T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KANUNİ SULTAN SÜLEYMAN SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

LOKAL İLERİ REKTUM KANSERİNDE TÜMÖR DOKUSUNDAKİ CD4, CD8 VE TÜMÖR İNFİLTRE EDEN LENFOSİT YÜZDESİNİN NEOADJUVAN TEDAVİ YANITINI ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ

Dr. Hatice Telci

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KANUNİ SULTAN SÜLEYMAN SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

LOKAL İLERİ REKTUM KANSERİNDE TÜMÖR DOKUSUNDAKİ CD4, CD8 VE TÜMÖR İNFİLTRE EDEN LENFOSİT YÜZDESİNİN NEOADJUVAN TEDAVİ YANITINI ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ

Dr. Hatice Telci

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Erkan Somuncu

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca bilgi, deneyim ve yol göstericiliğiyle bana her zaman destek olan değerli tez danışmanım ve eğitim sorumlum Doç. Dr. Erkan Somuncu'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık ve tez sürecimde desteğini her daim hissettiğim, sevgili abim ve idari sorumlum Doç. Dr. Emre Bozdağ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin fikir aşamasından tamamlanmasına kadar her adımda yanımda olan, yönlendirmeleri, emeği ve desteğiyle çalışmamın şekillenmesinde büyük pay sahibi olan sevgili ablam Doç. Dr. Sabin Göktaş Aydın'a minnettarım.

Cerrahi yolculuğum boyunca bilgi ve deneyimleriyle gelişimime katkı sunan Prof. Dr. Ali Kocataş ve Prof. Dr. Mehmet Abdussamet Bozkurt hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan tüm uzman abilerime ve ablalarıma, ayrıca birlikte çalışmaktan onur duyduğum eşkıdemim Dr. Fatma Şahin'e, sevgili kıdemlilerime ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Yoğun asistanlık sürecinin her anında dayanışma ve ekip ruhunu hissettiren Genel Cerrahi Kliniği'ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma katkıları için şükran borçluyum.

Bugüne kadar her adımımda yanımda olan, sabırları, sevgileri ve koşulsuz destekleriyle beni ayakta tutan aileme teşekkür ederim.

Desteğini, anlayışını ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Deniz Ulusoy'a, varlığıyla bana güç kattığı için gönülden teşekkür ederim.

Emeği geçen herkese en içten saygı ve teşekkürlerimle…

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR……i

İÇİNDEKİLER……ii

SİMGELER VE KISALTMALAR……iv

TABLO LİSTESİ……vi

ŞEKİL LİSTESİ…….. vii

ÖZET…….. ix

ABSTRACT…….. xi

1. GİRİŞ VE AMAÇ……1

2. GENEL BİLGİLER……3

2.1. REKTUM ANATOMİSİ……3
2.2. REKTUM KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETİYOLOJİSİ……4
2.3. REKTUM KANSERİNDE KLİNİK ÖZELLİKLER VE TANI……4
2.4. REKTUM KANSERİNDE EVRELEME……5
2.4.1. Preoperatif Evreleme……5
2.4.2. Postoperatif Evreleme……6
2.5. REKTUM KANSERİNİN TEDAVİSİ ……8
2.5.1. Cerrahi Tedaviler……8
2.5.2 Rektum Kanseri Cerrahisinin Komplikasyonları ……9
2.5.3. Lokal Eksizyon……10
2.5.4. Total Neoadjuvan Tedavi……10
2.5.5. Bekle ve Gör……11
2.5.6. Neoadjuvan Tedaviye Yanıtın Değerlendirilmesi……12
2.6. CD4, CD8 VE TİL YÜZDESİ……13

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER……15

3.1. MATERYAL VE METOD……..……...…15
3.1.1. Çalışmanın Tasarımı ve Hasta Popülasyonu…….…….…....15
3.1.2. Örneklem Büyüklüğü……...…...15
3.1.3. Neoadjuvan Kemoterapi Protokolü…….…..…..15
3.1.4. Neoadjuvan Tedavi Yanıtının Patolojik Değerlendirilmesi……..…..…….16
3.1.5. CD4+ ve CD8+ Hücre Ekspresyonunun ve TİL Yüzdesinin İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi……..…….17
3.2. ETİK KURUL ONAYI VE KATILIMCI ONAMI……..21
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ……..……21
4.BULGULAR…….23
5. TARTIŞMA……..36
6. SONUÇLAR…….49
7. KAYNAKLAR…….50
8. EKLER……...……..61

SİMGELER VE KISALTMALAR

AJCC :The American Joint Committee on Cancer

APR :Abdominoperineal Rezeksiyon

BT :Bilgisayarlı Tomografi

CAP :College of American Pathologists

CEA :Karsinoembriyonik Antijen

ERUS :Endorektal Ultrason

ESD :Endoskopik Submukozal Diseksiyon

İHC :İmmunohistokimyasal

İMA :İnferior Mezenterik Arter

KRK :Kolorektal Kanser

KRT :Kemoradyoterapi

KT :Kemoterapi

LAR :Low Anterior Rezeksiyon

LARS :Low Anterior Rezeksiyon Sendromu

LİRK :Lokal İleri Rektum Kanseri

LVİ :Lenfovasküler İnvazyon

MR :Manyetik Rezonans Görüntüleme

PET :Pozitron Emisyon Tomografisi

PNİ :Perinörel İnvazyon

pTY :Patolojik Tam Yanıt

RECIST :Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

RK :Rektum Kanseri

RT :Radyoterapi

TAMİS :Transanal Minimal İnvaziv Cerrahi

TEM :Transanal Endoskopik Mikrocerrahi

TIL :Tümör İnfiltre Eden Lenfosit

TME :Total Mezorektal Eksizyon

TNT :Total Neoadjuvan Tedavi

UICC :Union for International Cancer Control

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Radyolojik TNM Evreleme Sistemi

Tablo 2: AJCC 8'e Göre Kolorektal Kanserlerin Patolojik Evreleme Sistemi

Tablo 3: Kolorektal Tümörlerin Patolojik/Klinik Evreleme Sistemi

Tablo 4: Patolojik Yanıt Tümör Regresyon Derece Sistemleri

Tablo 5: Hastaların Demografik Verileri

Tablo 6: Hastaların Operasyon Verileri

Tablo 7: Hastaların Neadjuvan Öncesi Mr'daki Radyolojik Evrelemesi

Tablo 8: Hastaların Tümörlerinin Histopatolojik Verileri

Tablo 9: Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Spesmenlerde Bakılan CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm² Sayısı ve TİL Yüzdesi

Tablo 10: Tam-Tama Yakın Yanıtı Olan Hastalar ile Parsiyel-Stabil Yanıtı Olan Hastaların Karşılaştırılması

Tablo 11: Cerrahi Yapılan Hastaların Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm² Sayısı ve TİL Yüzdesi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD4 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD4 T lenfositleri a) 101 adet stromal CD4/BBA b) 31 adet stromal CD4/BBA; CD4 40X

Şekil 2: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD8 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD8 T lenfositleri a) 25 adet stromal CD8/BBA b) 2 adet stromal CD8/BBA; CD8 40X

Şekil 3: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerin stromal yoğunluğu a) %60 b) %5 ; H&E, TİL 40X

Şekil 4: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD4 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD4 T lenfositleri a) 106 adet stromal CD4/BBA b) 27 adet stromal CD4/BBA ; CD4 40X

Şekil 5: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD8 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD8 T lenfositleri a) 104 adet stromal CD8/BBA b) 20 adet stromal CD8/BBA; CD8 40X

Şekil 6: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerin stromal yoğunluğu a) %50 b) %5 ; H&E, TİL 40X

Şekil 7: TNT'ye Tedavi Yanıtını Predikte Edecek TIL%, CD4 + ve CD8+ Hücre Sayısının Cut Off Belirlenmesi İçin Yapılan ROC Analizi

Şekil 8: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların TIL% Değerleri

Şekil 9: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların CD8+ Hasta Sayısı

Şekil 10: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların CD4+ Hasta Sayısı

Şekil 11: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD8+ hücre/mm² Sayısındaki Değişim

Şekil 12: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD4+ hücre/mm² Sayısındaki Değişim

Şekil 13: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan TİL Yüzdesindeki Değişim

ÖZET

Amaç: Lokal ileri rektum kanseri (LİRK) tedavisinde total neoadjuvan tedavinin (TNT) yaygınlaşmasıyla birlikte, tedavi yanıtını öngörebilecek biyobelirteçlerin belirlenmesi giderek daha önemli hale gelmiştir. Bu çalışmanın amacı, tümör dokusunda CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit yoğunluğu ile tümör infiltre eden lenfosit (TİL) yüzdesinin neoadjuvan tedavi yanıtını öngörmedeki rolünü değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: TNT uygulanan 45 LİRK hastasının tedavi öncesi kolonoskopik biyopsi dokularında CD4+, CD8+ T lenfosit sayıları ve TİL yüzdesi immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Cerrahi uygulanan 40 hastanın tedavi sonrası rezeksiyon materyalleri ayrıca incelendi. Histopatolojik yanıt, Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) ve Amerikan Patologlar Koleji (CAP) tümör regresyon derecelendirme (TRG) sistemine göre TRG 0–1 yanıt veren, TRG 2–3 yanıt vermeyen olarak sınıflandırıldı.

Bulgular: Tedavi öncesi median CD4+, CD8+ ve TİL% değerleri sırasıyla 320 (16–1064), 64 (4–432) hücre/mm² ve %30 (5–60) olarak bulundu. ROC analizinde CD4+ hücre/mm² için belirlenen 410 hücre/mm² eşik değeri anlamlı olup tedavi yanıtını öngörmede etkili bulundu (AUC=0,68; p=0,041). CD8+ hücre sayısı ve TİL yüzdesi ile tedavi yanıtı arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,18 ve p=0,29). Cerrahi sonrası dokularda CD8+ hücre yoğunluğunda anlamlı artış görülürken (p<0,001), CD4+ hücre sayısı ve TİL yüzdesinde anlamlı değişiklik izlenmedi (p=0,06 ve p=0,7). Lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı tedaviye kötü yanıtla ilişkiliydi (p=0,003 ve p=0,004).

Sonuç: LİRK'de tedavi öncesi tümör dokusunda yüksek CD4+ T lenfosit yoğunluğu neoadjuvan tedavi yanıtını öngörmede anlamlı bir biyobelirteç olabilir. CD8+ hücre sayısı ve TİL yüzdesi ise tedavi yanıtını öngörmede belirleyici bulunmamıştır. Bulgular, CD4+ T lenfosit yoğunluğunun tedavi stratejilerinin bireyselleştirilmesinde potansiyel prognostik bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD4, CD8, Lokal ileri rektum kanseri, Neoadjuvan tedavi, TİL, Tümör regresyon derecesi

ABSTRACT

Objective: As total neoadjuvant therapy (TNT) becomes increasingly utilized in the management of locally advanced rectal cancer (LARC), the identification of predictive biomarkers for treatment response has gained clinical importance. This study aimed to evaluate the predictive value of intratumoral CD4- and CD8-positive T lymphocyte density and tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) percentage for neoadjuvant treatment response.

Materials and Methods: CD4+, CD8+ T-cell counts and TIL% were immunohistochemically assessed in pretreatment colonoscopic biopsy specimens of 45 patients with LARC who received TNT. Post-treatment resection specimens of 40 patients undergoing surgery were also evaluated. Histopathologic response was classified according to the AJCC and CAP tumor regression grading system as responders (TRG 0–1) and non-responders (TRG 2–3).

Results: Median pretreatment CD4+, CD8+ and TIL% values were 320 (16–1064), 64 (4–432) cells/mm² and 30% (5–60), respectively. ROC analysis demonstrated that stromal CD4+ T-cell density significantly predicted treatment response with a cutoff value of 410 cells/mm² (AUC=0.68; p=0.041). CD8+ T-cell count and TIL percentage did not significantly correlate with treatment response (p=0.18 and p=0.29). Post-treatment specimens showed a significant increase in CD8+ cell density ($p<0.001$), while CD4+ and TIL% showed no significant change (p=0.06 and p=0.7). Lymphovascular and perineural invasion were significantly associated with poor response (p=0.003 and p=0.004).

Conclusion: High pretreatment intratumoral CD4+ T-cell density may serve as a meaningful predictive biomarker for neoadjuvant treatment response in LARC. CD8+ T-cell density and TIL percentage were not predictive. These findings suggest that CD4+ T cells may play a potential role in guiding individualized treatment strategies.

Keywords: CD4, CD8, Locally advanced rectal cancer, Neoadjuvant therapy, TIL, Tumor regression grade

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Rektum kanserinin (RK) yönetimi son birkaç on yılda önemli ölçüde değişti. Total mezorektal eksizyon (TME) ile radikal cerrahi rezeksiyon tedavinin temel taşlarından biri olmaya devam ederken, radyasyon ve kemoterapinin eklenmesi ile organ koruyucu tedavi stratejilerinin önemi arttı(1). Lokal ileri rektum kanseri için total neoadjuvan tedavi (TNT) ve sonrasında TME içeren tedavi stratejisinin yaygın kullanımı sağ kalımı iyileştirmiştir (2). TNT, uzak metastazları azaltmayı ve lokal kontrolü iyileştirmeyi amaçlayan bir yaklaşımdır (3). TNT ile bazı hastalarda primer tümörün tamamen ortadan kalkması yani klinik tam yanıtın gözlemlenmesi, cerrahları seçili hastalarda rezeksiyondan kaçınmayı düşünmeye yöneltmiştir. Tam yanıt elde edilen hastalar için bu cerrahi olmayan tedavinin (bekle ve gör) ilk bildirilen sonuçlarından bu yana neoadjuvan tedavi rejimlerinde birçok değişiklik meydana geldi (4-5). TNT ile ilgili bazı endişeler de mevcuttur. Kemoterapi hastanın hem performansını kötüleştirebilir hem de tedavi sürecinde gelişebilecek olan yan etkiler nedeniyle hastanın cerrahi tedavisi gecikebilir veya cerrahi mümkün olmayabilir. Tedavi sürecinde düşük de olsa hastalık ilerlemesi riski de hesaba katılır ise daha önce çıkarılabilir tümörleri olan hastalar için cerrahi tedaviyi tehlikeye atabilir. (2,3,6).

Rektum kanserinin bekle ve gör tedavisinin cazip hale gelmesinin nedeni, TME cerrahisinin önemli morbidite, mortalite ve fonksiyonel kayıplarla ilişkili olmasıyla ilgilidir(4). Üriner ve cinsel fonksiyonla ilişkili önemli bozukluklar bildirilmiştir. Ancak, en önemlisi ameliyat sonrası bağırsak fonksiyonuyla ilişkili sonuçlardır. Rektumdaki tümörün seviyesine, anastomoz seviyesine ve kısmi veya total intersfinkterik rezeksiyon gerekliliğine bağlı olarak, hastalar low anterior rezeksiyon sendromuyla ilişkili değişen semptomlar yaşayabilir. Ayrıca geçici veya kalıcı stoma gereksinimi bu hastaların çoğu için çok kritik olabilir. Bekle ve gör stratejisi ile hastalar için cerrahinin yaratacağı riskler ortadan kaldırılmış olur. Ancak, bekle ve gör protokolüne giren hastaların bir kısmında da primer tümörün lokal olarak yeniden büyüyebileceği ve bu nedenle cerrahi rezeksiyon gerektireceği için dikkatli olunmalıdır (4,7,8).

Aynı tedavi protokolleri uygulanmasına karşın hastalar TNT'ye farklı yanıtlar vermektedir. Kimlerin tedaviden tam fayda sağlayacağı şu an için belirsizliğini sürdürmektedir. Bu nedenle, TNT'ye yanıtı tedavi öncesi öngörecek biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Klinikteki tedavi seçimini şekillendirecek biyobelirteçler için klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

CD4+ ve CD8+ T lenfositler, antitümör immün yanıtın iki temel efektör alt grubunu oluşturur. CD4+ T hücreleri, başlıca yardımcı (helper) rol üstlenerek tümör mikroçevresinde sitotoksik CD8+ T hücrelerinin aktivasyonunu, antijen sunumunu ve sitokin aracılı immün yanıtı düzenler. Aynı zamanda bazı alt tipleri (örneğin Th1) interferon-γ ve IL-2 gibi sitokinler salarak antitümör savunmayı güçlendirirken, diğerleri (örneğin Treg) immünsüpresif etki göstererek tümör progresyonuna katkı sağlayabilir. CD8+ T hücreleri ise doğrudan sitotoksik etkileriyle tümör hücrelerini perforin, granzim-B ve Fas/Fas-L yolu aracılığıyla öldürür ve tümör yükünü azaltmada en kritik hücresel yanıtı oluşturur. Kanser dokularında CD4+ ve CD8+ T hücre infiltrasyonunun yoğunluğu, tümör infiltre eden lenfositler (TIL), fonksiyonel aktivitesi ve oranı, hastalığın prognozunu ve tedaviye yanıtı belirleyen önemli immünolojik göstergelerdir. Bu nedenle, tümör mikroçevresinde CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin varlığı sadece bağışıklık aktivitesinin bir göstergesi değil, aynı zamanda immünoterapötik stratejilerin etkinliğini öngören kritik bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (9).

Lokal ileri rektum kanserinde, TNT tedavisine yanıt verecek veya yanıt vermeyecek hastaları önceden tahmin etmek hastanın tedavi rejimini ve süresini değiştirebilir. Bu çalışmada, lokal ileri rektum kanserinde tümör dokusunda CD4, CD8 ve TIL yüzdesi bakarak tedavi yanıtını değerlendirmeyi öngörecek prediktif bir değer bulmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. REKTUM ANATOMİSİ

Rektum 12-15 cm uzunluğundadır. Üçüncü sakral omurga düzeyinden başlar. Sakrum ve koksiksin eğimine uygun olarak aşağı uzanır. Rektum üst, orta ve alt rektum olmak üzere üç ayrı bölümden oluşur. Anatomik olarak belirgin olmasa da rektumun bölümleri, rektum kanserinin cerrahi tedavisi düşünüldüğünde önemlidir. Anal kanaldan itibaren alt rektum 0-7 cm, orta rektum 7-12 cm ve üst rektum 12-15 cm'dir. Ancak rektumun uzunluğu aslında değişkendir ve 15 cm'nin ötesine uzanabilir. Rektumun büyük kısmı periton boşluğunun dışında yer alır. Ancak ön ve yanlarda üst rektum, periton refleksiyonuna kadar uzanan bir visseral periton tabakasıyla kaplıdır. Kadınlarda rektum uterus, serviks ve vajinanın arka duvarının arkasında; erkeklerde ise mesane, vas deferens, seminal veziküller ve prostatın arkasında yer alır.(10-12).

Rektum süperior, middle ve inferior rektal arterler tarafından beslenir. İnferior mezenterik arterinin (İMA) son bölümü süperior rektal arter olarak devam eder. İMA'nın bir dalı da middle rektal arter olarak devam eder. İnferior rektal arter ise internal iliak arterden köken alan internal pudendal arterin dalıdır. (10-12).

Rektumun venöz drenaj hem portal hem de kaval sistem aracılığıyla gerçekleşir. Middle ve inferior rektal ven, internal iliak ven aracılığıyla kaval sisteme; süperior rektal ven, inferior mezenterik ven aracılığıyla portal sisteme drene olur. (10-12).

Rektumun lenfatik drenajı arteriyel sistemi takip eder. Lenfatik drenaj genel olarak iki pleksusla sağlanır. Pektinat çizginin yukarısının lenfatik drenajı süperior rektal arteri takip eder ve aort köküne doğru ilerler. Pektinat çizginin altındaki drenaj ise inguinal lenf nodlarına doğrudur. (10-12)

Rektumun inervasyonunda, süperior hipogastrik pleksus promontorium üzerinde L5 vertebra önünde T10-L2 köklerden kaynaklanan sempatik liflerden ve S2-S4 sakral köklerden gelen parasempatik liflerden oluşur. Bu lifler birleşerek inferior hipogastrik pleksusu oluştururlar. (10-13)

2.2. REKTUM KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETİYOLOJİSİ

Kolorektal kanser (KRK), günümüzde dünya çapında en yaygın üçüncü kanser türüdür (14). KRK, tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir (15). Rektum kanseri (RK), yeni tanı konulan KRK hastalarının üçte birini oluşturmaktadır (16). İnsidans ve mortalite oranları farklılıklar göstermekle birlikte 2035 yılında öngörülen KRK insidansı 2,5 milyon yeni vakadır (17).

Ülkemizdeki kanser istatistiklerine bakıldığında KRK tüm yaş gruplarında erkeklerde %11,2 ile üçüncü sırada, kadınlarda %9,1 ile ikinci sırada görülen kanser türüdür. Sıklığı erkeklerde yüz binde 24,1 iken kadınlarda yüz binde 13,3'tür. Bir yılda 18.825 kişiye kolorektal kanser teşhisi konulmuştur (18).

Rektum kanserinin etiyolojisinde birçok neden yer almaktadır. İleri yaş, erkek cinsiyet, aile öyküsü, genetik predispozan faktörler (APC, KRAS, P53 gibi gen mutasyonları), prekanseröz lezyonlar (epitelyal polipler), inflamatuar bağırsak hastalıkları, radyasyon maruziyeti, diyet (yağ, kolesterol, d vitamini eksikliği, aşırı alkol alımı) ve çevresel faktörler bunlardandır. (19,20).

2.3. REKTUM KANSERİNDE KLİNİK ÖZELLİKLER VE TANI

Rektal kanserin klinik tablosu, tarama muayenesinden geçen tamamen asemptomatik bir hastadan, kanama veya tıkanıklık riski taşıyan semptomatik bir kitleye kadar geniş bir yelpazede değişebilir. RK'de en sık görülen başvuru şikayetleri arasında rektal kanama, karın ağrısı, açıklanamayan kilo kaybı, tenesmus, rektal ağrı ve bağırsak alışkanlıklarındaki değişiklikler yer alır. Hastaların yarısında rektal kanama görülmektedir. Dışkı geçişini engelleyecek darlık oluştuğunda karında şişlik, bulantı, kusma, karın ağrısı, bağırsak tıkanıklığı ortaya çıkabilir. (17, 21-25).

RK tanısında çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılmakla birlikte anamnez ve fizik muayene tanının temelini oluşturmaktadır. Dijital rektal muayene; kitlenin yeri,

büyüklüğü ve çevre dokularla ilişkisi hakkında bilgi verir. Altın standart tanı yöntemi endoskopik girişimlerdir. Kesin tanı endoskopik biyopsinin histopatolojik incelenmesi ile konur. (21-25). RK'da günümüzde kullanılan görüntüleme yöntemleri endorektal ultrason (ERUS), manyetik rezonans görüntüleme (MRG), pozitron emisyon tomografisi (PET) taraması ve bilgisayarlı tomografidir (BT). Ancak bu görüntüleme yöntemleri esas olarak sistemik metastaz varlığını dışlamak için kullanılır. (26).

2.4. REKTUM KANSERİNDE EVRELEME

2.4.1. Preoperatif Evreleme

Preoperatif evrelemede ERUS, MR, PET-BT ile yapılır. ERUS'un T evrelemesi için %80 ila %95 arasında değişen genel bir doğruluğa sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle, erken rektum kanserinin değerlendirmesinde ve tümörün rektal duvar katmanlarına yayılımının değerlendirilmesinde en yüksek doğruluk ve özgüllük gözlemlenmiştir. MR'ın daha ileri tümörlerin görüntülenmesinde üstün olduğu gösterilmiştir. MR'ın başlıca avantajı özellikle çevresel sınırda mezorektal fasya tutulumunu değerlendirmesidir. ERUS ile karşılaştırıldığında MR'ın bir avantajı da, diğer radyologlar ve klinisyenler tarafından değerlendirebiliyor olmasıdır. PET-BT taramasının, yakın zamanda rektum kanserinin ilk evrelemesi için MR'a eklenmesi önerilmiştir. Ancak PET-BT'nin 0,4-1,0 cm arasında değişen tümörlerin değerlendirilmesinde çözünürlüğü ve zayıf anatomik ayrıntıları nedeniyle T evrelemesindeki rolü düşüktür. (27-30).

Tablo 1'de radyolojik TNM (Tümör, Lenf Nodu, Metastaz) sınıflama sistemi verilmiştir. (Tablo 1). (31)

Tablo 1: Radyolojik TNM Evreleme Sistemi

Primer Tümör (T)	
Tis	Karsinoma insitu
T1	Submukozaya invaze
T2	Muskularis propriya invaze
T3	Perikolorektal yağlı dokuya invaze
T4a	Tümör peritona invaze
T4b	Tümör komşu organlara invaze
Bölgesel Lenf Nodları (N)	
N0	Lenf nodu metastazı yok
N1a	1 bölgesel lenf nodu pozitif
N1b	2-3 bölgesel lenf nodu pozitif
N1c	Pozitif lenf nodu yok, perirektal/mezorektal dokularda tümör depoziti varlığı
N2a	4-6 bölgesel lenf nodu pozitif
N2b	7 ve üzeri bölgesel lenf nodu pozitif
Uzak Metastaz (M)	
M0	Görüntüleme yöntemleri ile uzak metastaz yok
M1a	Periton metastazı olmaksızın bir bölge veya organda metastaz
M1b	Periton metastazı olmaksızın iki veya daha fazla bölge veya organda metastaz
M1c	Tek başına veya uzak organ metastazıyla birlikte periton metastazı

2.4.2. Postoperatif Evreleme

Kolorektal kanserlerin evrelemesinde standart yaklaşım Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Kontrol Birliği (UICC) tarafından geliştirilen TNM (Tümör, Lenf Nodu, Metastaz) sınıflama sistemidir. TNM sınıflaması Tablo 2'de verilmiştir. (32-33) (Tablo 2-Tablo 3)

Tablo 2: AJCC 8'e Göre Kolorektal Kanserlerin Patolojik Evreleme Sistemi

Primer Tümör (T)	
TX	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümör izlenmedi
Tis	Karsinoma insitu (intramukozal karsinom; lamina propria veya tam kat geçmeksizin muskularis mukoza invazyonu)
T1	Submukozaya invaze
T2	Muskularis propriya invaze
T3	Tümör muskularis propiayı geçerek perikolorektal yağlı dokuya invaze
T4	Tümör visseral periton veya komşu organ veya yapılara yapışık veya invaze
T4a	Tümör visseral peritona invaze (makroskopik perforasyon ve invazyon)
T4b	Tümör direkt olarak komşu organ veya yapılara yapışık veya invaze
Bölgesel Lenf Nodları (N)	
Nx	Değerlendirilemedi
N0	Lenf nodu metastazı yok
N1	1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz
N1a	1 bölgesel lenf nodu pozitif
N1b	2-3 lenf nodu pozitif
N1c	Pozitif lenf nodu yok, ancak subseroza, mezenter veya peritonla kaplı olmayan veya perirektal/mezorektal dokularda tümör depoziti varlığı
N2	≥ 4 bölgesel lenf nodunda metastaz var
N2a	4-6 lenf nodu pozitif
N2b	7 ve üzeri lenf nodu pozitif
Uzak Metastaz (M)	
M0	Görüntüleme yöntemleri ile uzak metastaz yok
M1	Bir veya daha fazla bölge veya organda veya peritonda metastaz
M1a	Periton metastazı olmaksızın bir bölge veya organda metastaz
M1b	Periton metastazı olmaksızın iki veya daha fazla bölge veya organda metastaz
M1c	Tek başına veya uzak organ metastazıyla birlikte periton metastazı

Tablo 3: Kolorektal Tümörlerin Patolojik/Klinik Evreleme Sistemi

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1	T1-T2	N0	M0
Evre 2	T3-T4	N0	M0
Evre 3	T1-T2-T3-T4	N1-N2	M0
Evre 4	Her T	Her N	M1

2.5. REKTUM KANSERİNİN TEDAVİSİ

Rektum kanserinin yönetimi her geçen gün değişmekle birlikte neoadjuvan tedavi ve cerrahi, tedavinin temelini oluşturmaktadır. Neoadjuvan tedaviye klinik olarak tam yanıt veren hastalar için ise cerrahi olmayan stratejilerle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. (22,34,35). Rezeksiyon için şu anda birden fazla yaklaşım mevcuttur; bunlar arasında rektum ve ilişkili mezenterin eksizyonu gibi radikal cerrahi müdahaleler olduğu gibi, lezyonun lokal olarak eksizyonu gibi organ koruyucu teknikler veya cerrahi müdahalenin tamamen ertelenmesi de yer almaktadır (23).

Rektum kanserinde evre II (klinik T3 ile T4, N0) ve evre III (herhangi bir klinik T, N1 ile N2) olan bu popülasyonlar lokal ileri rektum kanseri (LİRK) olarak adlandırılır. ESMO Klinik Uygulamalar Kılavuzuna göre tedavi algoritmasına göre LİRK'de organ koruma planlandığında TNT sonrası endoskopi ve MR ile yeniden evreleme yapılır. Tam yanıt olan hastalarda bekle ve gör stratejisi, tama yakın yanıt olanlarda lokal eksizyon, yanıt olmayanlarda cerrahi önerilir. (36)

2.5.1. Cerrahi Tedaviler

Tarihsel olarak cerrahi rezeksiyon, ileri evre rektum kanserinin tedavisinde temel yöntemdir. Cerrahi, Giovanni Morgagni'nin ilk kez rektum rezeksiyonunu önerdiği 18. yüzyıla dayanmaktadır. 1739'da Fransız Jean Faget, ilk rektal rezeksiyon girişimini

gerçekleştiren kişi olarak kabul edilir. 1920'lerde Ernest Miles'ın abdominoperineal rezeksiyonu (APR) tanımlamasıyla lokal nüksü azaltarak önemli bir ilerleme sağlamıştır. 1950'lerde staplerlerin kullanımı ile low anterior rezeksiyon (LAR) yaygınlaşmıştır. 1979'da Heald'in total mezorektal eksizyon (TME) tekniği cerrahide çığır açmıştır. TME tam bir lenf nodu diseksiyonu ve temiz çevresel rezeksiyon sınırları sağlayarak lokal nüksü önemli ölçüde azaltmıştır. (22, 34-37).

Cerrahinin prensiplerini temiz cerrahi sınırlar ve çıkarılan lenf nodu sayısı oluşturmaktadır. RK rezeksiyon materyalinde minimum 12 adet lenf nodu çıkarılması önerilmektedir. Distal cerrahi sınırın, neoadjuvan tedavi alan hastalarda 1 cm, diğerlerinde ise 2 cm olması yeterlidir. Proksimal cerrahi sınır için en az 5 cm önerilmekle birlikte lenfovasküler pedikülün hazırlanması ve yeterli arteriyel perfüzyon için genellikle 10 cm tümörsüz proksimal sınırla rezeksiyon gerçekleştirilmektedir. Çevresel cerrahi sınırın 1 mm'den büyük olması yeterlidir. (34,38-40).

2.5.2 Rektum Kanseri Cerrahisinin Komplikasyonları

Rektum cerrahisi yüksek morbidite ve mortalite riski taşır. Ameliyat sırasında majör damar, solid organ, gastrointestinal ve üriner sistem yaralanmaları, pelvik sinir yaralanmaları ve presakral kanama görülebilecek komplikasyonlardandır. Ameliyat sonrasında anastomoz kaçağı, kanama, ileus, cerrahi alan enfeksiyonu, intestinal fistül, anastomoz darlığı, üriner disfonksiyon, cinsel disfonksiyon, stoma komplikasyonları vb. komplikasyonlar görülebilmektedir. Low anterior rezeksiyon sendromu (LARS) olarak tanımlanan semptomlar arasında öngörülemeyen bağırsak alışkanlıkları, değişken dışkı oluşumu, eksik boşaltım hissi ve birikme, artan dışkılama sıklığı bulunur. Hastalar arasında semptomlar büyük ölçüde değişiklik göstermektedir ve hastaların tahmini %41-58'inde majör LARS sendromu bildirilmiştir. (41-44).

2.5.3. Lokal Eksizyon

Majör cerrahi dışında seçili hastalarda uygulanabilecek birkaç yöntem mevcuttur. Lokal eksizyon T1 N0 tümörler için organ koruyucu bir işlemdir. Endoskopik submukozal diseksiyon (ESD), büyük ve karmaşık poliplerin tamamının çıkarılmasıyla erken rektum kanserleri için küratif rezeksiyon sağlayabilen minimal invaziv bir işlemdir. ESD'den 3 ila 6 ay sonra, toplam 5 yıl boyunca her 6 ayda bir sigmoidoskopi önerilir. Pelvik MR, 2 yıl boyunca her 3 ila 6 ayda bir, ardından toplam 5 yıl boyunca her 6 ayda bir önerilir. (34,35)

Transanal endoskopik mikrocerrahi (TEM) veya transanal minimal invaziv cerrahi (TAMİS) gibi ileri teknikler kullanılarak yapılan transanal lokal eksizyon, erken rektum kanserlerinin rezeksiyonu için köklü cerrahi prosedürlerdir. Radikal rezeksiyonla karşılaştırıldığında, bu yaklaşımlar sfinkter fonksiyonu korumaya ve radikal rezeksiyon yaklaşımlarıyla ilişkili morbiditeyi azaltmaya yardımcı olur. (34,35).

2.5.4. Total Neoadjuvan Tedavi

Lokal ileri evre rektum kanserinde uygulanan neoadjuvan tedavinin farklı yöntemleri vardır. En sık uygulanan tedavi protokolleri; kısa dönem radyoterapi, uzun dönem kemoradyoterapi ve total teteneoadjuvan tedavi (TNT) uygulamasıdır.(3)

Neoadjuvan tedavi sonrası TME cerrahisi rektal kanserli hastalarda lokal nüksü önemli ölçüde azaltmıştır. Bu yaklaşıma rağmen, hastaların neredeyse üçte birinde ölümle sonuçlanan uzak metastatik nüks gelişmiştir. Uzak metastaz oranını iyileştirmek için total neoadjuvan tedavi (TNT) kavramı ortaya atılmıştır. TNT'nin temel ilkesi kemoterapinin ameliyat öncesi dönemde RT/KRT ile birlikte uygulanmasıyla uzak metastazları azaltmasıdır. Ek faydaları arasında cerrahi sınırları iyileştirmek, R0 rezeksiyonu sağlamak, mikrometastatik hastalığa erken müdahale etmek ve tam klinik yanıt veren seçilmiş hastalarda cerrahi dışı tedaviye (bekle ve gör) geçiş sağlamak için

primer tümörün boyutunu küçültme potansiyeli yer alır. Ayrıca TNT'nin lokal hastalık kontrolü açısından daha etkili olduğu ve preoperatif kemoterapi uyumunun daha iyi olduğu gösterilmiştir (3,45-49).

Günümüzde OPRA, PRODIGE-23 ve RAPIDO gibi klinik çalışmalar; TNT'nin klinik ve patolojik tam yanıt oranında artış, hastalıksız sağ kalımda iyileşme sağladığını, bekle ve gör stratejisinde fayda sağladığını göstermiştir (3,45-49).

TNT'de kullanılan protokollerin bazı farklı yönleri ve farklı tedavi stratejileri mevcuttur. En sık kullanılanlar şu şekildedir: (3,45-49)

PRODIGE 23: Folfirinox – Uzun KRT - Cerrahi - Folfox

RAPIDO veya STELLAR: Kısa RT - Folfox veya Capox - Cerrahi

İndüksiyon OPRA veya CAO/ARO/AIO-12: Folfox - Uzun KRT – Cerrahi

Konsolidasyon OPRA veya CAO/ARO/AIO-12: Uzun KRT – Folfox – Cerrahi

(Uzun KRT: radyoterapi günlerinde günde iki kez oral olarak 825 mg/m² kapesitabin ile eşzamanlı olarak 28 fraksiyonda (fraksiyon başına 1,8 Gy, haftada beş fraksiyon) 50,4 Gy ; Uzun RT: 28-25x1,8-2,0 Gy ; Kısa RT: 5x5 Gy)

2.5.5. Bekle ve Gör

TNT'den sonra tam klinik yanıt elde edilen rektum kanserli hastalarda bekle ve gör stratejisi yeni bir yaklaşımdır. Hastalara majör rezeksiyondan kaçınma fırsatı sunmaktadır (49). Bu yaklaşımla takip edilen hastalar kalıcı kolostomiye ihtiyaç duymamaları ve ameliyatla ilişkili daha az morbiditeye sahip olmaları sayesinde daha iyi bir yaşam kalitesine ve işlevsel sonuca sahiptirler (4,50,51).

Bekle ve gör artık distal rektum kanserli hastalar için TME'ye bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Sıkı klinik takip, endoskopik ve radyolojik görüntülemeler

kullanılarak tam yanıt elde edilen hastalar, cerrahi alternatifleri APR veya intersfinkterik rezeksiyon olduğu düşünülürse radikal cerrahiden kaçınarak fayda görebilirler (4,50,51).

Rektum kanserinde cerrahi olmayan bir strateji düşünüldüğünde, sıkı bir takip kesinlikle gereklidir. Hastalar, herhangi bir lokal veya sistemik nüksün erken teşhisi için bu sıkı takip programına uymaya teşvik edilmelidir. Klinik tam yanıt sağlandıktan sonra ilk yıl boyunca 1-2 ayda bir, ikinci yıl 3 ayda bir ve sonrasında 6 ayda bir kontroller yapılmalıdır. Tüm kontroller için dijital rektal muayene, rektoskopi ve karsinoembriyonik antijen(CEA) seviyesi tayini önerilir. Takip sırasında radyolojik değerlendirme zamanlaması henüz standardize edilmemiştir. Rektal duvar, mezorektum ve pelvik lenf düğümlerinin değerlendirilmesi için ilk 2 yıl boyunca 6 ayda bir ve sonrasında yıllık rutin MR uygulaması önerilmiştir. (52)

2.5.6. Neoadjuvan Tedaviye Yanıtın Değerlendirilmesi

Neoadjuvan tedavi sonrası klinik değerlendirme, tümör yanıtını değerlendirmek için kullanılan en önemli araçlardan biridir. Dijital rektal muayene sırasında herhangi bir düzensizlik, kitle, ülserasyon veya stenozun olmaması klinik yanıt olduğunu gösterir. Yüzeyin düzgün ve pürüzsüz olması gerekir. Primer tümörün bulunduğu bölgenin endoskopik değerlendirmesi, klinik değerlendirmenin diğer bileşenidir. Dijital rektal muayene sırasında gözden kaçan herhangi bir düzensizlik veya yüzeyel ülser olup olmadığına bakmak önemlidir. Düz beyaz bir skar ve teleanjiektazi, klinik yanıt olan hastalarda yaygın endoskopik bulgulardır. (52,53)

Neoadjuvan tedavi sonrası MR yanıtını değerlendirmek için solid tümörlerde yanıt değerlendirme kriterleri (RECIST) tanımlandı. RECIST, tümörün tedaviye yanıtını ölçmenin standart bir yoludur. Bir tümörün kaybolup kaybolmayacağını, küçülüp küçülmeyeceğini, aynı kalıp kalmayacağını veya büyüyüp büyümeyeceğini belirlemek için objektif kriterler sağlar. RECİST 1.1'e göre MR yanıtı; tam yanıt, parsiyel yanıt, stabil hastalık ve ilerleyici hastalık şeklinde sınıflandırılmıştır. (54-56)

Neoadjuvan tedavi sonrası patolojik yanıtın değerlendirilmesi için tümör regresyon derece (TRG) sistemleri kullanılmıştır.(Tablo 4). (57-59)

Tablo 4: Patolojik Yanıt Tümör Regresyon Derece Sistemleri

TRG Sistemi	Skor	Tanım
AJCC/CAP-TRG	0	Canlı kanser hücresi yok (tam yanıt)
	1	Tek hücre ya da küçük kanser hücre grupları (tama yakın yanıt)
	2	Fibrozis nedeniyle büyümüş kalan kanser (kısmi yanıt)
	3	Minimal veya hiç ölmemiş tümör veya rezidüel yanıt (zayıf yanıt)
RYAN TRG	1	Canlı kanser hücresi yok veya tek hücre, küçük hücre grupları
	2	Fibrozis nedeniyle büyümüş kalan kanser
	3	Kanser nedeniyle önemli fibrozis veya yaygın rezidüel kanser
MANDARD TRG	1	Artık kanser hücresi yok
	2	Nadir kalan kanser hücreleri
	3	Artmış sayıda kalıntı kanser hücresi ile baskın fibrozis
	4	Fibrozisi aşan artık kanser
	5	Gerileyen bir değişiklik yok
DWORAK TRG	0	Gerileme yok
	1	Bariz fibrozisli baskın tümör kitlesi
	2	Az sayıda tümör hücresi ile baskın fibrotik değişiklikler
	3	Çok az tümör hücresi
	4	Tümör hücresi yok

2.6. CD4, CD8 VE TİL YÜZDESİ

Bağışıklık sisteminin kanser gelişimi ve ilerlemesinde hayati bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. (9) Kanserlerin ortadan kaldırılmasında bağışıklık sisteminin rolünü destekleyen giderek artan sayıda yeni kanıt bulunmaktadır. Bu eski kavram "immün gözetim" olarak adlandırılır. Bağışıklık hücreleri tarafından tümör infiltrasyonunun birçok kanser türünde güçlü bir prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Paradoksal olarak, bazı durumlarda bağışıklık sistemi tümör gelişimini destekleyebilir. Radyoterapi ve kemoterapi dahil olmak üzere sitotoksik tedaviler, bağışıklık sistemine bir "tehlike" sinyali bağlamında tümörle ilişkili antijenleri serbest bırakarak potansiyel olarak immünojenik hücre ölümünü tetikler. Dendritik hücreler olarak adlandırılan

profesyonel antijen sunan hücrelerin 'tehlike' sinyalleriyle olgunlaşması, antijenleri T hücrelerine uyarıcı bir şekilde sunmanın anahtarıdır. Potansiyel 'tehlike' sinyallerinin karakterizasyonu ve bir dizi insan tümörüyle ilişkili antijenin tanımlanması, tümörlere karşı periferik toleransı kırmak ve etkili bir anti-tümör bağışıklık tepkisi oluşturmak olasılığını ortaya çıkarmıştır. (60)

CD4 ve CD8 T hücreleri, bağışıklık sistemi işlevinde vazgeçilmez bir rol oynayan temel T hücreleridir. CD4 ve CD8 T hücrelerinin çeşitli tümör tiplerindeki rolünü araştırmış ve tümör tipine bağlı olarak protümör veya antitümör etkilere sahip olduğunu bulmuştur. Periferik kana ek olarak, T hücreleri ikincil lenfoid organlarda ve bağırsak, karaciğer, akciğer, deri ve genital bölge gibi çeşitli dokularda gözlenir ve bu hücreler dokuda yerleşik T hücreleri olarak tanımlanır. (9)

CD4+ ve CD8+ T lenfositler, antitümör immün yanıtın iki temel efektör alt grubunu oluşturur. CD4+ T hücreleri, başlıca yardımcı (helper) rol üstlenerek tümör mikroçevresinde sitotoksik CD8+ T hücrelerinin aktivasyonunu, antijen sunumunu ve sitokin aracılı immün yanıtı düzenler. Aynı zamanda bazı alt tipleri (örneğin Th1) interferon-γ ve IL-2 gibi sitokinler salarak antitümör savunmayı güçlendirirken, diğerleri (örneğin Treg) immünsüpresif etki göstererek tümör progresyonuna katkı sağlayabilir. CD8+ T hücreleri ise doğrudan sitotoksik etkileriyle tümör hücrelerini perforin, granzim-B ve Fas/Fas-L yolu aracılığıyla öldürür ve tümör yükünü azaltmada en kritik hücresel yanıtı oluşturur. Kanser dokularında CD4+ ve CD8+ T hücre infiltrasyonunun yoğunluğu, tümör infiltre eden lenfositler (TIL), fonksiyonel aktivitesi ve oranı, hastalığın prognozunu ve tedaviye yanıtı belirleyen önemli immünolojik göstergelerdir. Bu nedenle, tümör mikroçevresinde CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin varlığı sadece bağışıklık aktivitesinin bir göstergesi değil, aynı zamanda immünoterapötik stratejilerin etkinliğini öngören kritik bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (9).

KRK hücrelerinin, bağışıklık sistemine karşı koyabilen FasL ekspresyonu yoluyla TIL'lerin apoptozunu indükleyebileceği öne sürülmüştür. Bu KRK'da bağışıklık sisteminden kaçış mekanizmalarından biri olabilir ve böylece tümörün hayatta kalmasını ve muhtemelen metastaz oluşumunu teşvik edebilir. (61)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL VE METOD

3.1.1. Çalışmanın Tasarımı ve Hasta Popülasyonu

Çalışmamıza 01.01.2023 ile 01.01.2025 tarihleri arasında Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniğine başvuran 18 yaş üzeri, multidisipliner tümör konseyi tarafından değerlendirilen ve neoadjuvan tedavi alan lokal ileri rektum kanseri tanılı hastalar dahil edildi. Üst rektum tümörleri, herhangi bir kanser öyküsü olan ve herhangi bir immünosüpresif tedavi öyküsü olan hastalar, neoadjuvan tedaviyi tolere edemeyip tamamlayamayan ve acil operasyona alınan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Tıbbi kayıtları tam olan, tedavi öncesi biyopsi ve tedavi sonrası cerrahi rezeksiyon örnekleri mevcut olan 45 hasta nihai analize dahil edildi.

Hastaların verileri; tanı anındaki yaş, cinsiyet, demografik bilgiler, neoadjuvan tedavi rejimleri, histopatolojik sonuçları, laboratuvar bulguları ve görüntülemeleri hastane veri tabanından ve hasta çizelgelerinden toplandı. Radyolojik ve patolojik evreleme, AJCC8'e göre değerlendirildi.(33)

3.1.2. Örneklem Büyüklüğü

Yapılan güç analizi sonucunda 5% hata payı, 90% güç ile standart etki büyüklüğü 0,40 olarak belirlenmiş olup çalışmaya 45 hasta dahil edilmesinin yeterli olduğu belirlenmiştir.

3.1.3. Neoadjuvan Kemoterapi Protokolü

Hastalar OPRA (Rektal Adenokarsinomda Organ Koruma) çalışma protokolüne göre TNT aldı. Sistemik kemoterapi sekiz döngü FOLFOX (oksaliplatin 85 mg/m^2,

lökovorin 400 mg/m², 5-florourasil 400 mg/m² bolus ve ardından 46 saat boyunca 2400 mg/m² sürekli infüzyon, her 2 haftada bir) veya beş döngü CAPEOX (1. günde 130 mg/m² oksaliplatin ve 1-14. günlerde günde iki kez 1000 mg/m² kapesitabin, her 3 haftada bir) uygulandı. Kemoterapi, uzun süreli KRT öncesinde uygulandı. KRT, radyoterapi günlerinde günde iki kez oral olarak 825 mg/m² kapesitabin ile eşzamanlı olarak 28 fraksiyonda (fraksiyon başına 1,8 Gy, haftada beş fraksiyon) 50,4 Gy uygulanmasından oluşuyordu. OPRA protokolüne göre tüm sistemik tedavi ameliyat öncesi aşamada tamamlandığından, ameliyat sonrası rutin adjuvan kemoterapi uygulanmadı. (62)

3.1.4. Neoadjuvan Tedavi Yanıtının Patolojik Değerlendirilmesi

Rezeke edilen tüm örnekler, klinik ve immünohistokimyasal verilerden habersiz iki deneyimli gastrointestinal patolog tarafından değerlendirildi. Tüm değerlendirmeler hematoksilen ve eozin ile boyanmış slaytlar üzerinde yapıldı. İki değerlendirici arasında uyuşmazlık olması durumunda, nihai sonuç konsensus ile belirlendi. 5 hastada bekle ve gör stratejisi kararı alındı. 40 hastada neoadjuvan kemoradyoterapiye histopatolojik yanıt, Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) ve Amerikan Patologlar Koleji (CAP) tarafından önerilen tümör regresyon derecelendirme (TRG) sistemine göre değerlendirildi. (33,58)

Bu sistem, fibrozis alanları ve tedaviye bağlı değişikliklere göre kalan canlı tümörün oranına göre tümör yanıtını sınıflandırır. TRG 0, kalan canlı tümörün bulunmaması ve sadece fibrozis veya aselüler müsin varlığı ile karakterize edilen tam yanıtı gösterir. TRG 1, tek hücreler veya küçük tümör kümelerinin kaldığı, neredeyse tam veya orta derecede yanıtı ifade eder. TRG 2, canlı tümörün devam ettiği ancak fibrozisin baskın olduğu kısmi yanıtı ifade eder. TRG 3, yaygın kalıntı tümör ve minimal gerileme kanıtı ile zayıf veya hiç yanıt olmadığını gösterir. (63)

TRG skorları daha sonra, immünolojik ve klinik parametrelerle korelasyon için hastaları yanıt kategorilerine (TRG 0–1 yanıt verenler, TRG 2–3 yanıt vermeyenler)

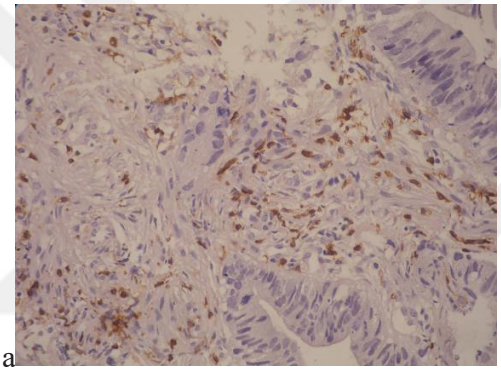
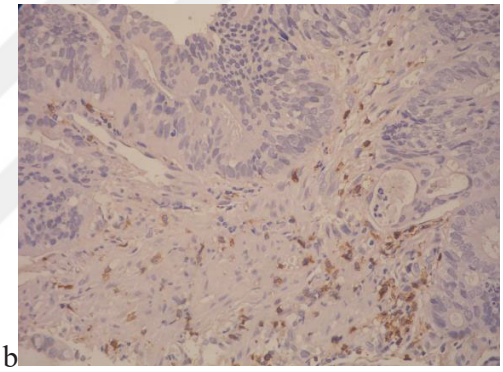
ayırmak için kullanıldı. Bekle ve gör grubundaki hastalar yanıt verenler olarak kabul edildi.

3.1.5. CD4+ ve CD8+ Hücre Ekspresyonunun ve TİL Yüzdesinin İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

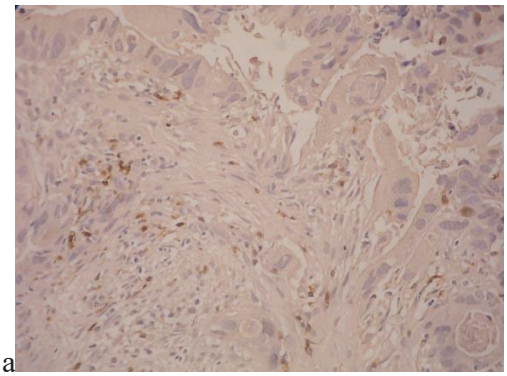
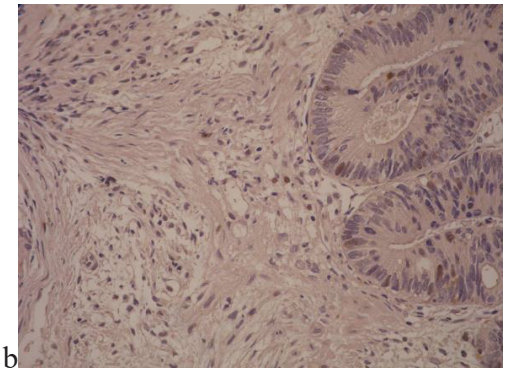
Formalinde fikse edilmiş ve parafine gömülmüş, kolonoskopik biyopsi materyali ve cerrahi rezeksiyon doku bloklarından 3 μm kalınlığında doku kesitleri kesilerek ayrı ayrı lam preparatlar hazırlandı. Deparafinizasyon, dereceli ksilen ve alkol solüsyonlarıyla rehidratasyondan sonra immunohistokimyasal (İHC) boyama bir Ventana Discovery XT Otomatik Slayt Boyayıcı (Ventana Medical System, Tucson, AZ, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Hücre şartlandırma 1 (CC1) tamponu (sitrat tamponu, pH 6.0; Ventana Medical System) antijen geri kazanımı için kullanıldı. Tüm doku slaytları bir CD4 ve CD8 antikoruyla boyandı (sırasıyla klon 4B12 ve C8/144B, seyreltme RTU (ready to use), Dako IR623 ve IR649).

Boyamadan sonra, sitoplazmik ve membranöz CD4 ve CD8 eksprese eden yardımcı ve sitotoksik T lenfositleri 40X büyütmede çekilen ayrı imajlar üzerinde gerektiğinde dijital olarak daha da büyütülerek iki patolog (TE ve SCT; 40X büyütme) tarafından bir büyük büyütme alanındaki CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit sayıları saptandı. CD4 immunohistokimyasal boyası T yardımcı lenfositler, granülositler, makrofajlar, Langerhans hücreleri ve dendritik hücreleri immunohistokimyasal olarak boyarken CD8 boyası dendritik hücreleri boyamaktadır. Bu nedenle CD4 ile boyanan granülositler, makrofajlar, Langerhans hücreleri dentritik hücreler ve CD8 ile boyanan dendritik hücreler morfolojik olarak ayırt edilerek ekarte edildi. Sonrasında bu en yoğun olan 40X büyütme alanında saptanan CD4 ve CD8 pozitif T hücre sayıları objektifin FN değeri ve büyütme oranı kullanılarak 1 mm²'lik alana uyarlandı. Mikroskopta görüntülenen yüzeyin çapı (d) okülerin alan numarasının (Fn: Field number) objektifin büyütmesine (Mo: Magnification of objective) bölünmesiyle bulunur. Bizim mikroskopumuzun Fn değeri 22 ve objektifin büyütmesi 40 olduğu için mikroskopta

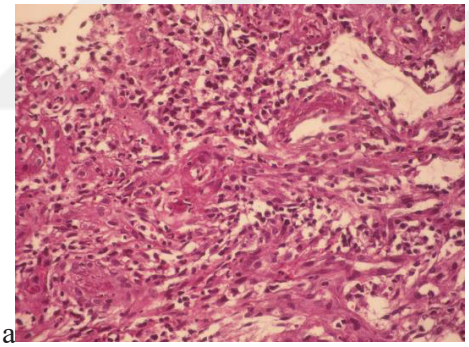
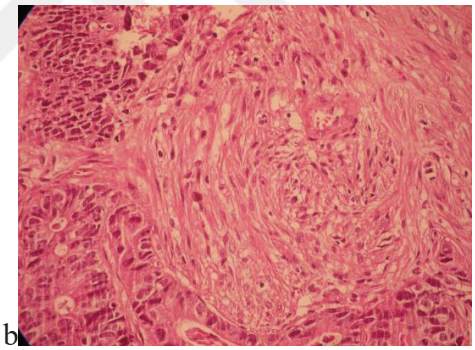
görüntülenen yüzeyin çapı; d=Fn/Mo=22/40=0,55 mm'dir. Görüntülenen yüzeyin yarıçapı ise r=d/2=0,55/2=0,275 mm ve alanı (Field of View: FOV) A=πr2=3,14x0,2752=3,14x0,0756=0,238 mm²'dir. Bu nedenle bir büyük büyütme alanındaki lenfosit sayısını mm²'deki lenfosit sayısına uyarlamak için bir büyük büyütme alanındaki lenfosit sayısını 1/0,238=4,2 ile çarptık. İmmunohistokimyasal inceleme sonuçları, klinik parametreler veya sonuçlarla ilgili herhangi bir bilgi olmaksızın kör bir şekilde yorumlandı. (Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5, Şekil6)

a  b 

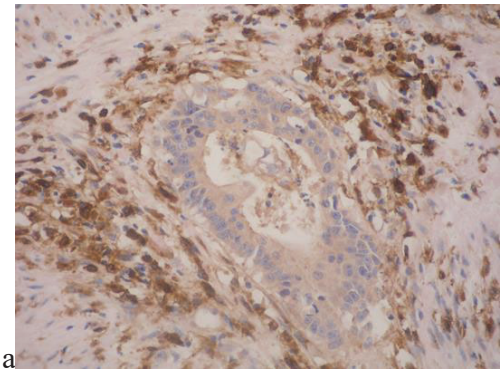
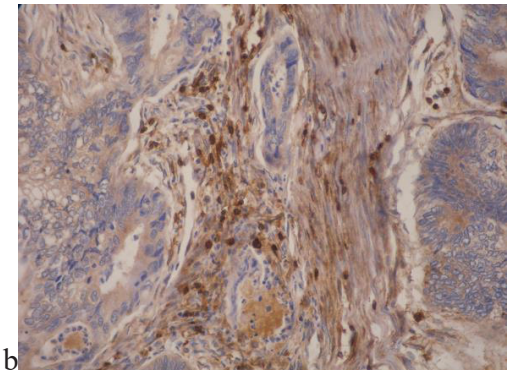
Şekil 1: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD4 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD4 T lenfositleri a) 101 adet stromal CD4/BBA b) 31 adet stromal CD4/BBA ; CD4 40X

a  b 

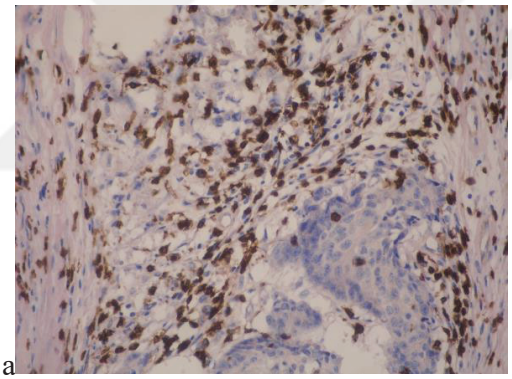
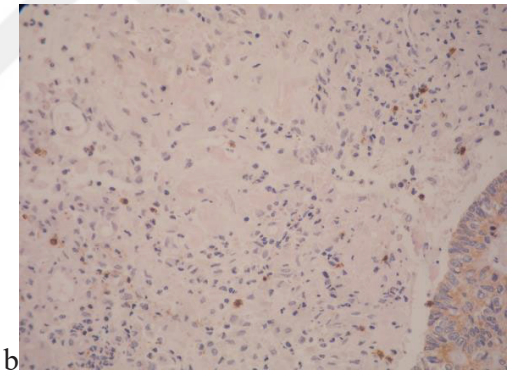
Şekil 2: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD8 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD8 T lenfositleri a) 25 adet stromal CD8/BBA b) 2 adet stromal CD8/BBA ; CD8 40X

a  b 

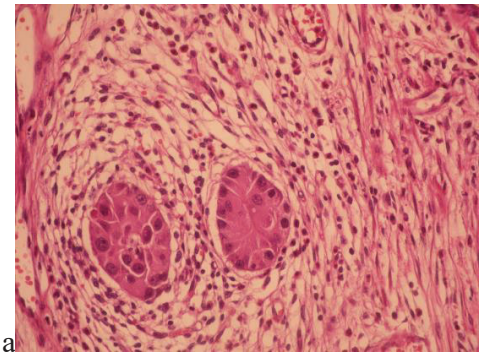
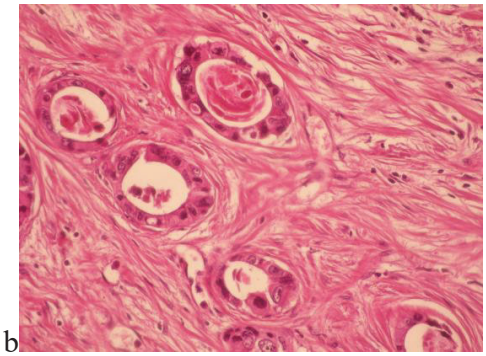
Şekil 3: LİRK kolonoskopik biyopsi materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerin stromal yoğunluğu a) %60 b) %5 ; H&E, TİL 40X

a  b 

Şekil 4: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD4 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD4 T lenfositleri a) 106 adet stromal CD4/BBA b) 27 adet stromal CD4/BBA ; CD4 40X

a  b 

Şekil 5: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerden CD8 immünohistokimyasal boyasıyla membranöz ve sitoplazmik olarak boyanmış yardımcı CD8 T lenfositleri a) 104 adet stromal CD8/BBA b) 20 adet stromal CD8/BBA ; CD8 40X

a  b 

Şekil 6: LİRK rezeksiyon materyalinde tümörü infiltre eden lenfositlerin stromal yoğunluğu a) %50 b) %5 ; H&E, TİL 40X

3.2. ETİK KURUL ONAYI VE KATILIMCI ONAMI

Bu çalışma Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan 19.02.2025 tarihinde KAEK/2025.02.46 sayılı etik kurul onayı alınmıştır. (Ek-1)

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS Statistics sürüm 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Demografik, klinik ve patolojik veriler için tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılımı Shapiro–Wilk testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin hiçbiri normal dağılım göstermediğinden, tüm ilgili analizler için non-parametrik testler uygulanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson ki-kare testi/Fisher testi kullanılarak değerlendirildi. Tedavi öncesi ve sonrası TIL, CD4 ve CD8 ekspresyonundaki değişiklikler, eşleştirilmiş örnekler için Wilcoxon işaretli sıra testi kullanılarak değerlendirildi. Lokal ileri rektum kanserinde tedavi yanıtını öngören CD4 değeri için optimal kesme değerlerini tanımlamak üzere alıcı işletim karakteristiği (ROC) eğrisi

analizi yapılmıştır. İki kuyruklu p değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 45 hasta dahil edildi. Hastaların 16'sı (%35,6) kadın, 29'u (%64,4) erkek idi. Median yaş 60 (41-82) idi.

Hastaların 37'si (%82,2) ECOG PS 0; 8'i (%17,8) ECOG PS 1 idi. Komorbidite bakıldığında bir sistemik hastalığı olan 15 (%33,3), iki ve daha fazla sistemik hastalığı olan 12 (%26,6) hasta mevcut. Hastaların 11'i (%24,4) aktif sigara içicisi, 26'sı (%44,4) eski içici, 13'ü (%28,9) sigara içmeyen idi. 1 (%2,2) hastanın ise sigara içme durumuna ulaşılamamıştır. Hastaların demografik özellikleri Tablo 5'te verilmiştir. (Tablo 5)

Tablo 5: Hastaların Demografik Verileri

	n	%
Cinsiyet		
Kadın	16	35,6
Erkek	29	64,4
ECOG PS		
0	37	82,2
1	8	17,8
Komorbidite		
1 sistemik hastalık	15	33,3
≥2 sistemik hastalık	12	26,6
Sigara içimi		
Aktif içici	11	24,4
Eski içici	26	44,4
İçmeyen	13	28,9
Bilinmeyen	1	2,2

16 (%35,6) hastanın tümörü orta rektumda, 29 (%64,4) hastanın tümörü alt rektumda idi. 5 (%11,1) hastaya bekle ve gör, 40 (%88,9) hastaya rezeksiyon yapıldı. Cerrahi yapılan 29 (%64,4) hastaya low anterior rezeksiyon, 11 (%24,5) hastaya abdominoperineal rezeksiyon yapıldı. Cerrahi yapılan hastaların 23'üne (%57,5) loop ileostomi, 15'ine (37,5) uç kolostomi açıldı; 2 (%5) hastaya ostomi açılmadı. Hastaların operasyon bilgileri Tablo 6'da verilmiştir. (Tablo 6)

Tablo 6: Hastaların Operasyon Verileri

	n	%	
Tümör lokasyonu			
Orta	16	35,6	
Alt	29	64,4	
Cerrahi tipi			
Bekle ve gör	5	11,1	
LAR	29	64,4	
APR	11	24,5	
Stoma			*
Loop ileostomi	23	57,5	
Uç kolostomi	15	37,5	
Stoma yok	2	5,0	

(*5 hasta bekle ve gör stratejisi nedeniyle değerlendirme dışı bırakılmıştır.)

TNT öncesi MR'da radyolojik evrelemeye bakıldığında hastaların 1'i (%2,2) cT1, 17'si (%37,8) cT2, 22'si (%48,9) cT3 ve 5'i (%11,1) cT4 idi. 6 (%13,3) hasta cN0, 11 (%24,4) hasta cN1 ve 28 (%62,3) hasta cN2 idi. (Tablo 7)

Tablo 7: Hastaların Neoadjuvan Öncesi MR'daki Radyolojik Evrelemesi

	n	%
Radyolojik		
cT1	1	2,2
cT2	17	37,8
cT3	22	48,9
cT4	5	11,1
Radyolojik		
cN0	6	13,3
cN1	11	24,4
cN2	28	62,3

Rezeksiyon yapılan hastaların tamamı R0 idi. Cerrahi yapılan hastalarda tümörün patolojik özelliklerine bakıldığında; grade1 1 (%2,3) hasta, grade2 13 (%28,9) hasta, grade3 31 (%68,8) hasta mevcuttu. (Tablo 8)

6 (%15,0) hasta TRG0, 7 (%17,5) hasta TRG1, 12 (%30,0) hasta TRG2, 15 (%37,5) hasta TRG3 idi. 8 (%20,0) hasta ypT0/Tis, 2 (%5,0) hasta ypT1, 10 (%25,0) hasta ypT2, 19 (%47,5) hasta ypT3 ve 1 (%2,5) hasta ypT4 idi. 30 (%75,0) hasta ypN0, 6 (%15,0) hasta ypN1, 4 (%10,0) hasta ypN2 idi. (Tablo 8)

13 (%32,5) hastada lenfovasküler invazyon, 12 (%30,0) hastada perinöral invazyon görüldü. 3 (%7,5) hastada tümör tomurcuk/nodül görüldü. (Tablo 8)

Tüm hastaların tedavi yanıtlarına bakıldığında 11 (%24,4) hasta tam yanıt; 7 (%15,6) hasta tama yakın yanıt idi. 2 (%4,4) hastada MSIH olarak saptandı. 2 (%4,4) hastada da nüks görüldü. (Tablo 8)

Tablo 8: Hastaların Tümörlerinin Histopatolojik Verileri

	n	%	
Cerrahi sınır			*
R0	40	100	
R1	0	0	
TRG			*
0	6	15,0	
1	7	17,5	
2	12	30,0	
3	15	37,5	
Tam yanıt	11	24,4	
Tam/ tama yakın yanıt	18	40,0	
Patolojik T evre			*
ypT0/tis	8	20,0	
ypT1	2	5,0	
ypT2	10	25,0	
ypT3	19	47,5	
ypT4	1	2,5	
Patolojik N Evre			*
ypN0	30	75,0	
ypN1	6	15,0	
ypN2	4	10,0	
MSIH	2	4,4	
Lenfovasküler invazyon	13	32,5	*
Perinöral invazyon	12	30,0	*
Grade			
1	1	2,3	
2	13	28,9	
3	31	68,8	
Tümör tomurcuk/nodül	3	7,5	*

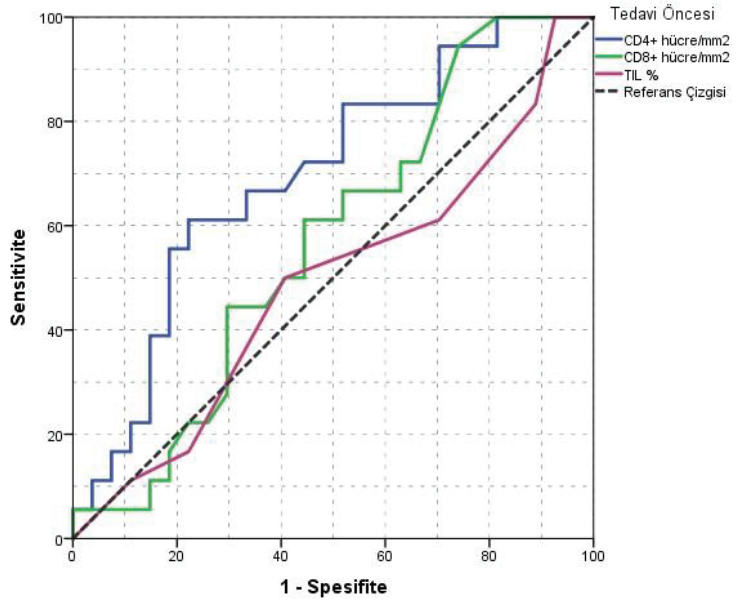
(*5 hasta bekle ve gör stratejisi nedeniyle değerlendirme dışı bırakılmıştır.)

Hastaların neoadjuvan tedavi öncesi alınan kolonoskopik biyopsi dokusunda bakılan median CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm², TİL% sırasıyla; 320 (16-1064), 64 (4-432), 30 (5-60) idi. (Tablo 9)

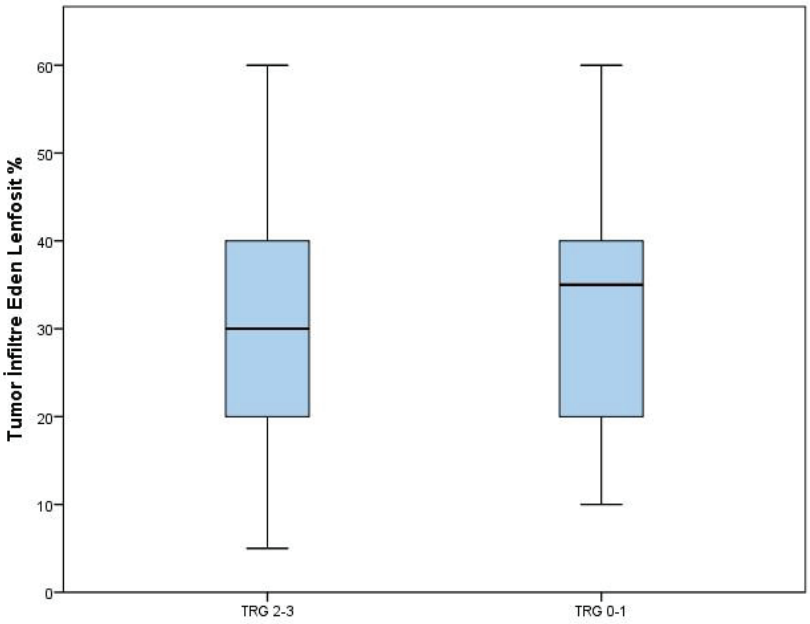
Tablo 9: Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Spesmenlerde Bakılan CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm² Sayısı ve TİL Yüzdesi

	CD4+ (hücre sayısı/mm²)	CD8+ (hücre sayısı/mm²)	TİL %
Median	320	64	30
Min	16	4	5
Max	1064	432	60

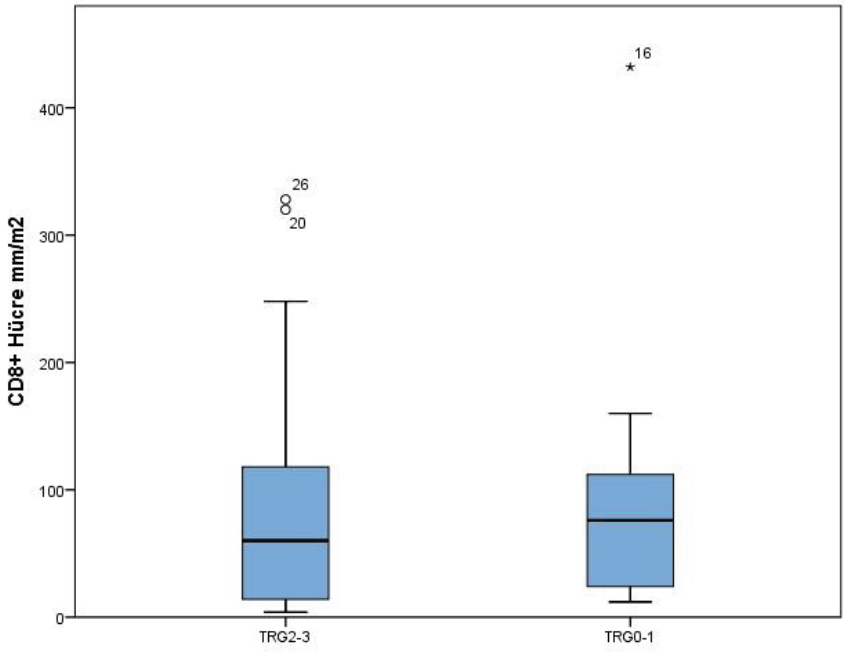
Stromal CD4+ T lenfosit için yapılan ROC analizinde, patolojik yanıtı öngörmede anlamlı cut-off değer saptandı (AUC = 0.68, %95 GA: 0.50–0.86, p = 0.041). Youden indeksine göre belirlenen 410 hücre/mm² eşik değeri, %55.6 sensitivite ve %18.5 spesifite ile belirlendi. Stromal CD8+ için (AUC = 0.61, %95 GA: 0.42–0.79, p = 0.18) ve TIL yüzdesi için (AUC = 0.57, %95 GA: 0.38–0.76, p = 0.29) anlamlılık saptanmadığından median değerleri cut-off olarak alındı. (Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9, Şekil 10).



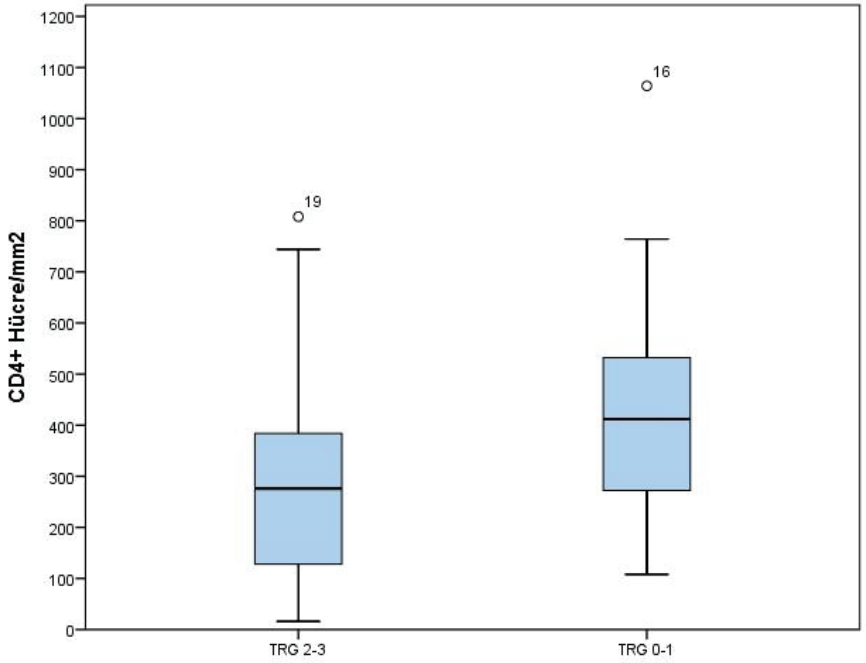
Şekil 7: TNT'ye Tedavi Yanıtını Predikte Edecek TIL%, CD4 + ve CD8+ Hücre Sayısının Cut Off Belirlenmesi İçin Yapılan ROC Analizi



Şekil 8: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların TIL% Değerleri



Şekil 9: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların CD8+ Hücre Sayısı



Şekil 10: Tedavi Yanıtına Göre Gruplandırılmış Hastaların CD4+ Hücre Sayısı

Hastalar TRG 0-1 (tam-tama yakın yanıt) olanlar ve TRG 2-3 (parsiyel- stabil yanıt) olanlar olarak 2 gruba ayrıldı. Gruplar karşılaştırıldığında; tam veya tama yakın yanıt olan hastaların neoadjuvan tedavi öncesinde kolonoskopik spesmende bakılan CD4+ hücre sayısı %55,6 (10) 'sında CD4+ hücre sayısı > 410 iken; parsiyel veya stabil yanıtı olanların %81,5 (22) 'inde CD4+ hücre sayısı ≤ 410 idi. CD4+ hücre sayısı >410 olan hastalar istatiksel olarak anlamlı şekilde total neoadjuvan tedaviye yanıt verdi (p=0,02). (Tablo 10)

Tam veya tama yakın yanıt olan hastaların neoadjuvan tedavi öncesinde kolonoskopik spesmende bakılan CD8+ hücre sayısı %61,1 (11) 'inde CD8+ hücre sayısı >64 iken; parsiyel veya stabil yanıtı olanların %55,6 (15) 'sında CD8+ hücre sayısı ≤ 64 idi (p=0,3). TİL yüzdesi bakıldığında; tam veya tama yakın yanıt olan hastaların neoadjuvan tedavi öncesinde kolonoskopik spesmende bakılan TİL yüzdesi

%50 (9) ‘sinde TİL% > 30 iken; parsiyel veya stabil yanıtı olanların %59,3 (16) ‘ünde TİL% ≤30 idi (p=0,5). CD8+ hücre sayısında ve TİL yüzdesinde iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 10)

Opere edilen ve TRG 0-1 olan 13 hastanın tamamında perinöral invazyon görülmezken, TRG 2-3 olan 27 hastanın %55,6 (15) ‘sında perinöral invazyon görülmedi (p=0,004). Lenfovasküler invazyona bakıldığında; TRG 0-1 olan 13 hastanın tamamında lenfovasküler invazyon görülmezken, TRG 2-3 olan 27 hastanın %51,9 (14) ‘unda perinöral invazyon görülmedi (p=0,003). Perinöral ve lenfovasküler invazyonu olmayan hastaların istatiksel olarak anlamlı şekilde total neoadjuvan tedaviye yanıt verdiği saptandı. (Tablo 10)

Kadın ve erkek sayıları TRG 0-1 olan grupta sırasıyla 6 (%33,3) ve 12 (%66,7) iken TRG 2-3 olan grupta sırasıyla 10 (%37,0) ve 17 (%63,0) idi (p=0,5). Her iki grupta ECOG PS bakıldığında TRG 0-1 olan grupta 15 (%83,3) hasta ECOG PS 0, 3(%16,7) hasta ECOG PS 1 iken TRG 2-3 olan grupta 22 (%81,5) hasta ECOG PS 0, 5(%18,5) hasta ECOG PS 1 idi (p=0,6). Sigara içiciliği incelendiğinde TRG 0-1 olan gruptaki hastaların 4 (%22,2)’ü aktif içici, 7 (%38,9)’si eski içici ve 7 (%38,9)’si sigara içmeyen iken TRG 2-3 olan gruptaki hastaların 7 (%25,9)’si aktif içici, 13 (%48,1)’ü eski içici ve 6 (%22,2)’sı sigara içmeyendir (p=0,5). Komorbidite değerlendirildiğinde TRG 0-1 olan gruptaki hastaların 7 (%38,9)’sinde sistemik hastalık yok, 6 (%33,3)’sında bir sistemik hastalık, 5 (27,8)’inde iki veya daha fazla sistemik hastalık mevcut iken TRG 2-3 olan gruptaki hastaların 10 (%38,5)’unda sistemik hastalık yok, 9(%34,6)’unda bir sistemik hastalık, 7 (26,9)’sinde iki veya daha fazla sistemik hastalık mevcut idi (p=0,9). Kadın, erkek sayıları, ECOG PS, sigara içiciliği ve komorbidite açısından her iki grup benzer özellikte bulunmuştur. (Tablo 10)

Tümör lokasyonuna bakıldığında, TRG 0-1 olan grupta tümör 7 (%38,9) hastada orta rektumda, 11 (%61,1) hastada alt rektumda iken TRG 2-3 olan grupta tümör 9 (%33,3) hastada orta rektumda, 18 (%66,7) hastada alt rektumda idi (p=0,4). Gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 10)

Tümör grade'i TRG 0-1 olan grupta 1 (%5,6) hasta grade1, 6 (%33,3) hasta grade2, 11 (%61,1) hasta grade3 iken TRG 2-3 olan grupta 8 (%29,6) hasta grade2, 19 (%70,4) hasta grade3 idi (p=0,4). Tümör tomurcuk/nodül TRG 0-1 olan grupta 2 (%11,1) hastada var, 16 (%88,9) hastada yok iken TRG 2-3 olan grupta 1 (%3,7) hastada var, 26 (%96,3) hastada yok idi (p=0,3). Tümör grade ve tümör tomurcuk/nodül bakıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. (Tablo 10)

Tablo 10: Tam-Tama Yakın Yanıtı Olan Hastalar ile Parsiyel-Stabil Yanıtı Olan Hastaların Karşılaştırılması

	TRG		p
	2-3 (Parsiyel-Stabil yanıt)	0-1 (Tam- Tama yakın yanıt)	
TNT öncesi Kolonoskopik Spesmen			0,5
TİL% ≤30	16 (%59,3)	9 (%50,0)	
TİL% >30	11 (%40,7)	9 (%50,0)	
TNT öncesi Kolonoskopik Spesmen			0,3
CD8+ hücre/mm² ≤64	15 (%55,6)	7 (%38,9)	
CD8+ hücre/mm² >64	12 (%44,4)	11 (%61,1)	
TNT öncesi Kolonoskopik Spesmen			**0,02**
CD4+ hücre/mm² ≤410	22 (%81,5)	8 (%44,4)	
CD4+ hücre/mm² >410	5 (%18,5)	10 (%55,6)	
Perinöral invazyon			**0,004**
Yok	15 (%55,6)	13 (%100)	
Var	12 (%44,4)	0	
Lenfovasküler invazyon			**0,003**
Yok	14 (%51,9)	13 (%100)	
Var	13 (%48,1)	0	
Tümör lokasyonu			0,4
Orta rektum	9 (%33,3)	7 (%38,9)	
Alt rektum	18 (%66,7)	11 (%61,1)	
Sigara içimi			0,5
Aktif içici	7 (%25,9)	4 (%22,2)	
Eski içici	13 (%48,1)	7 (%38,9)	
İçmeyen	6 (%22,2)	7 (%38,9)	
Komormidite			0,9
Sistemik hastalık yok	10 (%38,5)	7 (%38,9)	
1 sistemik hastalık	9 (%34,6)	6 (33,3)	
≥2 sistemik hastalık	7 (%26,9)	5 (%27,8)	

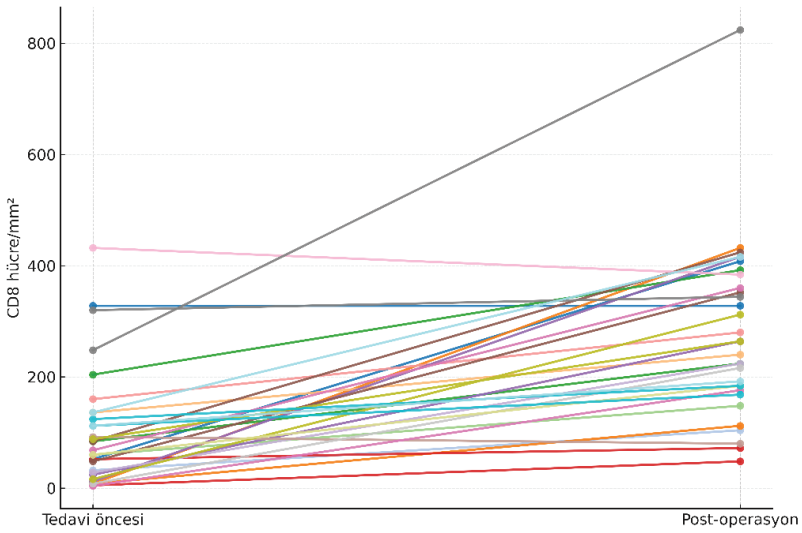
	TRG		p
	2-3 (Parsiyel-Stabil yanıt)	0-1 (Tam- Tama yakın yanıt)	
Cinsiyet			0,5
Kadın	10 (%37,0)	6 (%33,3)	
Erkek	17 (%63,0)	12 (%66,7)	
ECOG PS			0,6
0	22 (%81,5)	15 (%83,3)	
1	5 (%18,5)	3 (%16,7)	
Grade			0,4
1	0	1 (%5,6)	
2	8 (%29,6)	6 (%33,3)	
3	19 (%70,4)	11 (%61,1)	
Tümör tomurcuk/nodül			0,3
Yok	26 (%96,3)	16 (%88,9)	
Var	1 (%3,7)	2 (%11,1)	

Cerrahi yapılan hastaların rezeksiyon materyalinde bakılan median CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm², TİL% sırasıyla; 272 (56-600), 264 (48-824), 30 (4-70) idi. (Tablo 11)

Tablo 11: Cerrahi Yapılan Hastaların Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD4+ hücre/mm², CD8+ hücre/mm² Sayısı ve TİL Yüzdesi

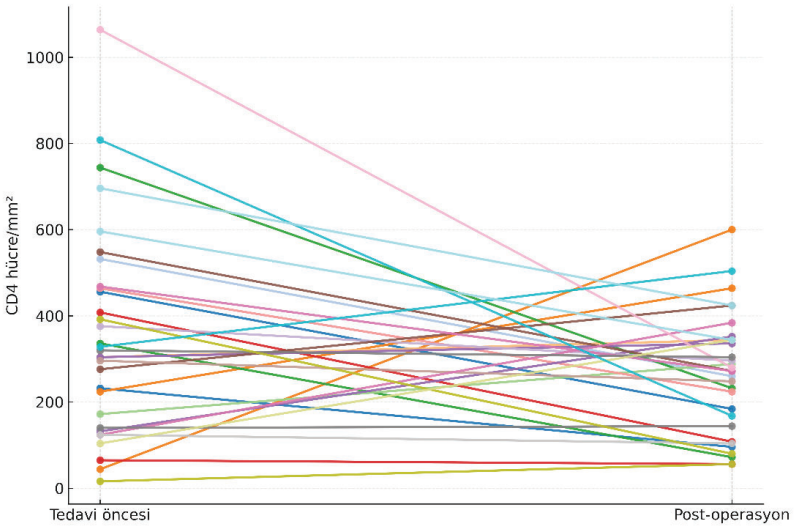
	CD4+ (hücre sayısı/mm²)	CD8+ (hücre sayısı/mm²)	TİL %
Median	272	264	30
Min	56	48	4
Max	600	824	70

Cerrahi yapılan hastaların neoadjuvan tedavi öncesi alınan kolonoskopik biyopsi dokusunda ve tedavi sonrası postoperatif rezeksiyon materyalinde bakılan CD8+ hücre/mm² sayısı değişimine bakıldığında anlamlı bir şekilde artış gözlemlenmiştir ($p<0,001$). (Şekil 11)



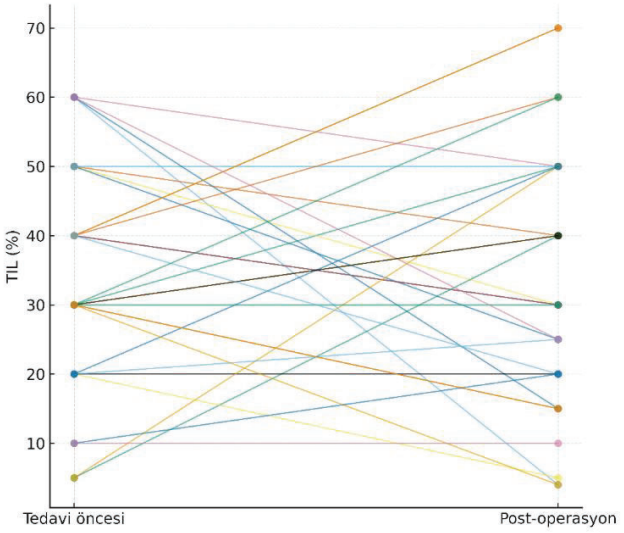
Şekil 11: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD8+ hücre/mm² Sayısındaki Değişim

Cerrahi yapılan hastaların neoadjuvan tedavi öncesi alınan kolonoskopik biyopsi dokusunda ve tedavi sonrası postoperatif rezeksiyon materyalinde bakılan CD4+ hücre/mm² sayısında anlamlı değişim gözlenmemiştir (p=0,06). (Şekil 12)



Şekil 12: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan CD4+ hücre/mm² Sayısındaki Değişim

Cerrahi yapılan hastaların neoadjuvan tedavi öncesi alınan kolonoskopik biyopsi dokusunda ve tedavi sonrası postoperatif rezeksiyon materyalinde bakılan TİL yüzdesinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (p=0,7). (Şekil 13)



Şekil 13: Cerrahi Yapılan Hastaların Neoadjuvan Tedavi Öncesi Kolonoskopik Biyopsi Dokusunda ve Tedavi Sonrası Postoperatif Rezeksiyon Materyalinde Bakılan TİL Yüzdesindeki Değişim

Bir başka değişle, cerrahi yapılan hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi kolonoskopik biyopsi dokusunda bakılan median $CD8^+$ hücre sayısı 64 (4–432) hücre/mm² iken, tedavi sonrası postoperatif rezeksiyon materyalinde 264 (48–824) hücre/mm²'ye yükselmiş ve medyan düzeyde yaklaşık %312 oranında bir artış göstermiştir (p<0,001). Buna karşılık median $CD4^+$ hücre sayısı 320 (16–1064) hücre/mm²'den 272 (56–600) hücre/mm²'ye düşmüş, bu yaklaşık %15'lik azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,06). TİL yüzdesi ise tedavi öncesi ve sonrası dönemlerde benzer kalmış (her iki durumda median %30) ve anlamlı değişim izlenmemiştir (p=0,7)

5. TARTIŞMA

Kanser dokularında CD4+ ve CD8+ T hücre infiltrasyonunun yoğunluğu, tümör infiltre eden lenfositlerin fonksiyonel aktivitesi ve oranı, hastalığın prognozunu ve tedaviye yanıtı belirleyen önemli immünolojik göstergelerdir. Lokal ileri rektum kanserinde TNT'ye yanıt verecek veya yanıt vermeyecek hastaları tedavi öncesinde öngörmek, uygulanacak rejimin seçimi ve süresinin bireyselleştirilmesi açısından kritik önem taşımaktadır. Bu nedenle lokal ileri rektum kanserinde tümör dokusunda CD4, CD8 hücre sayısı ve TIL yüzdesi bakarak tedavi yanıtını öngörmeyi amaçladık.

Rektum kanserinde TNT araştıran belirli faz 3 çalışmaları mevcuttur: (45,64-66).

OPRA çalışması, 323 evre II–III rektum kanseri hastasında TNT etkinliğini ve organ koruma olasılığını değerlendiren faz II, randomize bir çalışmadır. Hastalar iki kola ayrılmıştır. Bir grupta kemoterapi sonrası kemoradyoterapi (indüksiyon), diğerinde ise kemoradyoterapi sonrası kemoterapi (konsolidasyon) uygulanmıştır. Her iki kolda da 3 yıllık hastalıksız sağkalım oranı benzer (%76) bulunmuştur. Ancak konsolidasyon kolunda organ koruma oranı daha yüksek (%53'e karşı %41) saptanmıştır (64). Çalışmamızda hastaların %40,0'ında tam/tama yakın yanıt görülmüş olmasına rağmen yalnızca %11,1'inde bekle ve gör stratejisi uygulanmış olup, OPRA çalışmasına kıyasla organ koruma oranlarımız belirgin olarak daha düşüktür. Bu fark kısmen hasta seçimindeki farklılıklar ve merkezimizin bekle ve gör konusundaki daha konservatif yaklaşımı ile ilişkili olabilir. Hasta karakteristikleri değerlendirildiğinde OPRA çalışmasında hastaların %7.0'si cT1-2 , %48,9'u cT3 ve %23,0'ü cT4 iken bizim çalışmamızda %40.0'ı cT1-2, %48,9'u cT3 ve %11,1'i cT4 idi. OPRA çalışmasında hastaların %30,0'u cN negatif, %70,0'i cN pozitif iken; bizim çalışmamızda hastaların %13,3'ü cN negatif, %86,7'si cN pozitif idi.

CAO/ARO/AIO-12 çalışmasında ise 306 hasta dahil edilmiş ve hastalar iki gruba ayrılmıştır. Birinde indüksiyon tedavisi (önce 3 kür FOLFOX kemoterapi, ardından kemoradyoterapi), diğerinde ise konsolidasyon tedavisi (önce kemoradyoterapi, ardından 3 kür FOLFOX kemoterapi) uygulanmıştır. Cerrahi sonrası patolojik tam yanıt (pTY) ,

konsolidasyon kolunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (%25 vs. %17). Cerrahiye uyum, toksisite ve nüks oranları her iki kolda benzerdi. (65) Bu çalışmaya dahil edilen hastaların %20,0'si cN negatif, %80,0'i cN pozitif %75,0'i ECOG PS0, %25,0'i ECOG PS1-2 iken çalışmamızda hastaların %82,2'si ECOG PS0, %17,8'i ECOG PS1 idi. (65)

RAPIDO'da diğerlerinden farklı olarak T4/N2 veya mezorektal fasyaya yakın rektum tümörü olan 912 hasta dahil edilmiş ve deney kolunda hastalar kısa süreli radyoterapi (5x5 Gy) sonrası 6 kür CAPOX veya 9 kür FOLFOX kemoterapi almış; ardından cerrahi uygulanmıştır. RAPİDO çalışmasının sonuçlarında 3 yıllık hastalıkla ilişkili tedavi başarısızlık oranı deney kolunda anlamlı şekilde daha düşük bulunurken (%23,7 vs. %30,4), pTY oranı deney kolunda daha yüksek görülmüştür (%28 vs. %14) (45).

Son olarak PRODIGE 23 çalışması, evre II–III rektum kanseri olan 461 hastanın dahil edildiği çalışmadır. Deney kolunda hastalar, önce FOLFIRINOX kemoterapi (6 kür) almış, ardından kemoradyoterapi uygulanmış ve sonrasında cerrahi yapılmıştır. Kontrol kolunda ise klasik tedavi olarak kemoradyoterapi → cerrahi → adjuvan kemoterapi uygulanmıştır. Sonuçlarda pTY oranı deney kolunda anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (%27,5 vs. %11,7). 3 yıllık hastalıksız sağ kalım da deney kolunda daha iyiydi (%76 vs. %69). (66)

Özetle, büyük faz çalışmalarında pTY oranı genellikle %20–%30 aralığında bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda TRG 0–1 hastaların birlikte değerlendirilmesi nedeniyle yanıtlı hasta oranı görece daha yüksek görünmekle birlikte, bu oranların doğrudan pCR ile karşılaştırılmaması gerektiği unutulmamalıdır.

TNTyi değerlendiren gerçek yaşam verileri de literatürde bulunmaktadır: (67-68)

Weiser MR ve arkadaşlarının 302 LİRK hastası ile yaptığı çalışmada 8 siklus boyunca FOLFOX6, 5 siklus boyunca CAPOX veya iki haftada bir FLOX şeklinde indüksiyon ardından kemoradyoterapi uygulanmış ve sonrasında cerrahi yapılmıştır. Hastaların %32,5'sinde tam yanıt görülmüş olup, %14'ünde bekle ve gör yapılmıştır. 3 yıllık takipte %30,0 nüks gelişmiştir. (67) Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hastaların %40,0'ında tam/tama yakın yanıt, %11,1'inde bekle ve gör stratejisi uygulanmıştır. Nüks oranının %4,4 gibi görece düşük saptanması ise, büyük olasılıkla takip süremizin sınırlı olmasıyla açıklanabilir. Judge SJ ve arkadaşlarının 71 LİRK hastası ile yaptığı çalışmada hastalara indüksiyon FOLFOX kemoterapi ardından kemoradyoterapi uygulanmıştır. 71 hastanın 20'sinde klinik olarak tam yanıt vardı ve 51'inde endoskopi ve/veya fizik muayenede anormallikler vardı. Klinik olarak tam yanıt veren bir hasta bekle ve gör stratejisinden çıktı; böylece 19 (%27) hastaya bekle ve gör yapıldı, 52 (%73) hastaya ameliyat planlandı. Hastaların patoloji sonuçlarına bakıldığında %35,2'sinde tam yanıt görülürken %27'sinde bekle ve gör yapıldı (68). Bizim çalışmamızda sadece tam yanıt değerlendirilecek olur ise %24,4 tam yanıt görüldü.

Literatürde tümör lokalizasyonu ile tedavi yanıtını inceleyen çelişkili çalışmalar bulunmaktadır. Chen HY ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alan ve opere edilen 940 LİRK'li hasta ile AJCC/CAP TRG skorlaması kullanarak yaptığı çalışmada; anal verje daha yakın tümörler (0-5 cm) daha düşük TRG skorları (daha kötü yanıt) ile ilişkili bulundu. Uzak tümörler (>10 cm) daha iyi yanıt gösterdi. (p=0.008). Bu, tümör yerinin

TRG'yi etkilediğini ve prognozu belirlediğini öne sürüyor. (59) Bizim çalışmamızda orta rektum (7-12 cm) ve alt rektum (0-7 cm) tümörleri ile TRG skoru ve yanıt arasında ilişki bulunamamıştır. (p=0,4).

Lu X ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alıp TME yapılan 269 LİRK hastası ile AJCC/CAP TRG skorlaması kullanarak yaptığı çalışmada; hastaların %24,9'u TRG0, %29,0'u TRG1, %29,0'u TRG2, %17,1'i TRG3 idi. Bizim çalışmamızda ise hastaların %15,0'i TRG0, %17,5'i TRG1, %30'u TRG2, %37,5'i TRG3 idi. Lu X ve arkadaşlarının çalışmasında tümör lokalizasyonu ile TRG arasında anmalı bir ilişki bulunmamıştır. (p=0,4). İki çalışmanın farkı Lu X ve arkadaşları hasta kohortunun büyük çoğunluğunu orta ve alt rektum tümörü olan hastalar olmasıdır. Bizim çalışmamızda lokalizasyon ile yanıt arasında ilişki bulunmayışının nedeni üst rektum tümörlerinin dışlanmasıdır.(p=0,4) (69)

Yanıt ile ilişkili faktörleri değerlendiren çokça çalışma bulunmaktadır. Lu X ve arkadaşlarının çalışmasında cinsiyet ile TRG skoru arasında ilişki bulunamamıştır. (p=0,06) (69). Cloos AJ ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alıp opere edilen 1891 LİRK'li hasta ile yaptığı çalışmada cinsiyet, sigara içme durumu ile patolojik yanıt arasında ilişki bulunamamıştır (70). Inoue A ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alıp opere edilen LİRK'li hastalarla yaptığı çalışmada da cinsiyet ve sigara içme durumu ile patolojik yanıt arasında ilişki bulunamamıştır. (p değerleri sırasıyla p=0,7 p=0,3) (71). Chuang JP ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, neoadjuvan tedavi alıp TME yapılan 265 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların %67,9'u TRG 0-1 grubuna, %32,1'i TRG 2-3 grubuna alınarak incelendi. Sigara içmenin daha yüksek TRG ile anlamlı şekilde ilişkili

olduğu gösterildi. (p=0,008). Cinsiyet ve tümör lokalizasyonu ile TRG arasında ilişki bulunamamıştır. (p değerleri sırasıyla p=0,9 p=0,3) (72).

Çalışmamızda da literatürle benzer olarak sigara içme durumu ve cinsiyet ile TRG arasında ilişki bulunamamıştır. (p değerleri sırasıyla p=0,5 p=0,5.)

Morini A ve arkadaşlarının neaoadjuvan tedavi alıp opere edilen 68 LİRK'li hasta ile yaptığı çalışmada yüksek grade'in yüksek TRG ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (p=0,001) (73)

Laohawiriyakamol S ve arkadaşlarının 104 LİRK hasta ile yaptığı çalışmada hastalar iyi yanıt (TRG1-2) ve kötü yanıt (TRG3-5) olarak iki gruba ayrıldı. (Mandard TRG skorlaması kullanıldı). Hastaların %30,8 i iyi yanıt, %69,2'si kötü yanıt grubunda idi. Cinsiyet, tümör yeri ve grade ile yanıt arasında ilişki bulunamamıştır. (p değerleri sırasıyla p=0,1 p=0,2 p=0,1). (74) Öte yandan lenfovasküler invazyon yokluğunun iyi yanıt ile ilişkili olduğu ortaya kondu. (p=0,002). Perinöral invazyon ile yanıt arasında ilişki bulunamamıştır.(74). Morini A ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TRG3'ün lenfovasküler invazyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (p=0,03). (73) .

Bhutiani N ve arkadaşların neoadjuvan tedavi alıp opere edile LİRK'li hastalarda yaptığı çalışmada hastaların %28,8'inde lenfovasküler invazyon, %28,4'ünde perinöral invazyon görüldü. Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı ile kötü patolojik yanıt arasında anlamlı ilişki bulundu (75). Çalışmamızda da cinsiyet, tümör yeri ve grade ile yanıt arasında ilişki saptanmazken (p sırasıyla 0,5; 0,4; 0,4), hastaların %32,5'inde lenfovasküler, %30,0'unda perinöral invazyon saptanmış ve her iki

invazyon varlığının da TRG 2–3 ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gösterilmiştir (LVI için p=0,003; PNI için p=0,004).

Li J ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rektal kanserde neoadjuvan tedavi sonrası tümör tomurcuklanması, olumsuz prognoz ve kötü patolojik özelliklerle anlamlı şekilde ilişkilendirildi. (76). Demir A ve arkadaşlarının 75 LİRK hastası ile yaptığı çalışmada grade ve tümör tomurcuklanma durumunun sağ kalım için bağımsız prognostik faktörler olduğu bulundu. TRG ile ilişkisi net açıklanmamıştır.(77) Bizim çalışmamızda ise tümör tomurcuk/nodül ile TRG arasında ilişki bulunamamıştır. (p=0,3).

Tümör biyolojisindeki immun yanıt ve immun ortam ile tedaviye verilen yanıt arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar literatürde bildirilmiştir.

Xu Y ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alıp opere edilen LİRK'li 210 hasta ile yaptığı çalışmada; hastalardan neoadjuvan tedavi öncesi biyopsi alındı. Biyopsi dokusunda İHC boyama ile TİL yüzdesi bakıldı. Neoadjuvan tedavide hastalara uzun süreli radyoterapi (25–28 fraksiyonda 45–50 Gy) kapesitabin, infüzyonel 5-florourasil veya bolus 5-florourasil/lökovorin ve mono kemoterapi (5 fraksiyonda 25 Gy) FOLFOX veya CAPEOX veridi. Tedavi sonrasında hastalar TRG 0-1 (yanıt veren) (%56,0) ve TRG 2-3 (yanıt vermeyen) (%44,0) olarak iki gruba ayrıldı. TİL yüzdesi yanıt veren grupta anlamlı olarak daha yüksek bulundu. (p=0,02) (78).

Mohammed ve ark. tarafından 159 lokal ileri rektum kanserli hastada yapılan prospektif çalışmada TİL ile Ki-67 proliferasyon indeksinin TNT sonrası pTY üzerindeki öngörü gücü değerlendirilmiş ve özellikle yüksek TİL düzeylerinin pCR ile güçlü şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmada hastaların büyük çoğunluğu grade III (%74,2) ve T2–T3 (%78,6) evresinde olup yaklaşık yarısında lenf nodu tutulumu (%48,7) ve ≥3 cm tümör boyutu mevcuttu. Uluslararası çalışma grubuna göre TİL

oranları üç kategoriye ayrılmış; hastaların %15,7'si grup 1 (11–59%), %21,4'ü grup 2 (≥60%) olarak sınıflandırılmıştır. Ki-67 ekspresyonu hastaların %44'ünde yüksek (> %50) bulunmuştur. Çalışmada pCR oranı %18,2 olarak bildirilmiş; hem TİL hem de Ki-67 düzeyleri univaryant analizde pCR ile anlamlı ilişkili bulunmuş (sırasıyla p=0,001 ve p=0,03), bu ilişkinin multivaryant modelde de korunduğu gösterilmiştir (TİL p=0,001; Ki-67 p=0,003).(79).

Fan S ve arkadaşlarının 36 LİRK'li hasta ile yaptığı çalışmada, hastalar neoadjuvan tedavide kapesitabin ile uzun süreli radyoterapi (50,4 Gy/28 fraksiyon) ve ardından iki kür XELOX kemoterapisi ve envafolimab aldı. Tedavi sonrası tam yanıt oranı %47,2 olarak bulundu. Tedavi öncesi alınan biyopsi dokusunda İHC boyama ile TİL yüzdesi bakıldı. Daha yüksek başlangıç TIL yoğunluğunun, daha iyi TRG sonuçlarıyla ilişkili olduğu gösterildi. (TRG0-2: %94,4'e karşı TRG3: %5,6). Çalışmalarında ayrıca tedavi önce ve sonrası TIL seviyeleri karşılaştırılmış ve hücre alt grup analizi de yapılmıştır. Sonuç olarak tedavi sonrası TIL yüzdesinde anlamlı artış ve en belirgin infiltrasyonu CD8+ T hücrelerinin olduğu göstermişlerdir($p<0,05$). (80)

Literatürde TIL ile neoadjuvan tedavi yanıtı arasında anlamlı ilişki gösteremeyen çalışmalar da vardır. HER2 pozitif meme kanserinde yapılan bir çalışmada başlangıçtaki TIL seviyesi neoadjuvan tedavi sonrası düşme eğiliminde iken TIL ile pTY arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir. (81)

Çalışmamızda tam veya tama yakın yanıt olan hastaların neoadjuvan tedavi öncesinde kolonoskopik spesmende bakılan TİL yüzdesi %50 (9) 'sinde TİL% > 30 iken; parsiyel veya stabil yanıtı olanların %59,3 (16) 'ünde TİL% ≤30 idi (p=0,5). Ayrıca cerrahi yapılan hastaların tedavi öncesi ve sonrası postoperatif rezeksiyon materyalinde bakılan TİL yüzdesinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (p=0,7). Bunun nedenlerinden biri TIL yüzdesinin tüm lenfosit alt gruplarını birlikte içermesi ve spesifik efektör/regülatör T-hücre alt popülasyonlarını ayırt etmemesi olabileceği gibi, çalışmamızdaki hasta sayısının görece sınırlı olması da istatistiksel gücü azaltmış olabilir. Yine de çalışmamızda hücre/mm² standardizasyonu ile yapılan ölçüm diğer çalışmalara kıyaslandığında daha kantitatif bir değerlendirme sağlamıştır.

Schollbach ve ark. tarafından yapılan çalışmada, neoadjuvan uzun süreli kemoradyoterapi sonrası opere edilen 106 lokal ileri rektum kanserli hastada tümör infiltrasyonundaki $CD8^+$ T lenfosit yoğunluğu ve IDO1 ekspresyonunun prognostik etkileri ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada CD8 toplam skoru 7–12 arasında olan hastalarda, düşük CD8 skoruna kıyasla daha düşük ypT kategorilerinin anlamlı şekilde izlendiği (p=0,029), ypUICC evresinin daha erken olduğu (p=0,004) ve tam patolojik yanıtın (ypT0) daha yüksek oranda görüldüğü (p=0,047) bildirilmiştir. Sağkalım analizlerinde yüksek CD8 skorunun hem tek değişkenli analizde OS için anlamlı olduğu (HR=0,38; p=0,046) hem de çok değişkenli modelde bağımsız bir prognostik faktör olarak korunduğu gösterilmiştir (HR=0,16; %95 GA 0,03–0,83; p=0,029). (82)

Bizim kohortumuzda ise değerlendirme, Schollbach ve ark.'nın postoperatif rezeksiyon materyalinde yaptığı analizden farklı olarak neoadjuvan tedavi öncesi kolonoskopik biyopsiler üzerinden yapılmıştır. Çalışmamızda tedavi sonrası rezeksiyon materyalinde CD8 sayılarının anlamlı şekilde artması (p<0,001), $CD8^+$ sitotoksik T hücrelerinin neoadjuvan tedaviye sekonder immün aktivasyonla artarak Schollbach ve ark.'nın çalışmasında tanımlanan sağkalım etkisini daha çok post-tedavi dönemde yansıttığını göstermektedir.

Schollbach ve ark.'nın bulguları, $CD8^+$ infiltrasyonunun özellikle tedavi sonrası dönemde prognostik önemini vurgularken, diğer bazı çalışmalar T-hücre alt popülasyonlarının farklı kombinasyonlarının da klinik sonuçlarla ilişkili olabileceğini göstermiştir. (82)

Zaghloul ve ark. tarafından klinik T3–T4 veya herhangi bir T evresinde nodal tutulumu bulunan toplam 50 rektum kanserli hastada yapılan çalışmada, preoperatif kemoradyoterapi öncesi alınan tanısal rektal biyopsilerde $CD8^+$ ve $FOXP3^+$ T lenfosit infiltrasyonunun hem patolojik yanıt hem de uzun dönem sağkalım üzerine etkisi ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada yüksek $CD8^+$ yoğunluğu ile $CD8^+/FOXP3^+$ oranının artmış olması, nodal tutulumsuzluk ve lenfovasküler invazyon yokluğu ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur. Patolojik yanıt açısından daha iyi yanıt

veren hastalarda $CD8^+$ infiltrasyonu belirgin derecede daha yüksek bulunmuştur.(83). Bizim kohortumuzda $CD8^+$ hücre yoğunluğu TRG 0–1 yanıtıyla anlamlı korelasyon göstermemiş (p=0,3) ve yalnızca nüks açısından sınırda bir eğilim izlenmiştir (yüksek CD8: %13,6 vs. düşük: %0; p=0,08).Ek olarak stromal $CD4^+$ yoğunluğunun 410 hücre/mm² üzerinde olması TRG 0–1 yanıtıyla anlamlı ilişki göstermiş (p=0,02) ve bu grup hastalarda lenfovasküler ve perinöral invazyonun hiç izlenmemesi (her ikisi için p<0,01) immünolojik açıdan belirgin farklılıkları desteklemiştir. CD4 infiltrasyonunun yüksek olduğu hastalarda agresif histolojik özelliklerin yokluğu, düzenleyici ve yardımcı T hücresi alt popülasyonlarının ayrıntılı analizinin gelecekte daha belirleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Lai S ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi gören 134 RK'lı hasta ile yaptığı çalışmada, hastalar neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi aldı. Kemoterapi rejimleri tek ajan (florourasil), ikili ajan (FOLFOX) veya üçlü ajan (FOLFOXIRI) içeriyordu. Radyasyon dozu 23-25 fraksiyonda 45-50,4 Gy idi. Tedavi öncesi biyopsilerde CD4/CD8 yoğunluğunu hem intratümöral periglandüler (IPL) hem de stromal TIL bileşenleriyle ayrı değerlendirerek yalnızca en yüksek $CD8^+$ TIL çeyreğinin daha iyi TRG ile bağımsız olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (OR=0,23; %95 GA 0,07–0,76; p<0,001); buna karşın $CD8^+$ IPL, $CD4^+$ IPL ve $CD4^+$ TIL ile yanıt arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.(84).

Lai ve ark.'nın CD8 ağırlıklı prediktif bulgularına karşın, bizim serimizde $CD8^+$ stromal yoğunluk yanıtla ilişkili bulunmamış, yalnızca nüks açısından sınırda bir eğilim göstermiştir. Bu farklılık, T-hücre alt popülasyonlarının biyopsi dokusundaki dağılım paternlerine ve biyolojik alt-tiplerin kohortlar arası heterojenliğine bağlı olabilir.

Orhan ve arkadaşlarının 2022 yılında yayımladığı bir sistematik derleme ve meta-analiz, lokal ileri evre rektum kanseri hastalarında TIL'in neoadjuvan kemoradyoterapiye yanıtını ve sağkalım üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Toplam 19 çalışma (14'ü meta-analize dahil) ve 2034 hasta analiz edilmiştir. TNT uygulanmamış çalışmalar dahil edilmiş olup tüm hastalar neoadjuvan kemoradyoterapi ardından cerrahi almıştır. Sonuçlara göre, yüksek CD8+ TIL yoğunluğu olan hastalar,

düşük yoğunlukta olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek pTY oranına (RR = 2.71; %95 GA 1.58–4.66) ve patolojik tedavi yanıtına (RR = 1.86; %95 GA 1.50–2.29) ulaşmıştır. Ayrıca yüksek CD8+ TIL düzeyi daha iyi hastalıksız sağkalım (HR = 0.57) ve genel sağkalım (HR = 0.43) ile ilişkilendirilmiştir (85). Malekzadeh ve ark. neoadjuvan tedavi alıp ardından cerrahi uygulanan 83 RK'lı hasta ile yaptığı çalışmada; hastaların biyopsi örneklerinde CD8+ lenfosit infiltrasyonu ile tedaviye yanıt arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir. (p= 0,018) (86).

Bizim çalışmamızda başlangıç $CD8^+$ hücre sayısı ile yanıt arasında ilişki saptanmamış olsa da, tedavi sonrası $CD8^+$ yoğunluğunda anlamlı artış gözlenmesi, $CD8^+$ hücrelerinin TNT'ye bağlı immün aktivasyonun potansiyel bir biyobelirteci olabileceğini desteklemektedir. Çalışmamızın tasarımı ve sonlanım noktaları söz konusu çalışmalarla farklılık gösterdiğinden doğrudan karşılaştırma yapmak güç olmakla birlikte, hasta sayımızın sınırlı olması başlangıç CD8 değerleri ile yanıt arasında anlamlı ilişki saptanamamasında etkili olabilir.

Matsutani S ve arkadaşlarının neoadjuvan tedavi alıp opere edilen 64 LİRK hastası ile yaptığı çalışmada; hastaların tedavi öncesi biyopsi örneklerinde CD8+ TIL'lerin düşük yoğunluğunun, zayıf patolojik yanıtla anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterildi. ($p< 0,001$). Tedavi sonrası rezeke edilen örneklerde de CD8+ TIL'lerin düşük yoğunluğunun zayıf patolojik yanıtla anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterildi. ($p<0,001$). Tedavi sonrası rezeke edilen örneklerdeki CD8+ TIL'lerin yoğunluğu, tedavi öncesi biyopsi örneklerine kıyasla anlamlı şekilde artmıştı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan örneklerde CD4+ TİL sayısı ile yanıt arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. (p değerleri sırasıyla p=0,8 p=0,2). (87)

Akiyoshi ve ark. tarafından 275 hastalık geniş bir kohortta pre-CRT $CD8^+$ TIL yoğunluğu immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiş ve yüksek $CD8^+$ TIL yoğunluğunun CRT yanıtı ve sağkalım açısından anlamlı derecede daha iyi sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Buna karşın pre-CRT stromal $CD8^+$ yoğunluğu ne tedavi yanıtı ne de RFS ile ilişkili bulunmamıştır. Whole-exome sequencing yapılan 74 hastada iyi yanıt verenlerde daha yüksek SNV yükü ve neoantijen sayısı saptanmış; her iki

parametre de $CD8^+$ TIL yoğunluğu ile pozitif korelasyon göstermiştir (SNV r_s=0,315; neoantijen r_s=0,334). Mikroarray analizinde CD8A ekspresyonu ile PDCD1 (r_s=0,264) ve LAG3 (r_s=0,507) arasında pozitif korelasyon izlenmiş; bu bulgular CRT yanıtında neoantijen yükü ve immün kontrol noktası aktivasyonunun etkili olabileceğini düşündürmüştür.(88)

Shinto ve ark.'nın retrospektif (n=95) ve prospektif (n=49) iki bağımsız kohortta yaptığı çalışmada, pretedavi biyopsilerde CD133, COX-2 ve CD8 artmış ekspresyonunun birlikte değerlendirilmesinin neoadjuvan CRT yanıtını öngörmede yüksek doğruluk sağladığı gösterilmiştir. Retrospektif kohortta iki veya üç IHC özelliği pozitif olan hastalarda TRG 3–4 yanıtı %67, daha az özelliği olanlarda %20 bulunmuştur (p<0,001). Tümör downstaging oranı da bu grupta daha yüksektir (%43 vs. %22; p=0,029). Prospektif kohortta bulgular benzer şekilde doğrulanmıştır: TRG 3–4 yanıtı ≥2 özellik pozitif olanlarda %76, diğerlerinde %25 (p<0,001); downstaging oranı %57 vs. %25 (p=0,022). Lokal rekürrenssiz sağkalımda iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştı (89). Wenbo Niu ve arkadaşlarının rektum kanserli hastalarla yaptığı çalışmada neoadjuvan tedavi sonra tümör dokusunda CD8+ T hücreleri önemli ölçüde artarken, CD4+ T hücrelerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. (90)

Bizim kohortumuzda ise neoadjuvan tedavi öncesi stromal $CD4^+$ yoğunluğu TRG 0–1 yanıtla anlamlı şekilde ilişkili tek parametre olmuş (≥410 hücre/mm² olanlarda yanıt %55,6; ≤410 olanlarda %18,5; p=0,02) ve aynı grupta LVI/PNI'nin hiç görülmemesi (her ikisi için p<0,01) daha avantajlı bir immün mikroçevreyi desteklemiştir. $CD8^+$ yoğunluğu ve TIL yüzdesi bizim analizimizde tedavi yanıtını öngörmemiş olsa da (p=0,3 ve p=0,5), postoperatif dönemde CD8 yoğunluğundaki anlamlı artış (p<0,001) Shintonun ve Matsutani'nin özellikle CRT alt kohortunda gösterdiği immün aktivasyon bulgularıyla uyumludur

Bu çalışmanın belirli sınırlamaları vardır. İlk olarak, bu çalışmanın tek merkezli ve retrospektif tasarımı, sonuçların genelleştirilebilirliğini sınırlamakta ve nispeten sınırlı sayıda hasta (n=45) içermektedir. Alt gruplar arasındaki karşılaştırmalar, sınırlı örneklem büyüklüğü nedeniyle nispeten zayıf kalmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada

sunulan veriler, iyi tanımlanmış bir hasta popülasyonundan elde edildiği ve çalışma boyunca tek bir merkezde aynı tedavi protokolü ile tedavi edildiği için dahili olarak geçerlidir. İkinci olarak, immünohistokimyasal analizler tek bir zaman noktasında (tedavi öncesi ve sonrası) toplanmış olup, ara dönemlerdeki bağışıklık hücresi infiltrasyonunun dinamik değişimini gözlemlemek mümkün değildir. Bu nedenle, yalnızca CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin değerlendirilmesi, bağışıklık yanıtının diğer bileşenleri (örneğin, Treg, makrofajlar, dendritik hücre alt tipleri veya PD-L1 ekspresyonu) için destek sağlamamaktadır. Diğer bir sınırlama, radyolojik ve klinik yanıtın değerlendirilmesinin bir ölçüde gözlemciye bağlı olabilmesi ve değişken MRI veri alımı nedeniyle ölçümde farklılıklar olabilmesidir. Ayrıca, hastalar için takip süresi sınırlı olabilir, bu da elde edilen immünolojik bulguların uzun vadeli sağkalım veya nüks oranlarını nasıl etkileyebileceğini değerlendirmeyi olanaksız hale getirmiştirü. Bu nedenle, sonuçlarımızın daha büyük örneklem, çok merkezli, prospektif çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Bu çalışma, lokal ileri rektum kanserinde total neoadjuvan tedavi öncesinde tümör mikroçevresinin immünolojik kompozisyonunu doğrudan kolonoskopik biyopsiler üzerinden değerlendirerek literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmaktadır. Mevcut çalışmaların çoğu postoperatif rezeksiyon materyaline odaklanırken, biz pre-TNT dönemde stromal $CD4^+$ T lenfosit yoğunluğunun (>410 hücre/mm^2) tam veya tama yakın patolojik yanıtla anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu göstererek immün fenotip temelli bir prediktör ortaya koyduk. Bu bulgu, organ koruma oranlarıyla öne çıkan OPRA, PRODIGE 23 ve RAPIDO sonuçlarıyla uyumlu olmakla birlikte, bu çalışmalardan farklı olarak tedavi öncesi immünolojik profillemenin klinik karar sürecine entegre edilebileceğini göstermektedir. Ek olarak, tedavi sonrası belirgin $CD8^+$ artışı TNT'nin immün mikroçevre üzerinde düzenleyici bir etki yarattığını desteklerken, LVI ve PNI yokluğunun yalnızca histopatolojik bir avantaj değil, aynı zamanda immünolojik bir yanıt göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Bu yönleriyle çalışmamız, lokal ileri rektum kanserinde hasta seçiminden tedavi intensifikasyonuna ve

organ koruma stratejilerine kadar uzanan bireyselleştirilmiş TNT yaklaşımına translasyonel bir temel sunmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma, lokal ileri rektum kanserinde TNT uygulanan hastalarda tedavi öncesi tümör mikroçevresinin immünolojik özelliklerinin tedavi yanıtı öngörmedeki rolünü ortaya koymuştur. Çalışmamızda, kolonoskopik biyopsi örneklerinde yüksek stromal CD4+ T lenfosit yoğunluğunun (>410 hücre/mm²) total neoadjuvan tedaviye tam veya tama yakın patolojik yanıtla (TRG0/1) anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu göstermiştir. Başlangıçtaki CD8+ T lenfosit yoğunluğu ve TIL yüzdesi ile tedavi yanıtı arasında anlamlı bir ilişki saptanamamasıana karşın tedavi sonrasında $CD8^+$ hücre yoğunluğunda istatistiksel anlamlı bir artış gözlenmiş, bu durum TNT'nin immün mikroçevre üzerinde modülatör bir etkisi olabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, perinöral ve lenfovasküler invazyon bulunmayan hastalarda tam yanıt oranlarının anlamlı şekilde yüksek olması, klasik histopatolojik faktörlerin immün yanıtla birlikte değerlendirilmesinin prognostik değeri artırabileceğini düşündürmektedir

Bu veriler ışığında, yüksek başlangıç CD4+ hücre yoğunluğuna sahip, invazyon bulgusu olmayan ve iyi performans durumundaki hastalarda "bekle ve gör" rasyonel olarak düşünülebilir ve tedavide plan ve süreç buna göre yapılabilir iken, düşük CD4+ yoğunluğu (≤ 410 hücre mm²) olup invazyon varlığı saptanan hastalarda daha yoğunlaştırılmış TNT protokolleri veya erken cerrahi müdahale gündeme gelebilir.

Gelecekte bu immün parametrelerin diğer hücre alt grupları (Treg, $CD45RO^+$, PD-1/PD-L1 gibi) ile birlikte değerlendirildiği prospektif, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç bulunmakatdır. Bu sayede lokal ileri rektum kanseri popülasyonunda immün yanıt temelli tedavi prediksiyon modellerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak ve bireyselleştirilmiş tedavi stratejilerinin belirlenmesine ve organ koruma oranlarının artırılmasına önemli katkılar sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Srivastava, V., Goswami, A.G., Basu, S. et al. Locally Advanced Rectal Cancer: What We Learned in the Last Two Decades and the Future Perspectives. J Gastrointest Canc 54, 188–203 (2023). https://doi.org/10.1007/s12029-021-00794-9
2. Kasi A, Abbasi S, Handa S, Al-Rajabi R, Saeed A, Baranda J, Sun W. Total Neoadjuvant Therapy vs Standard Therapy in Locally Advanced Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. 2020 Dec 1;3(12):e2030097. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.30097. PMID: 33326026; PMCID: PMC7745099.
3. Guida AM, Sensi B, Formica V, D'Angelillo RM, Roselli M, Del Vecchio Blanco G, Rossi P, Capolupo GT, Caricato M, Sica GS. Total neoadjuvant therapy for the treatment of locally advanced rectal cancer: a systematic minireview. Biol Direct. 2022 Jun 13;17(1):16. doi: 10.1186/s13062-022-00329-7. PMID: 35698084; PMCID: PMC9195214.
4. Cerdan-Santacruz C, São Julião GP, Vailati BB, Corbi L, Habr-Gama A, Perez RO. Watch and Wait Approach for Rectal Cancer. J Clin Med. 2023 Apr 14;12(8):2873. doi: 10.3390/jcm12082873. PMID: 37109210; PMCID: PMC10143332.
5. Wilkinson N. Management of Rectal Cancer. Surg Clin North Am. 2020 Jun;100(3):615-628. doi: 10.1016/j.suc.2020.02.014. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32402304.
6. Yu, H., Huang, Y., Ge, Y. et al. Selenite-induced ROS/AMPK/FoxO3a/GABARAPL-1 signaling pathway modulates autophagy that antagonize apoptosis in colorectal cancer cells. Discov Onc 12, 35 (2021). https://doi.org/10.1007/s12672-021-00427-4
7. Alimova, I., Chernyshov, S., Nagudov, M. et al. Comparison of oncological and functional outcomes and quality of life after transanal or laparoscopic total mesorectal excision for rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Tech Coloproctol 25, 901–913 (2021). https://doi.org/10.1007/s10151-021-02420-z
8. Al-Rashid, F., Robitaille, S., Liberman, A.S. et al. Trajectory of change of low anterior resection syndrome over time after restorative proctectomy for rectal adenocarcinoma. Tech Coloproctol 26, 195–203 (2022). https://doi.org/10.1007/s10151-021-02561-1
9. Wu Z, Zheng Y, Sheng J, Han Y, Yang Y, Pan H, Yao J. CD3+CD4-CD8- (Double-Negative) T Cells in Inflammation, Immune Disorders and Cancer. Front Immunol. 2022 Feb 10;13:816005. doi: 10.3389/fimmu.2022.816005. PMID: 35222392; PMCID: PMC8866817.

10. Bişgin T, Sökmen S. Primer Rektum Kanserinde Cerrahi Tedavi: Teknik, Sorunlar ve Çözümler. Turkiye Klinikleri Radiation Oncology-Special Topics. 2020;6(1):43-51.
11. Heald RJ, Moran BJ. Embryology and anatomy of the rectum. Semin Surg Oncol. 1998;15(2):66-71. [PMID:9730411]
12. Najarian MM, Belzer GE, Cogbill TH, et al. Determination of the peritoneal reflection using intraoperative proctoscopy. Dis Colon Rectum. 2004;47(12):2080-5. [PMID:15657658]
13. Salerno G, Sinnatamby C, Branagan G, et al. Defining the rectum: surgically, radiologically and anatomically. Colorectal Disease. 2006 Sep;8 Suppl 3: 5-9. PMID: 16813584
14. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024 May-Jun;74(3):229-263. doi: 10.3322/caac.21834. Epub 2024 Apr 4. PMID: 38572751.
15. Singh H, Kang A, Bloudek L, Hsu LI, Corinna Palanca-Wessels M, Stecher M, Siadak M, Ng K. Systematic literature review and meta-analysis of HER2 amplification, overexpression, and positivity in colorectal cancer. JNCI Cancer Spectr. 2024 Jan 4;8(1):pkad082. doi: 10.1093/jncics/pkad082. PMID: 37815820; PMCID: PMC10868379.
16. Guida AM, Sensi B, Formica V, D'Angelillo RM, Roselli M, Del Vecchio Blanco G, Rossi P, Capolupo GT, Caricato M, Sica GS. Total neoadjuvant therapy for the treatment of locally advanced rectal cancer: a systematic minireview. Biol Direct. 2022 Jun 13;17(1):16. doi: 10.1186/s13062-022-00329-7. PMID: 35698084; PMCID: PMC9195214.
17. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. Lancet. 2019 Oct 19;394(10207):1467-1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0. PMID: 31631858.
18. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/Dokumanlar/Istatistikler/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2020.pdf
19. Lin OS. Acquired risk factors for colorectal cancer. Methods Mol Biol. 2009;472:361-72. doi: 10.1007/978-1-60327-492-0_16. PMID: 19107442.
20. Rombouts AJM, Hugen N, Elferink MAG, et al. Increased risk for second primary rectal cancer after pelvic radiation therapy. Eur J Cancer. 2020 Jan; 124: 142-51. PMID: 31765989.
21. Adelstein BA, Macaskill P, Chan SF, Katelaris PH, Irwig L. Most bowel cancer symptoms do not indicate colorectal cancer and polyps: a systematic review. BMC Gastroenterol. 2011 May 30;11:65. doi: 10.1186/1471-230X-11-65. PMID: 21624112; PMCID: PMC3120795.

22. Wilkinson N. Management of Rectal Cancer. Surg Clin North Am. 2020 Jun;100(3):615-628. doi: 10.1016/j.suc.2020.02.014. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32402304.
23. Keller DS, Berho M, Perez RO, Wexner SD, Chand M. The multidisciplinary management of rectal cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2020 Jul;17(7):414-429. doi: 10.1038/s41575-020-0275-y. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32203400.
24. McCourt M, Armitage J, Monson JR. Rectal cancer. Surgeon. 2009 Jun;7(3):162-9. doi: 10.1016/s1479-666x(09)80040-1. PMID: 19580180.
25. Lotfollahzadeh S, Kashyap S, Tsoris A, et al. Rectal Cancer. [Updated 2023 Jul 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan
26. Vignali A, De Nardi P. Multidisciplinary treatment of rectal cancer in 2014: where are we going? World J Gastroenterol. 2014 Aug 28;20(32):11249-61. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11249. PMID: 25170209; PMCID: PMC4145763.
27. Garcia-Aguilar J, Pollack J, Lee SH, Hernandez de Anda E, Mellgren A, Wong WD, Finne CO, Rothenberger DA, Madoff RD. Accuracy of endorectal ultrasonography in preoperative staging of rectal tumors. Dis Colon Rectum. 2002;45:10–15. doi: 10.1007/s10350-004-6106-3.
28. Samdani T, Garcia-Aguilar J. Imaging in rectal cancer: magnetic resonance imaging versus endorectal ultrasonography. Surg Oncol Clin N Am. 2014;23:59–77. doi: 10.1016/j.soc.2013.09.011.
29. Grassetto G, Marzola MC, Minicozzi A, Al-Nahhas A, Rubello D. F-18 FDG PET/CT in rectal carcinoma: where are we now? Clin Nucl Med. 2011;36:884–888. doi: 10.1097/RLU.0b013e318219b507.
30. Ozis SE, Soydal C, Akyol C, Can N, Kucuk ON, Yagcı C, Erkek AB, Kuzu MA. The role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in the primary staging of rectal cancer. World J Surg Oncol. 2014;12:26. doi: 10.1186/1477-7819-12-26.
31. Santiago I, Figueiredo N, Parés O, Matos C. MRI of rectal cancer-relevant anatomy and staging key points. Insights Imaging. 2020 Sep 3;11(1):100. doi: 10.1186/s13244-020-00890-7. PMID: 32880782; PMCID: PMC7471246.
32. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. CA Cancer J Clin. 2017 Mar;67(2):93-99. doi: 10.3322/caac.21388. Epub 2017 Jan 17. PMID: 28094848.
33. Edition S, Edge S, Byrd D. AJCC cancer staging manual. AJCC cancer staging manual. 2017

34. Scott AJ, Kennedy EB, Berlin J, Brown G, Chalabi M, Cho MT, Cusnir M, Dorth J, George M, Kachnic LA, Kennecke HF, Loree JM, Morris VK, Perez RO, Smith JJ, Strickland MR, Gholami S. Management of Locally Advanced Rectal Cancer: ASCO Guideline. J Clin Oncol. 2024 Oct;42(28):3355-3375. doi: 10.1200/JCO.24.01160. Epub 2024 Aug 8. PMID: 39116386.
35. Benson AB, Venook AP, Adam M, Chang G, Chen YJ, Ciombor KK, Cohen SA, Cooper HS, Deming D, Garrido-Laguna I, Grem JL, Haste P, Hecht JR, Hoffe S, Hunt S, Hussan H, Johung KL, Joseph N, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Malla M, Maratt JK, Messersmith WA, Meyerhardt J, Miller ED, Mulcahy MF, Nurkin S, Parikh A, Patel H, Pedersen K, Saltz L, Schneider C, Shibata D, Shogan B, Skibber JM, Sofocleous CT, Tavakkoli A, Willett CG, Wu C, Jones F, Gurski L. NCCN Guidelines® Insights: Rectal Cancer, Version 3.2024. J Natl Compr Canc Netw. 2024 Aug;22(6):366-375. doi: 10.6004/jnccn.2024.0041. PMID: 39151454.
36. Hofheinz RD, Fokas E, Benhaim L, Price TJ, Arnold D, Beets-Tan R, Guren MG, Hospers GAP, Lonardi S, Nagtegaal ID, Perez RO, Cervantes A, Martinelli E; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Localised rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2025 Sep;36(9):1007-1024. doi: 10.1016/j.annonc.2025.05.528. Epub 2025 May 22. PMID: 40412553.
37. Avi S. Galler, Nicholas J. Petrelli, Shanthi P. Shakamuri, Rectal cancer surgery: A brief history, Surgical Oncology, Volume 20, Issue 4, 2011, Pages 223-230, doi.org/10.1016/j.suronc.2010.01.001.
38. Kuzu M. A, Aşlar A.K. Rektum Kanseri: Radikal Cerrahinin İlkeleri. Kolon ve Rektum Kanserleri. Baykan A ve ark (editörler), Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği, İstanbul, 2010.
39. Aaron S Rickles, David W Dietz, George J Chang, et al. High Rate of Positive Circumferential Resection Margins Following Rectal Cancer Surgery: A Call to Action. Ann Surg. 2015 Dec;262(6): 891-8. PMID: 26473651.
40. Sanjeev Dayal, Nick Battersby, Tom Cecil, Evolution of Surgical Treatment for Rectal Cancer: a Review, Journal of Gastrointestinal Surgery, Volume 21, Issue 7, 2017, Pages 1166-1173, ISSN 1091-255X
41. Gachabayov M, Tulina I, Bergamaschi R, Tsarkov P. Does transanal total mesorectal excision of rectal cancer improve histopathology metrics and/or complication rates? A meta-analysis. Surg Oncol. 2019 Sep;30:47-51. doi: 10.1016/j.suronc.2019.05.012. Epub 2019 May 21. PMID: 31500784.
42. Bryant CL, Lunniss PJ, Knowles CH, Thaha MA, Chan CL. Anterior resection syndrome. Lancet Oncol. 2012;13(9):e403–e408. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70236-X.

43. Dilke SM, Hadjittofi C, Than M, Tozer PJ, Stearns AT, Group EQS Anterior resection syndrome and quality of life with long-term follow-up after rectal cancer resection. Dis Colon Rectum. 2022;65(10):1251–1263. doi: 10.1097/DCR.0000000000002107.
44. Christensen P, Im Baeten C, Espin-Basany E, Martellucci J, Nugent KP, Zerbib F, et al. Management guidelines for low anterior resection syndrome - the MANUEL project. Colorectal Dis. 2021;23(2):461–475. doi: 10.1111/codi.15517.
45. Dijkstra EA, Nilsson PJ, Hospers GAP, Bahadoer RR, Meershoek-Klein Kranenbarg E, Roodvoets AGH, Putter H, Berglund Å, Cervantes A, Crolla RMPH, Hendriks MP, Capdevila J, Edhemovic I, Marijnen CAM, van de Velde CJH, Glimelius B, van Etten B; Collaborative Investigators. Locoregional Failure During and After Short-course Radiotherapy Followed by Chemotherapy and Surgery Compared With Long-course Chemoradiotherapy and Surgery: A 5-Year Follow-up of the RAPIDO Trial. Ann Surg. 2023 Oct 1;278(4):e766-e772. doi: 10.1097/SLA.0000000000005799. Epub 2023 Jan 20. PMID: 36661037; PMCID: PMC10481913.
46. Bahadoer RR, Dijkstra EA, van Etten B, et al. Short-course radiotherapy followed by chemotherapy before total mesorectal excision (TME) versus preoperative chemoradiotherapy, TME, and optional adjuvant chemotherapy in locally advanced rectal cancer (RAPIDO): a randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2021;22:29–42.
47. O'Brien T, Hospers G, Conroy T, Lenz HJ, Smith JJ, Andrews E, O'Neill B, Leonard G. The role of total neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer: a survey of specialists attending the All-Ireland Colorectal Cancer Conference 2022 including lead investigators of OPRA, PRODIGE-23 and RAPIDO. Ir J Med Sci. 2024 Jun;193(3):1183-1190. doi: 10.1007/s11845-023-03591-4. Epub 2023 Dec 23. PMID: 38141097; PMCID: PMC11128399.
48. Chehade L, Dagher K, Shamseddine A. Tailoring treatment for locally advanced rectal cancer. Cancer Treat Res Commun. 2024;41:100847. doi: 10.1016/j.ctarc.2024.100847. Epub 2024 Oct 2. PMID: 39418850.
49. Aghili M, Aghaei MM, Abyaneh R, Babaei M, Farhan F, Lashkari M, Farazmand B, Kolahdouzan K, Piozzi GN, Counago F, Ghalehtaki R. Short-course versus long-course neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with rectal cancer: long-term results of a randomized controlled trial. Int J Colorectal Dis. 2025 May 14;40(1):118. doi: 10.1007/s00384-025-04901-1. PMID: 40369294; PMCID: PMC12078407.
50. Van der Valk MJM, Hilling DE, Bastiaannet E, et al. ; IWWD Consortium . Long-term outcomes of clinical complete responders after neoadjuvant

treatment for rectal cancer in the International Watch & Wait Database (IWWD): an international multicentre registry study. Lancet. 2018;391(10139):2537-2545. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31078-X
51. Dossa F, Chesney TR, Acuna SA, Baxter NN. Neoadjuvan kemoradyoterapiyi takiben klinik olarak tam yanıt alındıktan sonra lokal olarak ilerlemiş rektal kanser için bekle-gör yaklaşımı: sistematik bir inceleme ve meta-analiz. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017;2(7):501-513. doi: 10.1016/S2468-1253(17)30074-2
52. Sun W, Al-Rajabi R, Perez RO, Abbasi S, Ash R, Habr-Gama A. Controversies in Rectal Cancer Treatment and Management. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2020 Mar;40:1-11. doi: 10.1200/EDBK_279871. PMID: 32239978.
53. Habr-Gama A, Perez RO, Wynn G ve diğerleri. Distal rektal kanser için neoadjuvan kemoradyoterapiden sonra tam klinik yanıt: standardizasyon için klinik ve endoskopik bulguların karakterizasyonu. Dis Colon Rectum . 2010;53:1692-1698
54. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New Response Evaluation Criteria in Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1). Eur J Cancer (2009) 45(2):228–47. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026
55. Fournier L, de Geus-Oei LF, Regge D, Oprea-Lager DE, D'Anastasi M, Bidaut L, Bäuerle T, Lopci E, Cappello G, Lecouvet F, Mayerhoefer M, Kunz WG, Verhoeff JJC, Caruso D, Smits M, Hoffmann RT, Gourtsoyianni S, Beets-Tan R, Neri E, deSouza NM, Deroose CM, Caramella C. Twenty Years On: RECIST as a Biomarker of Response in Solid Tumours an EORTC Imaging Group - ESOI Joint Paper. Front Oncol. 2022 Jan 10;11:800547. doi: 10.3389/fonc.2021.800547. PMID: 35083155; PMCID: PMC8784734.
56. Iannessi A, Beaumont H, Ojango C, Bertrand AS, Liu Y. RECIST 1.1 assessments variability: a systematic pictorial review of blinded double reads. Insights Imaging. 2024 Aug 7;15(1):199. doi: 10.1186/s13244-024-01774-w. PMID: 39112819; PMCID: PMC11306910.
57. Kim SH, Chang HJ, Kim DY, Park JW, Baek JY, Kim SY, Park SC, Oh JH, Yu A, Nam BH. What Is the Ideal Tumor Regression Grading System in Rectal Cancer Patients after Preoperative Chemoradiotherapy? Cancer Res Treat. 2016 Jul;48(3):998-1009. doi: 10.4143/crt.2015.254. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26511803; PMCID: PMC4946373.
58. https://documents.cap.org/protocols/cp-gilower-colonrectum-17protocol-4010.pdf
59. Chen HY, Feng LL, Li M, Ju HQ, Ding Y, Lan M, Song SM, Han WD, Yu L, Wei MB, Pang XL, He F, Liu S, Zheng J, Ma Y, Lin CY, Lan P, Huang

MJ, Zou YF, Yang ZL, Wang T, Lang JY, Orangio GR, Poylin V, Ajani JA, Wang WH, Wan XB. College of American Pathologists Tumor Regression Grading System for Long-Term Outcome in Patients with Locally Advanced Rectal Cancer. Oncologist. 2021 May;26(5):e780-e793. doi: 10.1002/onco.13707. Epub 2021 Feb 22. PMID: 33543577; PMCID: PMC8100558.

60. Prestwich RJ, Errington F, Hatfield P, Merrick AE, Ilett EJ, Selby PJ, Melcher AA. The immune system--is it relevant to cancer development, progression and treatment? Clin Oncol (R Coll Radiol). 2008 Mar;20(2):101-12. doi: 10.1016/j.clon.2007.10.011. Epub 2007 Nov 26. PMID: 18037277.
61. Tong Q, Liu K, Wang G. FasL expression in colorectal carcinoma and its significance in immune escape of cancer. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 2006;26(1):79-81. doi: 10.1007/BF02828044. PMID: 16711013.
62. Garcia-Aguilar J, Chow OS, Smith DD, Marcet JE, Cataldo PA, Varma MG, et al. Organ Preservation in Patients With Rectal Adenocarcinoma Treated With Total Neoadjuvant Therapy. Journal of Clinical Oncology. 2022;40(23):2546–2556. doi:10.1200/JCO.21.02548
63. Washington MK, Berlin J, Branton PA, et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum. College of American Pathologists (CAP), 2020; based on AJCC 8th edition.
64. Verheij FS, Omer DM, Williams H, Lin ST, Qin LX, Buckley JT, Thompson HM, Yuval JB, Kim JK, Dunne RF, Marcet J, Cataldo P, Polite B, Herzig DO, Liska D, Oommen S, Friel CM, Ternent C, Coveler AL, Hunt S, Gregory A, Varma MG, Bello BL, Carmichael JC, Krauss J, Gleisner A, Guillem JG, Temple L, Goodman KA, Segal NH, Cercek A, Yaeger R, Nash GM, Widmar M, Wei IH, Pappou EP, Weiser MR, Paty PB, Smith JJ, Wu AJ, Gollub MJ, Saltz LB, Garcia-Aguilar J. Long-Term Results of Organ Preservation in Patients With Rectal Adenocarcinoma Treated With Total Neoadjuvant Therapy: The Randomized Phase II OPRA Trial. J Clin Oncol. 2024 Feb 10;42(5):500-506. doi: 10.1200/JCO.23.01208. Epub 2023 Oct 26. PMID: 37883738; PMCID: PMC11578087.
65. Fokas E, Williams H, Diefenhardt M, Lin S, Qin LX, Piso P, Dapper H, Germer CT, Grützmann R, Tim Friede J, Joshua Smith J, Saltz LB, Wu AJ, Weiser MR, Omer D, Ghadimi M, Hofheinz RD, Garcia-Aguilar J, Rödel C; German Rectal Cancer Study Group and the OPRA Consortium. Chemoradiotherapy plus induction or consolidation chemotherapy as total neoadjuvant therapy for locally advanced rectal cancer: Pooled analysis of the CAO/ARO/AIO-12 and the OPRA randomized phase 2 trials. Eur J Cancer. 2024 Oct;210:114291. doi: 10.1016/j.ejca.2024.114291. Epub 2024 Aug 22. PMID: 39180940; PMCID: PMC11536523.

66. Conroy T, Bosset JF, Etienne PL, Rio E, François É, Mesgouez-Nebout N, Vendrely V, Artignan X, Bouché O, Gargot D, Boige V, Bonichon-Lamichhane N, Louvet C, Morand C, de la Fouchardière C, Lamfichekh N, Juzyna B, Jouffroy-Zeller C, Rullier E, Marchal F, Gourgou S, Castan F, Borg C; Unicancer Gastrointestinal Group and Partenariat de Recherche en Oncologie Digestive (PRODIGE) Group. Neoadjuvant chemotherapy with FOLFIRINOX and preoperative chemoradiotherapy for patients with locally advanced rectal cancer (UNICANCER-PRODIGE 23): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2021 May;22(5):702-715. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00079-6. Epub 2021 Apr 13. PMID: 33862000.
67. Weiser MR, Chou JF, Kim JK, Widmar M, Wei IH, Pappou EP, Smith JJ, Nash GM, Paty PB, Cercek A, Saltz LB, Romesser PB, Crane CH, Garcia-Aguilar J, Schrag D, Gönen M. A Dynamic Clinical Calculator for Estimating Conditional Recurrence-Free Survival After Total Neoadjuvant Therapy for Rectal Cancer and Either Surgery or Watch-and-Wait Management. JAMA Netw Open. 2022 Sep 1;5(9):e2233859. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.33859. PMID: 36173634; PMCID: PMC9523500.
68. Judge SJ, Malekzadeh P, Corines MJ, Gollub MJ, Horvat N, Gonen M, Saltz L, Cercek A, Romesser P, Crane C, Shia J, Wei I, Widmar M, Pappou E, Nash GM, Smith JJ, Paty PB, Garcia-Aguilar J, Weiser MR. Watch and wait in rectal cancer patients with residual mucin on magnetic resonance imaging following neoadjuvant therapy. J Natl Cancer Inst. 2024 Nov 1;116(11):1761-1766. doi: 10.1093/jnci/djae152. PMID: 38937278; PMCID: PMC11542991.
69. Lu X, Qi R, Xu Y, Wang X, Cai Y, Wang C. Tumor regression grade in locally advanced rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy: influencing factors and prognostic significance. Int J Clin Exp Pathol. 2023 Jun 15;16(6):124-132. PMID: 37425225; PMCID: PMC10326522.
70. Cloos AJ, Schissel M, Batra R, Donahue SR, Wenos CD, Kumar T 2nd, Leinicke JA, Thompson JS, Langenfeld SJ. Characteristics of pathologic complete response for locally advanced rectal cancer. Am J Surg. 2023 Dec;226(6):873-877. doi: 10.1016/j.amjsurg.2023.07.023. Epub 2023 Jul 13. PMID: 37460372.
71. Inoue A, Kagawa Y, Nishizawa Y, Komori T, Hashimoto M, Ozato Y, Morimoto Y, Shimamoto S, Miyazaki Y, Tomokuni A, Motoori M, Fujitani K. Outcomes of neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer under non-smoking conditions confirmed by measuring expiratory CO levels: An observational study. Oncol Lett. 2025 Apr 2;29(6):266. doi: 10.3892/ol.2025.15012. PMID: 40235682; PMCID: PMC11997641.

72. Chuang JP, Tsai HL, Chen PJ, Huang CW, Su WC, Chang TK, Chen YC, Li CC, Yeh YS, Wang JY. Smoking and Elevated Preneoadjuvant Chemoradiotherapy Serum Carcinoembryonic Antigen Levels Are Associated With High Tumor Regression Grade and Poor Survival in Patients With Locally Advanced Rectal Cancer. Kaohsiung J Med Sci. 2025 Jun;41(6):e70008. doi: 10.1002/kjm2.70008. Epub 2025 Mar 13. PMID: 40078099; PMCID: PMC12199573.
73. Morini A, Annicchiarico A, Romboli A, Ricco' M, Crafa P, Montali F, Dell'Abate P, Costi R. Retrospective survival analysis of stage II-III rectal cancer: tumour regression grade, grading and lymphovascular invasion are the only predictors. ANZ J Surg. 2021 Mar;91(3):E112-E118. doi: 10.1111/ans.16476. Epub 2020 Dec 14. PMID: 33319510.
74. Laohawiriyakamol S, Chaochankit W, Wanichsuwan W, Kanjanapradit K, Laohawiriyakamol T. An investigation into tumor regression grade as a parameter for locally advanced rectal cancer and 5-year overall survival rate. Ann Coloproctol. 2023 Feb;39(1):59-70. doi: 10.3393/ac.2021.01011.0144. Epub 2022 Mar 18. PMID: 36891632; PMCID: PMC10009072.
75. Bhutiani N, Yousef MM, Yousef AM, Haque EU, Chang GJ, Konishi T, Bednarski BK, You YN, Shen JP, Uppal A. Does Extramural Vascular Invasion Predict Response to Neoadjuvant Therapy in Locally Advanced Rectal Cancer? Clin Colorectal Cancer. 2025 Jun;24(2):272-279.e2. doi: 10.1016/j.clcc.2025.02.002. Epub 2025 Feb 7. PMID: 40038019.
76. Li J, Ma Y, Wen L, Zhang G, Huang C, Wang J, Yao X. Prognostic impact of tumor budding in rectal cancer after neoadjuvant therapy: a systematic review and meta-analysis. Syst Rev. 2024 Jan 9;13(1):22. doi: 10.1186/s13643-023-02441-9. PMID: 38191437; PMCID: PMC10775462.
77. Demir A., Alan O. & Oruc E. Tumor budding for predicting prognosis of resected rectum cancer after neoadjuvant treatment. World J Surg Onc 17, 50 (2019). doi:10.1186/s12957-019-1588-6
78. Xu Y, Lou X, Liang Y, Zhang S, Yang S, Chen Q, Xu Z, Zhao M, Li Z, Zhao K, Liu Z. Predicting Neoadjuvant Chemoradiotherapy Response in Locally Advanced Rectal Cancer Using Tumor-Infiltrating Lymphocytes Density. J Inflamm Res. 2021 Nov 10;14:5891-5899. doi: 10.2147/JIR.S342214. PMID: 34785927; PMCID: PMC8591410.
79. Mohammed A, Bakry A, Gharieb S, Hanna A, Obaya A, Abdelhady W, Metwalli A. Predictive Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Ki-67 for Pathological Response to Total Neoadjuvant Therapy in Rectal Cancer. J Gastrointest Cancer. 2024 Jun;55(2):869-876. doi: 10.1007/s12029-024-01026-6. Epub 2024 Feb 15. PMID: 38358621.
80. Fan S, Zhao Z, Meng Q, Wang H, Yu B, Niu W. Immune activation following PD-L1 inhibitor plus chemoradiotherapy in locally advanced rectal

cancer: a retrospective, single-arm study. Front Immunol. 2025 Aug 27;16:1619043. doi: 10.3389/fimmu.2025.1619043. PMID: 40936903; PMCID: PMC12420617.
81. Hamy AS, Pierga JY, Sabaila A, Laas E, Bonsang-Kitzis H, Laurent C, Vincent-Salomon A, Cottu P, Lerebours F, Rouzier R, Lae M, Reyal F. Stromal lymphocyte infiltration after neoadjuvant chemotherapy is associated with aggressive residual disease and lower disease-free survival in HER2-positive breast cancer. Ann Oncol. 2017 Sep 1;28(9):2233-2240. doi: 10.1093/annonc/mdx309. PMID: 28911063.
82. Schollbach J, Kircher S, Wiegering A, Seyfried F, Klein I, Rosenwald A, Germer CT, Löb S. Prognostic value of tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes in rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation: is indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO1) a friend or foe? Cancer Immunol Immunother. 2019 Apr;68(4):563-575. doi: 10.1007/s00262-019-02306-y. Epub 2019 Jan 22. PMID: 30671614; PMCID: PMC11028246.
83. Zaghloul H, Abbas A, Abdulah D. Tumor Microenvironment Mediators CD8+- and FOXP3+-Labeled T Lymphocytes Are Prospective Prognosticators in Curatively Treated Rectal Cancer Patients. J Gastrointest Cancer. 2021 Mar;52(1):177-186. doi: 10.1007/s12029-020-00376-1. PMID: 32112202.
84. Lai S, Lou X, Fan X, Sun W, Deng Y, Wang J, Huang Y, Dou R. Density and distribution of lymphocytes in pretherapeutic rectal cancer and response to neoadjuvant therapy. Gastroenterol Rep (Oxf). 2020 Jun 12;8(6):445-452. doi: 10.1093/gastro/goaa016. PMID: 33442477; PMCID: PMC7793145.
85. Orhan A, Khesrawi F, Tvilling Madsen M, Peuliche Vogelsang R, Dohrn N, Kanstrup Fiehn AM, Gögenur I. Tumor-Infiltrating Lymphocytes as Biomarkers of Treatment Response and Long-Term Survival in Patients with Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Cancers (Basel). 2022 Jan 27;14(3):636. doi: 10.3390/cancers14030636. PMID: 35158905; PMCID: PMC8833320.
86. Malekzadeh Moghani M, Alahyari S, Moradi A, Nasiri M. Pathological Predictors of Response to Neoadjuvant Treatment in Rectal Carcinoma. J Gastrointest Cancer. 2021 Jun;52(2):690-695. doi: 10.1007/s12029-020-00450-8. PMID: 32643115.
87. Matsutani S, Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Fukuoka T, Nakao S, Hirakawa K, Ohira M. Significance of tumor-infiltrating lymphocytes before and after neoadjuvant therapy for rectal cancer. Cancer Sci. 2018 Apr;109(4):966-979. doi: 10.1111/cas.13542. Epub 2018 Mar 25. PMID: 29464828; PMCID: PMC5891199.
88. T Akiyoshi, N Tanaka, K Kiyotani, O Gotoh, N Yamamoto, K Oba, Y Fukunaga, M Ueno, S Mori, Immunogenomic profiles associated with

response to neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with rectal cancer, British Journal of Surgery, Volume 106, Issue 10, September 2019, Pages 1381–1392, doi.org/10.1002/bjs.11179
89. Shinto E, Omata J, Sikina A, Sekizawa A, Kajiwara Y, Hayashi K, Hashiguchi Y, Hase K, Ueno H. Predictive immunohistochemical features for tumour response to chemoradiotherapy in rectal cancer. BJS Open. 2020 Apr;4(2):301-309. doi: 10.1002/bjs5.50251. Epub 2020 Feb 5. PMID: 32026629; PMCID: PMC7093790.
90. Wenbo Niu, Fengpeng Wu, Yueping Liu, Chaoxi Zhou, Juan Zhang, Xuhua Hu, Baokun Li, Gueying Wang. Neoadjuvant chemoradiotherapy for treatment of locally advanced rectal cancer: Efficacy and tumor immune microenvironment changes. Chin J Clin Oncol. 2023;17(05):519-523. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2023.05.004.