

Hubungan antara Tumor-Infiltrating Lymphocytes dengan Stadium dan Derajat Diferensiasi Adenokarsinoma Kolorektal

Relationship between Tumor-Infiltrating Lymphocytes with Differentiation Grade and Stage of Colorectal Adenocarcinoma

Karina E. Clearesta,¹Toar Mambu,²Ferdinand Tjandra,²Fredrik G. Langi

¹Program Pendidikan Dokter Spesialis Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi - Rumah Sakit Umum Pusat Prof. Dr. R. D. Kandou Manado, Indonesia

²Divisi Digestif Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi - Rumah Sakit Umum Pusat Prof. Dr. R. D. Kandou Manado, Indonesia

³Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia

Email: karinaec21@gmail.com

Received: June 1, 2023; Accepted: November 24, 2023; Published online: November 26, 2023

Abstract: Colorectal cancer has high incidence and mortality rates. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are histopathological findings that depict the individual's immune response to the tumor. This study aimed to investigate the relationship between TILs and the differentiation grade and stage of colorectal adenocarcinoma. This was an analytical and observational study with a cross-sectional design. The results showed 34 patients with colorectal adenocarcinoma who met the criteria. The sample characteristics consisted of male (64.7%), mean age (59.15 ± 10.78), tumor location in the colon (43.9%) and rectum (55.8%), average TILs (25.62 ± 17.39), moderate TILs grade (50%), stage III tumor (50%), and moderately differentiated tumors (70.6%). A significant association was found between TILs and tumor differentiation grade ($p=0.024$). Post hoc analysis showed a significant difference in TILs between good and poor differentiation ($p=0.04$; 95% CI: 1.52-64.48). A cut-off value for TILs was identified for good differentiation ($TIL > 27$) and moderate/poor differentiation ($TIL \leq 27$) with a sensitivity of 69.2% and specificity of 75.0%. The extent of lymphocytic invasion of tumor tissue reflected the host's immune status. TILs played an important role in tumor development and was a good prognostic factor in colorectal cancer. In conclusion, TILs can be used as a predictor for the differentiation grade of colorectal adenocarcinoma.

Keywords: colorectal adenocarcinoma; tumor infiltrating lymphocytes; differentiation grade

Abstrak: Kanker kolorektal memiliki angka kejadian dan mortalitas tinggi. *Tumor-infiltrating lymphocytes* (TILs) merupakan temuan histopatologik yang menggambarkan respon imunologis individu terhadap tumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara TILs dengan derajat diferensiasi dan stadium pada adenokarsinoma kolorektal. Jenis penelitian ialah analitik observasional dengan desain potong lintang. Hasil penelitian mendapatkan 34 pasien dengan adenokarsinoma kolorektal yang memenuhi kriteria. Karakteristik sampel terbanyak ialah jenis kelamin laki-laki (64,7%), rerata usia ($59,15 \pm 10,78$), lokasi tumor di kolon (43,9%) dan rektum (55,8%), rerata TILs ($25,62 \pm 17,39$), derajat TILs *moderate* (50%), stadium tumor derajat III (50%) dan derajat diferensiasi tumor sedang (70,6%). Terdapat hubungan bermakna TILs dengan derajat diferensiasi tumor ($p=0,024$). Analisis post hoc bermakna terhadap derajat TILs baik vs buruk ($p=0,04$; 95% CI: 1.52-64.48). Nilai *cut-off* TILs dengan derajat diferensiasi baik ($TIL > 27$) dan sedang/buruk ($TIL \leq 27$) dengan sensitivitas 69,2% dan spesifisitas 75,0%. Luasnya invasi limfositik pada jaringan tumor mencerminkan status kekebalan tubuh pejamu. TILs berperan penting dalam perkembangan tumor dan merupakan faktor prognostik yang baik pada kanker kolorektal. Simpulan penelitian ini ialah nilai TILs dapat digunakan sebagai faktor prediktor derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal.

Kata kunci: adenokarsinoma kolorektal; *tumor infiltrating lymphocytes*; derajat diferensiasi

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (CRC) merupakan kanker keempat di Indonesia dan ketiga di dunia dengan mortalitas hampir 10 juta kasus pada 2020. Tipe adenokarsinoma ialah yang tersering, dengan 70% berdiferensiasi sedang, 10% baik, dan 20% buruk.^{1,2}

Stadium kanker menilai ukuran dan penyebaran kanker serta penting untuk pemberian terapi. Berdasarkan *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), sistem TNM membagi CRC menjadi lima stadium (stadium 0-IV). Derajat diferensiasi dibagi menjadi *well*, *moderately*, dan *poorly differentiated*.²

Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) ialah faktor prediktor luaran kanker melalui respons imunologi. Telah diketahui bahwa TILs timbul melalui mekanisme *antigen presenting cell*, hipoksia, dan mediator inflamasi lokal. Interaksi imun dan tumor dapat berupa aktivasi atau inhibisi, menghasilkan tingkat TILs yang bervariasi, yaitu rendah, sedang, dan tinggi.³⁻⁷

Penelitian dewasa ini mengungkapkan bahwa TILs memengaruhi prognosis kanker kolorektal dengan respons imun terhadap tumor. Stadium dan derajat diferensiasi tumor juga memengaruhi prognosis kanker, namun, hubungan TILs dengan stadium dan diferensiasi belum banyak diteliti. Penelitian ini mempelajari tentang hubungan antara TILs terhadap derajat diferensiasi dan stadium pada adenokarsinoma kolorektal dengan harapan untuk digunakan sebagai landasan menentukan keputusan klinis dalam evaluasi dan tatalaksana pasien adenokarsinoma kolorektal.

METODE PENELITIAN

Penelitian analitik observasional ini menggunakan desain potong lintang dalam pengumpulan data dari rekam medik dan sel-sel kanker yang telah dipreservasi dalam bentuk blok parafin dari pasien dengan adenokarsinoma kolorektal yang mendapatkan penanganan di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Prof. Dr. R. D. Kandou Manado antara 1 Januari 2020 hingga 31 Juli 2022. Data yang dikumpulkan dari rekam medik termasuk usia saat pertama kali didiagnosis, jenis kelamin, lokasi lesi, derajat diferensiasi tumor, dan stadium tumor. Derajat infiltrasi tumor pada sel stromal (TILs) didapatkan dari sampel sel yang diperoleh via reseksi melalui pembedahan, kemudian dipreservasi dalam blok parafin dan dilakukan pemeriksaan histopatologik. Perhitungan sampel menggunakan formula yang sesuai dengan uji *goodness-of-fit* χ^2 , dan didapatkan besar sampel mencapai 32 pasien

Analisis statistik uji normalitas menggunakan uji Saphiro Wilk. Uji statistik menggunakan uji *One Way ANOVA*. Titik potong optimal densitas TIL ditentukan melalui analisis kurva ROC dengan index J Youden. Kemampuan diskriminasi dilaporkan sebagai sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi. Uji *goodness-of-fit* χ^2 digunakan untuk menilai kesesuaian pengkategorian TIL menurut titik potong dari analisis ROC dengan stadium dan derajat diferensiasi adenokarsinoma kolorektal. Manajemen data dilakukan dengan *software* statistik versi 4.1.3, dengan *Microsoft Excel* sebagai langkah pendahuluan. Data kemudian diproses di lingkungan R. Analisis statistik dilakukan dengan paket tambahan pROC dan ROCR untuk analisis kurva ROC.

HASIL PENELITIAN

Subjek penelitian ialah pasien-pasien dengan diagnosis adenokarsinoma kolorektal yang dirawat di Rumah Sakit Umum Pusat Prof. Dr. R. D. Kandou (RSUP), sebuah rumah sakit pusat rujukan di Manado. Rentang waktu penelitian dilakukan pada periode 1 Januari 2020 hingga 31 Juli 2022. Didapatkan sampel pasien sebanyak 34 orang yang memenuhi kriteria inklusi. Penelitian ini menggunakan sampel-sampel sel diperoleh via reseksi melalui pembedahan. Data patologi yang diambil mencakup lokasi, jenis tumor, stadium TNM, dan derajat diferensiasi tumor.

Tabel 1 memperlihatkan karakteristik demografik dan klinik setiap pasien termasuk usia saat pertama kali didiagnosis, jenis kelamin, lokasi lesi, dan stadium tumor dikumpulkan melalui rekam medik. Jenis kelamin terbanyak ialah laki-laki dengan jumlah 22 pasien (64,7%), sedangkan perempuan berjumlah 12 orang (35,3%). Rerata usia pasien ialah $59,15 \pm 10,78$ tahun. Lokasi tumor yang didapatkan berada pada area kolon dan rektum, mulai dari sekum hingga rektum. Pada area

kolon, lokasi tumor terbanyak berada di sigmoid dengan jumlah enam (17,6%), diikuti dengan rektosigmoid yang berjumlah lima (14,7%). Pada area rektum, lokasi tumor tidak berbeda jauh, yaitu di distal ditemukan sebanyak 11 (32,3%) dan di tengah sebanyak delapan (23,5%).

Tabel 2 memperlihatkan hubungan TILs dengan stadium dan derajat diferensiasi tumor. Variabel yang dinilai ialah stadium tumor yang terdiri dari stadium I, II, III dan IV. Uji normalitas dilakukan pada data semua variabel tersebut dan ditemukan distribusinya normal, sehingga uji hipotesis dapat digunakan analisis Kruskal-Wallis untuk membandingkan rerata antar kelompok. Berdasarkan penelitian didapatkan bahwa dari ketiga hubungan TILS dengan stadium tumor tersebut didapatkan nilai p sebesar 0,948, yang menandakan bahwa TILS tidak memiliki hubungan bermakna dengan stadium tumor.

Tabel 1. Karakteristik demografik dan klinik subjek penelitian

Karakteristik		Subjek (n= 34)
Jenis kelamin (n, %)		
	Pria	22 (64,7%)
	Wanita	12 (35,3%)
Usia (rerata ± SB)		59,15 ± 10,78
Lokasi tumor		
Kolon	Sekum	1 (2,9%)
	Asenden	1 (2,9%)
	Transversum	1 (2,9%)
	Desenden	1 (2,9%)
	Sigmoid	6 (17,6%)
	Rektosigmoid	5 (14,7%)
Rektum	Tengah	8 (23,5%)
	Distal	11 (32,3%)
TILs (% rerata ± SB)		25,62 ± 17,39
Derajat TILs		
	<i>Low</i>	11 (32,4%)
	<i>Moderate</i>	17 (50,0%)
	<i>High</i>	6 (17,6%)
Stadium Tumor		
	I	0
	II	12 (35,3%)
	III	17 (50,0%)
	IV	5 (14,7%)
Derajat diferensiasi tumor		
	Baik	8 (23,5%)
	Sedang	24 (70,6%)
	Buruk	2 (5,9%)

Tabel 2. Hubungan TILS dengan stadium dan derajat diferensiasi tumor

Variabel	TILS (% rerata ± SB)	Nilai p
Stadium Tumor		
II	27,42 ± 17,06	0,948
III	25,24 ± 18,78	
IV	22,60 ± 16,15	
Derajat Diferensiasi Tumor		
Baik	38,50 ± 17,75	0,024*
Sedang	23,00 ± 15,40	
Buruk	5,50 ± 3,54	

*Signifikansi p<0,05

Pada derajat diferensiasi tumor didapatkan nilai p sebesar 0,024 yang berarti setidaknya terdapat dua kelompok memiliki nilai rerata TILs yang berbeda bermakna secara statistik. Uji statistik dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* untuk menentukan besar perbedaan antara kelompok derajat diferensiasi tumor.

Uji *Post Hoc* digunakan untuk mengetahui apakah sesuatu kelompok memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok lainnya. Tabel 3 memperlihatkan hasil analisis uji *Post Hoc Bonferroni* yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok derajat diferensiasi tumor baik dan buruk dengan beda rerata 33,00 dan interval kepercayaan 95% 1,52 s.d 64,48.

Tabel 3. *Post Hoc Bonferroni* derajat diferensiasi tumor terhadap TILs

Derajat Diferensiasi	Beda Rerata (%)	Standard Error (%)	Nilai P	IK 95% (% , minimal s.d maksimal)
Baik vs Sedang	15,50	6,42	0,07	-0,76 s.d 31,76
Baik vs Buruk	33,00	12,439	0,04*	1,52 s.d 64,48
Sedang vs Buruk	17,50	11,58	0,42	-11,81 s.d 46,81

*Signifikansi p<0,05

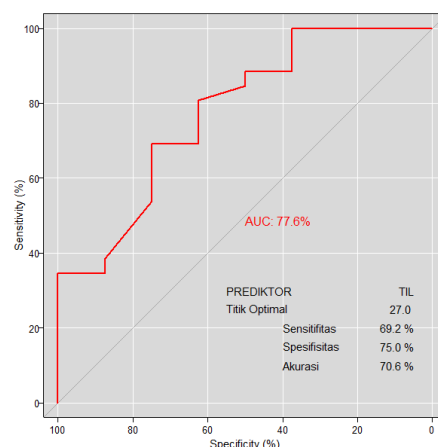
Uji T tidak berpasangan dilakukan untuk menentukan perbedaan rerata antar kelompok, sehingga dapat ditentukan nilai *cut-off* TILs melalui kurva ROC. Tabel 4 memperlihatkan hasil uji T tidak berpasangan yang menunjukkan perbedaan rerata secara bermakna antara kelompok derajat diferensiasi tumor baik dan sedang/berat, namun tidak pada baik/sedang dan berat.

Tabel 4. T tidak berpasangan derajat diferensiasi tumor terhadap TILs

Derajat Diferensiasi	Beda Rerata	Standard Error	Nilai P	IK 95% (Minimal s.d Maksimal)
Baik vs Sedang/Berat	16,85	6,49	0,01*	3,63 s.d 30,06
Baik/Sedang vs Berat	21,38	12,30	0,09	-3,68 s.d 46,43

*Signifikansi p<0,05

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada kurva ROC didapatkan nilai *area under curve* (AUC) sebesar 77,6%, *standard error* 9,6%, nilai p sebesar 0,024, dan interval kepercayaan 95% antara 58,8% s.d 96,4%. Nilai *cut off* TILs ditentukan dari nilai indeks Youden tertinggi yaitu nilai TILs 27,0 %, dimana didapatkan nilai sensitivitas 69,2% dan spesifisitas 75,0%.



Gambar 2. Kurva ROC kemampuan TILs mengklasifikasikan tumor ke dalam derajat diferensiasi baik (TILs >27) vs sedang/buruk (TILs ≤27)

BAHASAN

Subjek penelitian merupakan pasien yang telah didiagnosis adenokarsinoma kolorektal dan menjalani operasi reseksi tumor di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado dari periode Januari 2020 hingga Juli 2022. Jumlah pasien yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 34 orang. Sampel jaringan yang sudah dalam bentuk blok parafin kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologik untuk menilai derajat infiltrasi *tumor infiltrating lymphocytes* (TILs) pada sediaan tumor tersebut. Penilaian TILs dilakukan pada sel stromal. Data patologik yang diambil mencakup lokasi, jenis tumor, stadium TNM, dan derajat diferensiasi tumor. Karakteristik demografik dan klinik setiap pasien termasuk usia saat pertama kali didiagnosis, jenis kelamin, lokasi lesi, dan stadium tumor juga dikumpulkan melalui rekam medik.

Kanker kolorektal ialah jenis kanker paling umum ketiga dalam patologi onkologi.⁸ Kanker kolorektal merupakan kanker ganas paling umum di saluran cerna, mewakili 13% dari semua tumor ganas. Insiden kanker kolorektal bervariasi di seluruh dunia dengan tingkat yang lebih tinggi di negara maju daripada di negara non-industri. Temuan studi epidemiologi menunjukkan distribusi anatomi kanker kolorektal secara bertahap, bergeser dari kolon kiri-distal ke sisi kanan atau ujung proksimal, sekali lagi terkait dengan modalitas skrining sisi kiri yang lebih efektif.⁹

Berdasarkan jenis kelamin pasien, didapatkan laki-laki sebanyak 22 orang (64,7%) yang lebih banyak dibandingkan perempuan yaitu 12 orang (35,3%) Pada penelitian yang dilakukan oleh *American Cancer Society* di Amerika Serikat pada tahun 2003-2007 mengenai insiden dan mortalitas keganasan kolorektal, didapatkan bahwa laki-laki memiliki insiden 35%-40% lebih tinggi dibandingkan perempuan.¹⁰

Keganasan kolorektal sebagian besar muncul secara sporadis (70%), 20% timbul secara familial, dan 10% dalam bentuk sindrom yang diturunkan. CRC sporadis memiliki rerata usia lebih tua dari 50 tahun dan sebagian besar berhubungan dengan faktor lingkungan. Kanker kolorektal dapat disebabkan oleh sporadis atau non-keturunan terkait dengan kesalahan mutasi pada DNA, tidak munculnya transkripsi gen penekan tumor, gen yang terlibat dalam kontrol siklus sel, perbaikan, dan apoptosis atau asal genetik yang terkait dengan mutasi pada tumor gen penekan seperti APC, DCC, BRAF, PIK3CA, AKT, dan TP53 atau keberadaan onkogen seperti K-RAS dan CTNNB1. CRC dengan pola bawaan biasanya terjadi pada usia yang lebih muda (lebih muda dari 50 tahun), dan 20% sisanya bersifat *familial clustering* tanpa ditemukan adanya sindrom-sindrom bawaan. Sindrom CRC bawaan yang paling umum ialah *familial adenomatous polyposis* (FAP) and *Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer [HNPCC])*.¹¹ Pada penelitian ini didapatkan rerata usia pasien ialah 59 tahun.

Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) merupakan gambaran histopatologik penting dari kanker kolorektal yang memberikan informasi prognostik. Studi klinis dan epidemiologi sebelumnya menemukan bahwa keberadaan dan kuantifikasi limfosit yang menginfiltrasi tumor secara bermakna berhubungan dengan spesifik penyakit dan kelangsungan hidup secara keseluruhan pada kanker kolorektal. Temuan penelitian menunjukkan bahwa TILs dan subset TILs spesifik berfungsi sebagai biomarker prognostik untuk kanker kolorektal.¹²

Luasnya invasi limfositik pada jaringan tumor mencerminkan status kekebalan tubuh pejamu dan TILs memainkan peran penting dalam perkembangan tumor.¹³ Beberapa laporan menunjukkan bahwa TILs merupakan faktor prognostik yang baik pada kanker kolorektal.¹⁴ Meskipun TILs berkorelasi dengan prognosis di kanker kolorektal, berbagai metode telah diterapkan untuk evaluasinya, termasuk pewarnaan imunohistokimia atau H-E; evaluasi pusat tumor atau bagian depan invasi; dan persentase luas yang ditempati oleh TILs atau jumlah mutlak TILs.^{15,16} Huh et al¹³ melaporkan bahwa jumlah sel inflamasi yang lebih besar berkorelasi dengan prognosis yang baik pada kanker kolorektal dalam sebuah penelitian di mana TILs dinilai menggunakan skala 4 derajat. Meskipun jelas bahwa TILs terkait dengan prognosis kanker kolorektal, masih kurangnya metode standar untuk mengevaluasi kepadatan TILs.^{13,14}

Pada pasien dengan kanker kolorektal, gambaran klinis tergantung pada lokasi, ukuran, serta ada tidaknya metastasis. Presentasi klinis meliputi gejala seperti sakit perut, perubahan kebiasaan

buang air besar kronis, perubahan gerakan usus, penurunan berat badan yang tidak disengaja, mual, muntah, malaise, anoreksia, dan distensi perut. Kanker distal menyebabkan perdarahan rektal yang nyata dibandingkan dengan kanker proksimal yang dapat memberikan darah bercampur dengan tinja, sehingga cenderung tersembunyi dan akibatnya, anemia dapat muncul sebagai tanda sekunder.

Mayoritas dari semua kanker kolorektal ialah karsinoma; lebih dari 90% di antaranya ialah adenokarsinoma dan lainnya sering tidak terlihat (*adenosquamous, spindle, squamous, dan undifferentiated*). Adenokarsinoma kolorektal dapat dibedakan lebih lanjut dalam tipe kribriiform, meduler, mikropapiler, bergerigi, musinosa, dan sel *signet-ring*.^{13,15}

Sistem stadium tumor, nodus, metastasis (TNM) dari *American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC)* adalah sistem stadium yang lebih dipilih untuk karsinoma kolorektal. Stadium karsinoma kolorektal dapat dibagi menjadi stadium I, II, III, dan IV. Menurut Vayrynen et al,¹⁷ dominasi TILs pada stadium awal, yang menurun pada stadium lanjut, menunjukkan korelasi terbalik antara TILs dengan stadium karsinoma kolorektal. Fenomena ini mungkin karena proses *escape* pada perkembangan tumor stadium lanjut.¹⁷ Pada penelitian ini didapatkan stadium II sebanyak 12 pasien (35,3%), stadium III sebanyak 17 pasien (50%), dan stadium IV sebanyak lima pasien (14,7%); tidak didapatkan pasien dengan stadium I. Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat hubungan bermakna antara TILs dengan stadium tumor ($p=0,87$).

Adenokarsinoma dikategorikan berdasarkan persentase pembentukan kelenjar menjadi berdiferensiasi baik (lebih dari 95%), sedang (lebih dari 50%), dan buruk (kurang dari 49%), selanjutnya dibagi menjadi dua grading: *low* (baik-sedang)/*high* (buruk) dengan signifikansi prognostik. Menurut Huh et al,¹³ grade TIL dikaitkan dengan perilaku tumor yang lambat, seperti diferensiasi tumor dan invasi perineural: grade TIL yang rendah secara bermakna berkorelasi dengan status diferensiasi buruk dan invasi perineural.⁴ Pada penelitian ini, didapatkan derajat diferensiasi baik sebanyak delapan pasien (23,5%), derajat diferensiasi sedang sebanyak 24 pasien (70,6%) dan derajat diferensiasi buruk sebanyak dua pasien (5,9%). Pada hasil uji statistik didapatkan hubungan bermakna antara derajat diferensiasi tumor dengan derajat TILs ($p=0,02$), dimana semakin baik derajat diferensiasi tumor, didapatkan distribusi TILs yang lebih tinggi (*high*).

Pada penelitian ini didapatkan keterbatasan berupa variasi sampel penelitian yang kurang merata, seperti tidak adanya pasien adenokarsinoma kolorektal stadium I, dan jumlah pasien dengan diferensiasi buruk hanya didapatkan dua orang. Hal ini sesuai dengan epidemiologi, yaitu pasien dengan diferensiasi buruk sangat jarang, serta kurangnya kesadaran pasien untuk skrining rutin sehingga pasien datang berobat ke rumah sakit sudah dengan stadium lebih lanjut.

SIMPULAN

Mayoritas penderita kanker kolorektal berjenis kelamin laki-laki, rerata usia 59 tahun, dengan lokasi tumor paling umum ialah rektum distal. Grade TILs tidak berhubungan dengan stadium kanker, namun berhubungan dengan derajat diferensiasi tumor yang menunjukkan pentingnya TILs dalam menentukan prognosis.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung pengembangan penelitian imunoterapi untuk karsinoma kolorektal.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-49. Doi: 10.3322/caac.21660.
2. Fleming M, Ravula S, Tatischev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: pathologic aspects. *Journal of*

- Gastrointestinal Oncology (JGO). 2012;3(3):153–73. Available from: <https://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030>.
3. Lin B, Du L, Li H, Zhu X, Cui L, Li X. Tumor-infiltrating lymphocytes: warriors fight against tumors powerfully. *Biomedicine & Pharmacotherapy (Biomedecine & Pharmacotherapie)*. 2020;132, 110873. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110873>.
 4. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg (Chicago, Ill: 1960)*. 2012;147(4):366–72. Available from: <https://doi.org/10.1001/archsurg.2012.35>
 5. Rozek LS, Schmit SL, Greenson JK, Tomsho LP, Rennert HS, Rennert G, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes, Crohn's-like lymphoid reaction, and survival from colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute (JNCI)*. 2016;108(8):djw027. Available from: <https://doi.org/10.1093/jnci/djw027>.
 6. Golshani G, Zhang Y. Advances in immunotherapy for colorectal cancer: a review. *Therap Adv Gastroenterol (TAG)* 2020;13:1756284820917527. Available from: <https://doi.org/10.1177/1756284820917527>.
 7. Ameer A, Akhtar F, Din HU, Ahmed R. Assessment of stromal and intra-epithelial tumor infiltrating lymphocytes in colorectal carcinoma at Armed Forces Institute of Pathology. *Pak Armed Force Med*. 2021;71 (2):392-5. Doi:10.51253/pafmj.v71i2.4764.
 8. Granados-Romero J, Valderrama-Treviño AI, Contreras-Flores EH, Barrera-Mera B, Enríquez MH, Uriarte-Ruíz K, et al. Colorectal cancer: a review. *I Int J Res Med Sci*. 2017;5(11):4667-76. Doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20174914.
 9. Lotfollahzadeh S, Recio-Boiles A, Cagir B. Colon cancer. [Updated 2022 Dec 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470380/>
 10. American Cancer Society. *Colorectal Cancer Facts & Figures 2011-2013*. Atlanta: American Cancer Society, 2011.
 11. Juárez-Vázquez C, Rosales-Reynoso M. Cancer colorrectal (CCR): alteraciones genéticas y moleculares. *Gaceta Médica de México*. 2014;150(2):154-6
 12. Idos GE, Kwok J, Bonthala N, Kysh L, Gruber SB, Qu C. The prognostic implications of tumor infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2020;10(1):3360. Doi: 10.1038/s41598-020-60255-4.
 13. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg*. 2012;147(4):366–71.
 14. Mei Z, Liu Y, Liu C, Cui A, Liang Z, Wang G, et al. Tumor-infiltrating inflammation and prognosis in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014;1106:1595–605.
 15. Varynen JP, Tuomisto A, Klintrup K, Makela J, Karttunen TJ, Makinen MJ. Detailed analysis of inflammatory cell infiltration in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2013;109(7):1839–47.
 16. Teng F, Miu D, Meng X, Kong L, Zhu H, Liu S, et al. Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) before and after neoadjuvant chemoradiotherapy and its clinical utility for rectal cancer. *Am J Cancer Res*. 2015;5(6):2064–74.
 17. Nazemalhosseini-Mojarad E, Mohammadpour S, Torshizi EA, Gharib E, Larki P, Moradi A, et al. Intratumoral infiltrating lymphocytes correlate with improved survival in colorectal cancer patients: independent of oncogenetic features. *J Cell Physiol*. 2019;234(4):4768–77. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcp.27273>.