

ARTIKEL PENELITIAN

Hubungan Antara Tumor-infiltrating Lymphocytes dengan Parameter Klinikopatologi Pada Kanker Kolorektal

Heru Fajar Trianto^{1,2}, Sari Eka Pratiwi¹, Muhammad In'am Ilmiawan¹, Henky Hartono³, lit Fitrianingrum¹, Desriani Lestari¹

1. Departemen Biologi dan Patobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak; 2. Laboratorium Patologi Anatomi, Rumah Sakit Universitas Tanjungpura, Pontianak; 3. Laboratorium Patologi Anatomi, RSUD Dr. Soedarso, Pontianak

Korespondensi: Heru Fajar Trianto; herufajar@medical.untan.ac.id / 081358704142

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan antara TIL dengan berbagai parameter klinikopatologi pada kanker kolorektal. **Metode:** Penelitian ini menggunakan desain potong lintang. Subjek penelitian berupa 38 sampel blok parafin dan slide hematoxilin-eosin (HE) serta data klinikopatologi yang berasal dari sediaan operasi kanker kolorektal pada Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soedarso periode Januari – Desember 2020. Penilaian jumlah TIL dibagi menjadi tiga kelompok yaitu ringan (0-10%), sedang (11-59%), dan berat (60-100%). **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah TIL terbanyak adalah TIL berat yaitu sebanyak 16 kasus (42,1%). Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan hubungan antara jumlah TIL dengan derajat diferensiasi, stadium Dukes dan stadium p TNM dengan nilai $p < 0,005$. Tidak terdapat hubungan antara jumlah TIL dengan ukuran tumor, status metastasis kelenjar getah bening, status metastasis jauh, dan lokasi tumor. **Kesimpulan:** Terdapat hubungan antara jumlah TIL dengan derajat keganasan, stadium Dukes dan stadium pTNM yang merupakan faktor-faktor prognostic pada kanker kolorektal.

Kata kunci: Kanker Kolorektal; Parameter Klinikopatologi; Tumor-infiltrating lymphocytes

Abstract

Objective: This study aims to prove the correlation between TIL and clinicopathological parameters in colorectal cancer. **Method:** This is a cross-sectional study. Subjects are 38 samples of paraffin blocks, hematoxylin-eosin (HE) slides, and clinicopathological resume from colorectal cancer at the Anatomical Pathology Laboratory of Dr. Soedarso General Hospital for the period January – December 2020. The assessment of the number of TIL is divided into three groups, mild (0-10%), moderate (11-59%), and severe (60-100%). **Result:** The results showed that the most number of TIL was severe with 16 cases (42.1%). The results showed a correlation between TIL with the grades, Dukes staging and p TNM staging ($p < 0.005$). There was no correlation between TIL with tumor size, lymph node metastatic status, distant metastatic status, and tumor location. **Conclusion:** There is correlation between TIL with grades, Dukes staging and pTNM staging which are prognostic factors in colorectal cancer.

Keywords: Colorectal cancer; Clinicopathological parameters; Tumor-infiltrating lymphocytes

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal masih menduduki posisi ke-4 dari seluruh keganasan yang ada di dunia dan Indonesia.¹ Angka insiden dan mortalitas masih cukup tinggi yaitu sebesar 10,2 % dan 9,2%.² Kejadian metastasis pada kanker kolorektal masih cukup tinggi yaitu sekitar 20-25% pada kasus baru.³

Perkembangan suatu tumor ganas dapat dipengaruhi oleh interaksi antara sel tumor dengan berbagai faktor penyusun lingkungan mikro disekitarnya, antara lain sel stromal, saraf, pembuluh darah, dan sel imun sekitar tumor. Sel tumor bersifat antigenik dan dianggap sebagai benda asing oleh tubuh sehingga dapat menimbulkan respon imun, salah satunya berupa infiltrasi sel limfosit pada daerah sekitar tumor/ tumor-infiltrating lymphocytes (TIL).^{4,5} Beberapa penelitian menunjukkan kaitan antara perkembangan sel tumor pada karsinoma payudara, melanoma maligna, dan kanker kolorektal dengan infiltrasi sel limfosit sekitar tumor, yang merupakan bagian dari sistem imun tubuh.⁶⁻⁸

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh TIL dengan berbagai faktor prognosis dan prediktif serta respon terapi pada kanker kolorektal. Penelitian yang dilakukan oleh Shibutani et al³ menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara TIL dengan progression-free survival dan overall survival pasien kanker kolorektal. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah TIL dengan status metastasis sel tumor pada kelenjar getah bening.⁹

Berdasarkan masih tingginya kejadian kanker kolorektal dan terdapat salah satu parameter pengamatan pada sediaan histopatologi pasien dengan kanker kolorektal yaitu TIL serta belum adanya

penelitian tersebut di Kalimantan Barat, maka penelitian ini dilaksanakan untuk membuktikan hubungan antara jumlah TIL dengan berbagai parameter klinikopatologi kanker kolorektal. Pada penelitian ini diharapkan TIL dapat menjadi salah satu biomarker prognosis yang sederhana dan dapat diaplikasikan dalam proses diagnosis histopatologi dalam sehari-hari.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain potong lintang. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soedarso pada bulan Juli hingga Oktober 2021. Subjek penelitian adalah bahan biologis tersimpan berupa blok paraffin dan slide histopatologi serta laporan hasil patologi anatomi pasien kanker kolorektal di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soedarso periode Januari hingga Desember 2020 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah slide berasal dari jaringan kanker kolorektal yang diperoleh dari sediaan operasi, memiliki sel tumor yang cukup representatif untuk dilakukan pengamatan, dan memiliki data parameter klinikopatologi antara lain derajat keganasan, kedalaman invasi, status metastasis kelenjar getah bening (KGB), status metastasis jauh, stadium Dukes, stadium p TNM, dan lokasi tumor. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah terdapat diagnosis tambahan selain adenocarcinoma dan tidak terdapat jaringan tumor yang viabel.

Evaluasi jumlah TIL diamati dari slide histopatologi dengan pulasan HE menggunakan mikroskop cahaya binokular dengan perbesaran objektif 10x pada 5

lapang pandang. Persentase TIL diamati dari keseluruhan sel limfosit dan sel plasma di area stroma sekitar tumor yang invasif. Hasil pengamatan TIL dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan jumlah persentase TIL yaitu TIL ringan (0-10%), TIL sedang (11-59%), dan TIL berat (60-100%).

Hubungan antara jumlah TIL dengan berbagai parameter klinikopatologi kanker kolorektal dilakukan uji korelasi Spearman. Hasil uji korelasi dikatakan bermakna apabila didapatkan nilai $p < 0,005$.

Seluruh prosedur dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan nomor surat 4346/UN22.9/PG/2021.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Klinikopatologi

Jumlah sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebanyak 38 sampel yang berasal dari berbagai daerah di Kalimantan Barat.

Data karakteristik sampel yang diperoleh dari penelitian ini adalah data usia, jenis kelamin, dan asal daerah. Rentang usia penderita yang masuk sebagai sampel dalam penelitian ini adalah 24 tahun hingga 86 tahun. Rerata usia pada sampel penelitian ini adalah 56.2 tahun. Usia terbanyak yang mengalami kanker kolorektal pada penelitian ini adalah pada rentang usia 54 – 63 tahun yaitu sebanyak 13 kasus (34,2%). Distribusi penderita berdasarkan jenis kelamin menunjukkan jumlah yang sama antara laki-laki dan perempuan. Jumlah penderita laki-laki sebanyak 19 orang dan penderita perempuan juga 19 orang. Penderita kanker kolorektal yang terdapat pada penelitian ini berasal dari berbagai kota dan kabupaten di Kalimantan Barat. Distribusi penderita berdasarkan asal daerah hampir merata di setiap daerah. Terdapat lima kota dan kabupaten dengan jumlah penderita tertinggi yaitu Pontianak, Sanggau, Singkawang dan Landak masing-masing sebanyak 5 penderita.

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	n = 38	Persentase (%)
Usia		
24-33	3	7,9
34-43	1	2,6
44-53	12	31,6
54-63	13	34,2
64-73	4	10,5
74-86	5	13,2
Jenis Kelamin		
Laki-laki	19	50
Perempuan	19	50
Distribusi Daerah Asal		

Bengkayang	4	10,5
Kapuas Hulu	2	5,2
Landak	5	13,2
Melawi	2	5,2
Mempawah	3	7,9
Pontianak	5	13,2
Sambas	4	10,5
Singkawang	5	13,2
Sanggau	5	13,2
Sekadau	3	7,9

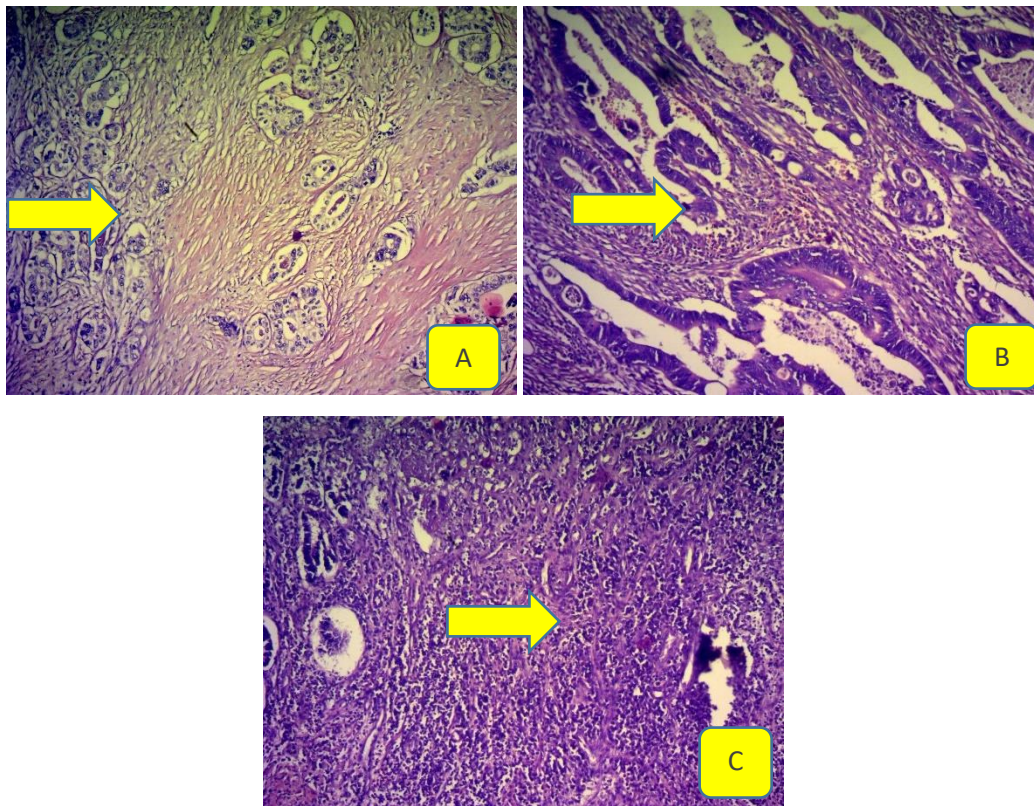
Terdapat beberapa parameter klinikopatologi yang berhasil diamati dari penelitian ini yaitu lokasi tumor, ukuran tumor atau kedalaman invasi, derajat keganasan (grade), metastasis KGB, metastasis pada organ jauh, stadium Dukes dan stadium p TNM. Distribusi kasus berdasarkan lokasi tumor terbanyak pada rektum yaitu sebanyak 22 penderita (57,9%) dan derajat keganasan yang terbanyak yaitu well differentiated sebanyak 20 kasus (52,6%). Ukuran/kedalaman invasi tumor terbanyak pada penelitian ini adalah T3 sebanyak 30 kasus (78,9%). Parameter klinikopatologi yang lain adalah status metastasis pada KGB serosa. Jumlah kasus pada sampel yang positif terdapat metastasis dan tidak terdapat metastasis KGB adalah sama yaitu masing-masing sebanyak 19 kasus (50%). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa sebanyak 6 kasus (15,8%) kanker kolorektal telah mengalami metastasis. Beberapa organ yang ditemukan metastasis adalah liver, ovarium dan paru. Jumlah kasus kanker kolorektal tanpa metastasis ke organ jauh sebanyak 32 kasus (84,2%).

Stadium patologi yang terdapat pada data penelitian ini mencakup Dukes dan p TNM. Stadium Dukes terdiri dari 6 kelompok yaitu A, B1, B2, C1, C2 dan D. Pada penelitian ini tidak terdapat sampel yang berada pada stadium A. Sampel terbanyak berada pada stadium B2 yaitu sebesar 14 kasus (36,8%). Sedangkan pada stadium pTNM terdiri dari 8 kelompok. Terdapat 2 kelompok yang nilainya 0 yaitu IIB dan IIIC. Jumlah sampel terbanyak terletak pada stadium IIA yaitu sebesar 15 kasus (39,5%).

Gambaran Tumor-Infiltrating Lymphocytes

Pengamatan TIL dilakukan pada keseluruhan sel limfosit dan sel plasma di area stroma sekitar kelompok sel tumor yang invasif. Jumlah TIL pada penelitian ini dinilai secara semikuantitatif berupa persentase TIL yang dinilai pada 5 lapang pandang dengan perbesaran objektif 10x. Persentase TIL kemudian dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu ringan (0-10%), sedang (11-59%), dan berat (60-100%). Hasil pengamatan jumlah TIL pada seluruh kasus adalah kelompok infiltrasi TIL ringan sebanyak 9 kasus (23,7%), sedang

sebanyak 13 kasus (34,2%), dan berat sebanyak 16 kasus (42,1%).



Gambar 1. Kelompok Tumor Infiltrating Lymphocytes. Kelompok TIL ringan (A). Kelompok TIL sedang (B). Kelompok TIL berat (C). Area pengamatan TIL ditunjuk panah kuning. (HE, Objektif 10x).

Hubungan Tumor-Infiltrating Lymphocytes dengan Parameter Klinikopatologi

Hasil analisis bivariat menggunakan uji korelasi Spearman menunjukkan hubungan yang bermakna antara TIL dengan derajat keganasan, stadium Dukes dan stadium p TNM ($p < 0,005$). Nilai koefisien korelasi secara berurutan dari ketiga parameter tersebut adalah -0,331, -

0,383, dan -0,418. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin meningkatnya derajat keganasan dan stadium maka persentase jumlah TIL akan menurun. Jumlah TIL pada penelitian ini tidak terdapat hubungan dengan ukuran tumor, status metastasis KGB, status metastasis jauh dan lokasi tumor ($p > 0,005$).

Tabel 2 Hubungan antara TIL dan Parameter Klinikopatologi

Parameter Klinikopatologi	Kelompok	Jumlah Kasus	Total Kasus	Nilai p	r
Lokasi Tumor	Kanan	6 (15,8%)	38	0,605	-0,087
	Kiri	10 (26,3%)			
	Rektum	22 (57,9%)			

Grading	Well	20 (52,6%)	38	0,043	-0,331
	Moderate	16 (42,1%)			
	Poorly	2 (5,3%)			
Kedalaman Invasi	T1	2 (5,3%)	38	0,368	0,150
	T2	4 (10,5%)			
	T3	30 (78,9%)			
	T4	2 (5,3%)			
Metastasis KGB	Positif	19 (50%)	38	0,077	0,290
	Negatif	19 (50%)			
Metastasis Jauh	Positif	6 (15,8%)	38	0,064	0,303
	Negatif	32 (84,2%)			
Stadium Dukes	B1	5 (13,2%)	38	0,017	-0,383
	B2	14 (36,8%)			
	C1	9 (23,7%)			
	C2	5 (13,2%)			
	D	5 (13,2%)			
Stadium pTNM	I	4 (10,5%)	38	0,009	-0,418
	IIA	15 (39,5%)			
	IIIB	2 (5,3%)			
	IIIA	11 (28,9%)			
	IIIB	5 (13,2%)			
	IVA	1 (2,6%)			
	IVB				

TIL : Tumor-infiltrating lymphocytes, r: koefisien korelasi

Jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebanyak 38 kasus. Kanker kolorektal sendiri merupakan kanker terbanyak ketiga di dunia dengan jumlah kasus baru sebanyak

134.490 dan jumlah kematian sebanyak 49.190.¹⁰ Pada penelitian ini didapatkan jumlah penderita kanker kolorektal laki-laki dan perempuan adalah sama yaitu masing-masing berjumlah 19 orang (50%).

Hasil distribusi jenis kelamin pada penelitian ini sesuai dengan distribusi jenis kelamin kanker kolorektal di dunia yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan jenis kelamin pada kejadian kanker kolorektal. Kanker kolorektal masih menjadi urutan ketiga dalam kejadian kasus baru pada laki-laki setelah kanker prostat dan kanker paru, serta urutan ketiga setelah kanker payudara dan kanker paru pada wanita.^{10,11}

Pada penelitian ini didapatkan rerata usia penderita adalah 56.2 tahun dengan jumlah terbanyak terletak pada rentang usia 54-63 tahun yaitu sebanyak 13 kasus (34,2%). Hasil penelitian ini sejalan dengan insiden kanker kolorektal yang meningkat hingga pada usia diatas 50 tahun dengan angka kejadian 90% dan rerata usia penderita adalah 64 tahun.¹²

Penelitian ini mengamati berbagai parameter klinikopatologi dari laporan hasil patologi anatomi penderita kanker kolorektal. Parameter yang pertama adalah lokasi tumor primer dimana didapatkan jumlah terbanyak terletak pada rektosigmoid yaitu sebanyak 76,3%. Hasil ini sejalan dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Huyghe et al yang menunjukkan bahwa jumlah kasus terbanyak kanker kolorektal terletak pada daerah rektosigmoid yaitu sebesar 16.212 kasus dibandingkan colon proksimal sebesar 15.706 kasus dan colon distal sebesar 14.376 kasus.¹⁴

Penilaian TIL pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 3 yaitu TIL ringan, sedang dan berat. Hasil pada penelitian ini menunjukkan jumlah terbanyak terletak pada kelompok TIL berat yaitu sebesar 16 kasus (42,1%). Metode penilaian TIL ini sesuai dengan metode TILs working group.⁸ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara jumlah TIL dengan derajat keganasan dimana

semakin meningkatnya derajat keganasan maka persentase jumlah TIL akan menurun. Hasil ini sejalan dengan penelitian Huh et al yang menunjukkan bahwa kanker kolorektal dengan derajat keganasan tinggi cenderung memiliki TIL dengan derajat ringan. TIL yang ringan pada kanker kolorektal memiliki prognosis yang lebih buruk dibandingkan infiltrasi TIL yang berat.¹⁶ Penelitian Ko and Pyo juga menunjukkan hasil yang sama dimana terdapat hubungan antara derajat keganasan dengan immunoscore yang berasal dari pengamatan limfosit CD3 dan CD8 di sekitar sel tumor.¹⁷

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara TIL dengan kedalaman invasi tumor. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Huh et al yang menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan antara TIL dengan kategori T atau kedalaman invasi sel tumor.¹⁶ Penelitian yang dilakukan oleh Ko and Pyo menunjukkan hasil yang berbeda dimana terdapat hubungan antara skor TIL dengan kedalaman invasi tumor. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah immunoscore pada p T1-2 dengan p T3-4.¹⁷

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara TIL dengan status metastasis ke KGB maupun pada organ jauh. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Huh et al dan penelitian Xie et al yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi TIL dengan status metastasis ke KGB maupun organ jauh.^{9,16} Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Jimenez-Rodriguez et al yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara jumlah TIL dengan metastasis KGB pada pasien kanker kolorektal.¹⁸

Pada penelitian ini menunjukkan terdapat hubungan antara jumlah TIL dengan stadium Dukes dan stadium p TNM. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ko and Pyo bahwa terdapat hubungan antara immunoscore yang merupakan perhitungan dari TIL dengan stadium p TNM¹⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Fuchs et al, juga menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi TIL dengan stadium p TNM.¹⁹

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara lokasi tumor dengan jumlah TIL. Penelitian yang sejalan dengan hasil ini adalah penelitian yang dilakukan oleh Fuchs et al, Ko and Pyo dan Matsusani et al yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara lokasi tumor dengan ekspresi TIL.^{17,19,20}

Komposisi sel penyusun TIL didominasi oleh sel limfosit T yang terdiri dari sel limfosit T CD8⁺ dan sel limfosit T CD4⁺. Sel limfosit T CD8⁺ merupakan sel limfosit yang berperan pada destruksi sel tumor dengan cara melepaskan enzim proteolitik dan sitolitik yang akan memicu kematian sel tumor. Sel limfosit T CD4⁺ yang merupakan sel T-helper (Th) dibagi menjadi dua jenis yaitu sel T-helper 1 (Th1) dan sel T-helper 2(Th2). Sel Th1 mampu menghasilkan interferon- γ dan memiliki peran sebagai anti tumor dengan mengaktifkan sel T CD8⁺, sedangkan sel Th2 bersama dengan sel T regulator (Treg), dengan penanda FOXP3⁺, memiliki fungsi sebagai penghambat sel T sitotoksik sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan sel tumor. Sel Th2 juga memiliki kemampuan dalam memicu proliferasi sel limfosit B dan sebagai antiinflamasi.^{3,21} Sel limfosit T CD8⁺ berkaitan dengan prognosis yang baik pada penderita kanker, diantaranya dikaitkan

dengan ukuran tumor yang lebih kecil, grade yang rendah, tidak terdapat metastasis ke KGB, dan peningkatan angka harapan hidup.²² Rasio antara jumlah sel limfosit T CD4⁺ dengan sel limfosit T CD8⁺ serta rasio antara FOXP3⁺ dengan sel limfosit T CD8⁺ dapat digunakan sebagai penanda prognosis dari kanker.²¹ Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa subpopulasi dari TIL juga melibatkan sel limfosit B. Kehadiran sel limfosit B disekitar sel tumor memiliki prognosis yang baik terhadap penderita karsinoma payudara, yang dinilai dari pCR setelah pemberian kemoterapi dan dikaitkan dengan angka harapan hidup yang lebih baik.²³

SIMPULAN

Terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah TIL dengan beberapa parameter klinikopatologi kanker kolorektal yaitu derajat keganasan, stadium Dukes dan stadium p TNM. Semakin meningkatnya derajat keganasan dan stadium maka jumlah TIL akan menurun. Evaluasi TIL dapat menjadi salah satu faktor prognosis pada kanker kolorektal

DUKUNGAN FINANSIAL

Penelitian ini telah didanai oleh Dana DIPA Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. International Agency for Research on Cancer. *Number of new cases worldwide in 2018*. Globocan. 2020
2. Zhao Y, Ghe X, He J, Cheng Y, Wang Z, Wang J, et al. *The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer differs by anatomical subsite: a systematic review and meta-analysis*. World Journal of surgical Oncology. 2019; 17(85): 1-11.
3. Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Fukuoka T, Iseki Y, Matsutani S, et al. *Tumor-infiltrating lymphocytes predict the chemotherapeutic outcomes in patients with stage IV colorectal cancer*. *in vivo*. 2018; 32: 151-8.
4. Dieci MP, Radosevic-Robin N, Fineberg S, van den Eyden G, Ternes N, Penault-Llorca F, et al. *Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and carcinoma in situ: a report of the international immunooncology biomarker working group on breast cancer*. Seminars in Cancer Biology. Elsevier Ltd. 2017: p.1-10.
5. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. *Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review of pathologists and proposal for a standardized method from the international immunooncology biomarker working group: part 1: assessing the host immune response, TILs in invasive breast carcinoma and ductal carcinoma in situ, metastatic tumor deposits and areas for further research*. Adv Anat Pathol. 2017; 00(00): 1-17.
6. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M, et al. *Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer*. J Clin Oncol. 2010; 28: 105-13.
7. Ghanadan A, Ehsani A-H, Farahmand A-M, Mirzaei M. *Tumor infiltrating lymphocytes in different stages of malignant melanoma and correlation with tumor stage and other prognostic factors: a retrospective multicenter study*. Middle East J Cancer. 2017; 8(4): 207-12.
8. Iseki Y, Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Fukuoka T, Matsutani S, et al. *A new method for evaluating tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer using hematoxylin and eosin (H-E)- stained tumor sections*. PLoS ONE. 2018; 13(4): 1-12.
9. Xie Q-K, He W-Z, Hu W-M, Yang L, Jiang C, Kong P-F, et al. *Tumor-infiltrating lymphocyte as a prognostic biomarker in stage IV colorectal cancer should take into account the metastatic status and operation modality*. Cancer Management and Research. 2018; 10: 1365-75.
10. Marley AR, Nan H. *Epidemiology of Colorectal Cancer*. Int J Mol Epidemiol Genet. 2016; 7(3): 105-14.
11. Lu B, Luo C-Y, Cai J, Lu M, Zhang Y-H, Chen H-D, et al. *Colorectal cancer incidence and mortality: the current status, temporal trends and their attribute risk factors in 60 countries in 2000-2019*. Chinese Medical Journal. 2021; 134(16): 1941-51.
12. Gandomani HR, Yousefi SM, Aghajani M, Mohammadian-Hafshejani A, Tarazoj AA, Pouyesh V, et al.

- Colorectal cancer in the world: incidence, mortality and risk factors.* Biomed Res Ther. 2017; 4(10): 1656-75.
13. Vuik FER, Nieuwenburg SAV, Bardou M, Lansdorp-Vogelaar I, Dinis-Ribeiro M, Bento MJ, et al. *Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years.* Gut. 2019; 68: 1820-26.
 14. Huyghe JR, Harrison TA, Bien SA, Hampel H, Figueiredo JC, Schmit SL, et al. *Genetic architectures of proximal and distal colorectal cancer are partly distinct.* Gut. 2021;70: 1325-34.
 15. Baran B, Ozupek NM, Tetik NY, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. *Difference between left-sided and right-sided colorectal cancer: a focused review of literature.* Gastroenterol Res. 2018; 11(4): 264-73.
 16. Huh JW, Lee JH, Kim HR. *Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer.* Arch Surg. 2012;147(4):366-71.
 17. Ko YS, Pyo J-S. *Clinicopathological significance and prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer.* The *International Journal of Biological Markers.* 2019;34(2):132-38.
 18. Jimenez-Rodriguez RM, Patil S, Keshinro A, Shia J, Vakiani E, et al. *Quantitative assessment of tumor-infiltrating lymphocytes in mismatch repair proficient colon cancer.* OncoImmunology. 2020; 9(1): 1-8.
 19. Fuchs TL, Sioson L, Sheen A, Jafari-Nejad K, Renaud CJ, Andrici J, et al. *Assessment of tumor-infiltrating lymphocytes using International TILs Working Group (ITWG) system is a strong predictor of overall survival in colorectal carcinoma.* Am J Surg Pathol. 2020; 44(4): 536-44.
 20. Matsusani S, Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Fukuoka T, Iseki Y, et al. *Verification of the methodology for evaluating tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer.* Oncotarget. 2018; 9(20): 15180-97.
 21. Ravelli A, Roviello G, Cretella D, Cavazzoni A, Biondi A, Cappelletti R, et al. *Tumor-infiltrating lymphocytes and breast cancer: beyond the prognostic and predictive utility.* Tumor Biology. 2017: 1-8.
 22. Mohamed M, Sarwath H, Salih N, Bansal D, Chandra P, Husain NE, et al. *CD8⁺ tumor infiltrating lymphocytes strongly correlate with molecular subtype and clinicopathological characteristics in breast cancer patients from Sudan.* Translational Medicine Communications. 2016; 1(4): 1-6.
 23. Shen M, Wang J, Ren X. *New insights into tumor-infiltrating B lymphocytes in breast cancer : clinical impacts and regulatory mechanisms.* Front Immunol. 2018; 9(470): 1-8.