CANCER RESEARCH* vol. 61 (2001).
140. Lee, D. F., Drouin, R., Pitsikas, P. & Rainbow, A. J. Detection of an involvement of the human mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 in nucleotide excision repair is dependent on UVC fluence to cells. *Cancer Research* **64**, 3865–3870 (2004).
141. Jiricny, J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* vol. 7 335–346 (2006).
142. Lahue, R. S., Au, K. G. & Modrich, P. DNA Mismatch Correction in a Defined System. *Science* **245**, 160–164 (1989).
143. Bronner, C. E., Baker, S. M., Morrison, P. T. & Warren, G. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH 1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* **368**, 258–261 (1994).
144. Mishima, S. *et al.* Japan Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion for the diagnosis and use of immunotherapy in patients with deficient DNA mismatch repair tumors, cooperated by Japanese Society of Medical Oncology, First Edition. *International Journal of Clinical Oncology* **25**, 217–239 (2020).

145. Kuiper, R. P. *et al.* Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Human Mutation* **32**, 407–414 (2011).
146. Mcgovern, A. *et al.* Promoter hypermethylation frequency and BRAF mutations distinguish hereditary non-polyposis colon cancer from sporadic MSI-H colon cancer. *Familial Cancer* **3**, 101–107 (2004).
147. College of American Pathologist. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum. <https://documents.cap.org/protocols/cp-gilower-colonrectum-resection-20-4100.pdf> (2020).
148. Melero, I. *et al.* Therapeutic vaccines for cancer: An overview of clinical trials. *Nature Reviews Clinical Oncology* vol. 11 509–524 (2014).
149. D’Errico, G., Machado, H. L. & Sainz, B. A current perspective on cancer immune therapy: step- by- step approach to constructing the magic bullet. *Clinical and Translational Medicine* **6**, (2017).
150. Gu, L. *et al.* PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* **12**, (2017).
151. Zhang, M. *et al.* The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression in gastric cancer: A meta-analysis of 10 studies with 1,901 patients. *Scientific Reports* **6**, (2016).
152. Qing, Y. *et al.* Upregulation of PD-L1 and APE1 is associated with tumorigenesis and poor prognosis of gastric cancer. *Drug Design, Development and Therapy* **9**, 901–909 (2015).
153. Chang, H. *et al.* Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group. *Oncotarget* vol. 7 www.impactjournals.com/oncotarget (2016).
154. Dai, C. *et al.* Concordance of immune checkpoints within tumor immune contexture and their prognostic significance in gastric cancer. *Molecular Oncology* **10**, 1551 (2016).

155. Kim, H. R. *et al.* PD-L1 expression on immune cells, but not on tumor cells, is a favorable prognostic factor for head and neck cancer patients. *Scientific Reports* **6**, (2016).
156. Botti, G. *et al.* Programmed death ligand 1 (PD-L1) tumor expression is associated with a better prognosis and diabetic disease in triple negative breast cancer patients. *International Journal of Molecular Sciences* **18**, (2017).
157. Wu, Y. *et al.* PD-1 and PD-L1 co-expression predicts favorable prognosis in gastric cancer. www.impactjournals.com/oncotarget (2017).
158. Kawazoe, A. *et al.* Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein–Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric Cancer* **20**, 407–415 (2017).
159. Liu, Y. X. *et al.* Prognostic significance of PD-L1 expression in patients with gastric cancer in East Asia: A meta-analysis. *OncoTargets and Therapy* **9**, 2649–2654 (2016).
160. Eto, S. *et al.* Programmed cell death protein 1 expression is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection. *Gastric Cancer* **19**, 466–471 (2016).
161. Hou, J. *et al.* Correlation between infiltration of FOXP3+ regulatory T cells and expression of B7-H1 in the tumor tissues of gastric cancer. *Experimental and Molecular Pathology* **96**, 284–291 (2014).
162. Jiang, D., Xu, Y. yun, Li, F., Xu, B. & Zhang, X. guang. The role of B7-H1 in gastric carcinoma: clinical significance and related mechanism. *Medical Oncology* **31**, 1–7 (2014).
163. Zhang, L. *et al.* Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors. *Int J Clin Exp Pathol* vol. 8 www.ijcep.com/ (2015).

164. Liu, X. *et al.* High PD-L1 expression in gastric cancer (GC) patients and correlation with molecular features. *Pathology Research and Practice* **216**, (2020).
165. Wang, Y. L., Gong, Y., Lv, Z., Li, L. & Yuan, Y. Expression of PD1/PDL1 in gastric cancer at different microsatellite status and its correlation with infiltrating immune cells in the tumor microenvironment. *Journal of Cancer* **12**, 1698–1707 (2021).
166. Chen, D. S. & Mellman, I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity* vol. 39 1–10 (2013).
167. Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T. & Ono, M. Regulatory T Cells and Immune Tolerance. *Cell* vol. 133 775–787 (2008).
168. Francisco, L. M. *et al.* PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *Journal of Experimental Medicine* **206**, 3015–3029 (2009).
169. Bardhan, K., Anagnostou, T. & Boussiotis, V. A. The PD1: PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Frontiers in Immunology* vol. 7 (2016).
170. Gao, Y. *et al.* Prognostic value of programmed death-1, programmed death-ligand 1, programmed death-ligand 2 expression, and CD8(+) T cell density in primary tumors and metastatic lymph nodes from patients with stage T1-4N+M0 gastric adenocarcinoma. *Chinese Journal of Cancer* **36**, (2017).
171. Liu, J. *et al.* Profiles of PD-1, PD-L1, PD-L2 in Gastric Cancer and Their Relation with Mutation, Immune Infiltration, and Survival. *BioMed Research International* **2020**, (2020).
172. Dong, M. *et al.* Expression and prognostic roles of PIK3CA, JAK2, PD-L1, and PD-L2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Human Pathology* **53**, 25–34 (2016).
173. Derks, S. *et al.* Epithelial PD-L2 expression marks Barrett's esophagus and esophageal Adenocarcinoma. *Cancer Immunology Research* **3**, 1123–1129 (2015).

174. Okadome, K. *et al.* Prognostic and clinical impact of PD-L2 and PD-L1 expression in a cohort of 437 oesophageal cancers. *British Journal of Cancer* **122**, 1535–1543 (2020).
175. Takamori, S. *et al.* Prognostic impact of PD-L2 expression and association with PD-L1 in patients with small-cell lung cancer. *Anticancer Research* **38**, 5903–5907 (2018).
176. Ng Loke, P. ' & Allison, J. P. *PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0931259100.
177. Koh, J. *et al.* Clinicopathologic analysis of programmed cell death-1 and programmed cell death-ligand 1 and 2 expressions in pulmonary adenocarcinoma: Comparison with histology and driver oncogenic alteration status. *Modern Pathology* **28**, 1154–1166 (2015).
178. Yearley, J. H. *et al.* PD-L2 expression in human tumors: Relevance to anti-PD-1 therapy in cancer. *Clinical Cancer Research* **23**, 3158–3167 (2017).
179. Julié, C. *et al.* Identification in daily practice of patients with lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): Revised Bethesda guidelines-based approach versus molecular screening. *American Journal of Gastroenterology* **103**, 2825–2835 (2008).
180. Goldstein, J. *et al.* Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H). *Annals of Oncology* **25**, 1032–1038 (2014).
181. Choi, Y. Y. *et al.* Is microsatellite instability a prognostic marker in gastric cancer?: A systematic review with meta-analysis. *Journal of Surgical Oncology* **110**, 129–135 (2014).
182. Luchini, C. *et al.* ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: A systematic review-based approach. *Annals of Oncology* **30**, 1232–1243 (2019).

183. Polom, K. *et al.* Meta-analysis of microsatellite instability in relation to clinicopathological characteristics and overall survival in gastric cancer. *British Journal of Surgery* vol. 105 159–167 (2018).
184. Kim, J. Y. *et al.* Microsatellite instability status in gastric cancer: A reappraisal of its clinical significance and relationship with mucin phenotypes. *Korean Journal of Pathology* **47**, 28–35 (2013).
185. Karpińska-Kaczmarczyk, K., Lewandowska, M., Ławniczak, M., Bialek, A. & Urańska, E. Expression of mismatch repair proteins in early and advanced gastric cancer in Poland. *Medical Science Monitor* **22**, 2886–2892 (2016).
186. ZHU, L. *et al.* Microsatellite instability and survival in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Molecular and Clinical Oncology* **3**, 699–705 (2015).
187. An, J. Y. *et al.* Microsatellite instability in sporadic gastric cancer: Its prognostic role and guidance for 5-FU based chemotherapy after R0 resection. *International Journal of Cancer* **131**, 505–511 (2012).
188. Hyung, M. S. *et al.* Clinicopathologic characteristics and outcomes of gastric cancers with the MSI-H phenotype. *Journal of Surgical Oncology* **99**, 143–147 (2009).
189. Wirtz, H.-C. *et al.* *Prognostic Value and Clinicopathological Profile of Microsatellite Instability in Gastric Cancer*1. vol. 4 (1998).
190. Oki, E. *et al.* Chemosensitivity and survival in gastric cancer patients with microsatellite instability. *Annals of Surgical Oncology* **16**, 2510–2515 (2009).
191. Kim, H. *et al.* High microsatellite instability predicts good prognosis in intestinal-type gastric cancers. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* **26**, 585–592 (2011).
192. Ottini, L. *et al.* Patterns of genomic instability in gastric cancer: Clinical implications and perspectives. *Annals of Oncology* **17**, (2006).

193. Sugimoto, R. *et al.* Clinicopathological and molecular alterations in early gastric cancers with the microsatellite instability-high phenotype. *International Journal of Cancer* **138**, 1689–1697 (2016).
194. Liu, P., Zhang, X.-Y., Shao, Y. & Zhang, D.-F. Microsatellite instability in gastric cancer and pre-cancerous lesions. *World J Gastroenterol* **11**, 4904–4907 (2005).
195. Yang, G., Zheng, R. yi & Jin, Z. shun. Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **145**, 2891–2899 (2019).
196. Ma, C. *et al.* *Programmed Death-Ligand 1 Expression Is Common in Gastric Cancer Associated With Epstein-Barr Virus or Microsatellite Instability.* www.ajsp.com. (2016).
197. Zhang, L. *et al.* Clinicopathological features of tumor mutation burden, Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability and PD-L1 status in Chinese patients with gastric cancer. *Diagnostic Pathology* **16**, (2021).
198. Cho, J. *et al.* *Programmed cell death-ligand 1 expression predicts survival in patients with gastric carcinoma with microsatellite instability.* *Oncotarget* vol. 8 www.impactjournals.com/oncotarget/ (2017).
199. Mandai, M. *et al.* Dual faces of ifn γ in cancer progression: A role of pd-11 induction in the determination of proand antitumor immunity. *Clinical Cancer Research* vol. 22 2329–2334 (2016).
200. Blank, C. *et al.* *PD-L1/B7H-1 Inhibits the Effector Phase of Tumor Rejection by T Cell Receptor (TCR) Transgenic CD8 T Cells.* *CANCER RESEARCH* vol. 64 (2004).